

## Anticorpos anti-*Chlamydia abortus* e anti-*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em bubalinos no estado de Pernambuco, Brasil\*

Anti-*Chlamydia abortus* and Anti-*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Antibodies in Buffaloes in the State of Pernambuco, Brazil

Amanda de Noronha Xavier, Sérgio Alves do Nascimento, Tania Alexandra Ortega Sierra, Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira, Rinaldo Aparecido Mota & José Wilton Pinheiro Junior

### ABSTRACT

**Background:** The occurrence of economic losses in buffaloes may be related to reproductive problems such as chlamydiosis caused by the bacteria *Chlamydia abortus* considered as a zoonotic agent; and digestive problems highlighting the infection by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*), responsible for paratuberculosis. There is a little information about these diseases in buffaloes, therefore the aim of this study was to determine the occurrence of anti-*Chlamydia abortus* and anti-*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) antibodies in water buffaloes in the state of Pernambuco, Brazil. **Materials, Methods & Results:** Two hundred and sixty-two bubaline sera belonging to the serum bank of the Infectious Diseases Laboratory (LIDIC) of the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE) were analyzed. The samples were from nine properties distributed in the municipalities of Agreste and Zona da Mata of the state of Pernambuco. For the detection of anti-*Chlamydia abortus* and anti-*Map* antibodies was used a technique of Enzyme Immunoabsorption Assay (ELISA) of the IDEXX® by following the manufacturer's instructions. Regarding the detection of anti-*Chlamydia abortus* antibodies, it was observed that 47.70% (125/262) of the samples were positive. All properties showed at least one positive animal for the investigation of anti-*Chlamydia abortus* antibodies. It was also verified the occurrence of 7.25% of suspected animals for the investigation of anti-*C. abortus* antibodies. No positives animals were observed for *Map* in the bubaline analyzed.

**Discussion:** The occurrence of anti-*C. abortus* antibodies in buffaloes in the region can be explained by the fact that properties with buffalo breeding has sanitary management that allows the contact between animals, thus increasing the risk of transmission of the agent. In addition, the variation found from 35% to 68.75% may be associated with divergences to the type of management and breeding system used in each property. The percentage of suspected animals may suggest that the number of positive animals is higher or that there were non-specific reactions with other species of *Chlamydia*, but it is not possible to determine the seroconversion without the accomplishment of paired serology. Because it is a zoonosis, *C. abortus* may be a risk to the health of the population involved, since the transmission of the bacteria to humans can occur by contact with secretions and excretions of these animals. No positive animals were found for the occurrence of anti-*Map* antibodies, however, there are reports of the infection identifying animals with clinical signs or properties with a history of the disease, and this may be related to the differences in each property in relation to the history and sanitary management. Moreover, the ELISA test may not be sensitive to the agent depending on the phase of the infection, because if the response is predominantly cellular, the number of antibodies is diminished, making the serological diagnosis difficult. The use of more sensitive tests for the bubaline species can also favor the diagnosis of the infection. Although the occurrence of anti-*Map* antibodies in the analyzed samples was not detected, it is important to carry out routine epidemiological studies, since the disease has already been registered in water buffaloes in the state of Pernambuco. Considering the occurrence of anti-*Chlamydia abortus* antibodies it is suggested to conduct studies in order to isolate the agent and verify its real importance in the reproductive disorders of the bubaline species, since this agent causes reproductive losses and has a zoonotic character.

**Keywords:** buffaloes, chlamydiosis, epidemiology, paratuberculosis.

**Descritores:** búfalos, clamidiose, epidemiologia, paratuberculose.

DOI: 10.22456/1679-9216.94100

Received: 10 June 2019

Accepted: 25 September 2019

Published: 30 October 2019

\*Article based on a Thesis submitted by the senior author in partial fulfillment of requirements for the Masters's Degree. Departamento de Medicina Veterinária (DMV), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brazil. CORRESPONDENCE: A.N. Xavier [amandanoronha\_@outlook.com]. CEP 52171-900 Recife, PE, Brazil.

