

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESPOSTA À TUBERCULINIZAÇÃO EM BOVINOS
SENSIBILIZADOS COM INÓCULOS INATIVADOS DE
Mycobacterium avium E DE *Mycobacterium bovis***

Thalita Masoti Blankenheim
Médica Veterinária

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESPOSTA À TUBERCULINIZAÇÃO EM BOVINOS
SENSIBILIZADOS COM INÓCULOS INATIVADOS DE
Mycobacterium avium E DE *Mycobacterium bovis***

Thalita Masoti Blankenheim

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luis Antonio Mathias

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em Medicina
Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva)**

2016

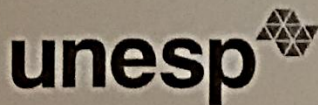
Blankenheim, Thalita Masoti
B642r Resposta à tuberculização em bovinos sensibilizados com
inóculos inativados de *Mycobacterium avium* e de *Mycobacterium
bovis* / Thalita Masoti Blankenheim. -- Jaboticabal, 2016
xii, 120 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Luis Antonio Mathias
Banca examinadora: Anna Monteiro Correia Lima, Adolorata
Aparecida Bianco Carvalho, Raphaella Meirelles Barbosa Bartoli,
Samir Issa Sama
Bibliografia

1. Tuberculose. 2. Diagnóstico. 3. PPD. 4. Comparação de testes.
I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-002.5:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: RESPOSTA À TUBERCULINIZAÇÃO EM BOVINOS SENSIBILIZADOS COM INÓCULOS INATIVADOS DE *Mycobacterium avium* E DE *Mycobacterium bovis*

AUTORA: THALITA MASOTI BLANKENHEIM

ORIENTADOR: LUÍS ANTONIO MATHIAS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MEDICINA VETERINÁRIA, área: MEDICINA VETERINARIA PREVENTIVA pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LUÍS ANTONIO MATHIAS

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. ANNA MONTEIRO CORREIA LIMA

Faculdade de Medicina Veterinária / UFU - Uberlândia/MG

Profa. Dra. ADOLORATA APARECIDA BIANCO CARVALHO

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP

Profa. Dra. RAPHAELLA BARBOSA MEIRELLES BARTOLI

Departamento de Medicina Veterinária / Universidade Federal de Goiás / Jataí/GO

Prof. Dr. SAMIR ISSA SAMARA

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 01 de julho de 2016

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

THALITA MASOTI BLANKENHEIM – nascida em São Paulo – SP, em 15 de abril de 1987, é Médica Veterinária formada pelo Centro Universitário de Rio Preto – UNIRP, situado na cidade de São José do Rio Preto – SP, em dezembro de 2009. Durante o primeiro ano de formada, de março 2010 a fevereiro de 2011, obteve uma bolsa de treinamento técnico nível III da Fapesp, com as atividades realizadas na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp – Câmpus de Jaboticabal. Iniciou o curso de pós-graduação em março de 2011, durante o qual contou com o apoio do CNPq, com bolsa de mestrado durante o período de maio 2011 a julho 2012 obtendo o título de Mestre em Medicina Veterinária Preventiva pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp – Câmpus de Jaboticabal em julho de 2012. Em agosto de 2012, ingressou no curso de doutorado.

Longe se vai sonhando demais
Mas onde se chega assim?
Vou descobrir o que me faz sentir
Eu, caçador de mim

(Eu caçador de mim – Milton Nascimento)

Dedico este trabalho aos meus avós,
que, mesmo “ausentes”, se fizeram
presentes em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao grande mestre e orientador, **Luis Antonio Mathias**, exemplo de ética e de profissional. Com certeza, quero seguir todos os seus exemplos durante minha vida. Muito obrigada pela atenção, pela confiança e pelas oportunidades constantes de crescimento.

Aos meus pais, **João Carlos Blankenheim** e **Ana Masoti Blankenheim**, pelo apoio, incentivo, carinho, amor e “puxões de orelha” durante todos os momentos da minha vida. Muitíssimo obrigada pela maior herança que vocês poderiam ter me dado: uma base sólida, bons exemplos, excelente caráter, dignidade e o estudo... essa herança ninguém nunca poderá roubar de mim.

À minha irmã, **Ana Gabriela Masoti Blankenheim**, por ter me ensinado o real valor de uma irmã, por ter enxugado minhas lágrimas nos momentos de felicidade e por estar ao meu lado nos momentos de ansiedade e dificuldade...

Ao meu cunhado, **Clodoaldo Publio Ferreira**, mais que um amigo... um irmão que sempre me estendeu a mão e me ofereceu um ombro amigo. Que sempre me fez rir em todos os momentos... “Crô”, você é um anjinho bom nas nossas vidas...

Á minha sobrinha e afilhada **Lorena Publio Blankenheim**, uma menina carinhosa, doce, inteligente e cheia de vida que nos trouxe um olhar novo sobre o futuro...

Ao meu marido, **Maicon Blanco Silva**, por estar há mais de dez anos do meu lado, ... por ser meu amigo, meu companheiro e meu confidente para todas as horas, por sempre me apoiar quando minha maior vontade era desistir, por me incentivar, por me criticar e por, acima de tudo, me amar exatamente do jeito que sou. Com certeza, sem você não teria tido coragem para fazer tudo o que fiz. Sei que a distância não foi e nunca será empecilho para nós já que teremos uma vida inteira pela frente. Te amo e te amarei por toda a eternidade...

Ao técnico **Nivaldo Aparecido Assis**, que se tornou membro da minha família e com quem aprendi muito. Não só na prática de laboratório, mas também na vida. Com quem compartilhei horas incríveis de conversas e com quem aprendi o valor de escutar e ajudar ao próximo...

Ao professor Dr. **Samir Issa Samara**, por me ceder o material utilizado no desenvolvimento da tese...

A todos os **professores, discentes e funcionários** do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Muito obrigada pelo agradável convívio todos esses anos...

À **Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (Unesp)**, campus de Jaboticabal/ SP, minha segunda casa durante o curso de mestrado e doutorado, obrigada pela excelente formação profissional adquirida...

Aos meus companheiros durante a pós-graduação **Rafael Massa, Glaucenyra Cecilia Pinheiro da Silva, Talita Ribeiro, Gian Riccardo Ortunho Galli, Mirella Picinato, Fernanda Cassioli de Moraes, Carolina Alvarenga Cruz, Gislaine Raquel Santos e Felipe Jorge da Silva...** Com certeza, vocês foram mais que irmãos nessa jornada. Sem vocês as coisas teriam sido bem mais sem graça e sem emoção...

À minha amiga e companheira de laboratório **Renata Ferreira dos Santos**. Por todo apoio, incentivo, carinho, amizade e companheirismo. Pelas palavras de conforto, pelo apoio, pelas inúmeras disciplinas cursadas, pelas tardes de conversas, pelas constantes trocas de informações e por todos os sorvetes e passeios por Jaboticabal...

À **Faculdade Dr. Francisco Maeda, "FAFRAM"**, por me aceitarem durante o estágio de docência...

Aos professores **Cléber Jacob Silva de Paula e Marly Cristina Pinto Wanderley**, por serem meus tutores durante o estágio de docência. Por me transmitirem tanto conhecimento e por permitirem que aprendesse tanto com os inúmeros ensinamentos diários...

À **Universidade Camilo Castelo Branco**, UNICASTELO, pelo novo e fascinante desafio...

A todos os meus **alunos**. Pelos ensinamentos, pela amizade e confiança em meu trabalho.... Aprendi e tenho certeza que aprendei muito todos os dias com vocês...

Meu eterno muito obrigada...

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS.....	ii
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
COMITÊ DE ÉTICA.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	21
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	23
3. OBJETIVOS.....	31
3.1. Objetivo geral.....	31
3.2. Objetivos específicos.....	31
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1. Comitê de ética.....	33
4.2. Animais.....	33
4.3. Operadores.....	33
4.4. Sensibilização.....	34
4.5. Diagnóstico alérgico.....	34
4.5.1. Tuberculinas.....	34
4.5.2. Equipamentos.....	34
4.5.3. Testes.....	35
4.5.3.1. Teste cervical simples (TCS).....	35
4.5.3.2. Teste cervical comparativo (TCC).....	36
4.5.3.3. Teste da prega caudal.....	37
4.6. Análise estatística.....	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
6. CONCLUSÕES.....	89
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
APÊNDICE.....	96

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1- Interpretação do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina.....	35
Quadro 2 - Interpretação do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina.....	36
Quadro 3 - Interpretação do resultado da área sob a curva ROC.....	38
Quadro 4 - Interpretação do indicador <i>Kappa</i>	38

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1 -	Resultados do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico de tuberculose em bovinos não sensibilizados, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.....	40
Tabela 2 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical simples (TCS) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos não sensibilizados.....	40
Tabela 3 -	Resultados do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos não sensibilizados, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.....	41
Tabela 4 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical comparativo (TCC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos não sensibilizados.....	41
Tabela 5 -	Resultado do teste da prega caudal (TPC) para o diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.....	41
Tabela 6 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste da prega caudal (TPC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado em bovinos não sensibilizados.....	42
Tabela 7 -	Resultados do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i> , de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.....	42
Tabela 8 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical simples (TCS) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i>	43
Tabela 9 -	Resultados do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i> , de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.....	43
Tabela 10 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical comparativo (TCC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i>	44
Tabela 11 -	Resultados do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i> , de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.....	44
Tabela 12 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste da prega caudal (TPC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i>	45

Tabela 13 -	Resultados do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> , de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.....	45
Tabela 14 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical simples (TCS) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i>	46
Tabela 15 -	Resultados do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> , de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.....	47
Tabela 16 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical comparativo (TCC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i>	47
Tabela 17 -	Resultados do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> , de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.....	48
Tabela 18 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste da prega caudal (TPC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i>	48
Tabela 19 -	Resultados do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i> , de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS)	49
Tabela 20 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical simples (TCS) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium avium</i> , desconsiderando os resultados inconclusivos.....	49
Tabela 21 -	Resultados do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i> , de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).....	50
Tabela 22 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical comparativo (TCC) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium avium</i> , desconsiderando os resultados inconclusivos.....	50
Tabela 23 -	Resultados do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i> , de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).....	51
Tabela 24 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste da prega caudal (TPC) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium avium</i> , desconsiderando os resultados inconclusivos.....	51
Tabela 25 -	Resultados do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> , de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).....	52

Tabela 26 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical simples (TCS) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium bovis</i> , desconsiderando os resultados inconclusivos.....	52
Tabela 27 -	Resultados do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> , de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).....	53
Tabela 28 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical comparativo (TCC) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium bovis</i> , desconsiderando os resultados inconclusivos.....	53
Tabela 29 -	Resultados do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i> , de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).....	54
Tabela 30 -	Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste da prega caudal (TPC) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium bovis</i> , desconsiderando os resultados inconclusivos.....	54
Tabela 31 -	Especificidade do teste cervical simples (TCS), do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prova caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose, em bovinos não sensibilizados, na primeira vez em que foram testados e considerando todas as vezes...	56
Tabela 32 -	Especificidade do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com <i>Mycobacterium avium</i>	56
Tabela 33 -	Especificidade do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com <i>Mycobacterium avium</i>	57
Tabela 34 -	Especificidade do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com <i>Mycobacterium avium</i>	57
Tabela 35 -	Sensibilidade do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com <i>Mycobacterium bovis</i>	58
Tabela 36 -	Sensibilidade do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com <i>Mycobacterium bovis</i>	59
Tabela 37 -	Sensibilidade do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com <i>Mycobacterium bovis</i>	59
Tabela 38 -	Sensibilidade (S), especificidade (E) e soma desses dois valores (S + E) do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina, segundo o ponto de corte adotado (aumento da dobra da pele em mm).....	60
Tabela 39 -	Sensibilidade (S), especificidade (E) e soma desses dois valores (S + E) do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o ponto de corte adotado (aumento da dobra da pele em mm).....	63

Tabela 40 -	Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina.....	65
Tabela 41 -	Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina.....	66
Tabela 42 -	Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina.....	66
Tabela 43 -	Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina.....	67
Tabela 44 -	Comparação entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina.....	67
Tabela 45 -	Concordância entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina.....	68
Tabela 46 -	Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.....	68
Tabela 47 -	Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.....	69
Tabela 48 -	Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.....	69
Tabela 49 -	Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.....	70
Tabela 50 -	Comparação entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.....	70
Tabela 51 -	Concordância entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.....	70
Tabela 52 -	Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i>	71
Tabela 53 -	Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i>	71
Tabela 54 -	Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i>	72
Tabela 55 -	Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i>	72

Tabela 56 -	Comparação entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i>	73
Tabela 57 -	Concordância entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados com <i>Mycobacterium avium</i>	73
Tabela 58 -	Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i>	74
Tabela 59 -	Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i>	74
Tabela 60 -	Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i>	74
Tabela 61 -	Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i>	75
Tabela 62 -	Comparação entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i>	75
Tabela 63 -	Concordância entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados com <i>Mycobacterium bovis</i>	76
Tabela 64 -	Comparação entre as respostas à tuberculina aviária e à tuberculina bovina, inoculadas na região cervical, em bovinos não sensibilizados, considerando todos os testes.....	76
Tabela 65 -	Comparação entre as respostas à tuberculina aviária e à tuberculina bovina, inoculadas na região cervical, em bovinos não sensibilizados, na primeira, segunda e terceira vez em que foram submetidos ao teste de tuberculina.....	77
Tabela 66 -	Comparação entre as respostas à tuberculina aviária na primeira, na segunda e na terceira vez em que os bovinos não sensibilizados foram submetidos ao teste cervical comparativo para diagnóstico de tuberculose.....	78
Tabela 67 -	Comparação entre as respostas à tuberculina bovina na primeira vez, na segunda e na terceira vez em que os bovinos não sensibilizados foram submetidos ao teste cervical comparativo para diagnóstico de tuberculose.....	78
Tabela 68 -	Resposta à tuberculina aviária, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium avium</i>	79
Tabela 69 -	Valor de P, pelo teste t ou pelo teste de Wilcoxon, na comparação entre as respostas à tuberculina aviária, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium avium</i> ..	79

Tabela 70 -	Resposta à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium avium</i>	80
Tabela 71 -	Valor de P, pelo teste t ou pelo teste de Wilcoxon, na comparação entre as respostas à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium avium</i> ..	80
Tabela 72 -	Valor de P na comparação entre a resposta à tuberculina aviária e a resposta à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium avium</i>	80
Tabela 73 -	Resposta à tuberculina aviária, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium bovis</i>	81
Tabela 74 -	Valor de P, pelo teste de Wilcoxon, na comparação entre as respostas à tuberculina aviária, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium bovis</i>	81
Tabela 75 -	Resposta à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium bovis</i>	82
Tabela 76 -	Valor de P, pelo teste de Wilcoxon, na comparação entre as respostas à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium bovis</i>	82
Tabela 77 -	Valor de P na comparação entre a resposta à tuberculina aviária e a resposta à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com <i>Mycobacterium bovis</i>	82

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1-	Soma de sensibilidade e especificidade do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o ponto de corte.....	61
Figura 2 -	Curva ROC (<i>Receiver Operating Characteristic</i>) referente aos resultados de sensibilidade e especificidade do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina.....	62
Figura 3 -	Soma de sensibilidade e especificidade do teste cervical comparativo para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o ponto de corte.....	63
Figura 4 -	Curva ROC (<i>Receiver Operating Characteristic</i>) referente aos resultados de sensibilidade e especificidade do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina.....	64


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "**Avaliação da resposta à PPD bovina e à PPD aviária em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis* e com *Mycobacterium avium***", protocolo nº 19418/15, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luis Antonio Mathias, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião extraordinária de 06 de novembro de 2015.

Vigência do Projeto	Novembro/2015 a Fevereiro/2016
Espécie / Linhagem	Bovinos
Nº de animais	747 fichas com dados obtidos de 385 bovinos
Peso / Idade	Diversos pesos e idades
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	FCAV-Unesp

Jaboticabal, 06 de novembro de 2015.


Profª Drª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

RESPOSTA À TUBERCULINIZAÇÃO EM BOVINOS SENSIBILIZADOS COM INÓCULOS INATIVADOS DE *Mycobacterium avium* E DE *Mycobacterium bovis*

RESUMO – A tuberculose causada pelo *Mycobacterium bovis* é uma importante doença dos bovinos e constitui um grande problema de saúde animal, podendo também atingir humanos. Para o diagnóstico da infecção, e para desencadear as medidas sanitárias decorrentes desse diagnóstico, o Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) estabelece a utilização de testes intradérmicos de tuberculinação. O objetivo deste estudo foi avaliar as respostas à tuberculina (PPD) aviária e à tuberculina bovina apresentadas por animais sensibilizados com inóculos inativados de *M. bovis* e de *M. avium*, e comparar os resultados do teste da prega caudal (TPC), do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina nos animais sensibilizados e em animais não sensibilizados. Os resultados mostraram que: a repetição dos testes não influenciou na proporção de resultados positivos; houve animais sensibilizados com *M. bovis* que apresentaram reação até 500 dias após a sensibilização; em animais sensibilizados com *M. avium*, a especificidade do TCC foi superior à do TCS e à do TPC, e o TCC mostrou-se efetivo para discriminar reações induzidas pelo inóculo desse microrganismo; em animais sensibilizados com *M. bovis*, o TCC apresentou menor sensibilidade do que os outros dois testes; o ponto de corte do TCS e do TCC com melhor combinação de sensibilidade e especificidade foi inferior ao ponto adotado pelo PNCEBT para diagnóstico em animais naturalmente infectados; o TCS apresentou boa concordância com os outros dois testes, mas a concordância entre o TCC e o TPC foi apenas regular; as frequências das respostas às tuberculinas não apresentaram distribuição gaussiana, a não ser em alguns períodos pós-sensibilização ou então após transformação radicial ou logarítmica dos dados.

