

DANIELLE YURI MASSUKADO RODRIGUES DA SILVA

**Estudo da resposta alérgica à tuberculina em ovinos (*Ovis aries*)
experimentalmente sensibilizados, conforme a região corpórea e a dose de
PPD utilizada**

São Paulo
2010

DANIELLE YURI MASSUKADO RODRIGUES DA SILVA

**Estudo da resposta alérgica à tuberculina em ovinos (*Ovis aries*)
experimentalmente sensibilizados, conforme a região corpórea e a dose de
PPD utilizada**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Fernando José Benesi

Co-orientadora:

Profa. Dra. Sônia Regina Pinheiro

São Paulo

2010

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2320
FMVZ

Yuri, Danielle Massukado Rodrigues da Silva

Estudo da resposta alérgica à tuberculina em ovinos (*Ovis aries*) experimentalmente sensibilizados, conforme a região corpórea e a dose de PPD utilizada / Danielle Yuri Massukado Rodrigues da Silva. – 2010.

80 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2010.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Fernando José Benesi.

Co-orientador: Profa. Dra. Sônia Regina Pinheiro

1. Tuberculose. 2. PPD. 3. Região corpórea. 4. Dose. 5. Ovinos. I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética para uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo da resposta alérgica à tuberculina em ovinos (*Ovis aries*) sensibilizados, conforme a região corpórea e a dose de PPD utilizada", protocolado sob o nº1735/2009, utilizando 30 (trinta) carneiros, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Fernando José Benesi, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética para uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado na reunião do dia 25 de novembro de 2009.

We certify that the Research "Study al allergic tuberculin response in ovine (*Ovis aries*) experimentally sensitized, in different PPD and corporal region", protocol number 1735/2009, utilizing 30 (thirty) sheep, under the Prof. Dr. Fernando José Benesi, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethics Committee for animal use" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo was approved in the meeting of day 11/25/09.

São Paulo, 26 de novembro de 2009

Profa Dra Denise Tabacchi Fantoni
Presidente



Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP - Brasil
05508-270

Fax: +55 11 3032-2224 / 3091-7757
fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Yuri, Danielle Massukado Rodrigues da Silva

Título: Estudo da resposta alérgica à tuberculina em ovinos (*Ovis aries*) experimentalmente sensibilizados, conforme a região corpórea e a dose de PPD utilizada

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data ___ / ___ / _____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família.

Aos meus pais, Mitsiko (Dona Maria) e Manoel Fernando (Fernandão), pelo esforço em me tornar uma pessoa melhor. “Os nossos pais amam-nos porque somos seus filhos, é um fato inalterável. Nos momentos de sucesso, isso pode parecer irrelevante, mas nas ocasiões de fracasso, oferecem um consolo e uma segurança que não se encontram em qualquer outro lugar. *Bertrand Russell*”.

Ao meu irmão Fernandinho, pelo excepcional convívio ao longo dos anos. A minha felicidade ao seu nascimento, está em minha memória.

Aos meus amigos, família que escolhemos.

There's a passage I got memorized, Ezekiel 25:17. "The path of the righteous man is beset on all sides by the inequities of the selfish and the tyranny of evil men. Blessed is he who, in the name of charity and good will, shepherds the weak through the valley of the darkness. For he, is truly his brother's keeper and the finder of lost children. And I will strike down upon thee with great vengeance and furious anger those who attempt to poison and destroy my brothers. And you will know I am the Lord when I lay my vengeance upon you."

Jules Winnfield (Samuel L. Jackson), Pulp Fiction (1994)

Há uma passagem que eu memorizei, Ezequiel 25:17. "O caminho do homem justo é rodeado por todos os lados pelas injustiças dos egoístas e pela tirania dos homens maus. Abençoado é aquele que, em nome da caridade e da boa-vontade pastoreia os fracos pelo vale da escuridão, pois ele é verdadeiramente o protetor de seu irmão e aquele que encontra as crianças perdidas. E Eu atacarei, com grande vingança e raiva furiosa aqueles que tentam envenenar e destruir meus irmãos. E você saberá: chamo-me o Senhor quando minha vingança cair sobre você."

Jules Winnfield (Samuel L. Jackson), Pulp Fiction (1994)

AGRADECIMENTOS

Força de vontade é a energia que desenvolvemos dentro de nós e que nos impulsiona para realizarmos o que quisermos. É a decisão firme de realizarmos, seja o que for, com todo nosso empenho, mesmo que seja algo difícil do qual não nos achamos capazes; é enfrentarmos sem receios os nossos problemas e dificuldades, pois a cada passo essa força dinâmica, sem que percebamos, vai crescendo e se fortalecendo até tornar-se inquebrantável.

E foi com essa força de vontade que ao longo dos anos, meu orientador, Prof. Titular **Fernando José Benesi**, trilhou sua vida para ser o que é hoje, um orientador acadêmico e um orientador da vida. Obrigada por me dar a oportunidade de trilhar uma parte da minha vida ao seu lado. “Quem faz o bem, conquista paz interior. *Textos judaicos*”.

Ao Prof. Dr. **Wanderley Pereira de Araújo**, *in memoriam*, excêntrico professor que, sem dúvidas, auxiliou no meu caminho acadêmico. “O problema com o mundo é que os estúpidos são excessivamente confiantes, e os inteligentes são cheios de dúvidas. *Bertrand Russell*”.

À Profa. Dra. **Sônia Regina Pinheiro**, criatura iluminada e abençoada que retirou forças da Terra para me auxiliar nos momentos finais deste trabalho. “Uma das características do gênio é a intuição: ver sem esforço o que os outros somente descobririam com grande trabalho. *Jaime Balmes*”

À Dra. **Eliana Roxo**, que numa contigüidade relativa, se preocupou e me auxiliou na compreensão do escopo desta pesquisa. “A dúvida é o princípio da sabedoria. *Aristóteles*”.

Aos Ms. **Ricardo Spacagna Jordão** e Dr. **Pedro Moacyr Pinto Coelho Mota**, por cederem gentilmente os insumos necessários para a execução desta pesquisa. “O sucesso geralmente vem para aqueles que estão muito ocupados para estarem procurando por ele. *Henry David Thoreau*”.

Aos queridíssimos amigos do HOVET FMVZ/USP de Pirassununga/SP e do Laboratório de Análises Clínicas, em especial aos sábios e mestres Ubiraem Mário Schalch (**Bira**) e **Paulão**. “O saber a gente aprende com o mestres e os livros. A sabedoria, se aprende é com a vida e com os humildes. *Cora Coralina*”.

À Profa. Dra. **Alice Maria Melville Paiva Della Libera**, pelas conversas construtivas e produtivas, desde os longínquos tempos da graduação, aos quais sempre lembrarei e refletirei. “O ego é dotado de um poder, de uma força criativa, conquista tardia da humanidade, a que chamamos vontade. *Carl Jung*”.

A M. V. **Camila Freitas Batista**, pelas incansáveis horas de filosofia urbana, onde discorríamos sobre o longo caminho a ser trilhado em busca do aprendizado, onde a recompensa é certa de satisfação e felicidade. “O mais tolo de todos os erros ocorre quando jovens inteligentes acreditam perder a originalidade ao reconhecer a verdade já reconhecida por outros. *Johann Goethe*”.

Ao novo amigo **Flavio José Minieri Marchese**, que sem perceber, foi uma das peças fundamentais para que o início desta pesquisa fosse um sucesso. “O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário. *Albert Einstein*”.

A **Família Dente** (Glauco, Loreny, Betina, vó e vô) obrigada por me receber e me acolher em suas casas. Se não fosse por vocês, esse projeto teria ficado na inércia. “A nossa maior glória não reside no fato de nunca cairmos, mas sim em levantarmo-nos sempre depois de cada queda. *Confúcio*”.

Especialmente aos funcionários do Sítio Belvedere, **Antonio Moralles**, **Evandro Moralles**, pela ajuda desmedida durante toda a fase experimental. Aos senhores **Roberto Moralles**, **Antonio Romildo**, pelo apoio ao experimento.

Aos Prof. Dr. **Carlos Eduardo Larsson** e Profa. Dra. **Maria Helena Matiko Akao Larsson**, por me “adotarem” e serem meus “pais” na Clínica Médica. “O homem erudito é um descobridor de fatos que já existem - mas o homem sábio é um criador de valores que não existem e que ele faz existir. *Albert Einstein*”.

À Profa. Dra. **Mitika Kuribayashi Hagiwara**, por reconhecer minha felicidade em gestos simples. “Ser feliz sem motivo é a mais autêntica forma de felicidade. *Carlos Drummond de Andrade*”.

À Profa. Dra. **Maria Claudia Araripe Sucupira**, pelas oportunidades apresentadas. “A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios. Por isso, cante, chore, dance, ria e viva intensamente, antes que a cortina se feche e a peça termine sem aplausos. *Charles Chaplin*”

Ao Prof. Dr. **Wilson Roberto Fernandes**, confiante em suas respostas sensatas, sou sua fã. “O cavalo, como toda a gente sabe, é a parte mais importante do cavaleiro. *Jean Giraudoux*”.

Às Profas. Dra. **Carla Bargi Belli**, **Denise Saretta Schwartz**, **Lilian Gregory**, **Márcia Mery Kogika**, **Raquel Yvonne Arantes Baccarin** e **Silvia Regina Ricci Lucas**, docentes do Departamento de Clínica Médica da FMVZ/USP, muito obrigada. “Quão mais inteligentes são as mulheres apaixonadas do que os homens de caráter! *Robert Musil*”.

Aos Profs. Dr. **Archivaldo Reche Junior**, **Cássio Xavier de Mendonça Junior** e **Enrico Lippi Ortolani**, docentes do Departamento de Clínica Médica da FMVZ/USP, muito obrigada. “Não fales bem de ti aos outros, pois não os convencerás. Não fales mal, pois te julgarão muito pior do que és. *Confúcio*”.

Às secretárias do Departamento de Clínica Médica, **Adelaide F. J. Borges**, **Ellen Binotto**, **Maria Aparecida de Freitas** e **Silvana Rossi Guedes**, obrigada pela paciência nesses anos todos. “As palavras verdadeiras não são agradáveis e as agradáveis não são verdadeiras. *Lao-Tsé*”.

A todos os meus colegas de pós-graduação, obrigada pela companhia, pelas trocas de informações e experiências. “A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original. *Albert Einstein*”.

A **CAPES**, pela bolsa concedida.

EPÍGRAFE

[...] Qualquer moléstia importante cuja causa é obscura e cujo tratamento é ineficaz tende a ser sobrecarregada de significação.

Primeiro, os objetos do medo mais profundo (corrupção, decedência, poluição, anomia, fraqueza) são identificados com a doença. A própria doença torna-se uma metáfora. Então, em nome da doença (isto é, usando-a como metáfora), aquele horror é imposto a outras coisas. A doença passa a adjetivar.

Susan Sontag

A doença como metáfora (2002)

RESUMO

YURI, D. M. R. S. **Estudo da resposta alérgica à tuberculina em ovinos (*Ovis aries*) experimentalmente sensibilizados, conforme a região corpórea e a dose de PPD utilizada.** [Study of the allergic response to tuberculin in sheep (*Ovis aries*) experimentally sensitized, according to body region and PPD's dose used]. 2010. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Diante da importância do tema, a pobreza de dados nacionais sobre a tuberculose em ovinos e a necessidade de aprofundamento de conhecimento sobre a aplicação das técnicas de diagnóstico pertinentes ao combate e erradicação da tuberculose animal, foi delineado o presente estudo. Esta pesquisa visou avaliar a melhor região corpórea e dose de derivado protéico purificado (PPD) bovino a ser aplicada em ovinos (*Ovis aries*) experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* AN₅ para diagnóstico de tuberculose. Utilizou-se 15 ovinos clinicamente sadios e negativos à prova de Tuberculina Cervical Comparativa (TCC), segundo os padrões estabelecidos por Cyrillo et al. (2007), em duas fases: primeira etapa – avaliação do melhor local de aplicação do PPD bovino em ovinos; segunda etapa – a partir do melhor local de aplicação, a dose de PPD bovino a ser aplicada. Imediatamente após a leitura do TCC de triagem inicial, os ovinos foram sensibilizados com o inóculo inativado de *M. bovis* estirpe AN₅, e após um período de dessensibilização de 60 dias entre aplicações, realizou-se a avaliação de cinco regiões corpóreas, com a mensuração da espessura da dobra de pele efetuada nos momentos antes (0h) e após aplicação (12h, 24h, 48h, 72h e 96 horas). As análises estatísticas mostraram uma significância para os melhores locais de aplicação, a saber: regiões torácica dorsal, seguida da cervical média e abdominal dorsal em 48 e 72 horas após aplicação de PPD bovino. Eleita a região torácica dorsal (p=0,94) como o melhor local de aplicação, os resultados da reação frente às diferentes doses (0,05 mL; 0,1 mL e 0,2 mL), expressos em espessura da dobra de pele, indicaram que não houve diferenças significantes entre as doses e momentos de leitura, sendo recomendada a aplicação de 0,1 mL de PPD bovino e leitura com 72 horas após aplicação.

Palavras-chave: Tuberculose. PPD. Região corpórea. Dose. Ovinos.

ABSTRACT

YURI, D. M. R. S. **Study of the allergic response to tuberculin in sheep (*Ovis aries*) experimentally sensitized, according to body region and PPD's dose used.** [Estudo da resposta alérgica à tuberculina em ovinos (*Ovis aries*) experimentalmente sensibilizados, conforme a região corpórea e a dose de PPD utilizada]. 2010. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Given the importance of the topic, the paucity by National data of tuberculosis in sheep, and the need to deepen knowledge about diagnostic techniques application relevant to combat and eradication of animal tuberculosis, the present study was designed. This study aimed to evaluate the best body region and dose of bovine purified protein derivative (PPD b) to be used in sheep (*Ovis aries*) experimentally sensitized to *Mycobacterium bovis* AN₅ to tuberculosis diagnoses. It was used 15 clinically healthy sheep and negative to the Comparative Cervical skin Test (CCT), according to standards established by Cyrillo et al. (2007), in two phases: first part - assessment of the best application area of bovine PPD in sheep; second part - from the best sites for the application, the best dose of bovine PPD to be applied. Immediately after reading the initial screening CCT, the animals were sensitized with the inoculation of inactivated *M. bovis* strain AN₅, and after a 60 days period of desensitization between applications, was carried out an assessment of five body regions, the skin fold thickness was measured before (0h) and after injection (12h, 24h, 48h, 72h and 96 hours). Statistical analysis showed significance to the best site of application: dorsal thoracic region, followed by middle cervical and dorsal abdominal, according to 48 and 72 hours after injection of bovine PPD. Chosen the thoracic region ($p = 0.94$) as the best site for the application, results of reaction from different doses (0.05 mL, 0.1 mL, and 0.2 mL), expressed as skin fold thickness showed no significant differences between doses and times of measurement, it was recommended the application of 0.1 mL of bovine PPD and measure at time 72 hours after injection.

Keywords: Tuberculosis. PPD. Body region. Dose. Sheep.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Derivado protéico purificado (PPD) aviário contendo 0,5 mg/mL de tubérculo-proteína, partida 001/09, Instituto Biológico, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) – São Paulo – 2009 35
- Figura 2 - Derivado protéico purificado (PPD) bovino contendo 1,0 mg/mL de tubérculo-proteína, partida 001/09, Instituto Biológico, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) – São Paulo – 2009 35
- Figura 3 - Inóculo inativado de *Mycobacterium bovis* AN₅, com concentração de 4,0 mg/mL, partida IB 01/09, Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO/MG, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – São Paulo – 2009 36
- Figura 4 - Figura esquemática assinalando as regiões da superfície corpórea do animal que foram submetidas à verificação da região corpórea ideal para tuberculinização. Região (I) cervical média, (II) torácica dorsal, (III) abdominal dorsal, (IV) prega da cauda e (V) face medial proximal do membro pélvico – face interna da coxa. Lado esquerdo: aplicação do PPD bovino; lado direito: aplicação da solução fisiológica – São Paulo – 2009 38

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 -Médias e desvios padrão da espessura de pele (mm) de ovinos segundo a região corpórea – São Paulo – 2009 41
- Gráfico 2 -Valores (mm) médios da espessura de pele obtidos com a aplicação da solução fisiológica em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme a região e os momentos de leitura – São Paulo – 2009..... 43
- Gráfico 3 -Valores (mm) médios da espessura de pele obtidos com a aplicação do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme a região e os momentos de leitura – São Paulo – 2009 45
- Gráfico 4 -Valores (mm) médios da espessura de pele da região torácica dorsal obtidos com a aplicação de solução fisiológica em ovinos experimentalmente sensibilizados *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme as doses e os momentos de leitura – São Paulo – 2009..... 49
- Gráfico 5 -Valores (mm) médios da espessura de pele da região torácica dorsal obtidos com a aplicação do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme a dose e os momentos de leitura – São Paulo – 2009 50

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Valores de referência do Teste Cervical Comparativo para ovinos, padronizado por Cyrillo et al. (2007) – São Paulo – 2009	34
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efetivo do rebanho ovino brasileiro, em número de animais, por região e ano – São Paulo – 2009	20
Tabela 2 - Tuberculose: casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan Net – São Paulo – 2009	22
Tabela 3 - Valores (mm) da espessura da pele de ovinos, conforme o lado (esquerdo e direito) e a região corpórea – São Paulo – 2009	41
Tabela 4 - Valores (mm) das médias, desvios padrão e “p” (pelo teste de normalidade) da espessura de pele obtidos com a aplicação da solução fisiológica em ovinos experimentalmente sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> estirpe AN ₅ , conforme a região e os momentos de leitura – São Paulo – 2009	43
Tabela 5 - Valores (mm) das médias, desvios padrão e “p” (pelo teste de normalidade) da espessura de pele obtidos com a aplicação do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> estirpe AN ₅ , conforme a região e os momentos de leitura – São Paulo – 2009	44
Tabela 6 - Valores de “p” (pelo teste de normalidade) do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> estirpe AN ₅ , segundo a região e os momentos de leitura – São Paulo – 2009	46
Tabela 7 - Valores de “p” (pelo teste de normalidade) obtidos através da leitura às 72 horas após aplicação do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> estirpe AN ₅ , segundo as regiões – São Paulo – 2009	47
Tabela 8 - Valores (mm) das médias, desvios padrão e “p” (pelo teste de normalidade) da espessura de pele da região torácica dorsal obtidos com a aplicação de solução fisiológica em ovinos experimentalmente sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> estirpe AN ₅ , conforme as doses e os momentos de leitura – São Paulo – 2009	48
Tabela 9 - Valores (mm) das médias, desvios padrão e “p” (pelo teste de normalidade) da espessura de pele da região torácica dorsal obtidos com a aplicação do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> estirpe AN ₅ , conforme as doses e os momentos de leitura – São Paulo – 2009	50

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	HISTÓRICO DA TUBERCULOSE HUMANA E ANIMAL.....	21
2.2	ETIOPATOGENIA DA TUBERCULOSE	23
2.3	SINTOMAS DA TUBERCULOSE	25
2.4	PREVALÊNCIA	26
2.5	DIAGNÓSTICO, CONTROLE E PREVENÇÃO DA TUBERCULOSE .	28
3	OBJETIVOS	31
4	MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1	ANIMAIS.....	32
4.2	EXAME FÍSICO	32
4.3	EXAMES COMPLEMENTARES.....	33
4.4	TESTE TUBERCULÍNICO.....	33
4.5	DERIVADO PROTÉICO PURIFICADO (PPD)	34
4.6	SENSIBILIZANTE E SENSIBILIZAÇÃO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS	36
4.7	TUBERCULINIZAÇÃO	37
4.7.1	Primeira etapa	37
4.7.2	Segunda etapa	38
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
5	RESULTADOS	40
5.1	PRIMEIRA ETAPA	40
5.1.1	Espessura da pele normal nas diferentes regiões	40
5.1.2	Espessura da pele após aplicação nas diferentes regiões corpóreas de ovinos	42
5.1.2.1	Mensuração após aplicação de solução fisiológica	42
5.1.2.2	Mensuração após aplicação de PPD bovino	44
5.2	SEGUNDA ETAPA	47

5.2.1	Espessura da pele após aplicação de diferentes volumes de Solução fisiológica na região torácica	48
5.2.2	Espessura da pele após aplicação de diferentes volumes de PPD bovino na região torácica.....	49
6	DISCUSSÃO	52
6.1	PRIMEIRA ETAPA	52
6.2	SEGUNDA ETAPA.....	54
7	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS.....	57
	ANEXOS	67
	APÊNDICES	68

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da ovinocultura brasileira no período de 1998-2008 foi de 16,5%, sendo o rebanho ovino estimado no ano de 2008, em 16.628.571 cabeças (IBGE, 2009); podemos atribuir esse crescimento ao aumento da demanda por produtos de origem ovina, como queijos e carnes, adotados para consumo pela população brasileira.