## INTRODUÇÃO

A bubalinocultura é uma atividade reconhecida mundialmente que promove desenvolvimento social e econômico pela geração de empregos e fonte de renda. O Brasil possui uma população de búfalos de 1.351.631 milhões de animais [8]. Para garantir aumento da produção desses animais é necessário um manejo sanitário rigoroso com práticas de higiene adequadas com o intuito de controlar e prevenir a ocorrência de agentes infecciosos que provocam sérios impactos socioeconômicos [6,27].

Relacionada com esse contexto, a clamidiose é causada pela bactéria *Chlamydia abortus*, e causa problemas reprodutivos como aborto infeccioso, natimortalidade, infertilidade, e também é considerada zoonose [1,23]. Enquanto, a paratuberculose ocasionada pelo *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) ocasiona problemas digestivos acarretando diminuição da produção, perda de apetite, perda de proteína no leite e má qualidade da carne [21,24].

No Brasil, especialmente na região nordeste os estudos sorológicos na espécie bubalina a respeito das duas infecções ainda são limitados, o que tornam as pesquisas sobre clamidiose [3] e paratuberculose ainda mais relevantes [9].

Contudo, devido à importância dessas infecções e os impactos econômicos que podem ser gerados, além da limitação de estudos na espécie bubalina no país, objetivou-se determinar a ocorrência de anticorpos anti-*Chlamydia abortus* e anti-*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em amostras de soro de bubalinos procedentes do estado de Pernambuco, Brasil.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Amostras e área de estudo

Para esta pesquisa utilizaram-se 262 amostras de soros de bubalinos em idade reprodutiva disponíveis no banco de soro do Laboratório de Doenças Infecciosas (LDIC) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Para compor a amostra foi considerada uma prevalência para infecção por *C. abortus* 19,55% [32] e *Map* 32,3% [22], considerando nível de confiança de 95% e erro estatístico de 6% [38] que determinou uma amostragem mínima de 168 soros para o teste de pesquisa de anticorpos anti-*C. abortus* e 234 soros para pesquisa de anticorpos anti-*Map*.

Os soros foram coletados de búfalos provenientes de nove propriedades distribuídas nos municípios do Agreste e Zona da Mata do estado de Pernambuco. Os soros, desde então, foram mantidos em tubos de eppendorf® devidamente identificados e acondicionados em freezer a -20°C até serem utilizados para a detecção de anticorpos anti-*C. abortus* e anti-*Map* utilizando-se o ensaio de imunoabsorção enzimática indireto (ELISA).

### Teste sorológico (ELISA)

Para a realização do ELISA foram utilizados os Kits comerciais *Chlamydia abortus* Antibody Test Kit (IDEXX®)<sup>1</sup> e o *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Antibody Test Kit (IDEXX®)<sup>1</sup> para todas as amostras seguindo as instruções do fabricante. O material usado foi mantido em temperatura ambiente até o início do teste. O teste utiliza um conjugado IgG anti-ruminante que é responsável por detectar a presença de imunoglobulinas IgG, também sendo utilizado controles positivos e negativos dos Kits específicos. A densidade óptica (OD) para leitura foi de 450 nm para ambos os testes. A relevância diagnóstica do resultado foi obtida comparando-se o OD dos soros testados com o OD do controle positivo e negativo de cada kit. Para o teste de *C. abortus* a densidade óptica inferior ou igual a 30% foi classificado como resultado negativo, densidade entre 30% e 40% suspeitos, enquanto a densidade maior ou igual do que 40% foi considerado positivo. Enquanto para o teste de *Map*, a leitura de densidade óptica inferior ou igual 45% foi classificado como resultado negativo, densidades entre 45% e 55% suspeitas e acima ou igual a 55% foram considerados resultados positivos para *Map*, de acordo com as diretrizes do fabricante.