Palavras-chave: tuberculose, diagnóstico, PPD, comparação de testes.

RESPONSE TO TUBERCULINIZATION IN BOVINE SENSITIZED WITH INACTIVATED INOCULUM OF *Mycobacterium avium* and *M. bovis*

ABSTRACT – Tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* is an important disease in cattle and a great problem for animal health that can reach humans. For the diagnosis of the infection and the consequent sanitary measures, the National Program for Control and Eradication of Brucellosis and Tuberculosis (PNCEBT) establish the use of intradermal tuberculin tests. The aim of this study was to analyze the response to the avian and bovine tuberculin (PPD) developed by cattle sensitized with inactivated inoculum of *M. avium* and *M. bovis*. Another aim was to compare the results of the caudal fold test (CFT), the comparative cervical test (CCT), and the simple cervical test (SCT) for tuberculosis diagnosis in the sensitized animals and in animals that have not been sensitized. Repetition of the tests did not influence the proportion of positive results. There were animals sensitized with *M. bovis* showing reaction up to more than 500 days post sensitization. In animals sensitized with *M. avium*, the specificity of the CCT was higher than that of CFT and SCT, and CCT was able to discriminate the unspecific reaction induced by *M. avium* inoculum. In animals sensitized with *M. bovis*, CCT had lower sensitivity than the other two tests. The SCT and CCT cut-off with the best combination of sensitivity and specificity was lower than that adopted by the PNCEBT for the tuberculosis diagnosis in naturally infected animals. SCT had good agreement with the other two tests, but the agreement between CFT and CCT was only moderate. The frequency of the responses to tuberculin did not show Gaussian distribution, but in some post sensitization periods or after square root or logarithmic transformation of the data.

Keywords: tuberculosis, diagnosis, PPD, test comparison.

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose bovina, causada pelo *Mycobacterium bovis*, é uma antroponose de evolução crônica com efeito debilitante, endêmica em países em desenvolvimento, cujo hospedeiro primário é o bovino. Além desse hospedeiro, outras espécies de mamíferos domésticos e animais silvestres estão susceptíveis à infecção por esse microrganismo. Por afetar uma gama muito grande de hospedeiros, causa sérios danos à saúde humana, principalmente em pacientes imunodeprimidos, e grandes prejuízos econômicos, quando se trata da criação animal.

A identificação da doença pode ser feita a partir da análise de lesões nodulares macroscópicas denominadas tubérculos, localizados em qualquer órgão ou tecido. Essa inspeção é importante na rotina de matadouros-frigoríficos para evitar que produtos veiculadores desses patógenos sejam comercializados e consumidos.

Além da análise dessas lesões, diferentes técnicas diretas e indiretas para o diagnóstico da doença podem ser feitas em bovinos com o intuito de identificar os animais infectados e eliminar a doença dos rebanhos, visando, com isso, melhorar a sanidade dos animais e dos seres humanos que lidam com eles.

No Brasil, atualmente, o protocolo recomendado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) é a utilização de testes alérgicos de tuberculinização intradérmicos. Tal exame baseia-se na hipersensibilidade tardia, mediada por linfócitos sensibilizados, desencadeada em indivíduos anteriormente expostos ao bacilo. Como antígenos, para desencadear a reação de hipersensibilidade, são empregadas tuberculinas sintéticas de dois tipos: a PPD (*Purified Protein Derivative*) bovina, procedente do *M. bovis*; e a PPD aviária, proveniente do *M. avium*. Este teste apresenta boa sensibilidade e especificidade, sendo considerado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) como técnica de referência.

Os testes alérgicos utilizados no diagnóstico da tuberculose bovina podem ser influenciados por fatores biológicos, como, por exemplo, a dinâmica da resposta imunológica naturalmente induzida pela infecção por agentes etiológicos que compartilham determinantes antigênicos que podem causar reações cruzadas, interferindo na especificidade dos testes e na mensuração da resposta desenvolvida

pelo animal. Os testes tuberculínicos podem ser simples ou comparativos. Os testes tuberculínicos simples utilizam apenas a tuberculina bovina (teste da prega caudal – TPC ou o teste cervical simples – TCS), enquanto o teste cervical comparativo (TCC) utiliza as tuberculinas bovina e aviária de forma simultânea.

O PNCEBT estabelece que os testes alérgicos para diagnóstico de tuberculose bovina e bubalina devem ser executados por médicos veterinários habilitados pelo MAPA, e para obter a habilitação o médico veterinário deve passar por um curso cujo programa prevê a realização de aulas práticas com bovinos previamente sensibilizados com inóculos inativados de *Mycobacterium*, de modo a poder observar as diversas possibilidades de resultados que ocorrem durante a aplicação dessas técnicas. Os testes usados para essa finalidade têm sido avaliados para o diagnóstico da infecção em condições naturais, porém há poucos estudos analisando a resposta dos bovinos aos alérgenos de *M. bovis* e *M. avium*. Com isso pretende-se obter informações relacionadas ao desempenho dos testes de diagnóstico de tuberculose bovina quando aplicados nas circunstâncias mencionadas acima, confrontando as respostas à tuberculina aviária e à tuberculina bovina em animais sensibilizados com *M. bovis*, animais sensibilizados com *M. avium* e animais não sensibilizados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A tuberculose foi reconhecida primeiramente como uma enfermidade causada por um agente infeccioso em animais, e historicamente a transmissibilidade da doença a partir de material humano aos coelhos foi descrita pela primeira vez por Villemin, em 1865. Mas foi Robert Koch que, em 1882, descobriu o agente infeccioso, corando-o pela fucsina-anilina, e isolando-o em meio de cultura em 1884. A diferenciação entre o bacilo humano-bovino e o aviário foi primeiramente descrita nos Estados Unidos por Smith, em 1897 (PRITCHARD, 1988).

A tuberculose bovina é uma antropozoonose desencadeada pelo *Mycobacterium bovis*, bacilo intracelular facultativo, que possui formato de bastonete imóvel, que se distingue por não formar esporos, por não possuir cápsulas ou flagelos e por ser um bacilo álcool-ácido resistente (BAAR). Tem distribuição cosmopolita, acontecendo principalmente em países pouco desenvolvidos ou em fase de desenvolvimento (ABRAHÃO, 1998), e em criações intensivas, como em bovinos leiteiros (ROXO, 1996).

A bactéria é resistente ao calor, à dessecação e a diversos desinfetantes. Permanece viável em estábulos, no pasto e no esterco por até dois anos, até um ano na água e por até 10 meses em produtos de origem animal contaminados. Desinfetantes como fenólicos, formólicos, álcool e em especial o hipoclorito de sódio são bastante eficientes no combate ao bacilo, contudo sua ação pode ser afetada pela concentração do produto, pelo tempo de exposição, pela temperatura e pela presença ou ausência de matéria orgânica. Compostos de amônio quaternário e clorexidine não destroem o bacilo. O calor úmido a 60°C elimina o bacilo rapidamente. A pasteurização, consistindo no tratamento do leite a 62,8-65,6°C por 30 minutos ou 71,7°C por 15 segundos, mata, além das micobactérias, a maioria dos microrganismos não esporulados. É rapidamente destruído pela luz solar direta em ambiente seco. Em condições de umidade, temperatura e ao abrigo da luz solar, mantém-se viável por longos períodos, como até dois anos no interior de estábulos (RUSSEL et al., 1984).

O agente etiológico pode ser transmitido por contato direto, via respiratória, ingestão de leite não pasteurizado e produtos lácteos, carne crua ou malcozida. Nos países desenvolvidos, os esforços de erradicação reduziram significativamente a

prevalência desta doença, mas, pelo fato de a doença permanecer em reservatórios selvagens, é difícil uma completa erradicação. Além disso, é uma séria ameaça para espécies ameaçadas de extinção. Os bovinos são considerados hospedeiros de manutenção do *M. bovis*, contudo, infecções causadas por essa bactéria também foram descritas em numerosos outros animais domésticos e selvagens (MOSSAD et al., 2012).

Rotineiramente essa doença apresenta uma evolução crônica com efeito debilitante, gerando lesões granulomatosas (CORRÊA; CORRÊA, 1992), contudo em alguns casos pode adotar um caráter agudo e ter desenvolvimento rápido (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSES, 1988).

Os mecanismos de transmissão da tuberculose bovina podem ser influenciados por distintos fatores, tais como idade, comportamento do animal, ambiente, clima e práticas de manejo (NEILL et al., 1998). Para os rebanhos bovinos em geral, a principal fonte de infecção são animais infectados adquiridos sem o conhecimento da condição sanitária em que os mesmos se encontram (BRASIL, 2006).

A eliminação do bacilo pode ser feita pela respiração, por leite, fezes, corrimento nasal, secreções vaginais e uterinas e sêmen (JUNIOR; SOUZA, 2008). A principal porta de entrada do *M. bovis* é a via respiratória; a transmissão, em aproximadamente 90% dos casos, ocorre pela inalação de aerossóis contaminados com o microrganismo. O trato digestivo também é porta de entrada da tuberculose bovina, principalmente em bezerros alimentados com leite proveniente de vacas com mastite tuberculosa e em animais que ingerem água ou forragens contaminadas. Nesse caso, o complexo primário localizar-se-á nos órgãos digestivos e nos linfonodos regionais (BRASIL, 2006).

Após a infecção do animal por *M. bovis*, há uma interação inicial entre os macrófagos alveolares e as micobactérias, que definirá os eventos posteriores e decidirá as consequências da exposição aos microrganismos (POLLOCK; NEILL, 2002). Está bem constituído que *M. bovis* leva à uma reação do tipo hipersensibilidade tardia, ou do tipo IV, e que o reconhecimento dos antígenos de micobactérias pelos linfócitos T é sugerido como a principal resposta imune à tuberculose. A resposta de hipersensibilidade tardia é avaliada como um indicador de uma resposta imune mediada por células que é consequência da infecção por *Mycobacterium sp.* (POLLOCK et al., 2005; WELSH et al., 2005).

No gado bovino, os linfócitos T são as primeiras células envolvidas na reação à tuberculose, comprovando a importância da imunidade mediada por células (IMC) na tuberculose bovina (POLLOCK et al., 2005). As células CD₄, CD₈ e $\gamma\delta$ T são as subpopulações dos linfócitos T envolvidas no controle da doença (BUDDLE et al., 2005; POLLOCK et al., 2005; PLATTNER et al., 2009). Os estudos da dinâmica de linfócitos na circulação sanguínea do gado bovino experimentalmente infectado por *M. bovis* revelaram participação sequencial das subpopulações dos linfócitos T (BUDDLE et al., 2005). Em um primeiro momento o predomínio é da célula $\gamma\delta$ T, seguida pela célula CD₄, e posteriormente uma participação mais destacada da célula CD₈ (POLLOCK et al., 2005). A população de células CD₄ de linfócitos T realiza a maior contribuição na imunidade adquirida contra tuberculose, produzindo IFN. Os linfócitos T CD₈ medeiam seus efeitos pela produção de citocinas como IFN e também apresentam atividades citotóxicas, que controlam a replicação micobacteriana. As células $\gamma\delta$ T, que estão presentes em grandes quantidades nos jovens ruminantes, conseguem reconhecer antígenos micobacterianos não proteicos, assim como os proteicos (WATERS et al., 2011).

Como uma parte da imunidade contra micobactérias, o desenvolvimento de resposta do linfócito T auxiliar tipo 1 (Th1) é considerado essencial para ativar as rotas de macrófagos por meio da produção das citocinas como IFN (WELSH et al., 2005; BUDDLE et al., 2009; WATERS et al., 2011). Sabe-se que anticorpos são produzidos por células B nas etapas avançadas da tuberculose bovina (POLLOCK; NEILL, 2002). Este fato foi posteriormente reforçado (WELSH et al., 2005) pela demonstração da modificação da resposta imunológica celular para humoral em todos os animais tuberculosos analisados. Inicialmente os animais desenvolveram forte resposta celular, que claramente diminuiu com a progressão da doença, e houve o aumento da resposta humoral baseada em anticorpos IgG₁. Contudo, a resposta humoral não pareceu ser capaz de controlar a infecção, a progressão da enfermidade ou o aumento da carga bacteriana. Foi ainda demonstrado que bovinos experimentalmente infectados também podem ter uma resposta de anticorpos prematura, com a detecção de anticorpos específicos IgM e IgG, utilizando antígenos já reconhecidos (WATERS et al., 2001).

A progressão da doença pode explicar a anergia de alguns bovinos infectados aos testes intradérmicos baseados na IMC. A ausência da resposta celular nos animais infectados ocorre particularmente quando a carga bacteriana é alta (WATERS

et al., 2011). É importante ressaltar que os animais anérgicos possuem resposta imune, entretanto está direcionada a outros antígenos, não predominantes nos testes tuberculínicos.

A lesão característica da tuberculose é um granuloma clássico composto de uma coleção de células epitelioides circundadas por uma orla de fibroblastos com linfócitos entremeados, conhecido como tubérculo. Frequentemente o centro do granuloma está necrosado e calcificado. Semelhante a lesões de muitas outras doenças infecciosas, o tubérculo é a reação do hospedeiro aos microrganismos invasores, e sua patogênese depende de uma resposta imunológica específica do hospedeiro (JONES et al., 2000).

Cheville (2004) descreve o início dos tubérculos como pequenos agregados de neutrófilos e macrófagos que sequestram e fagocitam os bacilos. Se os macrófagos capturam as bactérias, mas não as matam, eles próprios são mortos. Os focos de células necróticas ficam circundados por uma camada de macrófagos novos. A lesão se expande lentamente devido à entrada contínua de monócitos imunes. Estas células fagocitam macrófagos mortos e suas bactérias viáveis, sendo, por sua vez, eliminadas. Na periferia da lesão, a atividade dos monócitos é mais intensa, sendo proeminentes grandes macrófagos arredondados, conhecidos como células epitelioides. Essas células possuem a superfície com projeções fortemente ondulantes e entrecruzadas, e a fusão das suas membranas plasmáticas leva à formação das células gigantes que caracterizam a tuberculose. A necrose maciça e a cavitação na tuberculose pulmonar, em alguns mamíferos, se devem menos à virulência das bactérias que à hipersensibilidade dos macrófagos naquele hospedeiro propriamente dito.

De modo geral, os sinais clínicos da tuberculose bovina costumam ser indefinidos. Contudo, alguns animais podem apresentar: caquexia, linfonodos aumentados de tamanho, na auscultação pulmonar áreas de silêncio e, em alguns eventos, tosse, dispneia, mastite e infertilidade (CORRÊA; CORRÊA, 1992). O estabelecimento da doença pode ser favorecido por fatores como: má nutrição dos animais, doenças intercorrentes, aumento da produção de leite e gestação. Na fase inicial da doença pode não haver sintomas, contudo, em casos mais crônicos, a sintomatologia torna-se presente (NEILL et al., 1994).

Medidas de higiene, como desinfecção e limpeza das instalações, cuidados na aquisição e introdução de novos animais nos rebanhos com testes negativos, ou

vindos de rebanhos livres da doença, quarentenário ou isolamento efetivo de animais suspeitos são importantes para impedir que a doença se instale na propriedade (ROXO, 1996). Já em relação aos mecanismos de transmissão da doença para os seres humanos, a medida mais importante a ser tomada é evitar a ingestão de leite não pasteurizado. Essa medida reduz significativamente a transmissão da doença, contudo, apenas a completa erradicação da doença do rebanho poderá proteger os consumidores e os seres humanos que atuam na cadeia de produção (CASTRO et al., 2009).

Como citado por Morrison et al. (2000), o controle da tuberculose bovina e bubalina é baseado no diagnóstico adequado e na eliminação dos animais positivos, junto com a prevenção da disseminação da doença para rebanhos sadios.

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) foi implantado no território nacional em 2001, ligeiramente modificado em 2004 (BRASIL, 2004), com o desígnio de diminuir o impacto negativo dessas zoonoses na saúde de seres humanos e animais, além de permitir uma melhora na concorrência da pecuária brasileira, de modo a atender às rigorosas exigências sanitárias dos países importadores. O controle da doença se fundamenta no método teste-e-abate, ou seja, no diagnóstico confirmatório de animais positivos no teste de diagnóstico e o encaminhamento a matadouros-frigoríficos sanitários, onde médicos veterinários treinados analisam as carcaças e determinam seu destino (BRASIL, 2006).

O diagnóstico da tuberculose bovina pode ser feito por métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos envolvem a detecção e identificação do agente etiológico no material biológico. Já os métodos indiretos pesquisam uma resposta imunológica do hospedeiro ao agente etiológico, que pode ser humoral, pela produção de anticorpos circulantes, ou celular, mediada por linfócitos e macrófagos (PACHECO et al., 2009). A execução de um programa sanitário de controle e erradicação da tuberculose bovina prevê a execução de teste de diagnóstico em um grande número de animais, especialmente em um país com um rebanho grande como é o caso de Brasil. Por isso, na rotina de diagnóstico os testes indiretos desempenham papel fundamental, por sua maior praticidade, sendo então o recurso escolhido para uso nos programas sanitários, como é o caso do PNCEBT (BRASIL, 2004).

O teste alérgico-cutâneo com tuberculina é um método de diagnóstico indireto e funciona como uma ferramenta básica para programas de controle e erradicação da

tuberculose bovina em todo o mundo. Pode revelar infecções principiantes a partir de três a oito semanas da exposição ao *Mycobacterium*, alcançando boa sensibilidade e especificidade, sendo considerado pela OIE como técnica de referência. Para que realmente funcione como ferramenta diagnóstica em um programa de controle, é indispensável que o procedimento seja padronizado quanto à produção das tuberculinas, equipamentos para realização das provas, tipos de provas e critérios de leitura e interpretação (BRASIL, 2006).