O aumento no consumo de carne ovina ocorre no Brasil e no mundo, tornando promissor este segmento do mercado consumidor; daí a necessidade da adoção de práticas que se comprometam com a oferta de qualidade voltada para o produto final (VALENTE, 2009).

Para se obter um produto de qualidade, toda a cadeia produtiva deve ser monitorada, a começar da criação, com os cuidados direcionados à sanidade do rebanho. Dentro deste contexto, cada vez mais a prevenção se torna importante devido às grandes conseqüências econômicas advindas de surtos de doenças em rebanhos animais (VALENTE, 2009).

Das zoonoses que acometem os ruminantes domésticos, destaca-se a tuberculose, considerada desde a pré-história (LEITE; TELAROLLI JÚNIOR, 1997) como uma doença infecciosa crônica e transmissível entre os mamíferos.

Koch, em 1882, isolou o bacilo da tuberculose, ressaltando o papel dos seres humanos e animais domésticos como as principais fontes de infecção (COLLINS; GRANGE; YATES, 1985). A tuberculose nos humanos é considerada pela “World Health Organization” (WHO) como sendo doença de “emergência global”. No ano de 2007 foram confirmados 9,27 milhões de tuberculosos no mundo (WHO, 2009) dos quais, 0,93% (86.891 casos notificados) foram de brasileiros (BRASIL, 2009).

Os agentes causadores da tuberculose nos animais são o *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, e o *Mycobacterium avium* (SHINNICK; GOOD, 1994; WARDS; COLLINS; LISLE, 1995; MILTGEN et al., 2002; BRASIL, 2006), tendo diferentes características de cultura e patogenicidade (ROBINSON, 1983; THOEN, 1988; RADOSTITIS et al., 2002; SMITH, 2006).

A prevalência da doença em bovinos, zoonose causada pelo *Mycobacterium bovis*, é maior em países em desenvolvimento e menor nos países

desenvolvidos, onde programas de erradicação já foram adotados há algum tempo (DOLPHIN; RAVIGLIONE; KOCHI, 1994). Em 2001 foi lançado no Brasil, o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) cujo objetivo é diminuir a prevalência e a incidência de novos casos dessas enfermidades em bovinos e bubalinos, além de erradicá-las, identificando propriedades livres, incentivando a participação por meio da certificação daquelas que oferecem ao consumidor produtos de baixo risco sanitário (BRASÍLIA, 2004), promovendo dessa forma uma maior competitividade da pecuária nacional através do aumento da qualidade dos produtos de origem animal oferecidos no mercado (CYRILLO, 2006).

Para ovinos e caprinos, há também uma legislação pertinente ao Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos (PNSCO), ainda não está concluída para implantação, porém com anseio por parte dos criadores e técnicos que a tuberculose seja inserida neste programa (CYRILLO, 2006; SÃO PAULO, 2010).

O Artigo 5º do Decreto 45.781 de 27 de abril de 2001, que regulamenta a defesa sanitária animal, reza prevenir, combater, controlar, erradicar e sacrificar animais acometidos por zoonoses, entre elas a tuberculose, cuja base diagnóstica é a avaliação por meio do alérgoteste da tuberculina (SÃO PAULO, 2001; BRASÍLIA, 2004). Essa recomendação ressalta a necessidade de se validar os valores de referência propostos por Cyrillo et al. (2007), já que não existe oficialmente a indicação de um padrão de leitura da prova imunoalérgica utilizada no diagnóstico da doença em ovinos.

Testes imunoalérgicos aplicados ao diagnóstico da tuberculose em bovinos e bubalinos são mundialmente difundidos e aceitos, não ocorrendo o mesmo para os pequenos ruminantes (caprinos e ovinos), devido a inexistência de consenso quanto aos valores de referência a serem utilizados para a prova da tuberculina (CORDES et al., 1981; DAVIDSON; ALLEY; BEATSON, 1981; JENSEN; SWIFT, 1982; MALONE et al., 2003). Silva et al. (2006) padronizou os valores para a leitura da reação à aplicação intradérmica do PPD em caprinos; Corrêa (2008) avaliou a resposta alérgica à tuberculina em caprinos (*Capra hircus*) em diferentes regiões corpóreas e Cyrillo et al. (2007) padronizaram os valores da leitura do alérgoteste da tuberculina em ovinos (*Ovis aries*).

Marcondes (2007) encontrou correlação entre os resultados dos testes imunoalérgicos com aqueles obtidos em cultivos e exames histopatológicos dos animais reagentes a prova de tuberculina, segundo o padrão sugerido por Cyrillo et al. (2007), validando a utilização do mesmo. Entretanto, à semelhança de outras espécies animais, algumas dúvidas persistem na escolha do local de aplicação e da dose da tuberculina a ser utilizada.

Diante da importância do tema, a pobreza de dados nacionais sobre a tuberculose em ovinos, a necessidade de aprofundamento de conhecimento sobre aplicação das técnicas de diagnóstico pertinentes ao combate e erradicação da doença, e dando continuidade a uma linha de pesquisa implantada na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, foi delineado o presente estudo que pretende avaliar a melhor região corpórea e dose de PPD bovino a ser aplicada em ovinos (*Ovis aries*).

2 REVISÃO DE LITERATURA

Em estimativas feitas pela “Food and Agriculture Organization for the United Nations” (FAO) para o ano de 2008, a produção de carne ovina no Brasil foi de 79,3 mil toneladas, decorrente do abate de 4.950.000 cabeças, indicando um crescimento de 17% no volume de abate e 16,9% no número de animais abatidos no período de 1998-2008 (FAO, 2010). Para o mesmo período, o efetivo de ovinos, estimado em 16.628.571 cabeças (IBGE, 2009), cresceu 16,5% (Tabela 1), sendo 91,7% na região Sudeste; 69,8% no Centro-Oeste; 66,5% no Norte e 34,4% no Nordeste, com queda de 18,2% na região Sul. Apesar de o Sudeste brasileiro ter o maior crescimento para o período, seu efetivo de ovinos não é o maior, possuindo (alojando) apenas 4,6% do rebanho nacional; mais da metade do efetivo nacional (56,4%) se encontrava na região Nordeste do país.

Tabela 1 - Efetivo do rebanho ovino brasileiro, em número de animais, por região e ano – São Paulo – 2009

Ano	Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste	Total país
1998	321.079	6.972.422	399.146	5.921.838	653.902	14.268.387
1999	338.490	7.336.985	402.611	5.648.906	672.968	14.399.960
2000	360.141	7.762.475	399.925	5.568.574	693.843	14.784.958
2001	372.027	8.060.619	435.586	5.047.811	722.882	14.638.925
2002	367.373	8.012.130	457.368	4.687.119	753.071	14.277.061
2003	407.643	8.233.014	493.478	4.622.365	799.984	14.556.484
2004	429.025	8.712.287	543.693	4.515.766	857.067	15.057.838
2005	481.528	9.109.668	606.934	4.452.498	937.413	15.588.041
2006	496.755	9.379.380	664.422	4.491.523	987.090	16.019.170
2007	521.640	9.286.258	742.078	4.603.241	1.086.238	16.239.455
2008	534.478	9.371.905	764.971	4.846.667	1.110.550	16.628.571

Fonte: IBGE, 2009.

2.1 HISTÓRICO DA TUBERCULOSE HUMANA E ANIMAL

A interação do homem com os animais tornou-se mais intensa (RADOSTITIS et al., 2002) decorrente da crescente demanda por alimentos de maior qualidade nutricional e sanitária pelos mercados consumidores (VALENTE, 2009)

Considerada uma das doenças transmissíveis mais antigas, a tuberculose afeta o homem desde a pré história (LEITE; TELAROLLI JÚNIOR; 1997). Foi mencionada por Hipócrates e por Aristóteles e afirmada como contagiosa e de grande incidência no povo grego (CORRÊA; CORRÊA, 1992).

No início do século XIX foi levantada a suspeita de que a tuberculose pudesse ser transmitida pelo leite de vacas infectadas e, em 1846, Klenke reproduziu a doença em coelhos inoculados com leite de vacas afetadas (ANERIK, 1974; CHALMERS; JAMIESON; RAFFERTY, 1996).

Em 1865 Villemin descobriu que as tuberculosas humana e bovina, podiam ser transmitidas a cobaias e coelhos por inoculações, mas sem a certeza de ser uma doença infecciosa (KOCH, 1882) e em 1866 demonstrou definitivamente o caráter infeccioso da tuberculose caracterizando-a como uma doença específica produzida por agente inoculável transmissível do homem ou do bovino para outras espécies de animais susceptíveis (ANERICK, 1974).

O médico alemão Robert Koch, em 24 de março de 1882 isolou o bacilo, corando-o pela fucsina-anilina e denominando-o de *Tuberkelbacillen* (bacilo da tuberculose). Koch ressaltou o papel dos seres humanos e animais domésticos como as principais fontes de infecção (COLLINS; GRANGE; YATES, 1985).

M'Fadyean [1902] declarou que a causa da tuberculose intestinal de crianças na Escócia era decorrente dos "tubérculos bovinos" de vacas leiteiras e Ravenal, em 1902, obteve a primeira prova definitiva da transmissão da tuberculose bovina ao homem, através da ingestão de leite não fervido (DANKNER et al., 1993; FERREIRA NETO; BERNARDI, 1997). Com o uso da pasteurização do leite (COTTER et al., 1996; ROXO, 2008), a prevenção da doença nos indivíduos mais jovens ganhou eficiência; na Irlanda de 1983 a 1992, a tuberculose tornou-se um problema de saúde pública emergente em pessoas mais idosas sugerindo ser

decorrente da ingestão de leite não pasteurizado quando crianças (COTTER et al., 1996).

Relatórios da WHO (2009) indicaram que haviam cerca de 9,27 milhões de pessoas no mundo com tuberculose no ano de 2007. A maioria dos casos de tuberculose foi registrada na Ásia (55%) e África (31%), com pequenas proporções de casos na região leste do Mediterrâneo (6%), Europa (5%) e Américas (3%).

Em levantamento do ano de 2007, os cinco principais países, dentre cinquenta considerados, em número total de casos de tuberculose foram: Índia (2,0 milhões); China (1,3 milhões); Indonésia (0,53 milhões); Nigéria (0,46 milhões) e África do Sul (0,46 milhões). O Brasil ocupa o décimo quarto lugar, com 0,92 milhões de casos (WHO, 2009). De acordo com o Sistema de Informação e Agravos de Notificação (SINAN Net) do Ministério da Saúde / Sistema de Vigilância em Saúde (BRASIL, 2009), o Brasil confirmou aproximadamente 87 mil casos humanos para o ano de 2007. Para o ano de 2009, foram 55.557 casos confirmados de tuberculose notificados no SINAN Net (Tabela 2). Dos 9,27 milhões de casos mundiais de tuberculose em 2007, 15% (1,37 milhões) eram HIV positivo; 79% dos casos HIV positivos estavam na região da África e 11% no sudeste asiático (WHO, 2009).

Tabela 2 - Tuberculose: casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan Net – São Paulo – 2009

Ano	Diagnóstico				Total
	Pulmonar	Extrapulmonar	Pulmonar + extrapulmonar	Outros	
2000	2.394	548	129	5	3.076
2001	72.703	11.526	2.770	223	87.222
2002	76.958	12.593	3.028	262	92.841
2003	77.566	12.765	3.063	344	93.738
2004	76.895	12.716	3.043	298	92.952
2005	76.252	12.326	2.903	209	91.690
2006	71.248	11.536	2.636	204	85.624
2007	72.057	11.777	2.914	143	86.891
2008	69.566	11.363	2.838	1	83.768
2009	46.517	7.391	1.649	-	55.557

Fonte dos dados brutos: Brasil. Ministério da Saúde / SVS – Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan Net, 2009.

Chegou-se a conclusão definitiva de que bovinos tuberculosos representavam risco para a saúde pública e algo precisava ser feito, uma vez que os dados das doenças nos animais eram alarmantes em 1911. Além do bovino, que é o hospedeiro primário, o homem e diversos mamíferos domésticos e silvestres podem ser susceptíveis ao bacilo (PRITCHARD, 1988).

As perdas econômicas causadas pela tuberculose nos animais estão relacionadas principalmente a baixa produtividade e a condenação de carcaças em matadouros. Um animal tuberculoso pode apresentar de 10 a 25% de queda na capacidade produtiva, além de ser uma fonte de infecção para outros animais e para o homem (KANTOR; RITACCO, 1994; ROXO, 1996a). Além dos possíveis prejuízos ao comércio internacional, a tuberculose está amplamente distribuída no território brasileiro. A transmissão da tuberculose bovina ocorre principalmente às pessoas que lidam diariamente com os animais vivos ou aos trabalhadores dos abatedouros, os magarefes (VALENTE, 2009).

2.2 ETIOPATOGENIA DA TUBERCULOSE

Entre as espécies causadoras de doenças em homem e animais, destacam-se as incluídas no complexo *Mycobacterium tuberculosis*, que compreende o *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti* e *M. canetti* (BIER, 1978; ARANAZ et al., 1996; ABRAHÃO, 1999; TRABULSI; ALTERTHUM, 2005). Ambos, *M. tuberculosis* e *M. bovis*, são patogênicos para o homem (COUSINS; WILTON; FRANCIS, 1991).

Os agentes causadores da tuberculose nos animais são o *Mycobacterium tuberculosis* (tipo humano), *Mycobacterium bovis* (tipo bovino) e o *Mycobacterium avium* (tipo aviário) (SHINNICK; GOOD, 1994; WARDS; COLLINS; LISLE, 1995; MILTGEN et al., 2002; BRASIL, 2006), tendo diferentes características de cultura e patogenicidade (ROBINSON, 1983; THOEN, 1988; RADOSTITIS et al., 2002; SMITH, 2006).

O *Mycobacterium avium* é o causador da tuberculose em várias espécies de aves e é integrante do complexo MAIS (*Mycobacterium avium*, *M. intracellulare* e *M. scrofulaceum*), causador de linfadenite granulomatosa em suínos (BRASIL,

2006). As bactérias do complexo MAIS não são patogênicas para os bovinos e bubalinos, com exceção de *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*, causador da doença de Johne (BIET et al., 2005); entretanto, provocam reações inespecíficas à tuberculinização, dificultando o diagnóstico da tuberculose nessas espécies (BRASIL, 2006).

Apesar de em 1958, Luke ter afirmado que a tuberculose era uma doença rara nos ovinos, há relatos de casos ingleses datados de 1900 e 1902 por M'Fadyean, sendo ambos os quadros causados pelo tipo bovino. Nos Estados Unidos da América (EUA), Harshfield, Roderick e Hawn (1937), relataram 19 casos de tuberculose em ovinos de origem aviária. Em 1938, Carmichael identificou em Uganda, 12 casos de ovinos com tuberculose, provocados pelo agente bovino em 11 animais e em um deles por agente humano (*Mycobacterium tuberculosis*). Jubb e Kennedy (1993) assinalam que os ovinos e caprinos não apresentam nenhuma resistência ao bacilo, exceto, possivelmente ao do tipo humano.

Adicionalmente, há baixa ocorrência de relatos de tuberculose, na maioria das vezes observados por ocasião do abate (MALONE et al., 2003) e a suposta resistência dos ovinos à infecção causada pelo *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium tuberculosis* (CRAIG; DAVIES, 1938; FELDMAN; BAGGENSTOSS, 1938; FRANCIS, 1958; LUKE, 1958; HIEPE, 1972; KUMMENEJE; FODSTAD, 1976; ALLEN, 1988), poderiam ser atribuídos ao erro diagnóstico de outras enfermidades mais comuns que acometem os ovinos, como a linfadenite caseosa e as micobacterioses, os agentes que podem provocar lesões granulomatosas semelhantes às da tuberculose (CORRÊA; CORRÊA, 1992; SMITH, 2006), justificando-se assim que países como Nova Zelândia, Inglaterra, EUA, Marrocos e Irlanda identificassem poucos casos de tuberculose na espécie ovina, tornando-se então necessário o diagnóstico diferencial preciso para tuberculose (HARSHFIELD et al., 1937; ALLEN, 1988).

As infecções por micobactérias ocorrem na maioria das vezes, através da via digestória ou respiratória, respectivamente pela ingestão ou por inalação dos aerossóis contaminados pelos bacilos (MARCONDES, 2007).

Quando inalados, estes bacilos são fagocitados pelos macrófagos dos alvéolos pulmonares, e se multiplicam até causarem a destruição da célula hospedeira, sendo liberados e fagocitados novamente, até que ocorra a resposta imune mediada por linfócitos T, caracterizando a reação de hipersensibilidade tardia

(tipo IV). Nesta fase, inicia-se a necrose de caseificação, como forma de limitação do crescimento das micobactérias. Com o recrutamento de outras células de defesa como os macrófagos, histiócitos, células gigantes, células epitelióides, linfócitos e fibroblastos, há a formação do granuloma. O granuloma é constituído pela parte central (com necrose de caseificação) circundada pelas células de defesa recrutadas (MARCONDES, 2007). O “complexo primário” é formado a partir da lesão inicial no parênquima pulmonar e outro granuloma é formado no linfonodo satélite (COLLINS, 2002; BRASIL, 2006). Quando as micobactérias são ingeridas, a lesão inicial dá-se nos órgãos digestivos e o “complexo primário” nos linfonodos mesentéricos.

A generalização da doença pode ocorrer de duas formas: miliar (entrada de grande número de micobactérias na circulação) ou protáida (disseminação dos bacilos pela via linfática ou sanguínea) forma mais comum, atingindo com maior frequência os linfonodos (mediastínicos, mesentéricos, retrofaríngeos, parotídeos, cervicais e inguinais superficiais), pulmões e fígado (ABRAHÃO, 1999; COLLINS, 2002).

2.3 SINTOMAS DA TUBERCULOSE

Os sintomas evidenciados no quadro de tuberculose são: emagrecimento e enfraquecimento progressivo, debilidade, apetite seletivo, tosse discreta, dispnéia e descarga nasal persistente (MARSH, 1965; HIEPE, 1972; JENSEN; SWIFT, 1982; SMITH; SHERMAN, 1994; AYELE et al., 2004; PUGH, 2005; SMITH, 2006). Usualmente a doença apresenta uma evolução crônica com efeito debilitante, porém pode assumir em alguns casos, um caráter agudo e ter curso rápido (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1988; KANTOR; RITACCO, 1994; HAAGSMA, 1995).