## RESULTADOS

Das 262 amostras analisadas, 47,70% (125/262) foram positivas para *Chlamydia abortus* e 7,63% (20/262) das amostras foram suspeitas. Para pesquisa de anticorpos anti-*Map* nenhuma amostra foi positiva. A distribuição de anticorpos anti-*C. abortus* em bubalinos por propriedade encontra-se na tabela 1, observou-se a ocorrência de anticorpos anti-*C. abortus* em todas as propriedades estudadas com variação no percentual de positividade de 35% a 68,75%.

**Tabela 1.** Distribuição da ocorrência de anticorpos anti-*Chlamydia abortus* em bubalinos por propriedade, localizadas no estado de Pernambuco, 2018.

Propriedade	Município	Nº animais	Positivo	Suspeito	Negativo
1	A	16	11 (68,75%)	3 (18,75%)	2 (12,50%)
2	B	27	13 (48,15%)	2 (7,40%)	12 (44,45%)
3	C	47	22 (46,81%)	3 (6,38%)	22 (46,81%)
4	C	20	12 (60,00%)	1 (5,00%)	7 (35,00%)
5	D	40	14 (35,00%)	3 (7,50%)	23 (57,50%)
6	C	28	17 (60,72%)	-	11 (39,28%)
7	E	21	10 (47,62%)	2 (9,52%)	9 (42,86%)
8	B	39	17 (43,59%)	3 (7,69%)	19 (48,72%)
9	C	24	9 (37,50%)	2 (8,33%)	13 (54,17%)
Total	-	262	125 (47,71%)	19 (7,25%)	118 (45,04%)

### DISCUSSÃO

Registra-se a primeira ocorrência de anticorpos anti-*C. abortus* em bubalinos do Brasil. Todas as propriedades analisadas apresentaram amostras positivas. Apesar de não existirem estudos brasileiros a respeito da presença de anticorpos anti-*C. abortus* em bubalinos constata-se na literatura pesquisada registros da infecção por *C. abortus* em caprinos e ovinos no estado do Rio Grande do Norte [3], Piauí [6,16], Paraíba [13,34], Pernambuco [26] e Alagoas [28].

Embora algumas espécies de *Chlamydia* spp. apresentem baixa especificidade ao hospedeiro, os búfalos e bovinos possuem características semelhantes, fazendo com que o agente também possa estar relacionado a distúrbios reprodutivos na espécie bubalina [15]. Em bovinos baixas prevalências foram relatadas na Costa Rica com 0,10% [33], no Iraque com 0,82% [18], no Brasil com 1,42% [36] e na Argentina com 4,78% [31] em comparação às prevalências encontradas em bubalinos que foram de 11,67% [2] e 78,43% [25] no Egito e 57% [15] na Itália. Mesmo não sendo identificados os fatores de risco, o manejo semi-intensivo a extensivo que ocorre em propriedades com búfalos poderia explicar a frequência de anticorpos, já que o contato entre animais criados a pasto pode favorecer a infecção por via oral [26,39].

Ao analisar os resultados por propriedade, observou-se que 100% das propriedades apresentaram animais positivos para anticorpos anti-*C. abortus*, pode ser um indicativo da distribuição da infecção nas diferentes regiões estudadas. A variação entre as ocorrências encontradas de 35% a 68,75% pode ser associada ao tipo de manejo e sistema de criação utilizado em cada propriedade. Em

pesquisas similares realizadas no Rio Grande do Norte, Piauí e Pernambuco, foram evidenciados que o fator de risco relacionado ao sistema de criação apresentou maior prevalência em rebanhos caprinos e ovinos criados no sistema semi-intensivo [3,16,26].

O percentual de animais suspeitos (7,25%) nesta pesquisa pode sugerir que o número de animais positivos seja ainda maior, porém como a sorologia pareada não foi realizada, não é possível verificar a soroconversão. Além disso, em alguns testes ELISA pode ocorrer reações inespecíficas com outras espécies de *Chlamydia* spp., como *C. pecorum* que também é descrita em bubalinos [14,27].