A reação à tuberculina caracteriza-se por ser um infiltrado de células mononucleares no local da aplicação, com formação de edema mais ou menos pronunciado. É uma reação de hipersensibilidade tardia mediada por linfócitos T sensibilizados (NEILL et al., 1994). No teste, uma proteína purificada derivada da bactéria da tuberculose, obtida por precipitação de culturas em meio rico em proteína, é injetada cutaneamente. Se o animal foi infectado com tuberculose no passado, as células T sensibilizadas reagem com essas proteínas e ocorre uma reação de hipersensibilidade tardia, em cerca de 48-72 horas. Essa reação surge como um endurecimento e avermelhamento da área em torno do sítio de injeção (TORTORA et al., 1998).

O exame intradérmico pode ser realizado de três maneiras, ou seja, teste da prega caudal (TPC), teste cervical simples (TCS) e teste cervical comparativo (TCC). O TPC e o TCS são utilizados como testes de triagem em pecuária de corte e leite, respectivamente. O TCC é usado como teste confirmatório, por causa da sua maior especificidade em relação aos testes simples. Este teste permite eliminar a maior causa de reações falso-positivas, que podem ser as infecções causadas por micobactérias ambientais ou pelas do complexo MAIS, que não são patogênicas para bovinos e bubalinos, contudo provocam reações inespecíficas à tuberculinização, atrapalhando o diagnóstico da tuberculose nessas espécies (JORGE, 2001).

Testes intradérmicos são os exames indiretos mais empregados para diagnosticar a tuberculose no gado bovino, tendo sido utilizados por mais de 100 anos, porém não são 100% específicos (MONAGHAN et al., 1994), e a ocorrência de resultados falso-positivos, com o descarte desnecessário de animais, em muitos momentos coloca em risco a competência de todo o programa de controle. Assim, a confirmação de animais reativos por meio de testes confirmatórios se torna imprescindível para garantir a confiabilidade dos testes de diagnóstico (FRAGUÁS et al., 2008).

Sendo o método de diagnóstico mais rotineiramente utilizado para o diagnóstico da tuberculose bovina, a literatura é ampla em estudos avaliando os testes de tuberculinização intradérmica em condições de campo em bovinos (KANTOR et al., 1984; LLAMAZARES et al., 1999; AMENI et al., 2000; SCACHIA et al., 2000; KAYA et al., 2015; PINTO, 2015) e em bubalinos (LOPES et al., 2006; CASSEB et al., 2015), ou em infecções experimentais em bovinos (WOOD et al., 1992). Entretanto, são raros os estudos avaliando o teste em animais sensibilizados com inóculos inativados. Esse é o caso do estudo de Almeida et al. (2006), que sensibilizaram 16 animais com PPD bovina, três com PPD aviária, além de terem aplicado os testes a sete bovinos não sensibilizados, e concluíram que o teste cervical comparativo foi efetivo na discriminação da reação inespecífica induzida por *M. avium*.

A principal desvantagem do teste intradérmico é a sua falta de especificidade e no caso de lesões não visíveis que possam ocorrer. A tuberculina bovina (PPD bovina) não é suficientemente específica para diferenciar entre as reações devido à infecção com *M. bovis* e a infecção por *M. avium*, *M. tuberculosis* e *M. paratuberculosis*, incluindo a vacinação ou *Nocardia farcinicus*.

As outras desvantagens deste teste incluem a falha para detectar casos de sensibilidade mínima, em vacas idosas e em vacas que tenham parido recentemente, bem como na fase inicial da infecção, em alguns animais em um estado de anergia, má nutrição e estresse (VARELLO et al., 2008).

Não se pode desconsiderar também uma desvantagem do ponto de vista da praticidade, resultante do fato de ser um teste de campo que exige ir duas vezes à propriedade e conter os animais duas vezes, uma para inocular a tuberculina e outra para fazer a leitura, e o conseqüente aumento de tempo, de custo e de estresse para os animais. Por isso, testes de laboratório têm sido desenvolvidos para o diagnóstico *in vitro* da tuberculose bovina, como é o caso do teste do interferon gama (AMENI et al., 2000; LOPES, 2003; KAYA et al., 2015) e a pesquisa de anticorpos por meio do ELISA (WATERS et al., 2011).

É presumido que as maiores desvantagens do uso do IFN são a necessidade de processar as amostras em laboratórios adequadamente equipados e o alto custo unitário do teste, que é maior do que o custo dos testes cutâneos (MARASSI et al., 2013). Já no caso do ELISA, as desvantagens estão relacionadas ao tempo de realização, custo e necessidade de laboratório especializado, além de não apresentarem vantagens significativas que justifiquem sua adoção como métodos

complementares de diagnóstico da tuberculose bovina em animais reativos à tuberculinização (FRÁGUAS et al., 2008).

Em inúmeros trabalhos publicados pode ser percebido que nenhum método diagnóstico empregado isoladamente é capaz de diagnosticar todos os bovinos infectados por *M. bovis* (POLLOCK et al., 2005; LILENBAUM; FONSECA, 2006; FRÁGUAS et al., 2008; BUDDLE et al., 2009; SCHILLER et al., 2010; ALVAREZ et al., 2012; MARASSI et al., 2013; ZARDEN et al., 2013). Entretanto, independentemente da sensibilidade e da especificidade dos testes, deve-se perceber a valiosa contribuição da utilização dos métodos de diagnóstico na identificação do rebanho infectado, permitindo interferir com apropriadas medidas de manejo, diagnóstico e vigilância. A análise dos métodos de diagnóstico usualmente empregados permite observar a limitação e a necessidade de uma abordagem multidisciplinar da doença, e muitas vezes em múltiplas etapas, levando em consideração as distintas respostas imunológicas que o animal pode apresentar individualmente (MEDEIROS et al., 2010; MARASSI et al., 2013).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Comparar os resultados dos testes de tuberculinização para diagnóstico da tuberculose bovina e comparar as respostas à tuberculina aviária e à tuberculina bovina apresentadas por animais sensibilizados com *M. bovis*, animais sensibilizados com *M. avium* e animais não sensibilizados.

3.2. Objetivos específicos

- Verificar a proporção de animais positivos nos testes da tuberculinização na prega caudal, cervical simples e cervical comparativo em função da repetição dos testes em animais não sensibilizados, em animais sensibilizados com *M. bovis* e animais sensibilizados com *M. avium*;
- Verificar a proporção de animais positivos nos testes da prega caudal, cervical simples e cervical comparativo em função do tempo após a sensibilização com *M. bovis* e com *M. avium*;
- Avaliar a especificidade dos testes da prega caudal, cervical simples e cervical comparativo em animais não sensibilizados e em animais sensibilizados com *M. avium*, verificando a capacidade do teste cervical comparativo de discriminar reações induzidas pelo *M. avium*;
- Avaliar a sensibilidade dos testes da prega caudal, cervical simples e cervical comparativo em animais sensibilizados com *M. bovis*;
- Determinar o ponto de corte do teste cervical simples e do teste cervical comparativo que proporciona, nas condições em que o estudo foi realizado, a melhor combinação de especificidade e sensibilidade;

- Avaliar a concordância entre os testes da prega caudal, cervical simples e cervical comparativo em animais não sensibilizados, em animais sensibilizados com *M. avium* e em animais sensibilizados com *M. bovis*;
- Comparar o aumento da espessura da dobra da pele induzido pela inoculação de tuberculina aviária com o aumento induzido pela inoculação de tuberculina bovina em animais não sensibilizados, em animais sensibilizados com *M. avium* e em animais sensibilizados com *M. bovis*;
- Comparar o aumento da espessura da dobra da pele induzido pela inoculação de tuberculina aviária em animais não sensibilizados, em função do número de vezes que o animal foi testado;
- Comparar o aumento da espessura da dobra da pele induzido pela inoculação de tuberculina bovina em animais não sensibilizados, em função do número de vezes que o animal foi testado;
- Comparar o aumento da espessura da dobra da pele induzido pela inoculação de tuberculina aviária em animais sensibilizados com *M. avium* e em animais sensibilizados com *M. bovis*, em função do tempo após a sensibilização;
- Comparar o aumento da espessura da dobra da pele induzido pela inoculação de tuberculina bovina em animais sensibilizados com *M. avium* e em animais sensibilizados com *M. bovis*, em função do tempo após a sensibilização;
- Analisar a normalidade da distribuição de frequências das respostas à inoculação de tuberculina aviária e à inoculação de tuberculina bovina em animais não sensibilizados, em animais sensibilizados com *M. avium* e em animais sensibilizados com *M. bovis*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Comitê de Ética na Utilização de Animais

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais – CEUA da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal sob o protocolo nº 19418/15.

4.2. Animais

Foram analisados dados de 747 fichas de resultados de testes de tuberculina realizados em 368 bovinos durante atividades do Curso de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle de Brucelose e Tuberculose, no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal, Unesp, no período de dezembro de 2003 a julho de 2015. Dos 388 bovinos, 203 não foram sensibilizados, 35 foram sensibilizados com *M. avium* e 130 foram sensibilizados com *M. bovis*. Antes da sensibilização, todos os animais apresentavam resultado negativo nos testes de tuberculinização.

4.3. Operadores

Os TPC, TCS e TCC foram realizados por médicos veterinários diferentes, em épocas e anos diferentes.

4.4. Sensibilização

A sensibilização com *M. avium* foi efetuada pela aplicação, por via subcutânea, na região da barbela, de 2,5 mL de inóculo inativado da amostra D4 desse microrganismo, na concentração de 4 mg por mL, e na sensibilização com *M. bovis* foi utilizada a amostra AN5, na mesma dose e pela mesma via de aplicação. Esses inóculos foram fornecidos pelo Lanagro de Pedro Leopoldo, MG, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

4.5. Diagnóstico alérgico

A metodologia empregada para a realização dos testes alérgicos ou tuberculizações utilizadas no estudo seguiu a técnica descrita no Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal – PNCEBT (BRASIL, 2006).

4.5.1. Tuberculinas

Foram utilizadas as tuberculinas PPD (*Purified Protein Derivate* – Derivado Proteico Purificado) bovina e aviária, produzidas segundo as normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo as partidas controladas e aprovadas pelo Ministério, sempre dentro do prazo de validade de um ano.

4.5.2. Equipamentos

Para a realização dos testes de diagnóstico de tuberculose foram utilizadas seringas automáticas e cutímetros adequados, conforme estabelece o MAPA:

seringas multidoses calibradas para 0,1 mL, com agulhas de calibre 22G x 3 mm ou 4 mm de comprimento; cutímetro específico para tuberculinização de bovídeos.

4.5.3. Testes

4.5.3.1. Teste cervical simples (TCS)

Para a tuberculinização simples, a inoculação de tuberculina PPD bovina foi feita na região da escápula. A área da aplicação foi demarcada por tricotomia, evitando local com lesão ou nódulos de parasitas. A espessura da dobra da pele foi determinada com o auxílio de cutímetro antes da inoculação e as medidas anotadas no formulário para exame de tuberculose, de acordo com as normas. Inoculou-se a tuberculina PPD bovina por via intradérmica na dosagem de 0,1 mL.

Após 72 ± 6 horas da inoculação, foi realizada nova medida da dobra da pele no local de inoculação da tuberculina PPD bovina, sendo o resultado anotado no respectivo campo do formulário para exame de tuberculose.

O aumento da espessura da dobra da pele (ΔB) foi calculado subtraindo-se da medida da dobra da pele 72 horas após a inoculação (B72) a medida da dobra da pele tomada no dia da inoculação para a tuberculina PPD bovina (B0), sendo o resultado anotado no respectivo campo do formulário ($\Delta B = B72 - B0$). Os resultados obtidos foram interpretados de acordo com os critérios encontrados no Quadro 1, definidos no Regulamento Técnico do PNCEBT (BRASIL, 2004).

Quadro 1. Interpretação do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina.

ΔB (mm)	Características da reação			Interpretação
	Sensibilidade	Consistência	Outras alterações	
0 a 1,9	–	–	–	Negativo
2,0 a 3,9	Pouca dor	Endurecida	Delimitada	Inconclusivo
2,0 a 3,9	Muita dor	Macia	Exsudato, necrose	Positivo
$\geq 4,0$	–	–	–	Positivo

4.5.3.2. Teste cervical comparativo (TCC)

Para o TCC, as tuberculinas, bovina e aviária, foram inoculadas por via intradérmica na dosagem de 0,1mL, na região da escápula, a uma distância mínima de 15 a 20 cm entre as duas inoculações, de um mesmo lado em todos os animais. Os locais foram demarcados por tricotomia, evitando áreas com lesão ou nódulos de parasitos. A espessura da dobra de pele foi determinada com o auxílio de cutímetro antes da inoculação. As medidas da dobra da pele do local da inoculação da tuberculina PPD aviária e da tuberculina PPD bovina foram anotadas nos respectivos campos do formulário para exame de tuberculose.

Após 72 ± 6 horas da inoculação, foi realizada nova medida da dobra da pele no local de inoculação da tuberculina PPD aviária e da tuberculina PPD bovina, sendo os resultados anotados nos respectivos campos do formulário para exame de tuberculose.

O aumento da espessura da dobra da pele foi calculado subtraindo da medida da dobra da pele 72 horas após a inoculação a medida da dobra da pele tomada no dia da inoculação da tuberculina PPD aviária (ΔA) e da tuberculina PPD bovina (ΔB). A diferença de aumento da dobra da pele provocado pela inoculação da tuberculina PPD bovina (ΔB) e da tuberculina PPD aviária (ΔA) foi calculada subtraindo-se ΔA de ΔB . Os resultados das diferenças ($\Delta B - \Delta A$) foram interpretados de acordo com os critérios definidos no Regulamento Técnico do PNCEBT (BRASIL, 2004) (Quadro 2).

Quadro 2. Interpretação do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina.

	$\Delta B - \Delta A$ (mm)	Interpretação
$\Delta B < 2,0$	-	Negativo
$\Delta B < \Delta A$	< 0	Negativo
$\Delta B \geq \Delta A$	0,0 a 1,9	Negativo
$\Delta B > \Delta A$	2,0 a 3,9	Inconclusivo
$\Delta B > \Delta A$	$\geq 4,0$	Positivo

4.5.3.3. Teste da prega caudal (TPC)

A tuberculina PPD bovina foi inoculada por via intradérmica, na dosagem de 0,1mL, 6 a 10cm da base da cauda, na junção da pele pilosa e da pele glabra, após limpeza do local, com papel-toalha seco, descartável e sem antisséptico.

Após 72 ± 6 horas da inoculação foi realizada a leitura do teste, comparando-se, por avaliação visual e palpação, a prega inoculada com a prega do lado oposto. Qualquer aumento de espessura na prega inoculada classificava o animal como reagente.

4.6. Análise estatística

Para as diversas comparações entre as proporções de resultados positivos foi empregado o teste exato de Fisher, sendo os cálculos efetuados por meio do software R.

A especificidade e a sensibilidade dos testes foram calculadas com base nas fórmulas padrões associadas a esses conceitos (THRUSFIELD, 2010). Para esse cálculo, os resultados inconclusivos foram desconsiderados. A comparação entre os valores foi feita por meio do intervalo de confiança, o qual foi calculado usando os critérios recomendados por Thrusfield (2010).

O ponto de corte que proporciona melhor combinação de sensibilidade e especificidade foi obtido pela soma desses dois valores em cada ponto de corte (DOHOO et al., 2009). No cálculo da sensibilidade foram utilizados os resultados dos testes realizados em animais sensibilizados com *M. bovis*, e no cálculo da especificidade foram utilizados os resultados dos testes realizados em animais não sensibilizados e os realizados em animais sensibilizados com *M. avium*. Foram elaborados gráficos com esses valores, empregando o software Microsoft Excel. Também foi elaborada a curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*), a qual permite observar o ponto de corte com melhor combinação e também a área sob a curva; para isso, foi empregado o software Win Episcopo 2.0. A interpretação do valor

da área sob a curva ROC foi efetuada pelos critérios mencionados por Martinez et al. (2003), Hajian-Tilaki (2013) e Câmara (2016), apresentados no Quadro 3.

Quadro 3. Interpretação do resultado da área sob a curva ROC.

Área sob a curva ROC (%)	Interpretação
50 a 60	Reprovado
60 a 70	Ruim
70 a 80	Regular
80 a 90	Bom
> 90	Excelente

Para analisar a concordância entre os resultados de dois testes calculou-se concordância observada, concordância esperada e indicador kappa. Foram calculados também fatores que influenciam a magnitude do kappa (SIM; WRIGHT, 2005), como concordância máxima além do acaso, kappa máximo atingível, índice de prevalência (pindex), índice de bias (bindex), prevalência ajustada a bias (pabak) e teste de χ^2 de McNemar. O kappa máximo atingível foi calculado usando planilha eletrônica do site "<http://www.winepi.net/uk/index.htm>". Os demais cálculos foram efetuados usando o pacote EpiR do software R (STEVENSON, 2012). A interpretação do indicador kappa tomou como base os critérios de Pereira (1995), os quais se encontram no Quadro 4, e levou em consideração o intervalo de confiança 95%, calculado por meio do pacote EpiR.

Quadro 4. Interpretação do indicador Kappa.