Nos ovinos, é uma enfermidade insidiosa, progressiva e de caráter crônico com evolução longa, podendo se desenvolver por muitos meses a anos (JENSEN; SWIFT, 1982). A inespecificidade dos sintomas da infecção causada pelo *Mycobacterium bovis* pode causar a não percepção da infecção nos ovinos, sendo então considerados perigosos à saúde dos demais animais e seres humanos (HIEPE, 1972; JENSEN; SWIFT, 1982; SMITH; SHERMAN, 1994; SMITH, 2006).

Os sintomas específicos do trato respiratório são mais comuns, tendo forma variável. Os ovinos infectados apresentam: tosse crônica e discreta; dificuldade respiratória nos casos em que as lesões atingiram os lobos pulmonares e a pleura (HIEPE, 1972; JENSEN; SWIFT, 1982; SMITH, 2006); ruídos pulmonares com presença de crepitação e sibilos; dispnéia ou taquipnéia nos casos de estágio terminal da doença (PUGH, 2005; SMITH, 2006). Úlceras intestinais e diarréias podem estar associadas aos quadros de tuberculose quando a porta de entrada do agente for a via digestiva (MARSH, 1965; SMITH, 2006).

2.4 PREVALÊNCIA

Proporcionalmente a grande prevalência da tuberculose nos bovinos, há um pequeno número de relatos isolados de tuberculose em ovinos (M'FADYEAN, [1902]; CORDES et al., 1981; ALLEN, 1988; MALONE et al., 2003), gerando controvérsia quanto a importância da doença nos ovinos.

A prevalência da doença nos bovinos, zoonose causada pelo *Mycobacterium bovis*, é maior em países em desenvolvimento e menor nos países desenvolvidos, onde programas de erradicação estão avançados, deflagrados no início do século XX (DOLPHIN; RAVIGLIONE; KOCHI, 1994). A erradicação dessa doença foi atingida em vários países; Dinamarca em 1980; Holanda, Finlândia e Suíça em 1995; Alemanha e Luxemburgo em 1997; Áustria e algumas regiões da Itália em 1999; França em 2001 e Bélgica em 2003. Outros países desenvolvidos ainda enfrentam problemas para a completa erradicação. Nos EUA, no final de 2007, 49 Estados (dos 50) eram livres, sendo o Estado de Michigan o único que ainda apresentava animais reagentes (UNITED STATES OF AMERICA, 2008). O Reino Unido, devido à presença do texugo europeu (espécie protegida), hospedeiro da bactéria e transmissor aos animais de produção, vem tendo dificuldades na erradicação (PAVLIK, 2006).

Há estimativas mundiais de que 70% dos sistemas de produção de bovinos estejam em áreas de alta prevalência de tuberculose e aproximadamente 17% em áreas livres (KANTOR; RITACCO, 2006). Na América Latina e Caribe existem áreas com prevalência que ultrapassa 1% (BRASIL, 2006). Com relação à

tuberculose bovina no Brasil, os escassos dados de notificação oficiais de 1989 a 1998, indicavam uma prevalência média nacional de 1,3% de animais reagentes à tuberculina (BRASIL, 2006). Belchior (2001) encontrou prevalência geral de 5% de rebanhos com animais reagentes, subindo para 15% no universo das propriedades leiteiras, com algum grau de mecanização da ordenha, no estado de Minas Gerais.

Na Nova Zelândia no ano de 1981, testes de 597 ovinos que pastavam com um rebanho bovino com tuberculose, apontou pelo teste intradérmico simples, reatividade de 108 animais, com 61% de lesões sugestivas de tuberculose à necropsia de 70 animais abatidos (DAVIDSON; ALLEY; BEATSON, 1981). Cordes et al. (1981), também na Nova Zelândia, isolaram *Mycobacterium bovis* de 32 ovinos de um total de 43 animais abatidos com lesões suspeitas de tuberculose, provenientes de um rebanho de 15.000 animais de uma fazenda com histórico de tuberculose em bovinos e marsupiais silvestres.

No período de 1986 a 1987, dos 9,9 milhões de cordeiros e 1,97 milhões de ovinos adultos abatidos nesse país, 35 animais apresentaram lesões sugestivas de tuberculose, porém sem o isolamento de *Mycobacterium bovis* (ALLEN, 1988). Na Irlanda do Norte em 1991, dos 65 mil ovinos abatidos e submetidos à inspeção, 22 animais apresentaram lesões sugestivas de tuberculose, porém sem confirmação histopatológica e bacteriológica (MALONE et al., 2003).

Davidson, Alley e Beatson (1981) pontuaram que um teste intradérmico simples realizado em 597 ovinos indicou 108 animais reativos após 72 horas. Cordes et al. (1981) recuperou o bacilo *Mycobacterium bovis* de 32 (74,4%) dos 43 ovinos com lesões características de tuberculose, de um rebanho de 15.000 ovinos. Em relato recente, Javed et al. (2010) realizou um levantamento de 2002 a 2006 no Paquistão, sobre a porcentagem de ovinos e caprinos reativos ao PPD bovino e aviário, conforme protocolo padrão da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) de 2004, com a extrapolação dos valores bovinos segundo Ameni et al. (2008). Os resultados coletados apontaram que 86% das propriedades de ovinos estudadas continham animais reativos, sendo eles um total de 2,4%.

Diferentemente das considerações de Cordes et al. (1981) onde indicavam que os ovinos são susceptíveis a infecções pelo bacilo *Mycobacterium bovis*, Javed et al. (2010) afirma que há uma possibilidade de resistência genética de alguns ovinos à tuberculose, porém Sharp (2007) argumentou sobre a raridade da ocorrência da tuberculose em ovinos, não pela resistência natural dos ovinos ao

bacilo da tuberculose, mas sim devido a falta de oportunidade de exposição às infecções, decorrente de fatores ambientais e de manejo dos rebanhos.

Os rebanhos estudados por Davidson, Alley e Beatson (1981) e por Cordes et al. (1981) indicavam o pastejo de ovinos em áreas comuns a rebanhos bovinos persistentemente infectados com o *Mycobacterium bovis*. A mesma consideração foi feita por Javed et al. (2010), que observaram que ovinos mantidos junto aos bovinos tiveram maior porcentagem de reação. Essa possibilidade sugere que os pequenos ruminantes adquirem a infecção a partir dos bovinos e eles próprios não dispersam a doença. Porém segundo o autor, estudos moleculares necessitam ser feitos para confirmarem essa suspeita (JAVED et al., 2010).

2.5 DIAGNÓSTICO, CONTROLE E PREVENÇÃO DA TUBERCULOSE

A tuberculose causada por *Mycobacterium bovis* é clinicamente indistinguível daquela causada por *Mycobacterium tuberculosis* e a baciloscopia do escarro humano, metodologia empregada usualmente no Brasil para o diagnóstico da doença no homem, é ineficaz para distinguir o bacilo humano do bacilo bovino. Essa discriminação somente se torna possível pelo emprego de meios de cultivo específicos, como o meio de Stonebrink, isento de glicerol, tóxico para o cultivo de *Mycobacterium bovis* (LATINI et al., 1990; KANTOR; RITACCO, 1994; USABIAGA, 2001).

Testes imunoalérgicos aplicados ao diagnóstico da tuberculose em bovinos e bubalinos são mundialmente difundidos e aceitos, não ocorrendo o mesmo para os pequenos ruminantes (caprinos e ovinos), devido a inexistência de consenso nos valores padrão a serem utilizados (CORDES et al., 1981; DAVIDSON ALLEY; BEATSON, 1981; JENSEN; SWIFT, 1982; MALONE et al., 2003).

O diagnóstico presuntivo da tuberculose bovina é realizado por meio de testes tuberculínicos. Tais testes foram desenhados para determinar a infecção espécie-específica pelo *M. bovis*. Por essa razão, a inoculação intradérmica de pequenas quantidades de antígenos micobacterianos gera em 24-72 horas uma reação inflamatória local naqueles animais que responderam imunologicamente à infecção prévia por *Mycobacterium bovis*. O teste tuberculínico também é utilizado

na espécie ovina para o diagnóstico da tuberculose (HIEPE, 1972; CORDES et al., 1891).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) lançou em 10 de janeiro de 2001 o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), com o objetivo de diminuir a prevalência e a incidência de novos casos de brucelose e tuberculose, assim como criar propriedades certificadas que ofereçam ao consumidor produtos de baixo risco sanitário, visando promover a qualidade dos produtos de origem animal oferecidos ao consumidor e contribuir para modernizar as cadeias produtivas do leite e da carne (BRASIL, 2006).

Silva et al. (2006) desenvolveram experimentalmente, em condições brasileiras, a padronização do alérgoteste da tuberculina para caprinos e o mesmo ocorreu para a espécie ovina (CYRILLO et al., 2007). Corrêa (2008) efetuou o estudo da reação ao PPD conforme a localização corpórea do alérgoteste à tuberculina em caprinos, indicando que as melhores regiões de realização do teste tuberculínico são a abdominal e torácica dorsais e cervical caudal.

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) em bovinos e bubalinos no Brasil recomenda o teste tuberculínico para a identificação dos animais infectados. Em bovinos da pecuária leiteira, emprega-se o Teste Cervical Simples – TCS (terço médio do pescoço) como teste de triagem para a identificação de animais positivos, e para os animais da pecuária de corte, o Teste da Prega Caudal – TPC, ambos com a tuberculina bovina. Decorridos 60 a 90 dias da triagem os animais poderão ser submetidos ao exame confirmatório com o Teste Cervical Comparativo – TCC, que pode ser empregado tanto em animais suspeitos, como em positivos no teste de triagem. Quando da ocorrência de animais positivos no exame confirmatório esses animais serão encaminhados de imediato (até 30 dias) para eutanásia, mas, se os resultados forem inconclusivos, poderão ser re-testados após um intervalo de 60 a 90 dias (BRASIL, 2006), condenando-se, então, ao abate os animais que reagirem novamente de forma inconclusiva a este teste.

Em 2004, foi aprovado no Brasil o regulamento técnico do Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO) que tem por objetivo “controlar ou erradicar a ocorrência de doenças de caprinos e ovinos, por meio de ações sanitárias e de vigilância epidemiológica definidas pelo Departamento de Defesa Animal e executadas pelos serviços oficiais e médicos veterinários

cadastrados” (BRASÍLIA, 2004), porém ainda sem contemplar a questão da tuberculose nos pequenos ruminantes. Conforme os técnicos do MAPA (BRASÍLIA, 2004) “Não existem dados sobre tuberculose ovina e caprina no Brasil que justifiquem a implantação de medidas específicas visando ao controle sistemático da doença em pequenos ruminantes”.

Os testes de tuberculina em ovinos, em alguns países, eram realizados somente para determinar o valor da venda dos animais. A prova era efetuada no membro posterior e a medição feita com o auxílio de um compasso especial, às 72 e às 96 horas. Os ovinos que apresentassem um aumento de pele superior a 2 mm eram considerados positivos à prova. Recomendava-se em concomitância, quando os animais eram positivos ao teste tuberculínico que fossem submetidos à necropsia (CORDES et al., 1981; MALONE et al., 2003). Alguns autores destacam a possibilidade da realização do alérgoteste em ovinos na pele da face interna do membro posterior, acreditando que se obtenha uma melhor resposta para a prova (CORDES et al., 1981; DAVIDSON; ALLEY; BEATSON, 1981; JENSEN; SWIFT, 1982).

Davidson, Alley e Beatson (1981) submeteram ovinos da Nova Zelândia a testes com tuberculina sintética produzida com o *Mycobacterium tuberculosis*; os testes foram feitos na pele da parte interna do membro posterior injetando-se 0,1 mL da tuberculina sendo a leitura realizada 72 horas após aplicação, com a observação do aumento de volume no local da aplicação. Devido à falta de padrões para análise da resposta tuberculínica, considerava-se qualquer tipo de inchaço como sinal de animal reativo (HIEPE, 1972; DAVIDSON; ALLEY; BEATSON, 1981; MALONE et al., 2003). Hiepe (1972) observou que a região ano-caudal em ovinos, é a mais sensível e reativa à tuberculina do que a região cervical, pois as reações tuberculínicas foram de uma a duas vezes maiores que aquelas da região cervical.

Não há, todavia, padrões validados para a interpretação da resposta à prova de tuberculina comparativa em ovinos criados em condições brasileiras. Além deste fato, a literatura apresenta divergência quanto ao local ideal da superfície corpórea para a realização dessa prova em ovinos.

A tuberculose animal é de notificação obrigatória, merecendo medidas sanitárias de controle inclusive em pequenos ruminantes.

3 OBJETIVOS

Tendo em vista a importância do tema, a pobreza de dados nacionais sobre a tuberculose em ovinos e a necessidade de aprofundamento de estudos das técnicas de diagnóstico pertinentes, este trabalho teve por objetivos:

- Avaliar a resposta imunoalérgica cutânea ao PPD bovino em diferentes regiões corpóreas dos ovinos, para determinar o melhor local de aplicação.
- Verificar a correlação entre as doses e o melhor local de aplicação.
- Determinar o melhor momento de leitura do teste simples para o melhor local de aplicação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Com base e adaptação da metodologia utilizada por Mota (2003) e por Corrêa (2008) para a determinação da intensidade de resposta alérgica à tuberculina segundo o local de aplicação em bovinos e caprinos respectivamente, estabeleceu-se o delineamento experimental deste estudo.

4.1 ANIMAIS

Foram selecionados 15 ovinos adultos hípidos perante avaliação clínica (SMITH; SHERMAN, 1994; PUGH, 2005) e com resposta negativa ao Teste Cervical Comparativo (TCC) conforme estabelecido por Cyrillo et al. (2007), procedentes de uma propriedade de Descalvado (São Paulo).

Os animais foram mantidos, durante toda a fase experimental, em piquetes durante o dia, e fechados em aprisco durante a noite, recebendo água "*ad libitum*" e alimentação a base de concentrados e volumosos.

4.2 EXAME FÍSICO

Para a seleção e inclusão dos ovinos nos grupos experimentais, durante a sensibilização experimental e o período de avaliação da prova tuberculina (às 0h, 12h, 24h, 48h, 72h e 96 horas), todos os animais foram submetidos ao exame físico (SMITH; SHERMAN, 1994; PUGH, 2005), através da avaliação do estado geral, das mucosas aparentes e da monitoração das funções vitais (frequências dos batimentos cardíacos, dos movimentos respiratórios e ruminais, intensidade do tônus ruminal e temperatura corporal), segundo critérios estabelecidos por Dirksen, Gründer e Stöber (1993).

O objetivo destas avaliações foi garantir a higidez dos animais utilizados e observar indícios de possíveis reações adversas decorrentes da sensibilização ou da tuberculinização.

4.3 EXAMES COMPLEMENTARES

Todos os exames foram realizados no Laboratório do Hospital Veterinário (HOVET) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, em Pirassununga (São Paulo), para a confirmação da higidez dos animais a serem incluídos no experimento (Apêndice A).

A determinação do volume globular foi realizada utilizando-se do micrométodo aplicado a uma amostra sanguínea colhida em tubo de Vacutainer® com EDTA e processada em microtubo capilar padrão, submetido à centrifugação com 11.000 rpm (rotações por minuto) durante 5 minutos (BIRGEL, 1982).

A determinação das proteínas plasmáticas totais por refratometria do plasma obtido do microtubo capilar, pelo método de Jain (1986).

A contagem de ovos por grama de fezes (OPG) pelo método de flutuação de ovos leves em solução salina saturada, utilizando-se câmaras de Mc Master (UENO; GONÇALVES, 1998).

4.4 TESTE TUBERCULÍNICO

Neste experimento, para avaliação e triagem inicial dos ovinos foram utilizados os valores padrões do teste tuberculínico, Teste Cervical Comparativo (TCC), estabelecidos por Cyrillo et al. (2007) (Quadro 1).

Teste Cervical Comparativo (reação)	Diferença $\Delta B - \Delta A$ (mm)	Resultado em relação à tuberculose
$\Delta B < \Delta A$	< 0	negativo
$\Delta B \geq \Delta A$	0,00 a 0,99	negativo
$\Delta B > \Delta A$	1,00 a 1,99	inconclusivo
$\Delta B > \Delta A$	$\geq 2,00$	positivo

Nota: ΔB = diferença das medidas de espessura de pele frente à reação ao PPD bovino
 ΔA = diferença das medidas de espessura de pele frente à reação ao PPD aviário

Quadro 1 - Valores de referência do Teste Cervical Comparativo para ovinos, padronizado por Cyrillo et al. (2007) – São Paulo – 2009

4.5 DERIVADO PROTÉICO PURIFICADO (PPD)

Foram utilizados derivados protéico purificado (PPD) aviário e bovino contendo 0,5 mg/mL e 1,0 mg/mL de tubérculo-proteínas respectivamente (Figuras 1 e 2), todos produzidos pelo Instituto Biológico, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), localizado em São Paulo (SP), partida nº 001/09 e 001/09 respectivamente.

O PPD aviário foi utilizado somente na triagem inicial dos ovinos que foram submetidos ao TCC. Para as demais etapas experimentais, utilizou-se apenas o PPD bovino.



Figura 1 - Derivado protéico purificado (PPD) aviário contendo 0,5 mg/mL de tubérculo-proteína, partida 001/09, Instituto Biológico, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) – São Paulo – 2009



Figura 2 - Derivado protéico purificado (PPD) bovino contendo 1,0 mg/mL de tubérculo-proteína, partida 001/09, Instituto Biológico, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) – São Paulo – 2009

4.6 SENSIBILIZANTE E SENSIBILIZAÇÃO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS

Imediatamente após a leitura do TCC utilizado na triagem inicial, em todos os animais negativos foram aplicados 0,5 mL do sensibilizante bovino (Figura 3), de concentração 4,0 mg/mL, pela via intramuscular, no membro posterior, conforme orientação do Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO/MG (Anexo A).

O inóculo sensibilizante padrão (nº IB 01/09 – fabricação em maio/2009 e vencimento em maio/2011) foi preparado pelo LANAGRO/MG do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), localizado em Pedro Leopoldo, Minas Gerais, consistindo em uma suspensão de *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅ preparada seguindo recomendações do Centro Panamericano de Zoonoses (CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS, 1988).



Figura 3 - Inóculo inativado de *Mycobacterium bovis* AN₅, com concentração de 4,0 mg/mL, partida IB 01/09, Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO/MG, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – São Paulo – 2009

4.7 TUBERCULINIZAÇÃO

No presente estudo, foram realizadas duas etapas experimentais: a primeira para avaliar o melhor local de aplicação e a segunda, a partir do local selecionado, a dose a ser aplicada. Em ambos os momentos, houve um período de dessensibilização de 60 dias entre as aplicações.

Após a contenção e identificação do animal, o local da aplicação intradérmica do PPD bovino foi demarcado por tricotomia e a espessura da dobra da pele, em cada local, foi medida com o auxílio de cutímetro (Hauptner[®] mola n° 33865) antes (0h), e 12h, 24h, 48h, 72h e 96 horas após aplicação.

Partindo do princípio de que todos os animais eram reativos (sensibilizados ao PPD bovino), os resultados foram obtidos calculando-se a diferença de aumento das dobras de pele provocadas pelas inoculações do PPD bovino (Δ PPD bovino), nos momentos avaliados.