Por se tratar de uma zoonose, *C. abortus* pode ser um risco para saúde da população já que o agente foi relatado em humanos que mantinham contato com animais infectados [5,29], dessa forma a presença de bubalinos positivos para *C. abortus* dentro de um rebanho alerta para o cuidado com a infecção em humanos, já que o contato com animais infectados é uma das formas de transmissão da bactéria [20].

Não foi detectado anticorpos anti-*Map* nas amostras bubalinas analisadas. Por haver limitação de estudos sorológicos para *Map* em bubalinos no Brasil, este resultado é diferente dos descritos na região nordeste do país a partir de achados histopatológicos, nos estados do Maranhão [7,9,30,40], Pernambuco [21], e Alagoas [9,40]. Esse resultado também difere de estudos sorológicos em búfalos em outros países como Paquistão com prevalência de 5,56% [4], Itália com 2,70% [12] e Índia com prevalência de 28,60% [37] e 48,70% [42].

Todavia, a divergência encontrada com os resultados desta pesquisa pode estar relacionada ao histórico e manejo sanitário das propriedades nas diferentes regiões analisadas. A ocorrência da infecção foi evidenciada em rebanhos bovinos [19,22] e bubalinos [11] com histórico de paratuberculose ou suspeita clínica, sugerindo que a presença de sinais clínicos pode ter contribuído para a observação de prevalência de 10,08%, 32,30% e 19,58 %, respectivamente nas regiões estudadas.

Outra explicação para o resultado desse estudo pode ser a relação entre os diferentes números amostrais e métodos de diagnóstico realizados as demais pesquisas [12,41]. Sabe-se que o teste ELISA detecta principalmente anticorpos em animais infectados e com mais de dois anos de idade, pois o desenvolvimento de anticorpos de memória nessa faixa etária é limitado, prevalecendo a resposta celular [10,12]. Desta forma, a utilização de testes para diagnóstico de Map depende do estágio da infecção, sendo as fases iniciais mais sensíveis ao isolamento, PCR e testes mediados por resposta imune celular e as fases clínicas ou crônicas por testes sorológicos já que há predominância por anticorpos para resposta imunológica do hospedeiro [10,39].

Além disso, mesmo o teste apresentando uma alta especificidade, pode apresentar uma sensibilidade baixa dependendo da espécie analisada [12,41], já que

foi observado que alguns testes ELISA disponíveis para bovinos não têm a mesma sensibilidade para bubalinos [12,17,35]. Por isso testes direcionados para a espécie a ser estudada pode aumentar a sensibilidade do diagnóstico, considerando também a fase da infecção, bem como manutenção de práticas sanitárias de manejo e prevenção de animais com a realização de testes pareados nos animais para observar reais taxas ou possíveis infecções no rebanho.

## CONCLUSÃO

Registra-se a ocorrência de anticorpos anti-*C. abortus* em bubalinos na região Nordeste do Brasil. Acredita-se que novas pesquisas com o objetivo de isolar *C. abortus* devem ser realizadas, uma vez que este agente pode ocasionar perdas reprodutivas na espécie bubalina além de ser um importante agente zoonótico.

## MANUFACTURER

<sup>1</sup>IDEXX Brasil Laboratórios Ltda. Cotia, SP, Brazil.

**Funding.** This research was supported by Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE).

**Ethical approval.** This experiment was approved and performed under the guidelines of Ethics Committee for Animal Use of University Federal Rural of Pernambuco (UFRPE) 108/2018.