Kappa	Concordância
<0,00	Ruim
0,00 – 0,20	Fraca
0,21 – 0,40	Sofrível
0,41 – 0,60	Regular
0,61 – 0,80	Boa
0,81 – 0,99	Ótima
1,00	Perfeita

Nas diversas comparações entre as respostas à inoculação de tuberculina, expressa em variável contínua, foi efetuada inicialmente a análise da normalidade dos dados, por meio do teste de Shapiro-Wilk. Havendo normalidade ($P > 0,05$), as comparações foram feitas por meio do teste t para comparação de médias em amostras pareadas, após a realização de teste de comparação de variâncias; não

havendo normalidade, as comparações foram feitas por estatística não paramétrica, usando o teste de Wilcoxon para diferença entre pares ordenados (SIQUEIRA; TIBÚRCIO, 2011). Os cálculos foram efetuados utilizando o software R.

Para a análise da normalidade da distribuição das frequências das respostas à inoculação da tuberculina utilizou-se o teste de Anderson-Darling. Também foi feita a análise por meio de gráficos (histograma e QQ-plot). Quando não se observou normalidade na distribuição, ou seja, $P < 0,05$ no teste de normalidade de Anderson-Darling, os dados foram transformados em raiz quadrada de cada valor (x) e também em logaritmo de base 10 de cada valor acrescido de 1 ($x+1$). Esses dados transformados foram novamente submetidos à análise de normalidade. Tanto as análises como as transformações foram realizadas usando o software R.

Em todas as análises adotou-se o nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 298 testes realizados em animais não sensibilizados foram observados apenas 2 (0,7%) resultados positivos no teste cervical simples (TCS). Um positivo (0,5%) foi observado entre 203 testes realizados pela primeira vez e outro (5,3%) entre 19 realizados pela terceira vez (Tabela 1). Não se observou diferença significativa entre as proporções de resultados positivos levando em consideração o número de vezes que o animal foi submetido ao teste (Tabela 2).

Tabela 1. Resultados do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico de tuberculose em bovinos não sensibilizados, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.

Número do teste	Número de testes	Teste cervical simples					
		Positivo		Inconclusivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	203	1	0,5	6	3,0	196	96,5
2	74	0	0,0	2	2,7	72	97,3
3	19	1	5,3	1	5,3	17	89,5
4	2	0	0,0	0	0,0	2	100,0
Geral	298	2	0,7	9	3,0	287	96,3

Tabela 2. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical simples (TCS) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos não sensibilizados.

Comparação	Valor de P
1x2	1,0
1x3	0,1608
1x4	1,0
2x3	0,20
2x4	1,0
3x4	1,0

No teste cervical comparativo (TCC) não foi observado nenhum resultado positivo entre os animais não sensibilizados (Tabela 3) e, obviamente, não se observou diferença significativa entre as proporções de positivos conforme o número de vezes que o animal foi testado (Tabela 4).

Tabela 3. Resultados do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos não sensibilizados, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.

Número do teste	Número de testes	Teste cervical comparativo					
		Positivo		Inconclusivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	203	0	0,0	4	2,0	199	98,0
2	74	0	3,0	0	3,0	74	100,0
3	19	0	0,0	1	5,3	18	94,7
4	2	0	0,0	0	0,0	2	100,0
Geral	298	0	0,0	5	1,7	293	98,3

Tabela 4. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical comparativo (TCC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos não sensibilizados.

Comparações	Valor de P
1x2	1,0
1x3	1,0
1x4	1,0
2x3	1,0
2x4	1,0
3x4	1,0

Quando submetidos ao teste da prega caudal (TPC), 6 (3,0%) de 203 animais não sensibilizados foram positivos na primeira vez em que foram testados, 1 (1,4%) de 74 animais foi positivo na segunda vez em que foram testados e 1 (50,0%) de 2 animais foi positivo na quarta vez em que foi testado (Tabela 5), mas as diferenças entre essas proporções não foram significativas (Tabela 6).

Tabela 5. Resultados do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos não sensibilizados, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.

Número do teste	Número de testes	Teste da prega caudal			
		Positivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%
1	203	6	3,0	197	97,0
2	74	1	1,4	73	98,6
3	19	0	0,0	19	100,0
4	2	1	50,0	1	50,0
Geral	298	8	2,7	290	97,3

Tabela 6. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste da prega caudal (TPC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado em bovinos não sensibilizados.

Comparações	P
1x2	0,679
1x3	1,0
1x4	0,06729
2x3	1,0
2x4	0,05228
3x4	0,09524

Dos 35 exames em animais sensibilizados com *M. avium*, 5 (14,3%) foram positivos frente à tuberculina bovina ao serem testados pela primeira vez pelo TCS, 3 (13,0%) de 23 foram positivos ao serem testados pela segunda vez, 1 (5,3%) de 19 foi positivo ao ser testado pela terceira vez e 1 (16,7%) de seis foi positivo ao ser testado pela quarta vez. De um total de 88 testes, 10 (11,4%) resultaram em reação positiva (Tabela 7). Não se observou diferença significativa entre essas proporções, conforme se observa pelos resultados contidos na Tabela 8.

Tabela 7. Resultados do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.

Número do teste	Número de testes	Teste cervical simples					
		Positivo		Inconclusivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	35	5	14,3	9	25,7	21	60,0
2	23	3	13,0	5	21,7	15	65,2
3	19	1	5,3	6	31,6	12	63,2
4	6	1	16,7	2	33,3	3	50,0
5	4	0	0,0	1	25,0	3	75,0
6	1	0	0,0	0	0,0	1	100,0
Geral	88	10	11,4	23	26,1	55	62,5

Tabela 8. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical simples (TCS) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*.

Comparações	P
1x2	1,0
1x3	0,6426
1x4	1,0
1x5	1,0
1x6	1,0
2x3	0,6207
2x4	1,0
2x5	1,0
2x6	1,0
3x4	0,4265
3x5	1,0
3x6	1,0
4x5	1,0
4x6	1,0
5x6	1,0

No TCC, não se observou resultado positivo entre os animais sensibilizados com *M. avium* (Tabela 9), o que também significa ausência de diferença significativa entre as proporções de positivos segundo o número de vezes em que os animais foram testados (Tabela 10). Concordando com as conclusões de Almeida et al. (2006), os resultados do presente estudo também mostraram que o TCC mostrou-se efetivo na discriminação de reações inespecíficas induzidas por *M. avium*.

Tabela 9. Resultados do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.

Número do teste	Número de testes	Teste cervical comparativo					
		Positivo		Inconclusivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	35	0	0,0	1	2,9	34	97,1
2	23	0	0,0	1	4,3	22	95,7
3	19	0	0,0	0	0,0	19	100,0
4	6	0	0,0	0	0,0	6	100,0
5	4	0	0,0	0	0,0	4	100,0
6	1	0	0,0	0	0,0	1	100,0
Geral	88	0	0,0	2	2,3	86	97,7

Tabela 10. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical comparativo (TCC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*.

Comparações	Valor de P
1x2	1,0
1x3	1,0
1x4	1,0
1x5	1,0
1x6	1,0
2x3	1,0
2x4	1,0
2x5	1,0
2x6	1,0
3x4	1,0
3x5	1,0
3x6	1,0
4x5	1,0
4x6	1,0
5x6	1,0

O TPC foi positivo em 21 (23,9%) das vezes em que foi aplicado em animais sensibilizados com *M. avium*. Dos 35 animais testados pela primeira vez, 10 (28,6%) foram positivos, e a proporção de positivos variou conforme o número de vezes em que o animal foi testado, porém sem sugerir tendência (Tabela 11). Além disso, a diferença entre essas proporções não foi estatisticamente significativa (Tabela 12).

Tabela 11. Resultados do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.

Número do teste	Número de testes	Teste da prega caudal			
		Positivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%
1	35	10	28,6	25	71,4
2	23	5	21,7	18	78,4
3	19	3	15,8	16	84,2
4	6	2	33,3	4	66,7
5	4	1	25,0	3	75,0
6	1	0	0,0	1	100,0
Geral	88	21	23,9	67	76,1

Tabela 12. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste da prega caudal (TPC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*.

Comparações	Valor de P
1x2	0,7604
1x3	0,3414
1x4	1,0
1x5	1,0
1x6	1,0
2x3	0,7092
2x4	0,6119
2x5	1,0
2x6	1,0
3x4	0,5623
3x5	1,0
3x6	1,0
4x5	1,0
4x6	1,0
5x6	1,0

Dos 130 testes em animais sensibilizados com *M. bovis*, 75,4% (98/130) foram positivos no TCS na primeira vez em que foram testados, 68,5% (61/89) foram positivos na segunda vez, 46,8% (29/62) foram positivos na terceira e 20,0% (3/15) foram positivos na quarta vez em que foram testados. Na quinta e na sexta vez não se observou reagente, mas o número de animais nessa situação era muito pequeno. No geral, foram observadas 191 (63,2%) reações positivas em 302 testes realizados (Tabela 13). Ao comparar as proporções de positivos conforme o número de vezes em que o animal foi testado, constata-se diferença estatisticamente significativa em diversas dessas comparações, mas as proporções de positivos na primeira e na segunda vez não diferiram, conforme se observa na Tabela 14.

Tabela 13. Resultados do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.

Número do teste	Número de testes	Teste cervical simples					
		Positivo		Inconclusivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	130	98	75,4	14	10,8	18	13,8
2	89	61	68,5	17	19,1	11	12,4
3	62	29	46,8	13	21,0	20	32,3
4	15	3	20,0	5	33,3	7	46,7
5	5	0	0,0	1	20,0	4	80,0
6	1	0	0,0	0	0,0	1	100,0
Geral	302	191	63,2	50	16,6	61	20,2

Tabela 14. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical simples (TCS) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*.

Comparações	Valor de P
1x2	1,0
1x3	0,0009592
1x4	0,0004452
1x5	0,003775
1x6	0,1624
2x3	0,00265
2x4	0,0006625
2x5	0,001064
2x6	0,1644
3x4	0,162
3x5	0,03629
3x6	0,42
4x5	0,5055
4x6	1,0
5x6	1,0

No TCC aplicado aos animais sensibilizados com *M. bovis*, 66 (50,8%) de 130 animais foram positivos na primeira vez em que foram testados, 46 (51,7%) de 89 foram positivos na segunda vez e 15 (24,2%) de 62 o foram na terceira. A partir daí não se observou mais resultado positivo. No global, 127 (42,1%) de 302 testes foram positivos (Tabela 15). Várias das comparações mostraram diferença significativa, porém não houve diferença entre as proporções de positivos na primeira e na segunda vez em que os animais foram testados (Tabela 16).

Almeida et al. (2006) identificaram pelo TCC 75% dos bovinos sensibilizados com *M. bovis* como sendo positivos, e 25% apresentaram reações inconclusivas. Tais dados diferem dos encontrados no presente trabalho, e esse dado pode ser apoiado no fato dos autores citados apenas testarem os animais uma única vez, ou seja, 60 dias após a sensibilização, afirmando ainda que seriam necessários mais testes para esclarecer a questão relacionada com a infecção nos diferentes momentos.

Tabela 15. Resultados do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.

Número do teste	Número de testes	Teste cervical comparativo					
		Positivo		Inconclusivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	130	66	50,8	24	18,5	40	30,8
2	89	46	51,7	16	18,0	27	30,3
3	62	15	24,2	18	29,0	29	46,8
4	15	0	0,0	6	40,0	9	60,0
5	5	0	0,0	1	20,0	4	80,0
6	1	0	0,0	0	0,0	1	100,0
Geral	302	127	42,1	65	21,5	110	36,4

Tabela 16. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical comparativo (TCC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*.

Comparações	Valor de P
1x2	1,0
1x3	0,002138
1x4	0,0002922
1x5	0,02351
1x6	0,3832
2x3	0,003931
2x4	0,0003213
2x5	0,02325
2x6	0,3784
3x4	0,04739
3x5	0,2945
3x6	1,0
4x5	1,0
4x6	1,0
5x6	1,0

Na primeira vez que os animais sensibilizados com *M. bovis* foram submetidos ao TCC, 97 (75,8%) de 128 apresentaram resultado positivo, na segunda vez, 62 de 83 (74,7%), na terceira 38 de 61 (62,3%) e na quarta, 7 de 15 (46,7%). Dos 302 testes realizados, 204 (69,6%) resultaram em reação positiva (Tabela 17). Algumas das comparações entre as proporções de positivos conforme o número de vezes em que o animal foi testado mostraram significância, mas a comparação entre a primeira e a segunda vez não apontou diferença significativa (Tabela 18).

Tabela 17. Resultados do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*, de acordo com o número de vezes em que o animal foi testado.

Número do teste	Número de testes	Teste da prega caudal			
		Positivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%
1	128	97	75,8	31	24,2
2	83	62	74,7	21	25,3
3	61	38	62,3	23	37,7
4	15	7	46,7	8	53,3
5	5	0	0,0	5	100,0
6	1	0	0,0	1	100,0
Geral	293	204	69,6	89	30,4

Tabela 18. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste da prega caudal (TPC) entre cada faixa de número de vezes que o animal foi testado, desconsiderando os resultados inconclusivos, em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*.

Comparações	Valor de P
1x2	0,8713
1x3	0,06034
1x4	0,02842
1x5	0,001173
1x6	0,2481
2x3	0,143
2x4	0,06097
2x5	0,001679
2x6	0,2619
3x4	0,38
3x5	0,011
3x6	0,3871
4x5	0,1137
4x6	1,0
5x6	1,0

Na Tabela 19 encontram-se as proporções de resultados positivos no TCS em bovinos sensibilizados com *M. avium*. Constata-se que 20,0% (4/20) dos animais testados de 60 a 90 dias após a sensibilização, 25,0% (3/12) dos testados entre 151 e 230 dias, 7,7% (1/13) dos testados de 301 a 500 dias e 15,4% (2/13) foram positivos, ao passo que nenhum de 13 animais testados entre 91 e 150 dias e nenhum dos 14 testados entre 231 e 300 dias apresentou reação positiva nesse teste. Não se observou diferença significativa entre essas proporções de positivos conforme o tempo após a sensibilização (Tabela 20).

Tabela 19. Resultados do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).

Tempo	Dias PS	Número de testes	Teste cervical simples					
			Positivo		Inconclusivo		Negativo	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	60 a 90	20	4	20,0	7	35,0	9	45,0
2	91 a 150	13	0	0,0	5	38,5	8	61,5
3	151 a 230	12	3	25,0	2	16,7	7	58,3
4	231 a 300	14	0	0,0	3	21,4	11	78,6
5	301 a 500	13	1	7,7	1	7,7	11	84,6
6	>500	13	2	15,4	5	38,5	6	46,2
Geral		85	10	11,7	23	27,1	52	61,2

Tabela 20. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical simples (TCS) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com *Mycobacterium avium*, desconsiderando os resultados inconclusivos.

Comparações	Valor de P
1x2	0,1312
1x3	1,0
1x4	0,09834
1x5	0,3217
1x6	1,0
2x3	0,2157
2x4	1,0
2x5	1,0
2x6	0,4667
3x4	0,09023
3x5	0,2932
3x6	1,0
4x5	1,0
4x6	0,1637
5x6	0,5368

No TCC, todos os animais sensibilizados com *M. avium* apresentaram resultado negativo (Tabela 21). Não se observou diferença estatisticamente significativa entre as proporções de positivos conforme o tempo após a sensibilização (Tabela 22). Váldez et al. (2014) obtiveram resultados semelhantes ao encontrado no presente estudo quando desconsideraram os resultados inconclusivos para interpretar os resultados do TCC, observando que o diagnóstico final não sofreu alteração, de modo que os diagnósticos negativos devem ser considerados como conclusivos.

Tabela 21. Resultados do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).

Tempo	Dias PS	Número de testes	Teste cervical comparativo					
			Positivo		Inconclusivo		Negativo	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	60 a 90	20	0	0,0	0	0,0	20	100,0
2	91 a 150	13	0	0,0	0	0,0	13	100,0
3	151 a 230	12	0	0,0	0	0,0	12	100,0
4	231 a 300	14	0	0,0	0	0,0	14	100,0
5	301 a 500	13	0	0,0	0	0,0	13	100,0
6	>500	13	0	0,0	0	0,0	13	100,0
Geral		85	0	0,0	0	0,0	85	100,0

Tabela 22. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical comparativo (TCC) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com *Mycobacterium avium*, desconsiderando os resultados inconclusivos.

Comparações	Valor de P
1x2	1,0
1x3	1,0
1x4	1,0
1x5	1,0
1x6	1,0
2x3	1,0
2x4	1,0
2x5	1,0
2x6	1,0
3x4	1,0
3x5	1,0
3x6	1,0
4x5	1,0
4x6	1,0
5x6	1,0

A proporção de positivos no TPC entre os bovinos sensibilizados com *M. avium* variou de 45,0% (9/20), após 60 a 90 dias de sensibilização, a 7,1% (1/14), após 231 a 300 dias de sensibilização (Tabela 23), mas a diferença entre as proporções não foi significativa (Tabela 24).

Tabela 23. Resultados do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).

Tempo	Dias PS	Número de testes	Teste da prega caudal			
			Positivo		Negativo	
			Nº	%	Nº	%
1	60 a 90	20	9	45,0	11	55,0
2	91 a 150	13	4	30,8	9	69,2
3	151 a 230	12	2	16,7	10	83,3
4	231 a 300	14	1	7,1	13	92,9
5	301 a 500	13	2	15,4	11	84,6
6	>500	13	2	15,4	11	84,6
Geral		85	20	23,5	65	76,5

Tabela 24. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste da prega caudal (TPC) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com *Mycobacterium avium*, desconsiderando os resultados inconclusivos.