4.7.1 Primeira etapa

Na primeira etapa do experimento, foram feitas as aplicações de PPD bovino (0,1 mL/dose) com seringas de insulina descartáveis (marca BD[®]), em cinco diferentes regiões corpóreas do mesmo animal, do lado esquerdo: cervical média, torácica dorsal, abdominal dorsal, prega da cauda e face medial proximal do membro pélvico – face interna da coxa (Figura 4).

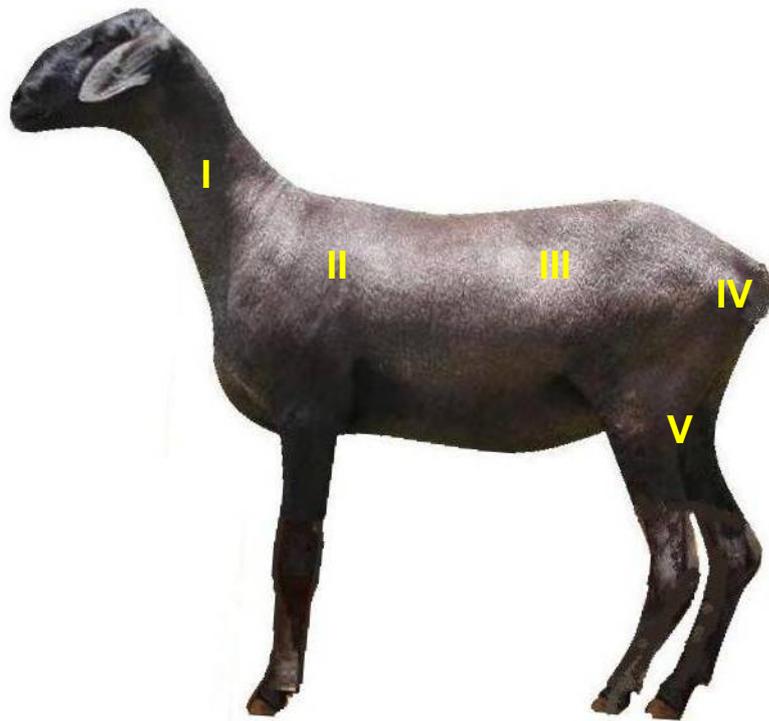


Figura 4 - Figura esquemática assinalando as regiões da superfície corpórea do animal que foram submetidas à verificação da região corpórea ideal para tuberculinização. Região (I) cervical média, (II) torácica dorsal, (III) abdominal dorsal, (IV) prega da cauda e (V) face medial proximal do membro pélvico – face interna da coxa. Lado esquerdo: aplicação do PPD bovino; lado direito: aplicação da solução fisiológica – São Paulo – 2009

Cada animal teve o lado direito como o grupo controle. O procedimento descrito anteriormente também foi adotado nas aplicações feitas com solução fisiológica (0,1 mL/dose).

4.7.2 Segunda etapa

Dos quinze ovinos iniciais foram selecionados doze para constituir aleatoriamente três grupos de quatro animais. Para a determinação da dose ideal, considerou-se o local de melhor resultado para a tuberculinização realizada na primeira etapa.

O procedimento descrito anteriormente também foi adotado nas aplicações feitas com as três diferentes doses de PPD bovino (lado esquerdo) e de

solução fisiológica (lado direito): 0,05 mL; 0,1 mL e 0,2 mL. Cada dose testada foi aplicada em um grupo experimental.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a verificação da normalidade dos resultados entre os grupos controle e experimental, obtidos durante as fases de determinação da localização corpórea com melhor alergoreação e melhor dose a ser aplicada, utilizou-se o teste de normalidade de Anderson-Darling, considerando a diferença significativa, nos casos em que “p” foi menor que 0,05. Os parâmetros com comportamento normal foram comparados entre si através do teste t-pareado e os parâmetros com comportamento não-normal foram comparados entre si através do teste Mann-Whitney.

A interpretação estatística dos resultados foi efetuada utilizando-se o método preconizado por Zar (1984). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Minitab[®] 15 (Minitab[®] Inc., 2007).

5 RESULTADOS

Durante todo o período experimental, os ovinos não apresentaram alterações notáveis no estado geral ou nas mucosas aparentes. As funções vitais e outros parâmetros considerados na avaliação, exceto as possíveis reações de hipersensibilidade cutânea, mantiveram-se dentro dos limites fisiológicos de variação estabelecidos para a espécie ovina descritos por Smith e Sherman (1994) e Pugh (2005).

5.1 PRIMEIRA ETAPA

Os resultados individuais do teste tuberculínico expressos em espessura da dobra de pele, em milímetros, nas regiões cervical média, torácica dorsal, abdominal dorsal, prega da cauda e face medial proximal do membro pélvico, podem ser visualizados nos apêndices B a F. Os resultados da reação imunoalérgica do teste tuberculínico das regiões avaliadas, também expressos em espessura da dobra de pele, em milímetros, podem ser visualizados nos apêndices G a K.

5.1.1 Espessura da pele normal nas diferentes regiões

A espessura da pele inicial (0h) nos diferentes locais de aplicação foi calculada e as médias obtidas de ambos os lados (lateral e contra-lateral) do animal estão demonstrados na tabela 3 e gráfico 1.

Tabela 3 - Valores (mm) da espessura da pele de ovinos, conforme o lado (esquerdo e direito) e a região corpórea – São Paulo – 2009

Lado	Região corpórea				
	Cervical média	Torácica dorsal	Abdominal dorsal	Prega da cauda	Face interna da coxa
Direito	1,88	2,05	1,93	1,75	1,45
Esquerdo	1,82	2,01	1,91	1,87	1,43
Média	1,85	2,03	1,92	1,81	1,44
DP	0,53	0,69	0,43	0,36	0,37

Nota: DP = desvio padrão

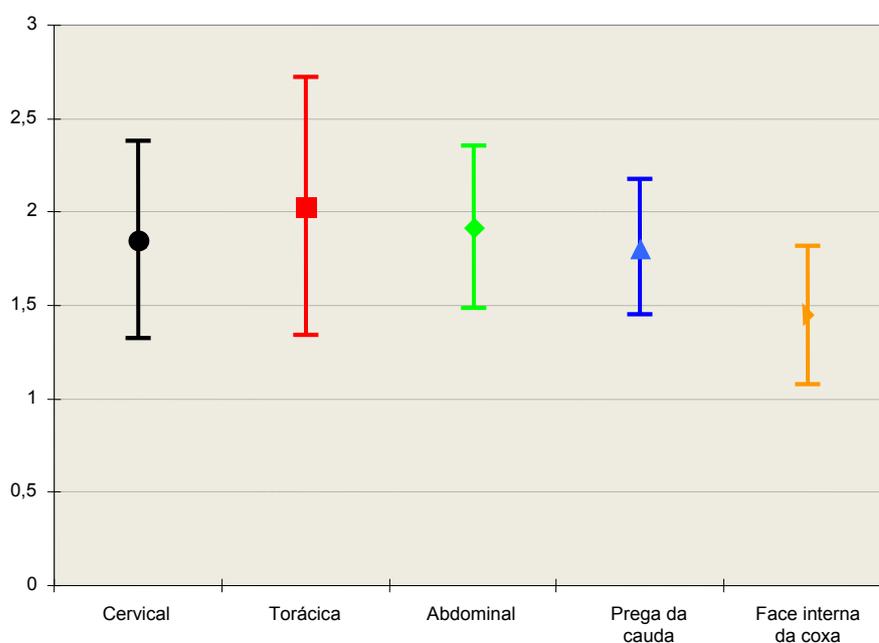


Gráfico 1 - Médias e desvios padrão da espessura de pele (mm) de ovinos segundo a região corpórea – São Paulo – 2009

Não houve diferença estatística ($p < 0,05$) nas mensurações feitas entre os lados direito e esquerdo do animal, para o mesmo local.

Na tabela 3 podemos observar uma variação de espessura de pele entre os diferentes locais de aplicação no momento 0h (antes da aplicação intradérmica), porém essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

5.1.2 Espessura da pele após aplicação nas diferentes regiões corpóreas de ovinos

No presente estudo constatou-se que as regiões cervical média, abdominal dorsal e da prega da cauda foram as que ofereceram mais fácil acesso, favorecendo a aplicação; a região torácica dorsal, embora de fácil acesso, teve a aplicação dificultada quando o animal não era contido adequadamente, levando a um tensionamento da pele, prejudicando a leitura efetuada com o cutímetro. Um fator que deve ser considerado nas regiões cervical média, torácica e abdominal dorsais é a necessidade da tricotomia nas raças lanadas, procedimento adicional que poderia ser considerado uma desvantagem quando comparados às regiões da prega da cauda e da coxa.

Na aplicação da solução fisiológica ou do PPD bovino na região da face interna da coxa, foi observado a dificuldade decorrente da menor espessura de pele que, por ser muito pequena, favorecia aos erros de aplicação, subcutânea ao invés de intradérmica, e de mensuração.

5.1.2.1 Mensuração após aplicação de solução fisiológica

Na observação da tabela 4, detecta-se a variação dos valores obtidos (mm) com a mensuração da pele após a aplicação da solução fisiológica nos diferentes momentos por região ($p < 0,05$).

Para os momentos 12h e 96 horas, houve diferenças estatísticas ($p = 0,04$ e $p = 0,05$, respectivamente) nas diferentes regiões estudadas, provavelmente decorrentes dos baixos valores da mensuração e da descaracterização do processo inflamatório.

Quando se avalia, nas diferentes regiões de aplicação, os valores obtidos por momento (Tabela 4 e Gráfico 2), não se observa diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Estes resultados corroboram com a inocuidade da solução fisiológica utilizada como controle.

Tabela 4 - Valores (mm) das médias, desvios padrão e “p” (pelo teste de normalidade) da espessura de pele obtidos com a aplicação da solução fisiológica em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme a região e os momentos de leitura – São Paulo – 2009

Região corpórea	Momentos de leitura					p
	12h (p.i) Δ s. f.	24h (p.i) Δ s. f.	48h (p.i) Δ s. f.	72h (p.i) Δ s. f.	96h (p.i) Δ s. f.	
Cervical média	1,07 ± 0,49	1,13 ± 0,41	1,09 ± 0,49	1,09 ± 0,50	1,08 ± 0,50	0,16
Torácica dorsal	1,03 ± 0,70	0,91 ± 0,50	0,89 ± 0,54	0,91 ± 0,48	0,95 ± 0,56	0,14
Abdominal dorsal	0,96 ± 0,33	0,90 ± 0,37	0,81 ± 0,30	0,91 ± 0,30	0,95 ± 0,31	0,30
Prega da cauda	0,09 ± 0,67	0,01 ± 0,52	0,03 ± 0,59	0,25 ± 0,47	-0,05 ± 0,44	0,39
Face interna da coxa	0,02 ± 0,31	-0,06 ± 0,25	-0,05 ± 0,24	-0,01 ± 0,32	-0,19 ± 0,34	0,37
p	0,04*	0,09	0,15	0,17	0,05*	

Nota: p.i. = pós injeção
h = horas
Δ s. f. = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação de solução fisiológica
p = probabilidade calculada pela aplicação do teste estatístico
* = distribuição não normal

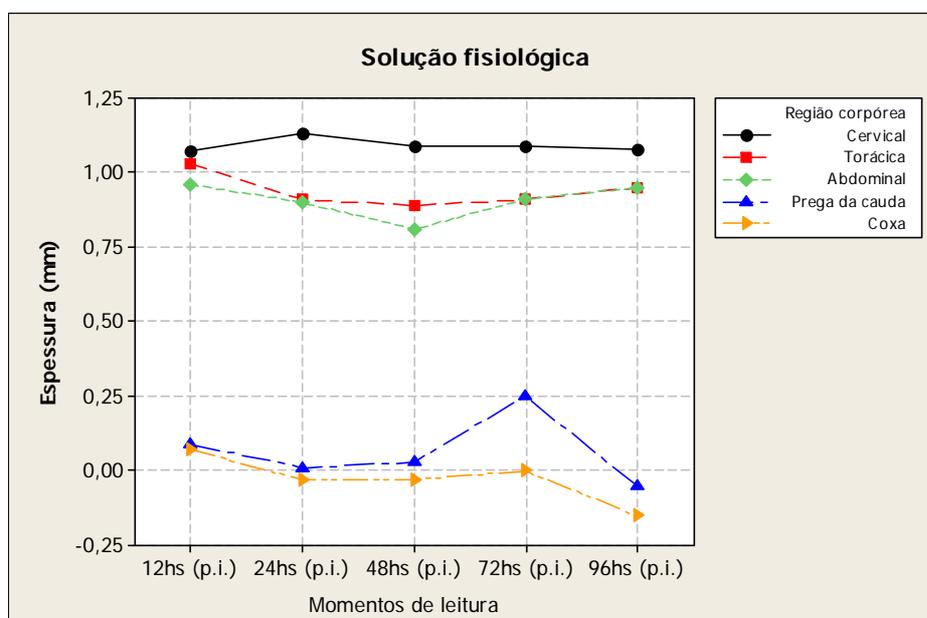


Gráfico 2 - Valores (mm) médios da espessura de pele obtidos com a aplicação da solução fisiológica em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme a região e os momentos de leitura – São Paulo – 2009

5.1.2.2 Mensuração após aplicação de PPD bovino

Quando os diferentes momentos são avaliados (Tabela 5), observa-se diferença estatisticamente significativa para as 48h e 72 horas ($p=0,02$ e $p=0,03$, respectivamente), indicando que houve uma maior intensidade da alergoreação nos diferentes locais de aplicação, em relação à pele normal.

Tabela 5 - Valores (mm) das médias, desvios padrão e “p” (pelo teste de normalidade) da espessura de pele obtidos com a aplicação do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme a região e os momentos de leitura – São Paulo – 2009

Região corpórea	Momentos de leitura					p
	12h (p.i) Δ PPD b	24h (p.i) Δ PPD b	48h (p.i) Δ PPD b	72h (p.i) Δ PPD b	96h (p.i) Δ PPD b	
Cervical média	1,80 ± 0,39	1,85 ± 0,38	2,33 ± 1,16	2,31 ± 0,97	2,21 ± 0,94	0,13
Torácica dorsal	1,93 ± 0,76	1,73 ± 0,48	2,72 ± 0,94	2,73 ± 0,85	2,61 ± 0,88	0,09
Abdominal dorsal	1,53 ± 0,59	1,57 ± 0,49	2,30 ± 1,10	2,38 ± 1,21	2,19 ± 1,19	0,11
Prega da cauda	0,66 ± 0,56	1,23 ± 0,62	2,17 ± 1,40	2,10 ± 1,33	1,75 ± 1,16	0,48
Face interna da coxa	0,15 ± 0,36	0,21 ± 0,48	0,10 ± 0,25	0,07 ± 0,39	-0,11 ± 0,41	0,44
p	0,33	0,15	0,02*	0,03*	0,07	

Nota: p.i. = pós injeção

h = horas

Δ PPD b = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação de derivado protéico purificado

p = probabilidade calculada pela aplicação do teste estatístico

* = distribuição não normal

Quando se consideram os locais de aplicação, não se observa diferença estatística ($p<0,05$), indicando que há um comportamento semelhante do processo inflamatório em todas as regiões (Gráfico 3).

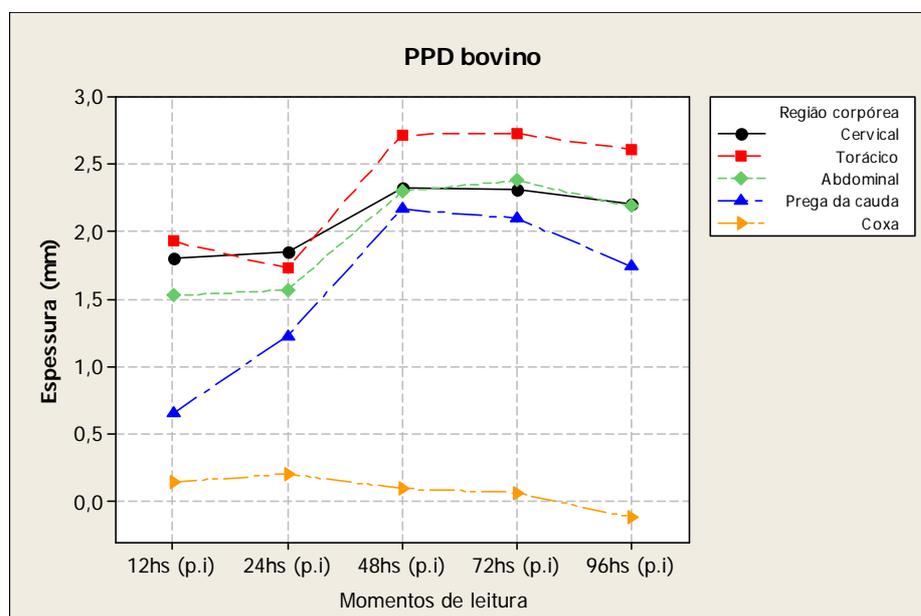


Gráfico 3 - Valores (mm) médios da espessura de pele obtidos com a aplicação do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme a região e os momentos de leitura – São Paulo – 2009

Correlacionando os diferentes momentos de leitura para as regiões corpóreas estudadas, a partir das análises estatísticas do teste t-pareado para as distribuições normais e teste de Mann-Whitney para as distribuições não normais (Tabela 6), obteve-se que:

- Na região cervical média não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), exceto entre os momentos 12h *versus* 48h e 72 horas, e 24h *versus* 72 horas.
- Nas regiões torácica e abdominal dorsais houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), exceto entre os momentos 12h *versus* 24 horas, 48h *versus* 72h e 96 horas para ambas as regiões; para a região abdominal dorsal, houve também diferença estatística ($p = 0,01$) para o momento 72h *versus* 96 horas.
- Na região da prega da cauda, não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$ no teste de Mann-Whitney), exceto entre os momentos 12h *versus* 24h-48h-72h-96 horas.

- Na região da face interna da coxa, não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$), exceto entre os momentos 12h-24h-48h-72 horas *versus* 96 horas.
- Os melhores momentos de leitura ($p < 0,01$) para todas as regiões estudadas estão entre 48h e 72 horas.

Tabela 6 - Valores de “p” (pelo teste de normalidade) do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, segundo a região e os momentos de leitura – São Paulo – 2009

Cervical média	Momentos de leitura			
	12h (p.i.)	24h (p.i.)	48h (p.i.)	72h (p.i.)
24h (p.i.)	0,68			
48h (p.i.)	0,04* §	0,06		
72h (p.i.)	0,03* §	0,05* §	0,84	
96h (p.i.)	0,07	0,08	0,33	0,24
Torácica dorsal	12h (p.i.)	24h (p.i.)	48h (p.i.)	72h (p.i.)
24h (p.i.)	0,39			
48h (p.i.)	0,02* §	0,00* §		
72h (p.i.)	0,01* §	0,00* §	0,94	
96h (p.i.)	0,03* §	0,00* §	0,27	0,12
Abdominal dorsal	12h (p.i.)	24h (p.i.)	48h (p.i.)	72h (p.i.)
24h (p.i.)	0,74			
48h (p.i.)	0,00* §	0,01* §		
72h (p.i.)	0,01* §	0,01* §	0,61	
96h (p.i.)	0,02* §	0,02* §	0,51	0,01* §
Prega da cauda	12h (p.i.)	24h (p.i.)	48h (p.i.)	72h (p.i.)
24h (p.i.)	0,01* §			
48h (p.i.)	0,00* §	0,13		
72h (p.i.)	0,00* §	0,07	0,87	
96h (p.i.)	0,00* §	0,37	0,51	0,33
Face interna da coxa	12h (p.i.)	24h (p.i.)	48h (p.i.)	72h (p.i.)
24h (p.i.)	0,61			
48h (p.i.)	0,48	0,22		
72h (p.i.)	0,28	0,18	0,70	
96h (p.i.)	0,01* §	0,00* §	0,01* §	0,02* §

Nota: p.i. = pós injeção
h = horas
* = distribuição não normal
§ = valores de $p < 0,05$ pelo teste de normalidade

Observando-se a tabela 7, às 72 horas de leitura, se observa diferença estatisticamente significativa para a região torácica dorsal com as regiões cervical média ($p=0,01$) e prega da cauda ($p=0,03$). Também se observa diferenças estatisticamente significantes na região da face interna da coxa quando comparada aos demais locais ($p=0,00$).