**Declaration of interest.** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

## REFERENCES

- 1 **Aljumaah R.S. & Hussein M.F. 2012.** Serological prevalence of ovine and caprine chlamydophilosis in Riyadh region, Saudi Arabia. *African Journal of microbiology research*. 6(11): 2654-2658.
- 2 **Amin A.S. 2003.** Comparison of polymerase chain reaction and cell culture for the detection of *Chlamydophila* species in the semen of bulls, buffalo-bulls, and rams. *The Veterinary Journal*. 166(1): 86-92.
- 3 **Araújo J.F., Pinheiro R.R., Andrioli A., Alves F.S.F., Faccioli-Martin P.Y., Eloy A.M.X., Santos V.W.S., Peixoto R.M. & Lima A.M.C. 2018.** Soroprevalência e fatores de risco da infecção por *Chlamydophila abortus* em caprinos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*. 46: 1592.
- 4 **Aziz-Ur-Rehman M., Rizvi F. & Khan M.N. 2017.** Prevalence of paratuberculosis in cattle and buffaloes in Faisalabad and associated risk factors. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 27(6): 1867-1872.
- 5 **Barbosa Mireles M.A., Salazar García F., Fernández Rosas P. & Montes De Oca J.R. 2013.** Detección de anticuerpos serológicos contra *Chlamydophila abortus* en dos grupos de personas expuestas a riesgo en explotaciones ovinas en Xalatlaco, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 16(3): 483-486.
- 6 **Batista H., Pinheiro R.R., Alves F.S.F., Diniz B., Leopoldo T. & Paula N.D.O. 2014.** Soroprevalência da infecção por *Chlamydophila abortus* em pequenos ruminantes explorados na microrregião do Alto Médio Gurguéia, no estado do Piauí, Brasil. *Acta Veterinaria Brasilica*. 8(2): 254-255.
- 7 **Belo-Reis A.S., Brito M.F., Bezerra Júnior P.S., Fonseca Júnior A.A., Ubiali D.G., Mota R.A., Leite R.C. & Barbosa J.D. 2015.** Diagnóstico de paratuberculose por biópsia retal em búfalos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 35(10): 823-828.