Comparações	Valor de P
1x2	0,4851
1x3	0,1389
1x4	0,0241
1x5	0,1322
1x6	0,1322
2x3	0,6447
2x4	0,1647
2x5	0,6447
2x6	0,6447
3x4	0,58
3x5	1,0
3x6	1,0
4x5	0,5956
4x6	0,5956
5x6	1,0

A proporção de positivos no TCS em animais sensibilizados com *M. bovis* foi maior (74,4%) na primeira faixa de tempo (60 a 90 dias após a sensibilização) e foi diminuindo (35,9%) até a quarta faixa (231 a 300 dias), e voltou a subir. Deve-se observar, ainda, que nessa quarta faixa aumentou a proporção de resultados inconclusivos (Tabela 25). Observou-se que a proporção de reagentes na sexta faixa de tempo (>500 dias) não diferiu significativamente das proporções das demais faixas, embora algumas das comparações entre as outras faixas tenham apontado diferença significativa (Tabela 26). Analisando os dados de Almeida et al. (2006) constata-se que todos os 16 (100%) animais apresentaram resultado positivo no TCS 60 dias após a sensibilização com *M. bovis*, resultado diferente do observado no presente estudo, que apontou 74,4% de positivos após 60 a 90 dias.

Tabela 25. Resultados do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).

Tempo	Dias PS	Número de testes	Teste cervical simples					
			Positivo		Inconclusivo		Negativo	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	60 a 90	78	58	74,4	10	12,8	10	12,8
2	91 a 150	53	38	71,7	8	15,1	7	13,2
3	151 a 230	43	30	69,8	7	16,3	6	14,0
4	231 a 300	39	14	35,9	14	35,9	11	28,2
5	301 a 500	54	25	46,3	8	14,8	21	38,9
6	>500	23	15	65,2	3	13,0	5	21,7
Geral		290	180	62,1	50	17,2	60	20,7

Tabela 26. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical simples (TCS) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com *Mycobacterium bovis*, desconsiderando os resultados inconclusivos.

Comparações	Valor de P
1x2	1,0
1x3	0,7822
1x4	0,004822
1x5	0,0004789
1x6	0,3165
2x3	1,0
2x4	0,02048
2x5	0,00285
2x6	0,4899
3x4	0,02393
3x5	0,008648
3x6	0,4967
4x5	1,0
4x6	0,2236
5x6	0,1709

No TCC, a proporção de positivos entre os animais sensibilizados com *M. bovis* foi maior na primeira faixa de tempo após a sensibilização (51,3%), e essa proporção foi diminuindo até a quinta faixa (27,8%), voltando a subir na faixa com mais de 500 dias de sensibilização (Tabela 27). Também nesse caso a proporção de positivos na sexta faixa de tempo não diferiu significativamente das demais. Diferença significativa foi observada entre a primeira e a quarta faixa ($P=0,04748$) e entre a primeira e a quinta faixa ($P=0,02758$), sendo não significativas as demais diferenças observadas (Tabela 28). Esses dados diferem das observações de Almeida et al. (2006), que observaram 12 (75%) positivos no TCC entre 16 bovinos após 60 dias de sensibilização com *M. bovis*; os outros quatro (25%) foram inconclusivos, não tendo sido observados resultados negativos.

Tabela 27. Resultados do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).

Tempo	Dias PS	Número de testes	Teste cervical comparativo					
			Positivo		Inconclusivo		Negativo	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	60 a 90	78	40	51,3	12	15,4	26	33,3
2	91 a 150	53	25	47,2	10	18,9	18	34,0
3	151 a 230	43	17	39,5	12	27,9	14	32,6
4	231 a 300	39	11	28,2	10	25,6	18	46,2
5	301 a 500	54	15	27,8	14	25,9	25	46,3
6	>500	23	8	34,8	6	26,1	9	39,1
Geral		290	116	40,0	64	22,1	110	37,9

Tabela 28. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste cervical comparativo (TCC) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com *Mycobacterium bovis*, desconsiderando os resultados inconclusivos.

Comparações	Valor de P
1x2	0,8433
1x3	0,6606
1x4	0,04748
1x5	0,02758
1x6	0,4105
2x3	0,8155
2x4	0,1488
2x5	0,07949
2x6	0,5666
3x4	0,2081
3x5	0,1589
3x6	0,764
4x5	1,0
4x6	0,7571
5x6	0,563

Nos bovinos sensibilizados com *M. bovis*, o TPC revelou uma proporção de 77,6% (59/76) de positivos em animais após 60-90 dias de sensibilização. Essa proporção aumentou ligeiramente aos 91-150 dias (80,0%) e aos 151-230 (81,0%), diminuindo aos 231-300 (61,5%) e aos 301-500 (45,3%), mas voltando a subir após 500 dias de sensibilização (65,0%), conforme mostram os dados da Tabela 29. Foram significativas as diferenças entre a faixa 301-500 e as faixas 60-90, 91-150 e 151-230, as quais não diferiram entre si. É relevante destacar que a proporção de positivos com mais de 500 dias após a sensibilização não diferiu significativamente das proporções de positivos nas demais faixas de tempo (Tabela 30).

Tabela 29. Resultados do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico de tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS).

Tempo	Dias PS	Número de testes	Teste da prega caudal			
			Positivo		Negativo	
			Nº	%	Nº	%
1	60 a 90	76	59	77,6	17	22,4
2	91 a 150	50	40	80,0	10	20,0
3	151 a 230	42	34	81,0	8	19,0
4	231 a 300	39	24	61,5	15	38,5
5	301 a 500	53	24	45,3	29	54,7
6	>500	20	13	65,0	7	35,0
Geral		280	194	69,3	86	30,7

Tabela 30. Comparação, por meio do teste exato de Fisher, das proporções de resultados positivos no teste da prega caudal (TPC) entre cada faixa de tempo após a sensibilização com *Mycobacterium bovis*, desconsiderando os resultados inconclusivos.

Comparações	Valor de P
1x2	0,8267
1x3	0,815
1x4	0,08111
1x5	0,0003281
1x6	0,2575
2x3	1,0
2x4	0,06204
2x5	0,0004748
2x6	0,2233
3x4	0,08335
3x5	0,0006086
3x6	0,2108
4x5	0,1432
4x6	1,0
5x6	0,19

A seguir são apresentados os resultados da avaliação da sensibilidade e da especificidade dos testes adotando o ponto de corte estabelecido pelo PNCEBT para o TCS e o TCC (BRASIL, 2004). Sensibilidade do método de diagnóstico é a proporção de positivos verdadeiros detectados por este e a especificidade do método é a proporção de negativos verdadeiros detectados por este (THRUSFIELD, 2010). Em programas sanitários, procura-se usar testes de diagnóstico que combinem elevada sensibilidade com elevada especificidade, o que nem sempre é possível. O teste tuberculínico é eficaz na detecção precoce de casos pré-clínicos de infecção por *M. bovis* em bovinos, o que permite a rápida remoção dos animais infectados, auxiliando a limitar a transmissão da doença, e por isso tem sido uma ferramenta muito útil no controle e na erradicação da tuberculose bovina em muitos países. No entanto,

um resultado negativo no teste da tuberculina não significa que o animal não está infectado com *M. bovis*, enquanto um resultado positivo pode representar uma resposta imunológica na forma de uma reação de hipersensibilidade retardada à tuberculina devido a uma infecção ou exposição a outras bactérias que partilham antígenos semelhantes aos de *M. bovis* (KAYA et al., 2015).

O presente estudo demonstrou, em animais não sensibilizados, especificidade de 96,3% no TCS, de 98,3% no TCC e de 97,3% no TPC (Tabela 31). Já em animais sensibilizados com *M. avium* a especificidade foi de 61,2% no TCS (Tabela 32), 100% no TCC (Tabela 33) e de 76,5% no TPC (Tabela 34). Esses resultados estão de acordo com o conhecimento que se tem desses testes, uma vez que se espera maior especificidade do teste cervical comparativo (BRASIL, 2006). No caso da sensibilidade, nos animais sensibilizados com *M. bovis*, os resultados obtidos foram de 62,1% no TCS (Tabela 35); 40% no TCC (Tabela 36) e de 69,3% no TPC (Tabela 37), indicando, conforme esperado, menor sensibilidade do TCC (BRASIL, 2006).

Em animais não sensibilizados, a especificidade do TCS, no geral, foi de 96,3%, a do TCC foi de 98,3%, e a do TPC foi de 97,3%. Analisando os intervalos de confiança 95% pode-se constatar que não houve diferença significativa entre a especificidade desses testes, o mesmo podendo-se afirmar quando se considera apenas a primeira vez em que cada animal foi testado (Tabela 31).

Casseb et al. (2015), em estudo realizado com búfalos não sensibilizados da Ilha de Marajó, observaram alta especificidade no TCC quando considerados apenas animais positivos e negativos, fato este também observado no presente estudo. Mesmo sendo comparados animais de diferentes espécies, o teste demonstra ser efetivo tanto para bovinos como para bubalinos, assim como preconizado pelo Ministério (BRASIL, 2006).

A especificidade do TCS, 96,3%, está próxima daquela observada por Wood et al. (1992), que encontraram o valor 96,7%. Esses valores são maiores do que os descritos por Pinto (2015) em animais em condições de campo, 84,48% para o TCS e 91,38% para o TCC. Já a especificidade do TCC observada no presente estudo mostrou-se um pouco abaixo da relatada por Ameni et al. (2000), que observaram resultado negativo em todos os animais não infectados. Deve-se mencionar que os valores aqui observados não diferem significativamente da maioria daqueles relatados na literatura, especialmente quando se leva em consideração o intervalo de confiança.

Tabela 31. Especificidade do teste cervical simples (TCS), do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prova caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose, em bovinos não sensibilizados, na primeira vez em que foram testados e considerando todas as vezes.

Teste	Repetição	Número de testes	Negativos	Especificidade (%)	Intervalo de confiança (%)
TCS	1ª vez	203	196	96,6	93,1 - 98,3
	Geral	298	287	96,3	93,5 - 97,9
TCC	1ª vez	203	199	98,0	95,0 - 99,2
	Geral	298	293	98,3	96,1 - 99,3
TPC	1ª vez	203	197	97,0	93,7 - 98,6
	Geral	298	290	97,3	94,8 - 98,6

A especificidade do TCS em animais sensibilizados com *M. avium* foi, no geral, de 61,2% (50,8% - 71,5%). Analisando essa especificidade de acordo com a faixa de tempo após a sensibilização observa-se variação de 45,0% (60 a 90 dias após) a 84,6% (301 a 500 dias após), mas os intervalos de confiança mostram que a diferença não é significativa (Tabela 32).

Tabela 32. Especificidade do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com *Mycobacterium avium*.

Dias PS	Número de testes	Teste cervical simples		
		Nº de negativos	Especificidade (%)	Intervalo de confiança (%)
60 - 90	20	9	45,0	25,8 - 65,8
91 - 50	13	8	61,5	35,5 - 82,3
151 - 230	12	7	58,3	32,0 - 80,7
231 - 300	14	11	78,6	52,4 - 92,4
301 - 500	13	11	84,6	57,8 - 95,7
>500	13	6	46,2	23,2 - 70,9
Geral	85	52	61,2	50,8 - 71,5

O TCC em animais sensibilizados com *M. avium* apresentou especificidade geral de 100% (95,7% - 100%), uma vez que em todos os testes os resultados foram negativos. Também as especificidades nas faixas de tempo após a sensibilização foram de 100,0%, com pequenas diferenças nos limites inferiores do intervalo de confiança, mas essas diferenças não foram estatisticamente significativas (Tabela 33).

Tabela 33. Especificidade do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com *Mycobacterium avium*.

Dias PS	Número de testes	Teste cervical comparativo		
		Nº de negativos	Especificidade (%)	Intervalo de confiança (%)
60 - 90	20	20	100,0	83,9 - 100,0
91 - 150	13	13	100,0	77,2 - 100,0
151 - 230	12	12	100,0	75,7 - 100,0
231 - 300	14	14	100,0	78,5 - 100,0
301 - 500	13	13	100,0	77,2 - 100,0
>500	13	13	100,0	77,2 - 100,0
Geral	85	85	100,0	95,7 - 100,0

Nos animais sensibilizados com *M. avium*, o TPC apresentou sensibilidade geral de 76,5% (67,5% - 85,5%). Nas faixas de tempo após a sensibilização, a especificidade variou de 55,0% a 92,9%, porém a diferença entre essas faixas não foi significativa (Tabela 34). Nesses animais, a especificidade geral do TCC foi significativamente maior do que a do TCS e a do TPC, e essas duas últimas não diferiram significativamente entre si (Tabelas 31, 32 e 33).

Tabela 34. Especificidade do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com *Mycobacterium avium*.

Dias PS	Número de testes	Teste da prega caudal		
		Nº de negativos	Especificidade (%)	Intervalo de confiança (%)
60 - 90	20	11	55,0	34,2 - 74,2
91 - 150	13	9	69,2	42,4 - 87,3
151 - 230	12	10	83,3	55,2 - 95,3
231 - 300	14	13	92,9	68,5 - 98,7
301 - 500	13	11	84,6	57,8 - 95,7
>500	13	11	84,6	57,8 - 95,7
Geral	85	65	76,5	67,5 - 85,5

A sensibilidade do TCS em animais sensibilizados com *M. bovis* foi, no geral, de 62,1% (56,5% - 67,7%). Essa sensibilidade é significativamente inferior a valores encontrados na literatura relatando a avaliação do teste em animais naturalmente infectados: 68,7% (Wood et al., 1992), 70,3% (Scachia et al., 2000), 80,2% (Llamazares et al., 1999), 84,48% (PINTO, 2015). Tal diferença pode ser explicada pelo fato de a infecção natural proporcionar estímulo imune constante, o que não ocorre no caso da sensibilização com inóculos inativados. Além disso, diferenças podem ser consequência de critérios diferentes na execução do cálculo. Por exemplo,

no estudo de Pinto (2015) os resultados inconclusivos foram considerados positivos, o que acarreta maior sensibilidade, ao passo que no presente estudo os inconclusivos foram desconsiderados.

Nas diversas faixas de tempo após a sensibilização, a sensibilidade variou de 74,4% (60 a 90 dias) a 46,3% (301 a 500 dias), e foi observada diferença significativa entre alguns dos valores dessas faixas (Tabela 35).

Tabela 35. Sensibilidade do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com *Mycobacterium bovis*.

Dias PS	Número de testes	Teste cervical simples		
		Nº de positivos	Sensibilidade (%)	Intervalo de confiança (%)
60 - 90	78	58	74,4	64,7 - 94,0
91 - 150	53	38	71,7	59,6 - 83,8
151 - 230	43	30	69,8	56,0 - 83,5
231 - 300	39	14	35,9	20,8 - 51,0
301 - 500	54	25	46,3	33,0 - 59,6
>500	23	15	65,2	44,9 - 81,2
Geral	290	180	62,1	56,5 - 67,7

A sensibilidade geral do TCC em animais sensibilizados com *M. bovis* foi de 40,0% (34,4% - 45,6%). Esse resultado é bem inferior ao relatado por Ameni et al. (2000) em animais naturalmente infectados (90,9%) e ao de Pinto (2015), 74,14%. A sensibilidade do teste conforme o tempo após a sensibilização variou de 51,3% (30-90 dias) a 27,8% (301-500 dias), e a única diferença significativa observada foi justamente entre essas duas faixas com valores extremos (Tabela 36).

Kantor et al. (1984), em trabalho realizado em Buenos Aires, na Argentina, descreveram que o teste cervical simples, quando utilizada uma dose de 0,1 mg de PPD bovina, apresenta uma baixa sensibilidade. No presente estudo, além da diferença na dosagem de PPD bovina utilizada, observou-se que a sensibilidade do TCS foi significativamente superior à do TCC.

Tabela 36. Sensibilidade do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com *Mycobacterium bovis*.

Dias PS	Número de testes	Teste cervical comparativo		
		Nº de positivos	Sensibilidade (%)	Intervalo de confiança (%)
60 - 90	78	40	51,3	40,2 - 62,4
91 - 150	53	25	47,2	33,7 - 60,6
151 - 230	43	17	39,5	24,9 - 54,1
231 - 300	39	11	28,2	14,1 - 42,3
301 - 500	54	15	27,8	15,8 - 39,7
>500	23	8	34,8	18,8 - 55,1
Geral	290	116	40,0	34,4 - 45,6

O TPC apresentou, em animais sensibilizados com *M. bovis*, sensibilidade geral de 69,3% (63,9% – 74,7%). Nas faixas de tempo após a sensibilização a sensibilidade variou de 81,0% a 45,3%, tendo sido observada diferença significativa entre os valores observados para a faixa de 301 a 500 dias e as faixas 60-90, 91-150 e 151-230, e essas três não diferiram entre si (Tabela 37). Comparando a sensibilidade geral dos três testes nesses animais, verifica-se que o TCC apresentou sensibilidade significativamente inferior às dos outros dois testes, os quais não diferiram entre si.

Kantor et al. (1984) também observaram que o TPC apresentou sensibilidade maior do que o TCC e sensibilidade próxima ao do TCS, mas vale ressaltar que nesse estudo foram avaliadas também diferentes doses de PPD. Já Casseb e colaboradores (2015), em estudo realizado com búfalos da Ilha de Marajó, concluíram que o TCC apresentou o melhor desempenho, combinando elevada especificidade e elevada sensibilidade.

Tabela 37. Sensibilidade do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o tempo (dias) após a sensibilização (PS) com *Mycobacterium bovis*.

Dias PS	Número de testes	Teste da prega caudal		
		Nº de positivos	Sensibilidade (%)	Intervalo de confiança (%)
60 - 90	76	59	77,6	68,3 - 87,0
91 - 150	50	40	80,0	68,9 - 91,1
151 - 230	42	34	81,0	69,1 - 92,8
231 - 300	39	24	61,5	46,3 - 76,8
301 - 500	53	24	45,3	31,9 - 58,7
>500	20	13	65,0	43,3 - 81,2
Geral	280	194	69,3	63,9 - 74,7

Aqui são apresentados os valores de sensibilidade e especificidade do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) conforme a variação do ponto de corte, de modo a observar qual ponto proporciona melhor combinação de sensibilidade e especificidade. Os valores de sensibilidade e de especificidade do TCS observados nos diversos pontos de corte, bem como a soma dessas duas características, podem ser observados na tabela 38. Constatou-se que o ponto de corte 2,0 mm proporcionou a maior soma das duas características, indicando melhor combinação. Pinto (2015), em animais naturalmente infectados, constatou que a melhor combinação nesse teste estava no ponto de corte 3,15 mm.