Tabela 7 - Valores de “p” (pelo teste de normalidade) obtidos através da leitura às 72 horas após aplicação do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, segundo as regiões – São Paulo – 2009

72h	Região corpórea			
	Cervical média	Torácica dorsal	Abdominal dorsal	Prega da cauda
Torácico dorsal	0,01[§]			
Abdomina dorsal	0,52	0,06		
Prega da cauda	0,34*	0,03*[§]	0,48*	
Face interna da coxa	0,00[§]	0,00[§]	0,00[§]	0,00*[§]

Nota: p.i. = pós injeção
h = horas
* = distribuição não normal (teste de Mann-Whitney)
§ = valores de $p < 0,05$ pelo teste de normalidade

Baseado nos valores de “p” obtidos às 48h e 72 horas (Tabela 6), da regiões torácica dorsal ($p=0,94$), pela diferença estatística às 72 horas de leitura entre a região torácica dorsal com as regiões cervical média ($p=0,01$) e prega da cauda ($p=0,03$) (Tabela 7) e pela maior média de espessura da dobra de pele da região torácica dorsal (média=2,73) às 72 horas (Apêndice H), optou-se por essa região como local de eleição para assim proceder-se a aplicação de diferentes doses de PPD bovino proposta na segunda etapa no presente estudo.

5.2 SEGUNDA ETAPA

Os resultados individuais e da reação frente às diferentes doses de PPD bovino (0,05 mL; 0,1 mL e 0,2 mL) expresso em espessura da dobra de pele, em

milímetros, da região torácica dorsal, obtidos das leituras efetuadas nos momentos antes (0 hora) e 12h, 24h, 48h, 72h e 96 horas após aplicação, podem ser visualizados no apêndice L e apêndice M, respectivamente.

5.2.1 Espessura da pele após aplicação de diferentes volumes de solução fisiológica na região torácica

A intensidade individual da reação expressa em espessura da dobra da pele da região torácica, em milímetros, frente à aplicação de solução fisiológica, se encontra no apêndice M; e as médias, desvios padrão e os valores de “p”, pelo teste de normalidade, podem ser visualizadas na tabela 8 e gráfico 4.

Tabela 8 - Valores (mm) das médias, desvios padrão e “p” (pelo teste de normalidade) da espessura de pele da região torácica dorsal obtidos com a aplicação da solução fisiológica em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme as doses e os momentos de leitura – São Paulo – 2009

Dose	Momentos de leitura					p
	12h (p.i) Δ s. f.	24h (p.i) Δ s. f.	48h (p.i) Δ s. f.	72h (p.i) Δ s. f.	96h (p.i) Δ s. f.	
0,05 mL	0,50 ± 0,14	1,05 ± 0,31	0,60 ± 0,41	0,40 ± 0,41	0,30 ± 0,36	0,275
0,1 mL	0,63 ± 0,22	1,43 ± 0,49	1,05 ± 0,27	0,78 ± 0,36	0,50 ± 0,22	0,637
0,2 mL	0,63 ± 0,46	1,23 ± 0,49	0,90 ± 0,36	0,80 ± 0,46	0,75 ± 0,44	0,384
p	0,057	0,626	0,487	0,085	0,609	

Nota: p.i. = pós injeção
h = horas
Δ s. f. = solução fisiológica
DP = desvio padrão
p = probabilidade calculada pela aplicação do teste estatístico

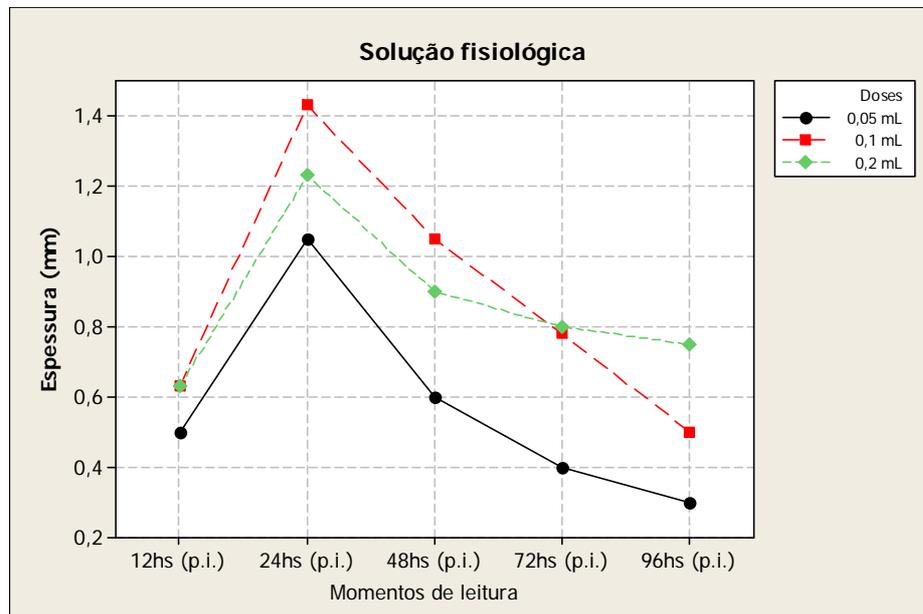


Gráfico 4 - Valores (mm) médios da espessura de pele da região torácica dorsal obtidos com a aplicação de solução fisiológica em ovinos experimentalmente sensibilizados *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme as doses e os momentos de leitura – São Paulo – 2009

A partir dos valores obtidos do grupo controle (Tabela 8 e Gráfico 4), podemos observar que não houve diferença estatística ($p < 0,05$) para os momentos e doses de solução fisiológica, devido a sua inocuidade.

5.2.2 Espessura da pele após aplicação de diferentes volumes de PPD bovino na região torácica

A intensidade individual da reação expressa em espessura da dobra da pele da região torácica, em milímetros, frente à aplicação do PPD bovino, se encontra no apêndice M; e as médias, desvios padrão e os valores de “p”, pelo teste de normalidade, podem ser visualizadas na tabela 9 e gráfico 5.

Tabela 9 - Valores (mm) das médias, desvios padrão e “p” (pelo teste de normalidade) da espessura de pele da região torácica dorsal obtidos com a aplicação do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme as doses e os momentos de leitura – São Paulo – 2009

Dose	Momentos de leitura					p
	12h (p.i)	24h (p.i)	48h (p.i)	72h (p.i)	96h (p.i)	
	Δ PPD b	Δ PPD b	Δ PPD b	Δ PPD b	Δ PPD b	
0,05 mL	1,98 ± 0,70	3,35 ± 0,24	4,20 ± 1,48	4,63 ± 2,25	4,10 ± 2,54	0,289
0,1 mL	2,20 ± 0,12	3,25 ± 0,82	4,97 ± 2,21	4,73 ± 2,18	4,15 ± 1,85	0,561
0,2 mL	2,23 ± 1,17	2,85 ± 1,58	4,03 ± 2,88	3,98 ± 2,81	3,28 ± 2,17	0,547
p	0,143	0,249	0,220	0,158	0,090	

Nota: p.i. = pós injeção
 Δ PPD b = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação do derivado protéico purificado bovino
 DP = desvio padrão
 p = probabilidade calculada pela aplicação do teste estatístico

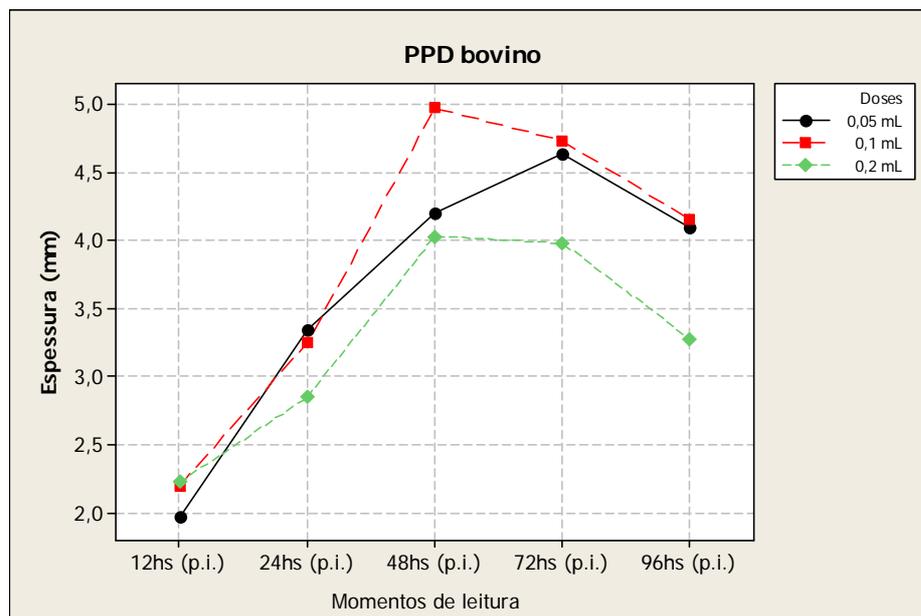


Gráfico 5 - Valores (mm) médios da espessura de pele da região torácica dorsal obtidos com a aplicação do PPD bovino em ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme as doses e os momentos de leitura – São Paulo – 2009

Na tabela 9 e gráfico 5, pode observar-se que não houve diferença estatística ($p < 0,05$) para os momentos e doses de PPD bovino utilizadas. Em

comparação aos valores do grupo controle (Tabela 8), podemos identificar que as médias da espessura de pele da região torácica dorsal foram maiores em todas as doses e momentos de leitura.

6 DISCUSSÃO

Até o momento, a literatura evidencia que as pesquisas direcionam-se principalmente ao estudo da tuberculose em bovinos e bubalinos, sendo poucos os trabalhos que avaliaram a alergoreação do PPD bovino em pequenos ruminantes (CORDES et al., 1981; DAVIDSON; ALLEY; BEATSON, 1981; JENSEN; SWIFT, 1982; MALONE et al., 2003).

Neste trabalho foi possível estudar as diferentes respostas alérgicas à tuberculina em ovinos (*Ovis aries*) em diferentes regiões corpóreas, frente às diferentes doses de PPD utilizada.

A importância deste trabalho reside particularmente em suprir a escassez de pesquisas brasileiras sobre o assunto, uma vez que em geral foram focadas na avaliação em outras espécies. Mundialmente, a tuberculose é reconhecida como zoonose de suma importância (LEITE; TELAROLLI JÚNIOR, 1997), considerada uma doença infecciosa crônica e transmissível entre os mamíferos.

6.1 PRIMEIRA ETAPA

Não houve diferença estatística de espessura da pele normal entre os diferentes locais de aplicação ou entre os lados direito e esquerdo do animal, para o mesmo local ($p < 0,05$), embora a região de menor espessura tenha sido a face interna da coxa, média=1,44 (Tabela 3), podendo tal fato levar a uma dificuldade de aplicação e mensuração do teste de PPD bovino.

Comportamento similar foi observado nos trabalhos desenvolvidos com a espécie bovina (MOTA, 2003) e caprina (CORRÊA, 2008). Estes dados possibilitam a livre escolha do lado do corpo na hora da aplicação intradérmica, entretanto, se forem seguidas as normas determinadas pelo PNCEBT (BRASIL, 2006), a aplicação do PPD deverá ser feita no lado esquerdo do animal.

Embora no teste tuberculínico, as mensurações feitas nos vários momentos exijam a exclusão da medida de espessura da pele obtida às 0h, a maior

ou menor espessura pode ter reflexo na facilidade ou dificuldade de aplicação do antígeno.

No presente estudo constatou-se que as regiões cervical, abdominal e da prega da cauda foram as que ofereceram mais fácil acesso, favorecendo a aplicação; a região torácica, embora de fácil acesso, teve a aplicação dificultada quando o animal não era contido adequadamente, levando a um tensionamento da pele, prejudicando a leitura efetuada com o cutímetro. Um fator que deve ser considerado nas regiões cervical, torácica e abdominal é a necessidade da tricotomia nas raças lanadas, procedimento adicional que poderia ser considerado uma desvantagem quando comparados às regiões da prega da cauda e da coxa.

Em ovinos, Hiepe (1972) utilizou a região ano-caudal; Cordes et al. (1981), Davidson, Alley e Beatson (1981) aplicaram o PPD bovino na região medial da coxa. Em nossos estudos, foi observada a dificuldade da aplicação da solução fisiológica ou do PPD bovino nas regiões da prega da cauda e face interna da coxa, decorrente da menor espessura de pele que, por ser muito pequena, favorecia aos erros de aplicação, subcutânea ao invés de intradérmica, e de mensuração.

Javed et al. (2010) utilizaram o teste cervical comparativo (TCC) em seus estudos. Silva et al. (2006); Marcondes (2007); Cyrillo et al. (2007); Pinheiro et al. (2007); Benesi et al. (2008); Almeida (2009); Pignata et al. (2010) e Higino (2010) adotaram a região cervical para a aplicação do PPD em pequenos ruminantes, justificados pela ausência de padronização de condutas.

Diferentemente encontrado nos estudos de Hiepe (1972); Cordes et al. (1981), Davidson, Alley e Beatson (1981), que utilizaram as regiões ano-caudal e região medial da coxa, os melhores locais de aplicação do PPD bovino em nossos estudos foram as regiões torácica dorsal ($p=0,94$), cervical média ($p=0,84$) e abdominal dorsal ($p=0,61$). Achados semelhantes foram observados nos trabalhos de Mota (2003) e Corrêa (2008), onde seus estudos demonstraram que as melhores regiões foram a cervical média e abdominal e torácica dorsais e cervical caudal.

A evolução da intensidade da reação observada após a aplicação de PPD bovino intradérmicamente em ovinos está em concordância com as afirmações de Tizard (2004), que destaca que os animais infectados por *Mycobacterium bovis* apresentam uma resposta inflamatória no teste tuberculínico que poderia atingir maior intensidade entre 24h e 72 horas após o desencadeamento da reação de hipersensibilidade tardia.

De forma semelhante ao encontrado no presente estudo, Suther, Franti e Page (1974) e Doherty et al. (1996) determinaram que a reação obteve maior intensidade após 48 e 72 horas, não observando variação na resposta tuberculínica em bovinos para esses momentos.

Silva et al. (2006), em seu estudo com caprinos e Cyrillo et al. (2007) em ovinos, determinaram que o momento de maior intensidade foi constatado às 48 horas, no entanto sem diferença estatística em relação àquela observada às 72 horas (± 6 horas). De forma diversa, Sahoo (1951) e Roxo (1996b), em seus trabalhos respectivamente com bovinos e bubalinos, evidenciaram que a reação apresentava uma maior intensidade às 72 horas.

Adicionando os autores que trabalharam com bovinos (ROSWURM; KONYHA, 1973; LESSLIE; HEBERTY, 1975; DUFFIELD; NORTON; STREETEN, 1985; RANDUZ; LEPPER, 1985; WOOD et al., 1992; GONZÁLEZ LLAMAZARES et al., 1999; RAGASSA; AMENI, 2001; MOTA, 2003), bubalinos (ROXO, 1996b), caprinos (LESSLIE; FORD; LINZELL, 1960; THOREL; GAUMONT, 1977; COUSINS et al., 1993; GUTIÉRREZ; TELLECHEA; GARCÍA MARÍN, 1998; LIÉBANA et al., 1998; ARELLANO et al., 1999; SEVA et al., 2002; SILVA et al., 2006; PINHEIRO et al., 2007; BENESI et al., 2008) e ovinos (DAVIDSON; ALLEY; BEATSON, 1981; MALONE et al., 2003), e obedecendo às recomendações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006) para bovinos e bubalinos, adotou-se às 72 horas como momento padrão de leitura do teste tuberculínico.

6.2 SEGUNDA ETAPA

Para a espécie ovina, até o momento, não foi encontrada na literatura consultada, relatos de testes avaliando-se dose de PPD versus reação imunoalérgica, em diferentes momentos. Este tema merece estudos mais consistentes uma vez que há divergências na qualidade dos PPDs utilizados internacionalmente; há países (LEPPER; MACKAY; LORD, 1979; KANTOR et al., 1984) onde a concentração de unidades protéicas é diferente da utilizada no Brasil (1,0 mg/mL), seguidor das normas da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE).

Os valores da reação imunoalérgica obtidos com o PPD bovino (Tabela 9) foram maiores quando comparados com os valores obtidos para a mesma região (primeira etapa) na dose de 0,1 mL (Tabela 5). Tal fato poderia ser atribuído ao maior tempo de sensibilização do animal, e ao fato da segunda exposição ao PPD bovino no intervalo de 60 dias. Para as espécies bovina e bubalina, o PNCEBT (2006) recomenda um intervalo mínimo de 60 dias entre os testes. Convém ressaltar que a região escolhida também apresentou significância $p=0,09$ quando comparadas as demais regiões (Tabela 5).

Na ausência de diferenças significantes ($p<0,05$) dos valores obtidos na comparação entre doses e momentos de leitura da região escolhida, recomenda-se a leitura com 72 horas e a dose de 0,1 mL, para não conflitar com as diretrizes do PNCEBT para bovinos e bubalinos. A dose de 0,2 mL representaria um maior consumo de antígeno, além de que a superexposição dos animais ao PPD possa levar a um aumento do período de dessensibilização, superior a 60 dias, como se observa em bovinos. A dose 0,05 mL poderia levar a uma dificuldade de aplicação e maiores erros, já que se trata de uma dose muito pequena.

7 CONCLUSÃO

Nas condições de realização do referido trabalho, os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões:

- Todas as regiões corpóreas estudadas apresentaram reação imunoalérgica ao PPD bovino.
- O melhor local de aplicação foi a região torácica dorsal, seguida da cervical média e abdominal dorsal, embora não tenha sido observada significância estatística.
- Há restrições quanto à aplicação nas regiões da prega da cauda e face interna da coxa.
- Embora não haja diferença estatística entre 48 e 72 horas, recomenda-se a leitura da reação tuberculínica às 72 horas como tempo padrão para leitura final, à semelhança de bovinos e bubalinos.
- Não houve diferença estatística entre a resposta obtida com uso das diferentes doses e momentos de leitura para a região torácica dorsal. Muito embora, não se tenha avaliado o impacto dessas no período de dessensibilização imunoalérgica à tuberculina nesses animais.

REFERÊNCIAS¹

ABRAHÃO, R. M. C. Tuberculose humana causada pelo *Mycobacterium bovis*: considerações gerais e a importância dos reservatórios animais. **Archives Veterinary Science**, v. 4, p. 5-15, 1999.

ALLEN, G. M. Tuberculosis in sheep – a very rare disease. **Surveillance**, v. 15, n. 5, p. 8-9, 1988.

ALMEIDA, C. A. S. **Avaliação do Teste Cervical Comparativo no diagnóstico imunoalérgico da tuberculose em caprinos (*Capra hircus*)**. 2009. 88 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

AMENI, G.; HEWINSON, G.; ASEFFA, A.; YOUNG, D.; VORDERMEIER, M. Appraisal of interpretation criteria for the comparative intradermal tuberculin test for diagnosis of tuberculosis in cattle in Central Ethiopia. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 15, p. 1272–1276, 2008.