- 8 **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. 2017.** Departamento de Saúde Animal. Dados de rebanho bovino e bubalino no Brasil – 2017. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/febre-aftosa/documentos-febre-aftosa/DadosderebanhobovinoebubalinodoBrasil\\_2017.pdf](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/febre-aftosa/documentos-febre-aftosa/DadosderebanhobovinoebubalinodoBrasil_2017.pdf)>. [Accessed online in December 2018].
- 9 **Brito M.F., Belo-Reis A.S., Barbosa J.D., Ubiali D.G., Pires A.P.C., Medeiros E.S., Melo R.P.B., Albuquerque P.P.F., Yamasaki E. & Mota R.A. 2016.** Paratuberculosis in buffaloes in Northeast Brazil. *Tropical animal health and production*. 48(7): 1497-1501.
- 10 **Chiodini R. J., Van Kruiningen H.J. & Merkal R.S. 1984.** Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): The current status and future prospects. *Cornell Veterinary*. 74(3): 218-262.
- 11 **Dalto A.C., Bandarra P.M., Pavarini S.P., Boabaid F.M., De Bitencourt A.P.G., Gomes M.P., Chies J., Driemeier D. & Cruz C.E.F. 2012.** Clinical and pathological insights into Johne's disease in buffaloes. *Tropical animal health and production*. 4(8): 1899-1904.
- 12 **Desio G., Nizza S., Montagnaro S., Sasso S., Martino L.D., Iovane V., Ciarcia R., Casalnuovo F. & Pagnini U. 2013.** Estimated prevalence of Johne's disease in herds of Water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the province of Caserta. *Italian Journal of Animal Science*. 12(1): e8.
- 13 **Farias A.E., Higino S.S., Azevedo S.S., Costa D.F., Santos F.A., Santos C.S., Piatti R.M. & Alves C.J. 2013.** Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à infecção por *Chlamydophila abortus* em ovinos deslançados do semiárido brasileiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33(3): 286-290.
- 14 **Galiero G. 2007.** Causes of infectious abortion in the Mediterranean buffalo. *Italian Journal of Animal Science*. 6(2):194-199.
- 15 **Greco G., Corrente M., Buonavoglia D., Campanile G., Di Palo R., Martella V., Bellacicco A.L., D'abramo M. & Buonavoglia C. 2008.** Epizootic abortion related to infections by *Chlamydophila abortus* and *Chlamydophila pecorum* in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*. 69(9): 1061-1069.
- 16 **Leopoldo T.B., Pinheiro R.R., Alves F.S.F., De Paiva Porfirio K., Do Rêgo W.M.F., Diniz B.L.M., Cardoso J.F.S. & Oliveira Paula N.R. 2016.** Fatores de risco na transmissão e soroprevalência da infecção de *Chlamydophila abortus* a ovinos e caprinos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 51(5): 654-660.
- 17 **Lillini E., Gamberale F., De Grossi L., Cersini A., Scherm B. & Fagiolo A. 2002.** Comparative study in detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* by PCR diagnosis and conventional culture on faeces of water-buffalo herds in Latium region (Italy). In: *Proceedings of the 7th International Colloquium on Paratuberculosis* (Bilbao, Spain). pp.283-286.
- 18 **Majed R., Maab A.F., Omer A.H. & Hussein A.K. 2018.** Preliminary study of seroprevalence of *Chlamydophila abortus* amongst cattle in ninavah province. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 6(3): 135-138.
- 19 **Medeiros J.M.A., Garino Junior F., Matos R.A.T., Costa V.M.M. & Riet-Correa F. 2012.** Frequência de anticorpos para paratuberculose em bovinos no semiárido paraíbano. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32(8): 697-700.
- 20 **Meijer A., Brandenburg A., De Vries J., Beentjes J., Roholl P. & Dercksen D. 2004.** *Chlamydophila abortus* infection in a pregnant woman associated with indirect contact with infected goats. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 23(6): 487-490.
- 21 **Mota R.A., Peixoto P.V., Yamasaki E.M., Medeiros E.S.D., Costa M.M.D., Peixoto R.M. & Brito M.F. 2010.** Occurrence of paratuberculosis in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(3): 237-242.
- 22 **Mota R.A., Pinheiro Junior J.W., Gomes M.J.P., Peixoto R.M., Brito F.L.C., Chies J.A.B., Snel G.G.M., Bercht B.S. & Juffo G.D. 2007.** Paratuberculose em um rebanho bovino leiteiro no Estado de Pernambuco, PE. *Arquivos do Instituto Biológico*. 74(2): 73-79.
- 23 **World Organization for Animal Health (OIE). 2018.** Enzootic abortion in ewes (ovine chlamydiosis) (infection with *Chlamydia abortus*). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 2.7.6 (Version adopted in May 2018). Disponível em: <<http://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>>. [Accessed online in December 2018].
- 24 **World Organization for Animal Health (OIE). 2014.** Paratuberculosis (Johne's Disease). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 2.1.15. (Version adopted in May 2014). Disponível em: <<http://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>>. [Accessed online in December 2018].