Tabela 38. Sensibilidade (S), especificidade (E) e soma desses dois valores (S + E) do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina, segundo o ponto de corte adotado (aumento da dobra da pele em mm).

Aumento (mm)	S	E	S + E
≤0,4	100,0	0,00	100,00
0,5	94,37	42,08	136,45
1,0	88,08	63,38	151,46
1,5	84,77	79,48	164,25
2,0	81,13	88,05	169,18
2,5	76,49	92,21	168,70
3,0	72,19	94,55	166,73
3,5	66,56	95,84	162,40
4,0	63,58	97,40	160,98
4,5	58,61	98,44	157,05
5,0	53,64	98,44	152,08
5,5	48,34	98,70	147,05
6,0	42,72	98,96	141,68
8,0	23,84	99,22	123,06
10,0	14,57	99,74	114,31
15,0	3,97	100,0	103,97
20,0	1,32	100,0	101,32
30,0	0,33	100,0	100,33
40,0	0,00	100,0	100,00

No gráfico abaixo (Figura 1) também pode ser constatado o ponto de corte que proporciona melhor soma de sensibilidade e especificidade (2,0 mm).

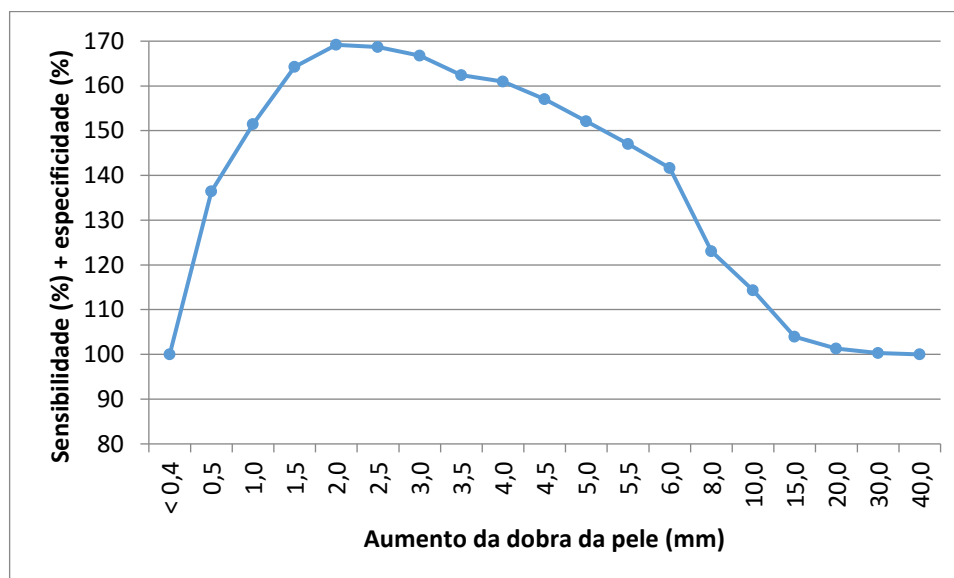


Figura 1. Soma de sensibilidade e especificidade do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o ponto de corte.

O gráfico da curva ROC é formado colocando a sensibilidade em um eixo e o inverso da especificidade no outro, de modo que no ângulo superior esquerdo localiza-se o valor de 100% tanto da sensibilidade quanto da especificidade. Quanto mais esses valores se aproximam de 100%, mais a área sob a curva se aproxima também de 100%, e quanto mais essa área se aproxima de 50% (linha diagonal), mais a concordância entre os dois testes se aproxima de um modelo aleatório.

Nos dois testes avaliados no presente estudo, a área sob a curva ROC ficou na faixa entre 80% e 90%, conforme se observa nas figuras 2 e 4, ou seja, 89,37% (IC 95%: 88,04% - 90,71%) para o TCS e 87,9% (IC 95%: 86,41% - 89,39%) para o TCC. Esses valores estão próximos dos observados por Pinto (2015), que obtiveram 88,9% e 87,9% para o TCS e o TCC, respectivamente, e indicam bom desempenho do teste, uma vez que se situam entre 80% e 90% (MARTINEZ et al., 2003; CÂMARA, 2016).

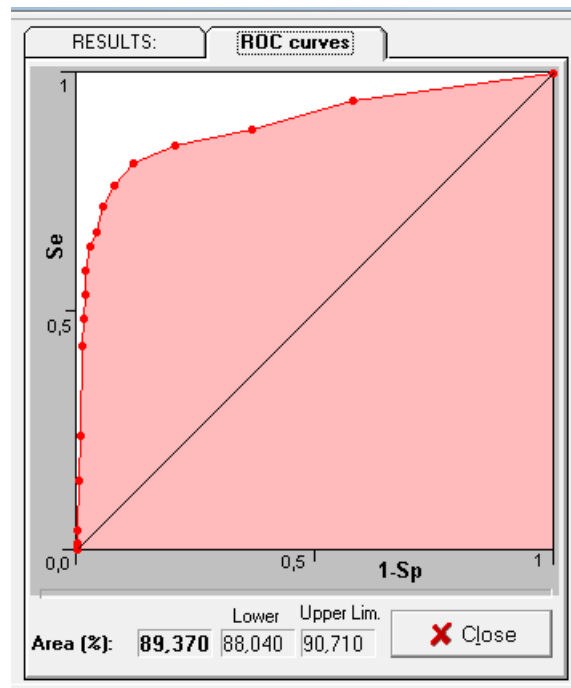


Figura 2. Curva ROC (receiver operating characteristic) referente aos resultados de sensibilidade e especificidade do teste cervical simples (TCS) para diagnóstico da tuberculose bovina.

Quanto ao TCC, o ponto de corte com maior soma de sensibilidade e especificidade foi 1,0 mm (Tabela 39). Esse baixo ponto de corte talvez possa estar associado a uma resposta imune menos intensa por parte de animais sensibilizados com inóculos inativados, mas é interessante mencionar que Pinto (2015), estudando animais em condições naturais, encontrou o valor de 1,6 mm como o ponto de corte com melhor combinação de sensibilidade e especificidade, valor esse bastante abaixo daquele estabelecido pelo PNCEBT para a interpretação dos testes.

Tabela 39. Sensibilidade (S), especificidade (E) e soma desses dois valores (S + E) do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, de acordo com o ponto de corte adotado (aumento da dobra da pele em mm).

Aumento (mm)	S	E	S + E
≤0,4	100,00	0,00	100,00
0,5	81,13	83,64	164,76
1,0	77,15	92,47	169,62
1,5	70,86	96,62	167,48
2,0	63,58	98,44	162,02
2,5	56,95	99,22	156,17
3,0	53,31	99,74	153,05
3,5	46,03	99,74	145,77
4,0	42,05	100,00	142,05
4,5	36,42	100,00	136,42
5,0	29,80	100,00	129,80
5,5	26,16	100,00	126,16
6,0	22,85	100,00	122,85
8,0	12,58	100,00	112,58
10,0	7,28	100,00	107,28
13,0	3,31	100,00	103,31
16,0	2,32	100,00	102,32
20,0	0,99	100,00	100,99
25,0	0,33	100,00	100,33
30,0	0,00	100,00	100,00

O ponto de corte com maior soma das duas características pode também ser observado na Figura 3.

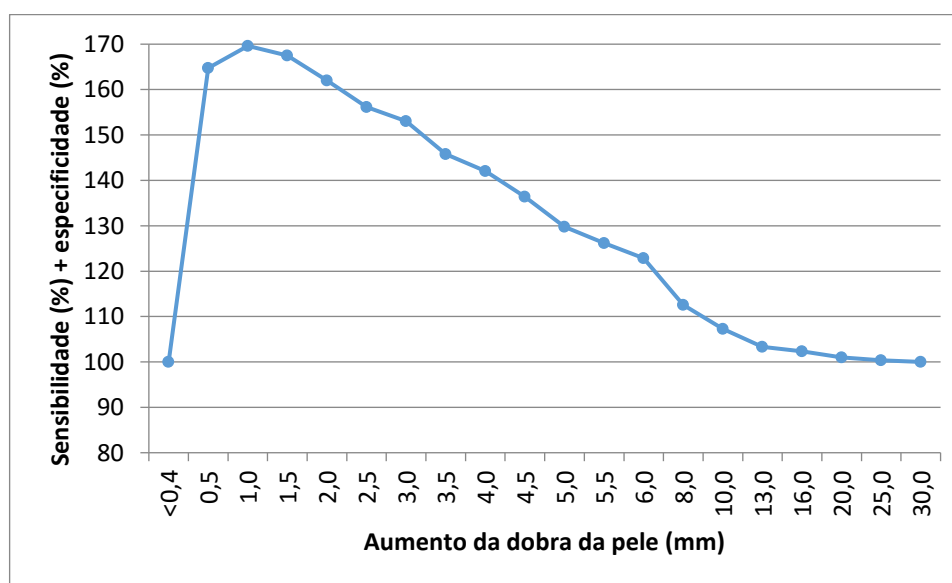


Figura 3. Soma de sensibilidade e especificidade do teste cervical comparativo para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o ponto de corte.

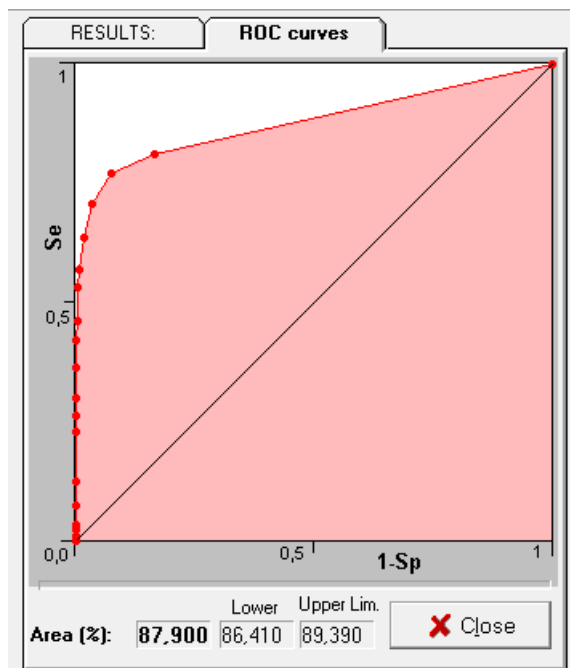


Figura 4. Curva ROC (receiver operating characteristic) referente aos resultados de sensibilidade e especificidade do teste cervical comparativo para diagnóstico da tuberculose bovina.

Registre-se que o ponto de corte com a melhor combinação de sensibilidade e de especificidade resultou em valores superiores (soma de especificidade com sensibilidade) àqueles obtidos com o ponto de corte (4,0 mm) estabelecido pela legislação para diagnóstico da tuberculose em animais naturalmente infectados. No caso do TCS, o ponto de corte de 2,0 mm proporcionou soma de sensibilidade e especificidade igual a 169,18, e o ponto de corte 4,0 mm proporcionou soma igual a 160,98 (Tabela 38). No caso do TCC, a diferença foi ainda maior, pois o ponto de corte com maior soma (1,0 mm) resultou em 169,62, ao passo que o ponto de corte 4,0 resultou em 142,05 (Tabela 39). Entretanto, deve-se considerar também que, no caso do diagnóstico de rotina, tanto no TCS quanto no TCC, a legislação prevê a adoção de medidas sanitárias também em animais classificados como inconclusivos, ou seja, aqueles com aumento de espessura da dobra de pele entre 2,0 e 3,9 mm (BRASIL, 2004).

Comparando os resultados do TCS com os do TCC, no geral, em todos os grupos de animais e englobando todas as repetições, observa-se que, de 594 testes, o TCS apresentou 162 resultados positivos, dos quais 130 (80,2%) foram positivos também no TCC, e desses 130 positivos no TCC todos foram positivos também no TCS. O maior número de positivos apontados pelo TCS em relação ao TCC também

é observado quando se testam animais naturalmente infectados, como relataram Lopes et al. (2006), que, aplicando o teste em bubalinos, observaram diferença significativa entre a proporção de resultados positivos nesses dois testes. Quanto aos negativos, o TCS apontou 432 resultados, dos quais nenhum foi negativo no TCC, e este apresentou 464 negativos, dos quais 432 (93,5%) foram negativos também no TCS (Tabela 40).

Essa comparação significa uma concordância observada de 0,9461 e uma concordância esperada de 0,6278, o que resulta em um indicador kappa 0,8553 (0,7757 – 0,9348) e concordância máxima além do acaso de 0,372. O pindex (prevalência), indicador associado à diferença entre a proporção de concordantes positivos e a proporção de concordantes negativos, foi -0,5084, com intervalo de confiança que não inclui o valor zero, o que sugere que essas proporções estão influenciando no valor de kappa, uma vez que influem na concordância esperada. O indicador bindex foi de 0,0539 (0,005 – 0,1027). Ele mede a diferença entre as proporções de discordantes, o que também influi sobre o valor de kappa. O pabak, que é um indicador kappa ajustado a prevalência e a bias, foi de 0,8923 (0,8496 – 0,9257); nota-se que esse valor não foi muito diferente do valor de kappa. O teste de McNemar indicou diferença significativa entre as proporções de positivos nos dois testes (Tabela 41).

Os resultados indicaram que o TCS e o TCC apresentaram concordância boa, segundo o critério de Pereira (1995), que estabelece como boa a concordância quando o valor de kappa situa-se entre 0,61 e 0,80, porque o limite inferior do intervalo de confiança do kappa foi igual a 0,7757.

Tabela 40. Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina.

Teste cervical simples	Teste cervical comparativo		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	130	32	162
Negativo	0	432	432
Total	130	464	594

Tabela 41. Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina.

Estadística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,9461	-----	-----
Concordância esperada	0,6278	-----	-----
Kappa	0,8553	0,7757 a 0,9348	-----
Concordância máxima além do acaso	0,372	-----	-----
Kappa máximo atingível	1,0000	-----	-----
Pindex (prevalência)	-0,5084	-0,5573 a -0,4595	-----
Bindex (bias)	0,0539	0,005 a 0,1027	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,8923	0,8496 a 0,9257	-----
χ^2 de McNemar	32	-----	1,1541x10 ⁻⁸

Na comparação geral entre os resultados do TCS e os do TPC observaram-se 214 resultados positivos no primeiro teste, dos quais 183 (85,5%) foram positivos também no segundo, e 215 positivos no TPC, com 183 (85,1%) positivos também no TCS. Dos 420 negativos no TCS, 92,4% (388/420) foram negativos também no TPC, e dos 419 negativos no TPC, 92,6% (388/419) foram negativos no TCS (Tabela 42).

A concordância observada entre esses dois testes foi de 0,9006 e a concordância esperada foi 0,5523, resultando em kappa 0,7781 (0,7002 – 0,8559), o que significa concordância no mínimo boa, posto que o limite inferior do intervalo de confiança de kappa é superior a 0,61 (0,7002). A concordância máxima além do acaso foi de 0,448 e o kappa máximo atingível foi 1,0. O indicador associado à prevalência (pindex) foi -0,3233 (-0,3751 a -0,2715), resultante da diferença entre as proporções de concordantes positivos e negativos. O indicador associada a bias foi -0,0016 (-0,0537 a -0,0505), intervalo que inclui o valor zero, resultante de proximidade entre as proporções de resultados discordantes, e o kappa ajustado (pabak) foi 0,8013 (0,7493 – 0,8456). O teste de McNemar mostrou que as proporções de positivos nos dois testes não diferiram significativamente (Tabela 43).

Tabela 42. Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina.

Teste cervical simples	Teste da prega caudal		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	183	31	214
Negativo	32	388	420
Total	215	419	634

Tabela 43. Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina.

Estadística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,9006	-----	-----
Concordância esperada	0,5523	-----	-----
Kappa	0,7781	0,7002 a 0,8559	-----
Concordância máxima além do acaso	0,448	-----	-----
Kappa máximo atingível	1,0000	-----	-----
Pindex (prevalência)	-0,3233	-0,3751 a -0,2715	-----
Bindex (bias)	-0,0016	-0,0537 a 0,0505	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,8013	0,7493 a 0,8456	-----
χ^2 de McNemar	0,0159	-----	0,8997

Na comparação entre os resultados do TCC e os do TPC englobando os três grupos de animais estudados, observou-se que dos 128 resultados positivos no TCC 91,4% (117/128) foram positivos também no TPC, ao passo que dos 200 positivos no TPC 58,5% (117/200) foram positivos no TCC. Dos 513 negativos no TCC, 83,8% (430/513) foram negativos também no TPC, e dos 441 negativos no TPC, 97,5% (430/441) foram negativos no TCC (Tabela 44).

A concordância observada entre esses dois testes, nessa situação, foi de 0,8534 e a concordância esperada foi de 0,6129, com kappa 0,6212 (0,5471 – 0,6952). Nesse caso, a concordância pode ser classificada como no mínimo regular, porque o limite inferior do intervalo de confiança ficou entre 0,41 e 0,60. A concordância máxima além do acaso foi 0,387 e o kappa máximo atingível foi 1,0. O indicador associado à prevalência foi -0,4883, com intervalo de confiança não incluindo o valor zero. O bindex, associado a bias, foi -0,1123, também com intervalo sem incluir o valor zero. O kappa ajustado foi 0,7067 (0,6471 – 0,7597), e o teste de McNemar mostrou diferença significativa entre as proporções de resultados positivos (Tabela 45).