ANERIK, A. I. Estudio experimental sobre el diagnóstico de la tuberculosis bovina mediante pruebas de cultivo e inoculación animal. **Ciencia Veterinaria**, v. 4, p. 137-200, 1974.

ARANAZ, A.; LIÉBANA, E.; MATEOS, A.; DOMINGUEZ, L.; VIDAL, D.; DOMINGO, M.; GONZOLEZ, O.; RODRIGUEZ-FERRI, E. F.; BUNSCHOTEN, A. E.; VAN EMBDEN, J. D. A.; COUSINS, D. Spacer oligonucleotide typing of *Mycobacterium bovis* strains from cattle and other animals: a tool for studying epidemiology of tuberculosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 11, p. 2734-2740, 1996.

ARELLANO, R. B.; CASILLAS, I. C. R.; APARÍCIO, E. D.; ELIZONDO, G. V.; FLORES, M. A. S. Diagnóstico de tuberculosis em hatos de caprinos empleando la prueba intradérmica doble comparada y cultivo bacteriológico. **Técnica Pecuaria em México**, v. 37, n. 1, p. 65-68, 1999.

AYELE, W. Y.; NEILL, S. D.; ZINSSTAG, J.; WEISS, M. G.; PAVLINK, L. Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa. **Institute Journal Tuberculosis Lung Disease**, v. 8, n. 8, p. 924-937, 2004.

¹ Conforme as Diretrizes para apresentação de Dissertações, Teses e Trabalhos Acadêmicos na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. 4. ed. rev. atual. ampl. São Paulo: FMVZ-USP, 2003. 84p.

BELCHIOR, A. P. C. **Prevalência, distribuição regional e fatores de risco da tuberculose bovina em Minas Gerais**. 2001. 55 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

BENESI, F. J.; PINHEIRO, S. R.; MAIORKA, P. C.; SAKAMOTO, S. M.; ROXO, E.; BENITES, N. R.; BIRGEL JR., E. H.; GREGORY, L. Relato de caso: tuberculose em caprino (*Capra hircus*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, p. 217-220, 2008.

BIER, O. Micobactérias. In: _____. **Bacteriologia e imunologia**. 19. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1978. p. 585-610.

BIET, F.; BOSCHIROLI, M. L.; THOREL, M. F.; GUILLOTEAU, L. A. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). A review. **Veterinary Research**, v. 36, p. 411-436, 2005.

BIRGEL, E. H. Hematologia clínica veterinária. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 2-62.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) – Manual técnico**. Brasília: MAPA/DAS/DSA, 2006. 184 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan Net**, 2009. Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>>. Acesso em: 04 dez. 2009.

BRASÍLIA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa DAS nº 6 de 8 de janeiro de 2004. Regulamento técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose**, 2004. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=5253>>. Acesso em: 25 jun. 2010.

CARMICHAEL, J. Tuberculosis of sheep in Uganda. **The Veterinary Record**, v. 50, n. 36, p. 1138-1147, 1938.

CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS. **Manual de normas y procedimientos técnicos para la bacteriología de la tuberculosis. Parte I: La muestra. El exame microscopio**. Buenos Aires: CEPANZO, 1988. 30 p. il. (Notas técnicas, 26/rev1).

CHALMERS, J. W. T.; JAMIESON, A. F.; RAFFERTY, P. An outbreak of bovine tuberculosis in two herds in South West Scotland: veterinary and human public health response. **Journal of Public Health Medicine**, v. 18, n. 1, p. 54-58, 1996.

COLLINS, C. H.; GRANGE, J. M.; YATES, M. D. **Organization and practice in tuberculosis bacteriology**. Great Britain: Butterworth, 1985. p. 1-6.

COLLINS, M. T. Tuberculosis. In: FUQUAY, J.; ROGINSKI, H.; FOX, P. **Encyclopedia of dairy sciences**. Diseases of dairy animals, infectious. 1. ed. Washington: Academic Press, 2002. p. 783-786.

CORDES, D. O.; BULLIANS, J. A.; LAKE, D. E.; CARTER, M. E. Observations on tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 29, n. 4, p. 60-62, 1981.

CORRÊA, J. G. Z. **Estudo da resposta alérgica à tuberculina em caprinos (*Capra hircus*) experimentalmente sensibilizados, em diferentes regiões corpóreas**. 2008. 81 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades Infeciosas dos Mamíferos Domésticos - Tuberculose**. 2. ed. Rio de Janeiro: Médica e Científica, 1992. p. 317-337.

COTTER, T. P.; SHEEHAN, S.; CRYAN, B.; O'SHAUGHNESSY, E.; CUMMINS, H.; BREDIN, C. P. Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in human in the south-west region of Ireland: is there a relationship with infection prevalence in cattle? **Tubercle and Lung Disease**, v. 77, p. 545-548, 1996.

COUSINS, D. V.; FRANCIS, B. R.; CASEY, R.; MAYBERRY, C. Mycobacterium bovis infection in a goat. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n. 7, p. 262-263, 1993.

COUSINS, D. V.; WILTON, S. D.; FRANCIS, B. R. Use of DNA amplification for the rapid identification of *Mycobacterium bovis*. **Veterinary Microbiology**, v. 27, p. 187-195, 1991.

CRAIG, J. F.; DAVIES, G. O. Tuberculosis in sheep. **The Veterinary Record**, v. 50, n. 36, p. 1156-1157, 1938.

CYRILLO, F. C. **Padronização do alérgoteste de tuberculina em ovinos (*Ovis aries*)**. 2006. 92 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CYRILLO, F. C.; LEAL, M. L. R.; MOTTA, P. M. P. C.; SINHORINI, I. L.; VASCONCELLOS, S. A.; PINHEIRO, S. R.; BENESI, F. J. Teste de tuberculização em ovinos (*Ovis aries*) experimentalmente sensibilizados. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 3, p.191-197, 2007.

DANKNER, W. M.; WAECKER, N. J.; ESSEY, M. A.; MOSER, K.; THOMPSON, M.; DAVIS, C. E. *Mycobacterium bovis* infections in San Diego: a clinicoepidemiologic study of 73 patients and historical review of a forgotten pathogen. **Medicine, Baltimore**, v. 72, p. 11-37, 1993.

DAVIDSON, R. M.; ALLEY, M. R.; BEATSON, N. S. Tuberculosis in a flock of sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 29, n. 4, p. 1-2, 1981.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D. ; STÖBER, M. **Exame clínico dos bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 98-162.

DOHERTY, M. L.; BASSET, H. F.; QUINN, P. J.; DAVIS, W. C.; KELLY, A. P.; MONAGHAN, M. L. A sequential study of the bovine tuberculin reaction. **Immunology**, v. 87, p. 9-14, 1996.

DOLPHIN, P. J.; RAVIGLIONE, M. C.; KOCHI, A. Global tuberculosis incidence and mortality during 1990-2000. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 2, n. 72, p. 213-220, 1994.

DUFFIELD, B. J.; NORTON, J. H.; STREETEN, T. A. Application of the comparative cervical test to the identification of false positive reactions to the bovine tuberculin caudal fold test. **Australian Veterinary Journal**, v. 62, n. 12, p. 424-426, 1985.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Faostat – Production**, 2010. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 04 fev. 2010.

FELDMAN, W. H.; BAGGENSTOSS, A. H. The residual infectivity of the primary complex of tuberculosis. **American Journal of Pathology**, v. 14, p. 473-490, 1938.

FERREIRA NETO, J. S.; BERNARDI, F. O controle da tuberculose bovina. **Higiene Alimentar**, v. 11, n. 47, p. 9-13, 1997.

FRANCIS, J. **Tuberculosis in animal and man: a study in comparative pathology**. London: Cassell, 1958. 357 p.

GONZÁLEZ LLAMAZARES, O. R.; GUTIÉRREZ MARTIN, C. B.; ALVAREZ NISTAL, D.; DE LA PUENTE REDONDO, V. A.; DOMÍNGUEZ RODRÍGUEZ, L.; RODRÍGUEZ FERRI, E. F. Field evaluation of the single intradermal cervical tuberculin test and the interferon-gamma assay for detection and eradication of bovine tuberculosis in Spain. **Veterinary Microbiology**, v.70, p. 55-66, 1999.

GUTIÉRREZ, M.; TELLECHEA, J.; GARCÍA MARÍN, J. F. Evaluation of cellular and serological diagnostics tests for the detection of Mycobacterium bovis-infected goats. **Veterinary Microbiology**, v. 62, p. 281-290, 1998.

HAAGSMA, J. **Bovine tuberculosis**. Geneve: Office International des Épizooties, 1995. 11 p. (Manual Amendment 2).

HARSHFIELD, G. S.; RODERICK, L. M.; HAWN, M. C. Avian tuberculosis. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 91, p. 323-329, 1937.

HIEPE, H. T. **Enfermedades de la oveja**. Zaragoza: Acribia, 1972. 391 p.

HIGINO, S. S. S. **Isolamento de micobactérias em caprinos e ovinos abatidos no semiárido da Paraíba, Brasil**. 2010. 50 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2010.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Banco de dados agregados**, 2009. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 04 dez. 2009.

JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221 p.

JAVED, M. T.; MUNIE, A.; SHAHID, M.; SEVERI, G.; IRFAN, M.; ARANAZ, A.; CAGIOLA, M. Percentage of reactor animals to single comparative cervical intradermal tuberculin (SCCIT) in small ruminants in Punjab Pakistan. **Acta Tropical**, v. 113, p. 88-91, 2010.

JENSEN, R.; SWIFT, B. L. **Disease of sheep**. 2. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1982. 330 p.

JUBB, V. F.; KENNEDY, P. C. **Pathology of domestic animals**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 1993. 747 p

KANTOR, I. N.; ODEÓN, A. C.; STEFFAN, P. E.; AUZA, M. J.; MADRID, C. R.; MARCHEVSKY, N. Sensitivity of the cervical and caudal fold tuberculin tests with *Mycobacterium bovis* in infected cattle of Argentina. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 3, n. 1, p. 137-150, 1984.

KANTOR, I. N.; RITACCO, V. An update on bovine tuberculosis programmes in Latin America and the Caribbean countries. **Veterinary Microbiology**, v. 112, p. 111-118, 2006.

KANTOR, I. N.; RITACCO, V. Bovine tuberculosis in Latin America and the Caribbean: current status control and eradication programs. **Veterinary Microbiology**, v. 40, n. 1/2, p. 5-14, 1994.

KOCH, R. Die atologie der tuberkulose. **Berliner Klinischen Wochenschrift**, v. 15, p. 221-230, 1882.

KUMMENEJE, K.; FODSTAD, F. H. A. A case of avian tuberculosis in sheep. **Acta Veterinary Scandinavia**, v. 17, n. 3, p. 286-292, 1976.

LATINI, M. D. S.; LATINI, O. A. ; LOPEZ, M. L. ; CECCONI, J. O. Tuberculosis bovinas en seres humanos. **Revista Argentina del Torax**, v. 51, p. 13-16, 1990.

LEITE, C. Q. F.; TELAROLLI JÚNIOR, R. Aspectos epidemiológicos a clínicos da tuberculose. **Revista da Faculdade de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 18, p. 17-28, 1997.

LEPPER, A. W. D.; MACKAY, D. J.; LORD, V. Comparison of the efficiency of 4 doses of bovine PPD tuberculin in cattle and guinea pigs: recommendations for the most suitable dose for use in the single caudal fold test in cattle. **Australian Veterinary Journal**, v. 55, p. 507-513, 1979.

LESSLIE, I. W.; FORD, E. J. H.; LINZELL, J. L. Tuberculosis in goats caused by the avian type tubercule bacillus. **Veterinary Record**, v. 72, n. 2, p. 25-27, 1960.

LESSLIE, I. W.; HEBERTY, C. N. Comparasion of the specificity of human and bovine tuberculin PPD for testing cattle. 3 – National trial in Great Britan. **Veterinary Record**, v. 9, p. 338-341, 1975.

LIÉBANA, E.; ARANAZ, A.; URQUÍA, J. J.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L. Evaluation of the gamma-interferon assay for eradication of tuberculosis in goat herd. **Australian Veterinary Journal**, v.76, n.1, p.50-53, 1998.

LUKE, D. Tuberculosis in the horse, pig, sheep and goat. **The Veterinary Record**, v. 70, n. 26, p. 529-536, 1958.

M'FADYEAN, J. Tuberculosis of the sheep. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v. 13, p. 59-60, [1902].

MALONE, F. E.; WILSON, E. C.; PLLOCK, J. M.; SKUCE, R. A. Investigation into an outtuberculosereak of tuberculosis in a flock of sheep in contact with tuberculosis cattle. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 50, n. 10, p. 500-504, 2003.

MARCONDES, A. G. **Micobacterioses de ovinos (*Ovis aries*) do Estado de São Paulo, Brasil. Correlação entre teste imunoalérgico, cultivo e histopatológico**. 2007. 93 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MARSH, H. **Newsom's sheep diseases**. 3. ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1965. 456 p.

MILTGEN, J.; MORRILLON, M.; KOECK, J. L.; VARNEROT, A.; BRIANT, J. F.; NGUYEN, G. Two cases of pulmonary tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *canetti*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, p. 1350-1352, 2002.

MOTA, P. M. P. C. **Tuberculose bovina: diagnóstico e controle**. 2003. 48 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2003.

PAVLIK, I. The experience of new European Union Member States concerning the control of bovine tuberculosis. **Veterinary Microbiology**, v. 112, p. 221-230, 2006.

PIGNATA, W. A.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; ALMEIDA, C. A.; DANTAS, A. F. M.; REMÍGIO, F. R. Tuberculose em caprinos no semi-árido brasileiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 2, p. 339-342, 2010.

PINHEIRO, S. R.; ROXO, E.; ALMEIDA, C. A. S.; VASCONCELLOS, S. A.; SILVANTOS, M. C. C.; MAIORKA, P. C.; MELVILLE, A. M. P.; BENITES, N. R.; PAES, A. C. Surto de tuberculose em caprinos (*Capra hircus*). In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA – ENAPAVE, 13., 2007, Mato Grosso do Sul. **Anais...** 2007. Disponível em: <www.eqrural.ufms.br/enapave>. Acesso em: 04 dez. 2009.

PRITCHARD, D. G. A century of bovine tuberculosis 1888-1988, conquest and controversy. **Journal of Comparative Pathology**, v. 99, p. 357-399, 1988.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. 513 p.

RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária – um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.

RAGASSA, A.; AMENI, G. Sensitivity and specificity of single intradermal tuberculin test at the cervical and caudal folds in zabu cattle in Ethiopia. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 71, n. 4, p. 325-327, 2001.

RANDUZ, B. L.; LEPPER, A. W. D. Suppression of the skin reactivity to bovine tuberculin in repeat test. **Australian Veterinary Journal**, v. 62, n. 6, p. 191-194, 1985.

ROBINSON, R. A. Symposium on sheep and goat medicine. **The Veterinary Clinics of North America – Large Animal Practice**, v. 5, n. 3, p. 500-502, 1983.

ROSWURM, J. D.; KONYHA, L. D. The comparative-cervical tuberculin test as an aid to diagnosing bovine tuberculosis. In: ANNUAL MEETING OF THE UNITED STATES ANIMAL HEALTH ASSOCIATION, 77., 1973. Saint Louis. **Proceedings...**, 1973. p. 368-389.

ROXO, E. Tuberculose bovina. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.63, p. 91-97, 1996a.

ROXO, E. **Avaliação da resposta imunoalérgica cutânea à tuberculina em bubalinos (*Bubalus bubalis*)**. 1996. 57 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996b.

ROXO, E. **Tuberculose humana e animal**. 2008. Artigo em hipertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_1/tuberculose/index.htm>. Acesso em: 04 fev. 2010.

ROXO, E.; VASCONCELLOS, S. A.; PINHEIRO, S. R.; BARUSELLI, P. S.; MACRUZ, R.; LEITE, C. Q. F. Evaluation of tuberculin skin reaction in buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 65, n. 1, p. 81-92, 1998.

SAHOO, B. N. Tuberculosis and tuberculin with special reference to PPD tuberculin - a review. **Indian Veterinary Journal**, v. 27, n. 5, p. 319-331, 1951.

SÃO PAULO (Estado). Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo. **Decreto nº 45.781 de 27 de abril de 2001**. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/servicos/index.php?action=view&cod=21>>. Acesso em: 25 jun. 2010.

SÃO PAULO (Estado). Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo. **Programa Estadual de Sanidade dos Caprinos e Ovinos**. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/programas/index.php?action=view&cod=22&ar=1&nm=Sanidade%20Animal>>. Acesso em: 25 jun. 2010.

SEVA, J.; MENCHÉN, V.; NAVARRO, J. A.; PALLARÉS, F. J.; VILLAR D.; VÁSQUEZ F.; BERNABÉ, A. Caprine tuberculosis eradication program: An immunohistochemical study. **Small Ruminant Research**, n. 46, p. 107-114, 2002.

SHARP, J. M. Mycobacterial infections. In: AITKEN, I. D. **Diseases of sheep**. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. p. 168-173.

SHINNICK, T. M.; GOOD, R. C. Mycobacterial taxonomy. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 13, n. 11, p. 884-901, 1994.

SILVA, P. E. G.; PINHEIRO, S. R.; LEAL, M. L. R.; BERTAGNON, H. G.; MOTA, P. M. P. C.; SINHORINI, I. L.; VASCONCELLOS, S. A.; BENESI, F. J. Teste de tuberculização em caprinos (*Capra hircus*) experimentalmente sensibilizados. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 880-886, 2006.

SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2006. 1728 p.

SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. **Goat Medicine**. 1. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. 620 p.

SUTHER, B. E. ; FRANTI, C. E. ; PAGE, H. H. Evaluation of a comparative intradermal tuberculin test in California dairy cattle. **American Journal Veterinary Research**, v. 35, n. 3, p. 379-387, 1974.

THOEN, C. O. Tuberculosis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 193, n. 9, p. 1045-1048, 1988.

THOREL, M. F.; GAUMONT, R. Contribution à l'étude des réactions sérologiques et allergiques chez la chèvre sensibilisée par des antigènes tuberculeux. **Bulletin de L'Académie Vétérinaire de France**, v.50, p.549-568, 1977.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 7. ed. Philadelphia: Saunders, 2004. 494 p.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 780 p.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4. ed. Salvador: Japan International Cooperation Agency. 1999. 143 p.

UNITED STATES OF AMERICA. United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. 2007 United States animal health report. **Agriculture Information Bulletin**, n. 803. 198 p. 2008.

USABIAGA, J. **Brucelosis y tuberculosis bovina: ¿control o eliminación?** São Paulo: OMS, 2001 (RIMS A 12/15).

VALENTE, L. C. M. **Determinantes econômicos da sanidade bovina**. 2009. 116 f. Dissertação (Mestrado em Economia Aplicada) – Departamento de Economia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

WARDS, B. J.; COLLINS, D. M.; LISLE, G. W. Detection of *Mycobacterium bovis* in tissues by polymerase chain reaction. **Veterinary Microbiology**, v. 43, p. 227-240, 1995.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing: WHO report 2009**. Geneva: World Health Organization. 2009. 303 p.

WOOD, P. R.; CORNER, L. A.; ROTHEL, J. S.; RIPPER, J. L.; FIFIS, T.; McCORMICK, B. S.; FRANCIS, B.; MELVILLE, L.; SMALL, K.; DE WITTE, K.; TOLSON, J.; RYAN, T. J.; LISLE, J. C.; COX, J. C.; JONES, S. L. A field evaluating of serological and cellular diagnostic tests for bovine tuberculosis. **Veterinary Microbiology**, v. 31, n. 1, p. 71-79, 1992.