- 25 **Osman K.M., Ali H.A., Eljakee J.A. & Galal H.M. 2012.** Chlamydiaceae in riverine buffalo (*Bubalus bubalis*) and cows (*Bos taurus*) in Egypt with and without signs of reproductive disease. *New Zealand Veterinary Journal*. 60(4): 228-233.
- 26 **Pereira M.F., Peixoto R.M., Maria R., Piatti E.S.D.M., Mota I.O., Azevedo S.S. & Mota R.A. 2009.** Ocorrência e fatores de risco para *Chlamydomphila abortus* em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 29(1): 33-40.
- 27 **Perumal P., Kumar K.T. & Srivastava S.K. 2013.** Infectious causes of infertility in Buffalo bull (*Bubalus bubalis*). *Buffalo Bulletin*. 32(2): 71-82.
- 28 **Pinheiro Junior J.W., Mota R.A., Piatti R.M., Oliveira A.A.D.F., Silva A.M.D., Abreu S.R.D.O., Anderlini G.A. & Valença R.M.B. 2010.** Soroprevalência de anticorpos para *Chlamydomphila abortus* em ovinos no Estado de Alagoas, Brasil. *Revista Brasileira de Microbiologia*. 41(2): 358-364.
- 29 **Pospischil A., Thoma R., Hilbe M. & Grest P. 2002.** Abortion in woman caused by caprine *Chlamydomphila abortus* (*Chlamydia psittaci* serovar 1). *Swiss Medical Weekly*. 132: 0506.
- 30 **Rocha T.B., Oliveira E.A.A., Torres C.R., Soares D.M., Santos H.P. & Pereira H.M. 2017.** Identificação de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) através da bacterioscopia em búfalos abatidos na Baixada Maranhense. *Ciência Animal*. 15(2): 643-644.
- 31 **Rojas M.D.C., Fort M., Bettermann S., Entrocassi C., Costamagna S.R., Sachse K. & Fermepin M.R. 2018.** Detección de *Chlamydia abortus* en pérdidas reproductivas de bovinos en la provincia de La Pampa, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*. 50(3): 269-274.
- 32 **Rossi R.S., Rizzo H., Piatti R. M. & Gregory L. 2012.** Sinais clínicos e ocorrência de anticorpos anti-*Chlamydomphila abortus* em ovinos de São Paulo e Minas Gerais. *Ciência Rural*. 42(11): 2018-2024.
- 33 **Salazar L.F., Herrera J.M., Zúñiga J.J.R. & Dolz G. 2015.** *Chlamydia abortus* in Dairy Farms in Costa Rica. *Journal of Advanced Veterinary Research*. 5(4): 179-185.
- 34 **Santos C.S.A.B., Piatti R.M., Azevedo S.S., Alves C.J., Higino S.S., Silva M.L., Brasil A.W.L. & Gennari S.M. 2012.** Seroprevalence and risk factors associated with *Chlamydomphila abortus* infection in dairy goats in the Northeast of Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32(11): 1082-1086.
- 35 **Sezzi E., Gelli A., Saralli G., Zottola T. & De Grossi L. 2010.** Extremely low prevalence of paratuberculosis in Italian buffaloes: biological reality or technical ineffectiveness? *Revista Veterinaria*. 21(1): 460-462.
- 36 **Silva-Zacarias F.G., Spohr K.A., Lima B.A., Dias J.A., Müller E.E., Ferreira Neto J.S., Turilli C. & Freitas J.C. 2009.** Prevalência de anticorpos anti-*Chlamydomphila* spp. em propriedades rurais com histórico de aborto bovino no estado do Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 29(3): 215-219.
- 37 **Singh S.V., Singh A.V., Singh R., Sharma S., Shukla N., Misra S., Singh P.K., Sohal J.S., Kumar H., Patil P.K., Misra P. & Sandh K.S. 2008.** Sero-prevalence of Bovine Johne's disease in buffaloes and cattle population of North India using indigenous ELISA kit based on native *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* 'Bison type' genotype of goat origin. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 31(5): 419-433.
- 38 **Thrusfield M.V. 2004.** *Epidemiologia Veterinária*. 2.ed. São Paulo: Roca, 556p.
- 39 **Timms V.J., Gehringer M.M., Mitchell H.M., Daskalopoulos G. & Neilan B. A. 2011.** How accurately can we detect *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection? *Journal of Microbiological Methods*. 85(1): 1-8.
- 40 **Ubiali D.G. 2016.** Estudo Epidemiológico, Clínico e Patológico da Paratuberculose em Búfalos na Região Nordeste do Brasil. 77f. Seropédica, RJ. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- 41 **Whitlock R.H., Wells S.J., Sweeney R.W. & Van Tiem J. 2000.** ELISA and fecal culture for paratuberculosis (Johne's disease): sensitivity and specificity of each method. *Veterinary Microbiology*. 77(3-4): 387-398.
- 42 **Yadav D., Singh S.V., Singh A.V., Sevilla I., Juste R.A., Singh P.K. & Sohal J.S. 2008.** Pathogenic 'Bison-type' *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* genotype characterized from riverine buffalo (*Bubalus bubalis*) in North India. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 31(4): 373-387.