Tabela 44. Comparação entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina.

Teste cervical comparativo	Teste da prega caudal		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	117	11	128
Negativo	83	430	513
Total	200	441	641

Tabela 45. Concordância entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose bovina.

Estadística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,8534	-----	-----
Concordância esperada	0,6129	-----	-----
Kappa	0,6212	0,5471 a 0,6952	-----
Concordância máxima além do acaso	0,387	-----	-----
Kappa máximo atingível	1,0000	-----	-----
Pindex (prevalência)	-0,4883	-0,5354 a -0,4412	-----
Bindex (bias)	-0,1123	-0,1597 a -0,0650	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,7067	0,6471 a 0,7597	-----
χ^2 de McNemar	55,15	-----	1,12x10 ⁻¹³

Embora nas comparações empregando todos os grupos as concordâncias entre os testes tenham sido boas, o mesmo não se observou quando foram analisados separadamente os grupos de animais.

Considerando apenas os animais não sensibilizados, os dois animais positivos no TCS foram negativos no TCC, e todos os 285 negativos no TCS também foram negativos no TCC. Dos 287 negativos no TCC, 285 (99,3%) também foram negativos no TCS (Tabela 46).

Embora o TCS e o TCC tenham apresentado alta proporção de concordância observada, a proporção de concordância esperada foi a mesma, o que resulta em kappa igual a zero, e o kappa máximo atingível foi de apenas 0,007. Isso indica ausência de concordância entre os dois testes nessa situação. Nessa análise, o indicador associado à prevalência mostra diferença entre a proporção de concordantes positivos e a proporção de concordantes negativos, porém o indicador associado a bias mostra não haver assimetria entre as proporções de discordantes (Tabela 47).

Tabela 46. Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.

Teste cervical simples	Teste cervical comparativo		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	0	2	2
Negativo	0	285	285
Total	0	287	287

Tabela 47. Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.

Estatística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,9930	-----	-----
Concordância esperada	0,9930	-----	-----
Kappa	0,0	-----	-----
Concordância máxima além do acaso	0,0070	-----	-----
Kappa máximo atingível	0,0070	-----	-----
Pindex (prevalência)	-0,9930	-1,0027 a -0,9834	-----
Bindex (bias)	-0,0070	-0,0027 a 0,0166	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,9861	0,9501 a 0,9983	-----
χ^2 de McNemar	2,00	-----	0,1573

Quando se comparam os resultados do TCS com os do TPC em animais não sensibilizados nota-se que todos os três positivos no TCS foram negativos no TPC e nenhum dos cinco positivos no TPC foi positivo no TCS. Dos 277 negativos no TCS, 272 (98,2%) foram negativos também no TPC e dos 275 negativos no TPC, 272 (98,9%) foram negativos no TCS (Tabela 48).

O kappa apresentou um valor baixo, cujo intervalo de confiança inclui o valor zero, mostrando ausência de concordância entre os dois testes, nessa situação, embora a proporção de resultados concordantes tenha sido alta (Tabela 49).

Tabela 48. Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.

Teste cervical simples	Teste da prega caudal		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	0	3	3
Negativo	5	272	277
Total	5	275	280

Tabela 49. Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.

Estatística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,9714	-----	-----
Concordância esperada	0,9718	-----	-----
Kappa	-0,0136	-0,1269 a 0,0997	-----
Concordância máxima além do acaso	0,0280	-----	-----
Kappa máximo atingível	0,0144	-----	-----
Pindex (prevalência)	-0,9714	-0,9909 a -0,9519	-----
Bindex (bias)	-0,0071	-0,0268 a 0,0125	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,9429	0,8890 a 0,9752	-----
χ^2 de McNemar	0,50	-----	0,4795

Ainda entre os testes em animais não sensibilizados, 277 (97,5%) dos 284 negativos no TCC foram negativos no TPC e todos os negativos no TPC foram negativos no TCC (Tabela 50). Observou-se kappa igual a zero na comparação entre o TCC e o TPC, mostrando ausência de concordância, além de desequilíbrio nas proporções dos resultados analisados (Tabela 51).

Tabela 50. Comparação entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.

Teste cervical comparativo	Teste da prega caudal		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	0	0	0
Negativo	7	277	284
Total	7	277	284

Tabela 51. Concordância entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados.

Estatística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,9754	-----	-----
Concordância esperada	0,9754	-----	-----
Kappa	0,0000	-----	-----
Concordância máxima além do acaso	0,0250	-----	-----
Kappa máximo atingível	0,0250	-----	-----
Pindex (prevalência)	-0,9754	-0,9934 a -0,9573	-----
Bindex (bias)	-0,0246	-0,0427 a -0,0066	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,9507	0,8998 a 0,9801	-----
χ^2 de McNemar	7,00	-----	0,0082

Em animais sensibilizados com *M. avium*, o TCS apresentou nove resultados positivos, todos eles negativos no TCC. Todos os 56 negativos no TCS foram negativos no TCC, e dos 65 negativos no TCC, 56 (86,2%) foram negativos no TCS (Tabela 52).

O indicador kappa foi zero (concordância ruim) e o kappa ajustado foi 0,7231. Observou-se diferença na proporção de concordantes positivos e negativos (pindex), assimetria nos resultados discordantes (bindex) e diferença significativa entre a proporção de positivos nos dois testes (tabela 53).

Tabela 52. Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*.

Teste cervical simples	Teste cervical comparativo		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	0	9	9
Negativo	0	56	56
Total	0	65	65

Tabela 53. Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*.

Estatística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,8615	-----	-----
Concordância esperada	0,8615	-----	-----
Kappa	0,0000	-----	-----
Concordância máxima além do acaso	0,1380	-----	-----
Kappa máximo atingível	0,1380	-----	-----
Pindex (prevalência)	-0,8615	-0,9455 a -0,7776	-----
Bindex (bias)	0,1385	0,0545 a 0,2224	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,7231	0,5067 a 0,8694	-----
χ^2 de McNemar	9,00	-----	0,0027

Nesses animais sensibilizados com *M. avium*, o TCS apontou 10 resultados positivos, dos quais seis (60%) foram positivos no TPC, e de 13 positivos no TPC, 46,1% (6/13) foram positivos no TCS. Dos 55 negativos no TCS, 48 (87,3%) foram negativos no TPC, e dos 52 negativos no TPC, 92,3% (48/52) foram negativos no TCS (Tabela 54).

O kappa foi de 0,4211 (0,181 - 0,661), indicando concordância sofrível, com limite inferior do intervalo de confiança podendo chegar a fraca. Observou-se efeito

de prevalência, porém não de bias, e o teste de McNemar mostrou que a diferença entre as proporções de positivos nos dois testes não foi significativa (Tabela 55).

Tabela 54. Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*.

Teste cervical simples	Teste da prega caudal		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	6	4	10
Negativo	7	48	55
Total	13	52	65

Tabela 55. Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados com *Mycobacterium avium*.

Estatística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,8308	-----	-----
Concordância esperada	0,7077	-----	-----
Kappa	0,4211	0,1810 a 0,6611	-----
Concordância máxima além do acaso	0,2920	-----	-----
Kappa máximo atingível	0,7131	-----	-----
Pindex (prevalência)	-0,6462	-0,7741 a -0,5182	-----
Bindex (bias)	-0,0462	-0,1771 a 0,0848	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,6615	0,4347 a 0,8247	-----
χ^2 de McNemar	0,8182	-----	0,3657

A comparação entre o TCC e o TPC em animais sensibilizados com *M. avium* mostrou que todos os positivos no TPC foram negativos no TCC e dos 86 negativos no TCC, 66 (76,7%) foram negativos no TPC (Tabela 56).

Não se observou concordância entre os testes nessa situação, uma vez que o indicador kappa foi zero, tendo sido observada diferença significativa entre as proporções de concordantes positivos e negativos, entre as proporções de discordantes e entre as proporções de positivos nos dois testes (Tabela 57).

Tabela 56. Comparação entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium*.

Teste cervical comparativo	Teste da prega caudal		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	0	0	0
Negativo	20	66	86
Total	20	66	86

Tabela 57. Concordância entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados com *Mycobacterium avium*.

Estatística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,7674	-----	-----
Concordância esperada	0,7674	-----	-----
Kappa	0,0000	-----	-----
Concordância máxima além do acaso	0,2330	-----	-----
Kappa máximo atingível	0,2330	-----	-----
Pindex (prevalência)	-0,7674	-0,8567 a -0,6782	-----
Bindex (bias)	-0,2326	-0,3218 a -0,1433	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,5349	0,3279 a 0,7036	-----
χ^2 de McNemar	20,00	-----	7,74x10 ⁻⁶

Na Tabela 58 encontra-se a comparação entre o TCS e o TCC em bovinos sensibilizados com *M. bovis*. Pode-se observar que, de 145 testes positivos no TCS, 127 (87,6%) foram positivos no TCC, ao passo que todos os 127 positivos no TCC também o foram no TCS. De 79 negativos no TCC, 61 (77,2%) foram negativos no TCS e todos os 61 negativos no TCS também foram negativos no TCC.

Nessa comparação, observou concordância no mínimo boa, pois o indicador kappa foi 0,8069 (0,6729 - 0,9409), e o kappa ajustado foi 0,8252 (0,7308 - 0,8948). O indicador pindex indica que houve diferença nas proporções de concordantes positivos e negativos, mas o bindex não mostra diferença significativa entre as proporções de discordantes. Houve diferença significativa entre as proporções de positivos nos dois testes (Tabela 59).

Tabela 58. Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*.

Teste cervical simples	Teste cervical comparativo		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	127	18	145
Negativo	0	61	61
Total	127	79	206

Tabela 59. Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados com *Mycobacterium bovis*.

Estadística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,9126	-----	-----
Concordância esperada	0,5475	-----	-----
Kappa	0,8069	0,6729 a 0,9409	-----
Concordância máxima além do acaso	0,4520	-----	-----
Kappa máximo atingível	1,0000	-----	-----
Pindex (prevalência)	0,3204	0,2293 a 0,4115	-----
Bindex (bias)	0,0874	-0,0037 a 0,1785	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,8252	0,7308 a 0,8948	-----
χ^2 de McNemar	18,00	-----	2,21x10 ⁻⁵

Na comparação entre o TCS e o TPC em animais sensibilizados com *M. bovis* observou-se que, dos 183 positivos no TCS, 164 (89,6%) foram positivos no TPC, e dos 180 positivos no TPC, 164 (91,1%) foram positivos no TCS. Dos 61 negativos no TPC, 42 (68,9%) foram negativos no TCS, e dos 58 negativos no TCS, 42 (72,4%) foram negativos no TPC (Tabela 60).

O indicador kappa foi 0,6095 (0,4834 - 0,7357), e pelo limite inferior do intervalo de confiança pode-se afirmar que a concordância pode chegar a regular. O kappa ajustado foi 0,7095 (0,6077 - 0,7934), e observou-se influência de prevalência, mas não de bias; as proporções de positivos nos dois testes não diferiram significativamente, segundo os resultados do teste de McNemar (Tabela 61).

Tabela 60. Comparação entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*.

Teste cervical simples	Teste da prega caudal		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	164	19	183
Negativo	16	42	58
Total	180	61	241

Tabela 61. Concordância entre os resultados do teste cervical simples (TCS) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados com *Mycobacterium bovis*.

Estadística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,8548	-----	-----
Concordância esperada	0,6281	-----	-----
Kappa	0,6095	0,4834 a 0,7357	-----
Concordância máxima além do acaso	0,3720	-----	-----
Kappa máximo atingível	0,9815	-----	-----
Pindex (prevalência)	0,5062	0,4303 a 0,5821	-----
Bindex (bias)	0,0124	-0,0645 a 0,0894	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,7095	0,6077 a 0,7934	-----
χ^2 de McNemar	0,2571	-----	0,6121

Na comparação entre os resultados do TCC e os do TPC, em bovinos sensibilizados com *M. bovis*, 115 (92,0%) dos 125 positivos no TCC foram positivos também no TPC, e esses 115 positivos no TCC representam 72,3% dos 159 positivos no TPC. Entre os 104 negativos no TCC, apenas 60 (57,7%) foram negativos no TPC, e dos 70 negativos no TPC, 60 (85,7%) foram negativos no TCC (Tabela 62).

A concordância pode ser classificada como regular, uma vez que o indicador kappa foi 0,5110 (0,3877 - 0,6342), valor próximo do kappa ajustado a prevalência e bias, que foi de 0,5284 (0,4076 - 0,6352). Observou-se diferença significativa entre as proporções de concordantes, entre as proporções de discordantes e entre as proporções de positivos nos dois testes (Tabela 63).

Tabela 62. Comparação entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis*.

Teste cervical comparativo	Teste da prega caudal		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	115	10	125
Negativo	44	60	104
Total	159	70	229

Tabela 63. Concordância entre os resultados do teste cervical comparativo (TCC) e do teste da prega caudal (TPC) para diagnóstico da tuberculose em bovinos não sensibilizados com *Mycobacterium bovis*.

Estatística		Intervalo de confiança 95%	Valor de P
Concordância observada	0,7642	-----	-----
Concordância esperada	0,5178	-----	-----
Kappa	0,5110	0,3877 a 0,6342	-----
Concordância máxima além do acaso	0,4820	-----	-----
Kappa máximo atingível	0,9930	-----	-----
Pindex (prevalência)	0,2402	0,1539 a 0,3264	-----
Bindex (bias)	-0,1485	-0,2363 a -0,0606	-----
Pabak (prevalência ajustada bias)	0,5284	0,4076 a 0,6352	-----
χ^2 de McNemar	21,411	-----	3,71x10 ⁻⁶

Quando se comparou a resposta (medida pelo aumento na espessura da dobra da pele) à tuberculina aviária com a resposta à tuberculina bovina em animais não sensibilizados, considerando todos os testes realizados, observou-se média de 0,9943 mm na primeira e média de 0,698 mm na segunda. Também a mediana da resposta à tuberculina aviária foi maior, assim como o valor máximo observado. A diferença entre as duas respostas foi significativa pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,01$). Outros detalhes da comparação entre essas duas séries de dados podem ser observados na Tabela 64.

Tabela 64. Comparação entre as respostas à tuberculina aviária e à tuberculina bovina, inoculadas na região cervical, em bovinos não sensibilizados, considerando todos os testes.

	Aviária	Bovina
Número de testes	298	298
Média (mm)	0,9943	0,6980
Desvio padrão (mm)	1,2011	0,8653
Mediana (mm)	0,7	0,5
Moda (mm)	0,0	0,0
Coefficiente de variação (%)	120,8	123,97
Mínimo (mm)	0,0	0,0
Máximo (mm)	11,0	8,9
Teste de Shapiro-Wilk	2,2x10 ⁻¹⁶	2,2x10 ⁻¹⁶
Teste de Wilcoxon	P = 2,145x10 ⁻⁵	

A mesma comparação anterior, porém considerando apenas os resultados da primeira vez em que os animais não sensibilizados foram testados (Tabela 65), também mostra diferença significativa entre as respostas à tuberculina aviária e à tuberculina mamífera ($P < 0,01$). Analisando os dados de Almeida et al. (2006) é

possível constatar que não houve diferença estatisticamente significativa ($P = 0,4982$ no teste de Wilcoxon) entre as respostas às duas tuberculinas em sete bovinos não sensibilizados, diferentemente do que foi observado no presente estudo. Em tese, pode-se admitir que seria esperada ausência de diferença significativa nessas repostas, a não ser em situações em que os animais analisados tenham tido contato natural com agentes integrantes do complexo MAIS (*M. avium*, *M.intracellulare* e *M. scrofulaceum*), que também induzem resposta à inoculação da tuberculina (BRASIL, 2006).

A diferença significativa entre as respostas às duas tuberculinas em animais não sensibilizados se mantém quando se consideram os dados apenas da segunda vez em que os animais foram testados (Tabela 65). Quando são considerados apenas os resultados da terceira vez em que os animais foram testados, a resposta à tuberculina aviária foi ligeiramente superior à resposta à tuberculina bovina (Tabela 65), porém essa diferença não foi significativa pelo teste de Wilcoxon ($P = 0,2761$).

Tabela 65. Comparação entre as respostas à tuberculina aviária e à tuberculina bovina, inoculadas na região cervical, em bovinos não sensibilizados, na primeira, segunda e terceira vez em que foram submetidos ao teste de tuberculina.

	1º vez		2º vez		3º vez	
	Aviária	Bovina	Aviária	Bovina	Aviária	Bovina
Número de testes	203	203	74	74	19	19
Média (mm)	0,8936	0,6645	1,0514	0,7122	1,2684	0,9632
Desvio padrão (mm)	0,9415	0,7072	1,1448	0,8072	1,6693	1,9995
Mediana (mm)	0,7	0,5	0,7	0,5	0,8	0,5
Moda (mm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Coefficiente de variação (%)	105,36	106,42	108,88	113,34	131,61	207,60
Mínimo (mm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Máximo (mm)	6,0	4,1	5,2	3,8	7,0	8,9
Teste de Shapiro-Wilk	$2,43 \times 10^{-15}$	$1,4 \times 10^{-14}$	$1,06 \times 10^{-7}$	$1,5 \times 10^{-8}$	$5,73 \times 10^{-5}$	$2,47 \times 10^{-7}$
Teste de Wilcoxon	$P = 0,002834$		$P = 0,00749$		$P = 0,2761$	

Comparando, em animais não sensibilizados, a resposta à tuberculina aviária na primeira vez em que os animais foram testados com a resposta na segunda vez (Tabela 66), observa-se média de 0,8212 mm contra média de 1,1023 mm e mediana de 0,5 mm contra 0,7 mm, porém essa diferença não foi significativa pelo teste de Wilcoxon para amostras pareadas ($P = 0,0989$).