ZAR, J. H. **Bioestatistical analysis**. 2. ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall. 1984. 450 p.

ANEXO A – Instrução de uso de inóculo inativado de *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO/MG

INÓCULO INATIVADO <i>M. bovis</i> AN5	
<p>Composição: O inóculo inativado <i>Mycobacterium bovis</i> AN₅, é uma suspensão de 4mg/mL, obtida de cultura da amostra AN₅ do <i>M. bovis</i>, em meio de cultura Lowenstein Jensen e óleo mineral, inativada sob vapor fluente por 30 minutos.</p> <p>Indicação: inóculo inativado <i>M. bovis</i> AN₅ tem a produção e distribuição controlada pelo LABORATÓRIO NACIONAL AGROPECUÁRIO - LANAGRO/MG, para uso exclusivo em:</p> <ul style="list-style-type: none"> - laboratórios: sensibilização de cobaias, para posterior avaliação de potência relativa de tuberculina. - instituições de ensino e/ou pesquisa: sensibilização de bovinos, para treinamento e capacitação de médicos veterinários em teste alérgico para diagnóstico de tuberculose. <p>Observação: Os bovinos uma vez sensibilizados, com o inóculo inativado de <i>M. avium</i> ou <i>M. bovis</i>, não poderão ser submetidos a teste tuberculínico para efeito de diagnóstico, uma vez que serão reagentes.</p> <p>Conservação: 2° a 8°C ao abrigo da luz solar.</p> <p>Validade: 02 (dois) anos após a data de fabricação.</p> <p>Apresentação: líquido, oleoso, incolor, tornando-se ligeiramente turvo após agitação.</p> <p>MODO DE USAR</p> <p>Preparo do material: Agitar o conteúdo do frasco até total solubilização do inóculo. Melhor homogeneização ocorre entre 20°C e 25°C.</p> <p>Dose/Aplicação: Bovinos: 2,5mL subcutânea (barbela). A seringa deverá ser carregada com a dose única no momento da inoculação. O animal deverá ser tuberculinizado no mínimo 60 dias após. Para obtenção de reações mais acentuadas, o animal deverá ser sensibilizado e tuberculinizado uma única vez. Cobaias: 0,5mL intramuscular (perna). Pode-se carregar a seringa com 2 doses. Para obtenção de reações satisfatórias os animais deverão ser utilizados entre 5 a 7 semanas após.</p>	<p>Responsável Técnico: ANDREA PADILHA DE ALENCAR – CRMV MG 6702</p> <p>LABORATÓRIO NACIONAL AGROPECUÁRIO - LANAGRO/MG CNPJ: 003968950062-47 Indústria Brasileira Av. Rômulo Joviano, s/nº - CP. 35 e 50 CEP: 33600-000- Pedro Leopoldo/MG Tel.: 0 xx 31 3660-9622/Fax: 0 xx 31 3661-2383 laratub-mg@agricultura.gov.br</p>

APÊNDICE A – Resultados dos exames complementares dos ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e exames complementares – São Paulo – 2009

Id. animal	Exames complementares		
	Ht (%)	pt (g/dL)	OPG
10	24	5,6	1050
14	33	6,0	200
22	13	5,4	200
41	30	6,0	750
57	30	5,6	300
59	28	5,4	600
64	24	5,8	0
68	26	5,6	400
81	30	6,0	200
89	18	4,6	1600
100	31	5,6	275
103	18	5,0	950
124	26	5,2	650
1F	28	6,2	1200
Bicudo	28	6,2	150
Dalmata	28	6,2	50

Nota: Id. = identificação
Ht = hematócrito
% = porcentagem
pt = proteínas plasmáticas totais
g/dL = grama por decilitro
OPG = ovos por grama de fezes

APÊNDICE B - Espessura da espessura da pele (mm) na região cervical média de ovinos, experimentalmente sensibilizados com uma suspensão de *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e o momento de leitura antes e após aplicação de PPD bovino e solução fisiológica – São Paulo – 2009

Identificação do animal	0h (a. i.)		12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.
10	1,30	1,30	3,90	2,90	3,00	3,00	3,80	2,30	3,50	2,50	3,20	2,40
14	2,00	2,10	4,00	3,50	3,40	3,60	5,20	2,70	5,40	2,90	4,80	3,50
22	1,30	1,30	2,80	1,80	3,20	1,90	2,40	2,80	2,00	1,80	2,00	1,40
41	2,00	2,00	3,30	3,30	3,40	3,30	3,00	3,30	3,20	3,20	3,50	3,20
57	1,70	1,50	3,70	2,90	3,80	2,90	4,00	2,70	4,20	2,90	4,10	3,10
59	1,70	1,90	3,40	2,70	3,60	3,00	3,90	3,00	4,70	3,10	4,20	3,00
64	2,10	2,10	4,20	3,70	3,90	3,50	4,20	3,80	4,10	3,70	4,00	3,50
68	2,00	2,00	3,60	3,00	3,30	3,00	3,30	2,80	3,40	2,50	3,00	2,50
81	2,00	2,00	3,50	3,20	4,00	3,50	4,20	3,50	4,00	3,40	3,80	3,60
89	1,30	1,90	3,00	3,00	3,20	3,00	3,00	3,40	3,10	3,50	3,20	3,20
100	1,90	1,60	3,50	3,50	4,30	3,20	4,70	3,30	4,70	3,50	5,20	3,20
103	0,80	0,80	1,90	1,00	2,00	1,50	1,50	1,30	2,00	1,40	2,00	1,40
1F	1,80	2,00	3,80	2,50	4,10	2,70	5,50	3,30	5,00	3,50	5,00	3,40
BICUDO	2,40	3,00	4,70	3,50	4,60	3,30	5,70	3,00	5,40	3,20	5,50	3,20
DALMATA	3,00	2,70	5,00	3,70	5,20	3,70	7,80	3,40	7,20	3,40	7,00	3,80
Média	1,82	1,88	3,62	2,95	3,67	3,01	4,15	2,97	4,13	2,97	4,03	2,96
DP	0,52	0,54	0,75	0,74	0,75	0,61	1,53	0,60	1,36	0,66	1,33	0,73
IC i	1,56	1,61	3,24	2,58	3,29	2,70	3,38	2,67	3,44	2,64	3,36	2,59
IC s	2,08	2,15	4,00	3,32	4,05	3,32	4,92	3,27	4,82	3,30	4,70	3,33

Nota: a.i. = medida da espessura da pele em mm, antes da aplicação de PPD b ou s. f.
 p.i. = medida da espessura da pele em mm, após da aplicação de PPD b ou s. f.
 PPD b = derivado protéico purificado bovino
 s. f. = solução fisiológica

h = horas
 DP = desvio padrão
 IC i = intervalo de confiança inferior (95%)
 IC s = intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE C - Espessura da espessura da pele (mm) na região torácica dorsal de ovinos, experimentalmente sensibilizados com uma suspensão de *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e o momento de leitura antes e após aplicação de PPD bovino e solução fisiológica – São Paulo – 2009

Identificação do animal	0h (a. i.)		12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.
10	1,30	1,30	3,40	3,00	3,20	2,10	4,60	2,40	4,20	2,20	4,00	2,30
14	2,30	2,00	5,50	4,00	4,20	3,00	5,60	3,20	5,40	3,20	5,40	3,20
22	1,30	1,30	3,20	2,40	2,90	2,20	2,90	2,50	3,00	2,10	2,40	1,60
41	2,00	2,20	5,00	4,00	3,90	2,80	4,40	3,20	4,00	3,10	4,20	3,30
57	1,70	2,00	4,70	3,70	3,10	2,90	5,00	3,10	5,00	3,30	4,90	3,20
59	2,00	2,00	4,20	3,70	4,40	3,50	5,00	3,20	5,70	3,40	5,40	3,20
64	2,10	2,10	3,00	3,20	4,20	3,70	4,60	3,50	4,50	3,20	4,60	3,20
68	2,00	2,00	4,00	3,50	3,20	3,20	4,00	3,00	4,00	2,70	3,90	3,00
81	2,50	2,20	3,20	2,40	3,50	3,10	4,00	3,30	4,50	3,40	4,20	3,70
89	1,60	2,00	4,00	2,50	2,70	3,30	3,30	2,70	3,50	3,20	3,60	3,20
100	1,50	1,70	3,30	2,20	3,60	3,30	4,90	3,40	5,00	3,30	5,50	3,70
103	0,80	0,80	2,30	1,70	2,40	1,50	2,20	1,50	2,20	1,50	2,20	1,50
1F	2,70	2,70	4,00	3,50	4,70	3,20	5,70	3,10	6,00	3,40	5,50	3,50
BICUDO	2,50	2,80	4,30	2,80	5,10	3,30	7,00	2,80	6,60	3,20	6,30	3,10
DALMATA	3,90	3,60	5,00	3,50	5,10	3,30	7,80	3,20	7,50	3,20	7,20	3,20
Média	2,01	2,05	3,94	3,07	3,75	2,96	4,73	2,94	4,74	2,96	4,62	2,99
DP	0,74	0,67	0,88	0,71	0,85	0,59	1,45	0,51	1,38	0,58	1,35	0,67
IC i	1,64	1,71	3,49	2,71	3,32	2,66	4,00	2,68	4,04	2,67	3,94	2,65
IC s	2,38	2,39	4,39	3,43	4,18	3,26	5,46	3,20	5,44	3,25	5,30	3,33

Nota: a.i. = medida da espessura da pele em mm, antes da aplicação de PPD b ou s. f.
 p.i. = medida da espessura da pele em mm, após da aplicação de PPD b ou s. f.
 PPD b = derivado protéico purificado bovino
 s. f. = solução fisiológica

h = horas
 DP = desvio padrão
 IC i = intervalo de confiança inferior (95%)
 IC s = intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE D - Espessura da espessura da pele (mm) na região abdominal dorsal de ovinos, experimentalmente sensibilizados com uma suspensão de *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e o momento de leitura antes e após aplicação de PPD bovino e solução fisiológica – São Paulo – 2009

Identificação do animal	0h (a. i.)		12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.
10	1,30	1,30	3,20	2,70	3,60	2,30	3,50	2,30	3,90	2,50	3,40	2,50
14	2,00	2,30	3,90	3,50	3,80	3,10	5,80	3,40	5,40	3,40	5,00	3,60
22	1,30	1,30	3,00	2,70	2,90	2,40	3,10	2,00	2,20	2,10	2,00	1,40
41	2,10	2,00	3,00	3,20	3,00	2,60	3,00	2,50	3,00	2,60	3,20	2,70
57	2,00	1,60	3,50	2,50	3,00	2,40	4,10	2,70	4,00	2,40	3,60	2,60
59	2,10	2,20	3,50	2,90	3,80	3,20	4,40	3,00	5,00	3,00	4,60	3,20
64	2,10	2,10	2,70	3,40	3,50	3,60	3,70	3,20	3,60	3,20	3,30	3,20
68	2,20	2,00	3,50	3,00	3,40	3,50	3,40	2,60	3,60	2,50	3,40	2,70
81	2,10	2,00	4,50	2,70	3,90	2,70	4,60	2,60	4,30	3,20	4,10	3,10
89	1,70	1,80	2,20	2,80	2,90	2,30	3,00	2,90	3,00	3,00	2,90	2,90
100	1,70	2,20	4,20	3,20	4,20	3,60	4,90	3,60	5,10	3,70	5,60	3,60
103	1,00	1,00	2,00	1,90	1,80	1,90	1,70	1,50	2,00	2,00	2,00	2,00
1F	2,00	2,30	3,70	2,90	3,70	2,50	5,90	2,80	6,00	3,00	5,50	3,20
BICUDO	2,30	2,30	4,20	3,20	4,00	3,20	6,50	3,00	6,00	3,00	5,80	3,20
DALMATA	2,70	2,50	4,50	2,70	4,60	3,10	5,50	2,90	7,20	3,00	7,00	3,20
Média	1,91	1,93	3,44	2,89	3,47	2,83	4,21	2,73	4,29	2,84	4,09	2,87
DP	0,44	0,44	0,77	0,40	0,68	0,54	1,33	0,53	1,48	0,48	1,45	0,59
IC i	1,69	1,71	3,05	2,69	3,13	2,56	3,54	2,46	3,54	2,60	3,36	2,57
IC s	2,13	2,15	3,83	3,09	3,81	3,10	4,88	3,00	5,04	3,08	4,82	3,17

Nota: a.i. = medida da espessura da pele em mm, antes da aplicação de PPD b ou s. f.
 p.i. = medida da espessura da pele em mm, após da aplicação de PPD b ou s. f.
 PPD b = derivado protéico purificado bovino
 s. f. = solução fisiológica

h = horas
 DP = desvio padrão
 IC i = intervalo de confiança inferior (95%)
 IC s = intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE E - Espessura da espessura da pele (mm) na região da prega da cauda de ovinos, experimentalmente sensibilizados com uma suspensão de *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e o momento de leitura antes e após aplicação de PPD bovino e solução fisiológica – São Paulo – 2009

Identificação do animal	0h (a. i.)		12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.
10	1,80	1,80	2,20	2,00	3,40	1,70	3,40	2,10	3,10	2,00	3,00	2,00
14	2,20	1,80	2,30	2,50	3,20	1,60	5,60	2,00	4,90	2,40	4,00	1,10
22	1,70	1,30	3,20	1,80	3,70	1,30	3,20	1,20	3,00	1,50	2,90	1,30
41	2,30	2,00	2,30	1,30	2,00	1,30	3,10	2,00	3,50	2,10	2,60	1,90
57	1,20	1,30	3,00	2,60	2,80	1,50	4,50	1,80	3,40	1,50	2,90	1,20
59	1,90	2,20	2,00	1,80	2,50	2,00	3,30	1,80	4,40	2,20	4,10	2,00
64	2,10	2,20	3,20	2,00	3,20	2,30	3,20	1,80	3,50	2,80	3,00	2,40
68	2,10	2,10	3,10	1,20	2,80	1,30	3,30	0,50	3,20	1,50	3,00	1,30
81	2,20	2,20	2,20	1,50	3,90	2,20	4,20	2,20	3,50	2,20	3,20	2,00
89	1,70	1,90	2,70	1,70	3,00	1,70	2,20	1,90	2,20	2,00	2,50	1,50
100	2,00	2,10	2,70	1,50	3,40	1,60	5,10	2,00	4,80	1,50	4,70	1,80
103	1,20	1,20	1,30	1,80	2,00	1,30	1,70	1,60	2,70	2,20	2,70	2,20
1F	1,90	1,30	2,50	2,00	3,70	1,70	6,40	1,40	6,20	1,70	5,50	1,60
BICUDO	2,10	1,50	2,90	2,10	3,30	2,40	5,00	2,10	4,00	2,20	3,80	1,40
DALMATA	1,70	1,30	2,40	1,80	3,70	2,40	6,50	2,30	7,20	2,20	6,40	1,70
Média	1,87	1,75	2,53	1,84	3,11	1,75	4,05	1,78	3,97	2,00	3,62	1,69
DP	0,33	0,39	0,52	0,39	0,59	0,41	1,44	0,46	1,34	0,39	1,14	0,39
IC i	1,70	1,55	2,27	1,64	2,81	1,54	3,32	1,55	3,29	1,80	3,04	1,49
IC s	2,04	1,95	2,79	2,04	3,41	1,96	4,78	2,01	4,65	2,20	4,20	1,89

Nota: a.i. = medida da espessura da pele em mm, antes da aplicação de PPD b ou s. f.
 p.i. = medida da espessura da pele em mm, após da aplicação de PPD b ou s. f.
 PPD b = derivado protético purificado bovino
 s. f. = solução fisiológica

h = horas
 DP = desvio padrão
 IC i = intervalo de confiança inferior (95%)
 IC s = intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE F - Espessura da espessura da pele (mm) na região da face medial do membro pélvico proximal de ovinos, experimentalmente sensibilizados com uma suspensão de *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e o momento de leitura antes e após aplicação de PPD bovino e solução fisiológica – São Paulo – 2009

Identificação do animal	0h (a. i.)		12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.	PPD b	s. f.
10	1,00	1,00	1,70	1,70	2,40	1,50	1,50	1,30	1,20	1,10	1,60	1,50
14	1,40	1,50	2,00	1,70	1,60	1,50	1,70	1,70	1,90	1,60	1,30	1,40
22	0,90	1,20	1,30	1,30	1,20	1,10	1,40	1,00	1,10	1,30	0,90	0,90
41	1,50	2,00	1,80	1,30	1,60	1,80	1,60	1,80	1,60	1,80	1,30	1,20
57	1,30	1,50	1,50	1,50	1,40	1,40	1,30	1,50	1,30	1,30	1,60	1,40
59	1,00	1,00	1,30	1,20	1,10	1,20	1,10	1,30	1,30	1,40	1,00	1,20
64	1,70	1,50	1,50	1,50	2,00	1,70	1,70	1,60	1,60	1,60	1,40	1,20
68	1,70	1,50	1,40	1,40	1,50	1,40	1,80	1,40	1,40	1,40	1,20	1,20
81	1,80	2,00	1,30	1,70	1,90	1,40	1,70	1,70	1,30	1,30	1,30	1,30
89	1,50	1,50	1,90	1,90	1,30	1,40	1,50	1,30	1,60	1,40	1,20	1,20
100	1,30	1,30	1,80	1,80	2,10	1,60	1,50	1,30	2,00	1,60	1,60	1,60
103	0,90	1,20	0,90	0,90	1,30	0,90	0,90	0,80	1,00	1,00	1,00	1,00
1F	1,50	1,10	1,80	1,50	1,40	1,30	1,50	1,50	1,60	1,60	1,30	1,40
BICUDO	1,50	1,50	1,40	1,40	2,10	1,60	1,80	1,60	2,00	1,80	1,70	1,70
DALMATA	2,50	2,00	2,20	2,00	1,80	1,60	2,00	1,60	1,70	1,60	1,40	1,40
Média	1,43	1,45	1,59	1,52	1,65	1,43	1,53	1,43	1,51	1,45	1,32	1,31
DP	0,42	0,34	0,34	0,29	0,39	0,23	0,28	0,27	0,31	0,23	0,24	0,21
IC i	1,22	1,28	1,42	1,37	1,45	1,31	1,39	1,29	1,35	1,33	1,20	1,20
IC s	1,64	1,62	1,76	1,67	1,85	1,55	1,67	1,57	1,67	1,57	1,44	1,42

Nota: a.i. = medida da espessura da pele em mm, antes da aplicação de PPD b ou s. f.
 p.i. = medida da espessura da pele em mm, após da aplicação de PPD b ou s. f.
 PPD b = derivado protéico purificado bovino
 s. f. = solução fisiológica

h = horas
 DP = desvio padrão
 IC i = intervalo de confiança inferior (95%)
 IC s = intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE G - Valores (mm) individuais, médios e desvios padrão da reação imunoalérgica cutânea da região cervical média de ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e os momentos de leitura após aplicação – São Paulo – 2009

Id. animal	Momentos de leitura									
	12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.
10	2,60	1,60	1,70	1,70	2,50	1,00	2,20	1,20	1,90	1,10
14	2,00	1,40	1,40	1,50	3,20	0,60	3,40	0,80	2,80	1,40
22	1,50	0,50	1,90	0,60	1,10	1,50	0,70	0,50	0,70	0,10
41	1,30	1,30	1,40	1,30	1,00	1,30	1,20	1,20	1,50	1,20
57	2,00	1,40	2,10	1,40	2,30	1,20	2,50	1,40	2,40	1,60
59	1,70	0,80	1,90	1,10	2,20	1,10	3,00	1,20	2,50	1,10
64	2,10	1,60	1,80	1,40	2,10	1,70	2,00	1,60	1,90	1,40
68	1,60	1,00	1,30	1,00	1,30	0,80	1,40	0,50	1,00	0,50
81	1,50	1,20	2,00	1,50	2,20	1,50	2,00	1,40	1,80	1,60
89	1,70	1,10	1,90	1,10	1,70	1,50	1,80	1,60	1,90	1,30
100	1,60	1,90	2,40	1,60	2,80	1,70	2,80	1,90	3,30	1,60
103	1,10	0,20	1,20	0,70	0,70	0,50	1,20	0,60	1,20	0,60
1F	2,00	0,50	2,30	0,70	3,70	1,30	3,20	1,50	3,20	1,40
Bicudo	2,30	0,50	2,20	0,30	3,30	0,00	3,00	0,20	3,10	0,20
Dálmata	2,00	1,00	2,20	1,00	4,80	0,70	4,20	0,70	4,00	1,10
Média	1,80	1,07	1,85	1,13	2,33	1,09	2,31	1,09	2,21	1,08
DP	0,39	0,49	0,38	0,41	1,12	0,49	0,97	0,50	0,94	0,50
ICi	1,60	0,82	1,66	0,92	1,76	0,85	1,82	0,83	1,74	0,83
ICs	2,00	1,31	2,04	1,33	2,89	1,34	2,80	1,34	2,69	1,33

Nota: Id. = identificação
h = horas
p.i. = pós injeção
DP = desvio padrão
Δ s.f. = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação da s. f.
s. f. = solução fisiológica
Δ PPD b = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação do PPD b
PPD b = derivado protéico purificado bovino
ICi = intervalo de confiança inferior (95%)
ICs = intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE H - Valores (mm) individuais, médios e desvios padrão da reação imunoalérgica cutânea da região torácica dorsal de ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e os momentos de leitura após aplicação – São Paulo – 2009

Id. animal	Momentos de leitura									
	12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.
10	2,10	1,70	1,90	0,80	3,30	1,10	2,90	0,90	2,70	1,00
14	3,20	2,00	1,90	1,00	3,30	1,20	3,10	1,20	3,10	1,20
22	1,90	1,10	1,60	0,90	1,60	1,20	1,70	0,80	1,10	0,30
41	3,00	1,80	1,90	0,60	2,40	1,00	2,00	0,90	2,20	1,10
57	3,00	1,70	1,40	0,90	3,30	1,10	3,30	1,30	3,20	1,20
59	2,20	1,70	2,40	1,50	3,00	1,20	3,70	1,40	3,40	1,20
64	0,90	1,10	2,10	1,60	2,50	1,40	2,40	1,10	2,50	1,10
68	2,00	1,50	1,20	1,20	2,00	1,00	2,00	0,70	1,90	1,00
81	0,70	0,20	1,00	0,90	1,50	1,10	2,00	1,20	1,70	1,50
89	2,40	0,50	1,10	1,30	1,70	0,70	1,90	1,20	2,00	1,20
100	1,80	0,50	2,10	1,60	3,40	1,70	3,50	1,60	4,00	2,00
103	1,50	0,90	1,60	0,70	1,40	0,70	1,40	0,70	1,40	0,70
1F	1,30	0,80	2,00	0,50	3,00	0,40	3,30	0,70	2,80	0,80
Bicudo	1,80	0,00	2,60	0,50	4,50	0,00	4,10	0,40	3,80	0,30
Dálmata	1,10	-0,10	1,20	-0,30	3,90	-0,40	3,60	-0,40	3,30	-0,40
Média	1,93	1,03	1,73	0,91	2,72	0,89	2,73	0,91	2,61	0,95
DP	0,76	0,70	0,48	0,50	0,94	0,54	0,85	0,48	0,87	0,56
ICi	1,54	0,67	1,49	0,66	2,24	0,62	2,29	0,67	2,16	0,66
ICs	2,31	1,38	1,98	1,17	3,20	1,17	3,16	1,16	3,05	1,23

Nota: Id. = identificação
h = horas
p.i. = pós injeção
DP = desvio padrão
Δ s.f. = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação da s. f.
s. f. = solução fisiológica
Δ PPD b = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação do PPD b
PPD b = derivado protéico purificado bovino
ICi = intervalo de confiança inferior (95%)
ICs=intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE I - Valores (mm) individuais, médios e desvios padrão da reação imunoalérgica cutânea da região abdominal dorsal de ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e os momentos de leitura após aplicação – São Paulo – 2009

Id. animal	Momentos de leitura									
	12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.
10	1,90	1,40	2,30	1,00	2,20	1,00	2,60	1,20	2,10	1,20
14	1,90	1,20	1,80	0,80	3,80	1,10	3,40	1,10	3,00	1,30
22	1,70	1,40	1,60	1,10	1,80	0,70	0,90	0,80	0,70	0,10
41	0,90	1,20	0,90	0,60	0,90	0,50	0,90	0,60	1,10	0,70
57	1,50	0,90	1,00	0,80	2,10	1,10	2,00	0,80	1,60	1,00
59	1,40	0,70	1,70	1,00	2,30	0,80	2,90	0,80	2,50	1,00
64	0,60	1,30	1,40	1,50	1,60	1,10	1,50	1,10	1,20	1,10
68	1,30	1,00	1,20	1,50	1,20	0,60	1,40	0,50	1,20	0,70
81	2,40	0,70	1,80	0,70	2,50	0,60	2,20	1,20	2,00	1,10
89	0,50	1,00	1,20	0,50	1,30	1,10	1,30	1,20	1,20	1,10
100	2,50	1,00	2,50	1,40	3,20	1,40	3,40	1,50	3,90	1,40
103	1,00	0,90	0,80	0,90	0,70	0,50	1,00	1,00	1,00	1,00
1F	1,70	0,60	1,70	0,20	3,90	0,50	4,00	0,70	3,50	0,90
Bicudo	1,90	0,90	1,70	0,90	4,20	0,70	3,70	0,70	3,50	0,90
Dálmata	1,80	0,20	1,90	0,60	2,80	0,40	4,50	0,50	4,30	0,70
Média	1,53	0,96	1,57	0,90	2,30	0,81	2,38	0,91	2,19	0,95
DP	0,59	0,32	0,49	0,37	1,10	0,30	1,21	0,30	1,19	0,31
ICi	1,23	0,80	1,32	0,71	1,74	0,65	1,77	0,76	1,59	0,79
ICs	1,83	1,12	1,81	1,09	2,86	0,96	2,99	1,06	2,79	1,11

Nota: Id. = identificação
h = horas
p.i. = pós injeção
DP = desvio padrão
Δ s.f. = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação da s. f.
s. f. = solução fisiológica
Δ PPD b = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação do PPD b
PPD b = derivado protéico purificado bovino
ICi = intervalo de confiança inferior (95%)
ICs=intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE J - Valores (mm) individuais, médios e desvios padrão da reação imunoalérgica cutânea da região da prega da cauda de ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e os momentos de leitura após aplicação – São Paulo – 2009

Id. animal	Momentos de leitura									
	12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.
10	0,40	0,20	1,60	-0,10	1,60	0,30	1,30	0,20	1,20	0,20
14	0,10	0,70	1,00	-0,20	3,40	0,20	2,70	0,60	1,80	-0,70
22	1,50	0,50	2,00	0,00	1,50	-0,10	1,30	0,20	1,20	0,00
41	0,00	-0,70	-0,30	-0,70	0,80	0,00	1,20	0,10	0,30	-0,10
57	1,80	1,30	1,60	0,20	3,30	0,50	2,20	0,20	1,70	-0,10
59	0,10	-0,40	0,60	-0,20	1,40	-0,40	2,50	0,00	2,20	-0,20
64	1,10	-0,20	1,10	0,10	1,10	-0,40	1,40	0,60	0,90	0,20
68	1,00	-0,90	0,70	-0,80	1,20	-1,60	1,10	-0,60	0,90	-0,80
81	0,00	-0,70	1,70	0,00	2,00	0,00	1,30	0,00	1,00	-0,20
89	1,00	-0,20	1,30	-0,20	0,50	0,00	0,50	0,10	0,80	-0,40
100	0,70	-0,60	1,40	-0,50	3,10	-0,10	2,80	-0,60	2,70	-0,30
103	0,10	0,60	0,80	0,10	0,50	0,40	1,50	1,00	1,50	1,00
1F	0,60	0,70	1,80	0,40	4,50	0,10	4,30	0,40	3,60	0,30
Bicudo	0,80	0,60	1,20	0,90	2,90	0,60	1,90	0,70	1,70	-0,10
Dálmata	0,70	0,50	2,00	1,10	4,80	1,00	5,50	0,90	4,70	0,40
Média	0,66	0,09	1,23	0,01	2,17	0,03	2,10	0,25	1,75	-0,05
DP	0,56	0,66	0,62	0,52	1,40	0,59	1,33	0,47	1,16	0,45
ICi	0,38	-0,24	0,92	-0,26	1,46	-0,26	1,43	0,02	1,16	-0,28
ICs	0,94	0,43	1,55	0,27	2,88	0,33	2,77	0,49	2,33	0,17

Nota: Id. = identificação
h = horas
p.i. = pós injeção
DP = desvio padrão
Δ s.f. = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação da s. f.
s. f. = solução fisiológica
Δ PPD b = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação do PPD b
PPD b = derivado protéico purificado bovino
ICi = intervalo de confiança inferior (95%)
ICs=intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE K - Valores (mm) individuais, médios e desvios padrão da reação imunoalérgica cutânea da região da face interna da coxa de ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme o animal e os momentos de leitura após aplicação – São Paulo – 2009

Id. animal	Momentos de leitura									
	12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.
10	0,70	0,70	1,40	0,50	0,50	0,30	0,20	0,10	0,60	0,50
14	0,60	0,20	0,20	0,00	0,30	0,20	0,50	0,10	-0,10	-0,10
22	0,40	0,10	0,30	-0,10	0,50	-0,20	0,20	0,10	0,00	-0,30
41	0,30	-0,70	0,10	-0,20	0,10	-0,20	0,10	-0,20	-0,20	-0,80
57	0,20	0,00	0,10	-0,10	0,00	0,00	0,00	-0,20	0,30	-0,10
59	0,30	0,20	0,10	0,20	0,10	0,30	0,30	0,40	0,00	0,20
64	-0,20	0,00	0,30	0,20	0,00	0,10	-0,10	0,10	-0,30	-0,30
68	-0,30	-0,10	-0,20	-0,10	0,10	-0,10	-0,30	-0,10	-0,50	-0,30
81	-0,50	-0,30	0,10	-0,60	-0,10	-0,30	-0,50	-0,70	-0,50	-0,70
89	0,40	0,40	-0,20	-0,10	0,00	-0,20	0,10	-0,10	-0,30	-0,30
100	0,50	0,50	0,80	0,30	0,20	0,00	0,70	0,30	0,30	0,30
103	0,00	-0,30	0,40	-0,30	0,00	-0,40	0,10	-0,20	0,10	-0,20
1F	0,30	0,40	-0,10	0,20	0,00	0,40	0,10	0,50	-0,20	0,30
Bicudo	-0,10	-0,10	0,60	0,10	0,30	0,10	0,50	0,30	0,20	0,20
Dálmata	-0,30	0,00	-0,70	-0,40	-0,50	-0,40	-0,80	-0,40	-1,10	-0,60
Média	0,15	0,07	0,21	-0,03	0,10	-0,03	0,07	0,00	-0,11	-0,15
DP	0,36	0,36	0,48	0,29	0,25	0,26	0,39	0,32	0,41	0,39
ICi	-0,03	-0,11	-0,03	-0,17	-0,03	-0,16	-0,12	-0,16	-0,32	-0,34
ICs	0,34	0,25	0,46	0,12	0,23	0,10	0,27	0,16	0,10	0,05

Nota: Id. = identificação
h = horas
p.i. = pós injeção
DP = desvio padrão
 Δ s.f. = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação da s. f.
s. f. = solução fisiológica
 Δ PPD b = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação do PPD b
PPD b = derivado protéico purificado bovino
ICi = intervalo de confiança inferior (95%)
ICs=intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE L - Espessura da espessura da pele (mm) na região torácica dorsal de ovinos, experimentalmente sensibilizados com uma suspensão de *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme a dose, o animal e o momento de leitura – São Paulo – 2009

Dose	Id. animal	0h (a. i.)		12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
		PPD b	s.f.										
0,05 mL	10	2,10	1,30	4,50	1,90	5,70	2,10	5,80	1,80	5,70	1,50	5,00	1,40
	59	2,90	2,00	5,60	2,60	6,40	3,50	6,40	3,20	6,50	3,00	5,50	2,80
	89	2,30	1,60	3,90	2,10	5,50	2,50	5,50	2,00	5,60	1,90	5,30	1,90
	Dálmata	4,80	3,90	6,00	4,20	7,90	4,90	11,20	4,20	12,80	4,00	12,70	3,90
	Média	3,03	2,20	5,00	2,70	6,38	3,25	7,23	2,80	7,65	2,60	7,13	2,50
	DP	1,23	1,17	0,97	1,04	1,09	1,25	2,68	1,12	3,46	1,13	3,72	1,10
	IC i	1,82	1,05	4,05	1,68	5,31	2,03	4,60	1,70	4,26	1,49	3,48	1,42
IC s	4,24	3,35	5,95	3,72	7,45	4,47	9,86	3,90	11,04	3,71	10,78	3,58	
0,1 mL	41	3,50	2,00	5,60	2,80	5,80	4,00	6,10	3,20	6,00	3,10	5,70	2,60
	68	2,40	2,00	4,50	2,70	5,50	3,40	6,00	3,00	5,70	2,70	5,50	2,50
	100	2,70	1,50	5,00	2,20	6,00	3,00	9,30	2,80	8,70	2,50	7,70	2,20
	Bicudo	3,20	2,50	5,50	2,80	7,50	3,30	10,30	3,20	10,30	2,80	9,50	2,70
	Média	2,95	2,00	5,15	2,63	6,20	3,43	7,93	3,05	7,68	2,78	7,10	2,50
	DP	0,49	0,41	0,51	0,29	0,89	0,42	2,20	0,19	2,21	0,25	1,88	0,22
	IC i	2,47	1,60	4,65	2,35	5,33	3,02	5,77	2,86	5,51	2,54	5,26	2,28
IC s	3,43	2,40	5,65	2,91	7,07	3,84	10,09	3,24	9,85	3,02	8,94	2,72	
0,2 mL	14	2,90	2,30	5,80	3,00	6,30	4,00	7,30	3,20	7,10	3,20	6,10	3,20
	57	1,00	1,70	2,00	2,90	2,00	3,30	2,00	3,10	2,00	3,10	2,00	3,00
	81	2,70	2,50	4,20	2,60	5,00	3,30	5,60	3,10	5,70	3,00	5,40	3,00
	1F	2,40	2,70	5,90	3,20	7,10	3,50	10,20	3,40	10,10	3,10	8,60	3,00
	Média	2,25	2,30	4,48	2,93	5,10	3,53	6,28	3,20	6,23	3,10	5,53	3,05
	DP	0,86	0,43	1,82	0,25	2,24	0,33	3,42	0,14	3,36	0,08	2,72	0,10
	IC i	1,41	1,88	2,70	2,69	2,90	3,21	2,93	3,06	2,94	3,02	2,86	2,95
IC s	3,09	2,72	6,26	3,17	7,30	3,85	9,63	3,34	9,52	3,18	8,20	3,15	

Nota: a.i. = medida da espessura da pele em mm, antes da aplicação de PPD b ou s. f.
 p.i. = medida da espessura da pele em mm, após da aplicação de PPD b ou s. f.
 PPD b = derivado protéico purificado bovino
 s. f. = solução fisiológica

h = horas
 DP = desvio padrão
 IC i = intervalo de confiança inferior (95%)
 IC s = intervalo de confiança superior (95%)

APÊNDICE M - Valores (mm) da reação imunoalérgica da região torácica dorsal de ovinos experimentalmente sensibilizados com *Mycobacterium bovis* estirpe AN₅, conforme a dose de PPD bovino ou solução fisiológica e os momentos de leitura – São Paulo – 2009

Dose	Id. animal	Momentos de leitura									
		12h (p. i.)		24h (p. i.)		48h (p. i.)		72h (p. i.)		96h (p. i.)	
		Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.	Δ PPD b	Δ s. f.
0,05 mL	10	2,40	0,60	3,60	0,80	3,70	0,50	3,60	0,20	2,90	0,10
	59	2,70	0,60	3,50	1,50	3,50	1,20	3,60	1,00	2,60	0,80
	89	1,60	0,50	3,20	0,90	3,20	0,40	3,30	0,30	3,00	0,30
	Dálmata	1,20	0,30	3,10	1,00	6,40	0,30	8,00	0,10	7,90	0,00
	Média	1,98	0,50	3,35	1,05	4,20	0,60	4,63	0,40	4,10	0,30
	DP	0,69	0,14	0,24	0,31	1,48	0,41	2,25	0,41	2,54	0,36
	IC i	1,62	0,43	3,23	0,89	3,45	0,39	3,48	0,19	2,82	0,12
	IC s	2,33	0,57	3,47	1,21	4,95	0,81	5,77	0,61	5,38	0,48
0,1 mL	41	2,10	0,80	2,30	2,00	2,60	1,20	2,50	1,10	2,20	0,60
	68	2,10	0,70	3,10	1,40	3,60	1,00	3,30	0,70	3,10	0,50
	100	2,30	0,70	3,30	1,50	6,60	1,30	6,00	1,00	5,00	0,70
	Bicudo	2,30	0,30	4,30	0,80	7,10	0,70	7,10	0,30	6,30	0,20
	Média	2,20	0,63	3,25	1,43	4,98	1,05	4,73	0,78	4,15	0,50
	DP	0,12	0,22	0,82	0,49	2,21	0,26	2,18	0,36	1,85	0,22
	IC i	2,14	0,51	2,83	1,18	3,86	0,92	3,62	0,59	3,21	0,39
	IC s	2,26	0,74	3,67	1,67	6,09	1,18	5,83	0,96	5,09	0,61
0,2 mL	14	2,90	0,70	3,40	1,70	4,40	0,90	4,20	0,90	3,20	0,90
	57	1,00	1,20	1,00	1,60	1,00	1,40	1,00	1,40	1,00	1,30
	81	1,50	0,10	2,30	0,80	2,90	0,60	3,00	0,50	2,70	0,50
	1F	3,50	0,50	4,70	0,80	7,80	0,70	7,70	0,40	6,20	0,30
	Média	2,23	0,63	2,85	1,23	4,03	0,90	3,98	0,80	3,28	0,75
	DP	1,17	0,46	1,58	0,49	2,88	0,36	2,81	0,45	2,17	0,44
	IC i	1,63	0,39	2,05	0,98	2,57	0,72	2,55	0,57	2,18	0,53
	IC s	2,82	0,86	3,65	1,47	5,48	1,08	5,40	1,03	4,37	0,97

Nota: Id. = identificação
h = horas
p.i. = pós injeção
DP = desvio padrão
Δ s.f. = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação da s. f.
s. f. = solução fisiológica
Δ PPD b = diferença da espessura de pele após e antes da aplicação do PPD b
PPD b = derivado protéico purificado bovino
ICi = intervalo de confiança inferior (95%)
ICs=intervalo de confiança superior (95%)