A comparação entre as respostas à tuberculina aviária na primeira e na terceira vez que os animais não sensibilizados foram examinados (Tabela 66) também mostra

ausência de diferença significativa ($P = 0,32$), e o mesmo acontece ($P = 0,553$) na comparação entre a segunda e a terceira vez em que os animais foram testados (Tabela 66).

Tabela 66. Comparação entre as respostas à tuberculina aviária na primeira, na segunda e na terceira vez em que os bovinos não sensibilizados foram submetidos ao teste cervical comparativo para diagnóstico de tuberculose.

	1ª vez	2ª vez	1ª vez	3ª vez	2ª vez	3ª vez
Número de testes	75	75	18	18	18	18
Média (mm)	0,8213	1,1023	0,8056	1,2389	0,9056	1,2389
Desvio padrão (mm)	0,8808	1,1423	0,8398	1,7126	0,7503	1,7126
Mediana (mm)	0,5	0,7	0,55	0,65	0,7	0,65
Coefficiente de variação (%)	107,24	103,59	104,25	138,24	82,85	138,24
Mínimo (mm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Máximo (mm)	4,5	5,2	2,7	7,1	2,3	7,1
Teste de Shapiro-Wilk	$2,12 \times 10^{-7}$	$2,77 \times 10^{-7}$	0,0242	$5,04 \times 10^{-5}$	0,0758	$5,04 \times 10^{-5}$
Teste de Wilcoxon	$P = 0,0989$		$P = 0,32$		$P = 0,5539$	

Da mesma forma, não foi possível constatar diferença significativa entre as respostas à tuberculina bovina na primeira, na segunda e na terceira vez em que os animais não sensibilizados foram testados, conforme se constata nos dados da Tabela 67.

Tabela 67. Comparação entre as respostas à tuberculina bovina na primeira vez, na segunda e na terceira vez em que os bovinos não sensibilizados foram submetidos ao teste cervical comparativo para diagnóstico de tuberculose.

	1ª vez	2ª vez	1ª vez	3ª vez	2ª vez	3ª vez
Número de testes	75	75	18	18	18	18
Média (mm)	0,5787	0,6947	0,4056	1,0111	0,7167	1,0111
Desvio padrão (mm)	0,5866	0,6524	0,4684	2,0462	0,9269	2,0462
Mediana (mm)	0,4	0,4	0,2	0,5	0,45	0,5
Coefficiente de variação (%)	101,34	116,27	115,49	202,37	129,33	202,37
Mínimo (mm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Máximo (mm)	2,3	3,8	1,4	8,9	3,2	8,9
Teste de Shapiro-Wilk	$7,05 \times 10^{-7}$	$7,53 \times 10^{-9}$	0,0029	$4,60 \times 10^{-7}$	0,0003	$4,60 \times 10^{-7}$
Teste de Wilcoxon	$P = 0,4572$		$P = 0,2364$		$P = 0,6699$	

A Tabela 68 mostra a resposta de animais sensibilizados com *M. avium* à inoculação da tuberculina aviária, conforme o tempo após a sensibilização. A maior média foi observada na primeira faixa de tempo, com 6,75 mm, caindo ligeiramente

até a terceira faixa, ou seja, 151 a 230 dias após, voltando a subir e caindo novamente na última faixa. Entretanto, todas as comparações resultaram em diferença não significativa ($P > 0,05$) entre essas médias, conforme se pode observar pelos dados da Tabela 69.

Tabela 68. Resposta à tuberculina aviária, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com *Mycobacterium avium*.

	Tempo (dias) após a sensibilização					
	60-90	91-150	151-230	231-300	301-500	>500
Número de testes	20	13	11	14	13	13
Média (mm)	6,75	4,39	3,66	4,14	4,53	3,88
Desvio padrão (mm)	6,21	2,45	0,36	4,42	3,57	2,24
Mediana (mm)	4,75	4,8	3,8	2,6	3,9	3,3
Coef. variação (%)	92,00	55,78	37,19	106,88	78,83	57,80
Mínimo (mm)	0,5	0,0	2,0	0,0	0,3	1,1
Máximo (mm)	24,6	7,7	6,0	15,7	12,5	7,8
P - Teste Shapiro-Wilk	0,0065	0,5216	0,3721	0,0082	0,1313	0,0564

Tabela 69. Valor de P, pelo teste t ou pelo teste de Wilcoxon, na comparação entre as respostas à tuberculina aviária, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com *Mycobacterium avium*.

Dias após a sensibilização	91-150	151-230	231-300	301-500	>500
60-90	0,5803	0,3858	0,1893	0,5071	0,2240
91-150	-----	0,3902	0,4090	0,9092	0,5809
151-230	-----	-----	0,5103	0,4307	0,7859
231-300	-----	-----	-----	0,4814	0,4664
301-500	-----	-----	-----	-----	0,5813

A resposta de animais sensibilizados com *M. avium* à tuberculina bovina também é mais alta na primeira faixa de tempo, depois cai e oscila ao longo do tempo (Tabela 70). A análise estatística mostrou diferença significativa apenas entre a média da primeira faixa de tempo, 2,83 mm, e a média da quinta faixa de tempo, 1,35 mm ($P = 0,0192$); as demais comparações resultaram em diferença não significativa, ou seja, $P > 0,05$ (Tabela 71).

Tabela 70. Resposta à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com *Mycobacterium avium*.

	Tempo (dias) após a sensibilização					
	60-90	91-150	151-230	231-300	301-500	>500
Número de testes	20	13	11	14	13	13
Média (mm)	2,83	1,48	2,05	1,35	1,35	1,93
Desvio padrão (mm)	2,92	1,26	1,84	0,78	1,79	1,40
Mediana (mm)	2,05	1,4	1,5	1,35	0,8	2,0
Coef. variação (%)	103,39	85,15	89,49	58,02	132,43	72,61
Mínimo (mm)	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
Máximo (mm)	12,7	3,4	5,5	2,6	6,8	4,3
P - Teste Shapiro-Wilk	$7,87 \times 10^{-5}$	0,1183	0,0284	0,5945	0,0004	0,3781

Tabela 71. Valor de P, pelo teste t ou pelo teste de Wilcoxon, na comparação entre as respostas à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com *Mycobacterium avium*.

Dias após a sensibilização	91-150	151-230	231-300	301-500	>500
60-90	0,1662	0,4321	0,0659	0,0192	0,4836
91-150	-----	0,6841	0,7401	0,5716	0,4026
151-230	-----	-----	0,5833	0,2340	0,9538
231-300	-----	-----	-----	0,3077	0,2045
301-500	-----	-----	-----	-----	0,1507

Comparando a resposta à tuberculina aviária com a resposta à tuberculina bovina nos animais sensibilizados com *M. avium* constata-se que a diferença foi significativa em todas as faixas de tempo após a sensibilização analisadas, conforme se pode verificar pelos resultados do teste de Wilcoxon ou pelos resultados do teste t, na tabela 72.

Tabela 72. Valor de P na comparação entre a resposta à tuberculina aviária e a resposta à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com *Mycobacterium avium*.

Dias após a sensibilização	Teste de Wilcoxon	Teste t comparação médias	Teste F comparação variâncias
60-90	0,0048	-----	-----
91-150	-----	0,0002	0,0299
151-230	0,0068	-----	-----
231-300	0,0479	-----	-----
301-500	0,0012	-----	-----
>500	-----	0,0053	0,1178

A média da resposta dos bovinos sensibilizados com *M. bovis* à tuberculina aviária foi maior na primeira faixa de tempo analisada, com 2,76 mm, declinou até a quarta faixa de tempo (232-300 dias), voltando a subir (Tabela 73), e a comparação entre essas respostas resultou em diferença significativa entre algumas das faixas de tempo. É interessante destacar a surpreendente ausência de diferença significativa ($P = 0,6326$) na comparação entre as respostas da primeira faixa de tempo (30-90 dias) e as da sexta faixa (>500 dias), conforme se observa na Tabela 74.

Tabela 73. Resposta à tuberculina aviária, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

	Tempo (dias) após a sensibilização					
	60-90	91-150	151-230	231-300	301-500	>500
Número de testes	78	53	43	39	54	23
Média (mm)	2,76	1,85	1,78	1,26	1,61	2,11
Desvio padrão (mm)	2,44	1,29	1,22	1,09	1,35	1,02
Mediana (mm)	2,2	1,7	1,6	1,1	1,3	2,1
Coef. variação (%)	88,37	69,71	68,40	86,11	83,58	48,53
Mínimo (mm)	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
Máximo (mm)	11,6	6,4	6,0	5,1	5,5	4,1
P - Teste Shapiro-Wilk	$5,77 \times 10^{-8}$	0,0023	0,00025	0,00066	0,0004	0,9314

Tabela 74. Valor de P, pelo teste de Wilcoxon, na comparação entre as respostas à tuberculina aviária, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Dias após a sensibilização	91-150	151-230	231-300	301-500	>500
60-90	0,0422	0,0294	0,0001	0,0024	0,6326
91-150	-----	0,8135	0,0132	0,181	0,1744
151-230	-----	-----	0,0214	0,2509	0,1197
231-300	-----	-----	-----	0,2618	0,0013
301-500	-----	-----	-----	-----	0,0325

Na resposta de bovinos sensibilizados com *M. bovis* à tuberculina bovina também se observa maior valor no início, o qual se reduz e volta a aumentar, conforme se observa pela média e pela mediana (Tabela 75). As respostas conforme o tempo após a sensibilização diferiram significativamente na maior parte das comparações (Tabela 76).

Tabela 75. Resposta à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

	Tempo (dias) após a sensibilização					
	60-90	91-150	151-230	231-300	301-500	>500
Número de testes	78	53	43	39	54	23
Média (mm)	7,72	6,19	5,20	3,71	4,05	4,83
Desvio padrão (mm)	5,49	4,36	3,11	2,83	3,63	2,91
Mediana (mm)	6,95	5,6	5,0	3,2	3,25	5,4
Coef. variação (%)	71,05	70,39	59,70	76,37	89,65	60,30
Mínimo (mm)	0,0	0,0	0,3	0,3	0,0	0,0
Máximo (mm)	34,0	22,0	16,9	11,9	13,1	10,0
P - Teste Shapiro-Wilk	1,27x10 ⁻⁶	1,72x10 ⁻⁵	0,0005	0,0024	0,0004	0,3609

Tabela 76. Valor de P, pelo teste de Wilcoxon, na comparação entre as respostas à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Dias após a sensibilização	91-150	151-230	231-300	301-500	>500
60-90	0,06	0,0036	6,84x10 ⁻⁶	9,03x10 ⁻⁶	0,011
91-150	-----	0,2987	0,0013	0,0036	0,3746
151-230	-----	-----	0,0075	0,0391	0,9356
231-300	-----	-----	-----	0,9783	0,1041
301-500	-----	-----	-----	-----	0,1907

Em todas as faixas de tempo após a sensibilização observou-se diferença significativa entre a resposta à tuberculina aviária e a resposta à tuberculina bovina em animais sensibilizados com *M. bovis* (Tabela 77).

Tabela 77. Valor de P na comparação entre a resposta à tuberculina aviária e a resposta à tuberculina bovina, no teste cervical comparativo (TCC) para diagnóstico da tuberculose bovina, conforme o tempo após a sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Dias após a sensibilização	Teste de Wilcoxon	Teste t comparação médias	Teste F comparação variâncias
60-90	1,02x10 ⁻¹¹	-----	-----
91-150	9,36x10 ⁻¹⁰	-----	-----
151-230	4,64x10 ⁻⁸	-----	-----
231-300	4,12x10 ⁻⁶	-----	-----
301-500	1,08x10 ⁻⁵	-----	-----
>500	-----	5,28x10 ⁻⁶	7,0x10 ⁻⁶

Os dados das respostas dos bovinos não sensibilizados à tuberculina aviária estiveram muito longe da normalidade, como mostram os gráficos do apêndice 1 e também o resultado do teste de normalidade de Anderson-Darling ($P = 2,2 \times 10^{-16}$). A distribuição desses dados continua longe da normalidade mesmo após a transformação em raiz quadrada (Apêndice 1a) e após a transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 1b).

Também a resposta à tuberculina bovina, nos bovinos não sensibilizados, mostrou uma distribuição bem distante da normal, o que fica bastante evidente pelos gráficos do apêndice 2 e pelo resultado do teste de normalidade ($P = 2,2 \times 10^{-16}$). Quando esses dados foram transformados em raiz quadrada, ainda permaneceram distante da normalidade (Apêndice 2a), o mesmo acontecendo quando foram transformados em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 2b).

Considerando as respostas à tuberculina aviária dos bovinos não sensibilizados apenas na primeira vez em que foram testados, também não se observa normalidade (Apêndice 3), mesmo com os dados transformados (Apêndices 3a e 3b). Também a resposta dos bovinos não sensibilizados à tuberculina bovina, quando considerados apenas os dados da primeira vez em que foram testados, não apresenta normalidade (Apêndice 4), o que se mantém na distribuição dos dados transformados (Apêndices 4a e 4b). Em todas essas situações, o teste de normalidade de Anderson-Darling mostrou que os dados estão longe de apresentar distribuição normal. De maneira diferente dos resultados desta investigação, os dados obtidos por Almeida et al. (2006) mostraram distribuição normal tanto na resposta à PPD aviária ($P = 0,3329$ no teste de Shapiro-Wilk) quanto na resposta à PPD bovina ($P = 0,2395$ no teste de Shapiro-Wilk). No caso dos dados de Almeida et al. (2006), a análise da normalidade foi efetuada por meio do teste de Shapiro-Wilk porque eram apenas sete os animais avaliados, e o teste de Anderson-Darling exige mais de sete observações.

Considerando apenas os dados da segunda vez em que foram testados contra tuberculina aviária os animais não sensibilizados, a ausência de normalidade continua ($P = 4,359 \times 10^{-8}$), conforme se observa no apêndice 5. A transformação desses dados em raiz quadrada não resulta em normalidade (Apêndice 5a), o mesmo acontecendo com a transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 5b). Esse padrão de ausência de normalidade se repete com os dados obtidos desses animais em resposta à inoculação de tuberculina bovina, na segunda vez em que foram testados, o que pode ser visto nos apêndices 6, 6a e 6b.

A distribuição das frequências dos dados obtidos após a inoculação de tuberculina aviária nos bovinos não sensibilizados na terceira vez em que foram testados mostra ausência de distribuição normal (Apêndice 7), mas a transformação dos dados em raiz quadrada resulta em normalidade ($P = 0,3079$), conforme se observa no apêndice 7a, o mesmo acontecendo com a transformação em \log_{10} de $x+1$ ($P = 0,1395$), no apêndice 7b.

Diferentemente do que se observou com os dados da resposta à tuberculina aviária, as frequências da resposta à tuberculina bovina nos bovinos não sensibilizados, na terceira vez em que foram testados, não apresentaram distribuição normal (Apêndice 8), nem mesmo após as transformações (Apêndice 8a e 8b).

A resposta à tuberculina aviária nos bovinos sensibilizados com *M. avium* não apresentou distribuição normal ($P = 5,242 \times 10^{-9}$), mas foi obtida normalidade com a transformação em raiz quadrada, como mostra o resultado do teste de normalidade de Anderson-Darling ($P = 0,1801$), o histograma com as distribuições de frequências e o gráfico Q-Q plot (Apêndice 9a), e com a transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 9b), com $P = 0,7306$.

O mesmo padrão se observou com a resposta dos bovinos sensibilizados com *M. avium* considerando os dados obtidos nos testes realizados com tuberculina aviária de 60 a 90 dias após a sensibilização, ou seja, não se observou normalidade nos dados não transformados, uma vez que o teste de Anderson-Darling apontou $P = 0,01472$, (Apêndice 10), mas observou-se normalidade após a transformação dos dados em raiz quadrada (Apêndice 10a; $P = 0,6034$) e após a transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 10b; $P = 0,8197$). Os dados do estudo de Almeida et al. (2006) mostraram que a resposta à PPD aviária aos 60 dias em bovinos sensibilizados com *M. avium* apresentou normalidade ($P = 0,4458$ no teste de Shapiro-Wilk) mesmo sem transformação dos dados, embora tivessem sido estudados apenas três animais.

A análise das respostas à tuberculina aviária após 91-150 de sensibilização com *M. avium* mostrou normalidade dos dados sem transformação, como mostram a Apêndice 11 e os resultados do teste de normalidade ($P = 0,5318$).

Também os dados observados após 151-230 de sensibilização com *M. avium*, em resposta à tuberculina aviária, apresentaram distribuição normal sem transformação (Apêndice 12; $P = 0,4421$).

Após 231-300 de sensibilização com *M. avium* não se observou normalidade nos dados das respostas à tuberculina aviária (Apêndice 13; $P = 0,01189$),

normalidade essa que foi obtida após transformação em raiz quadrada (Apêndice 13a; $P = 0,81019$) e após transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 13b; $P = 0,9689$).

A análise da normalidade após 301-500 dias de sensibilização com *M. avium* apontou distribuição normal ($P = 0,145$) das respostas à tuberculina aviária, mesmo sem transformação dos dados, o que pode ser visto no Apêndice 14.

Nas respostas à tuberculina aviária observadas após mais de 501 dias de sensibilização com *M. avium* não se observa normalidade dos dados sem transformação (Apêndice 15; $P = 0,04768$), porém se observa após transformar os dados em raiz quadrada (Apêndice 15a; $P = 0,2695$) e após transformar em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 15b; $P = 0,437$).

A resposta à tuberculina bovina, em animais sensibilizados com *M. avium*, quando analisados os dados gerais, não apresentou normalidade sem a transformação dos dados, o que pode ser visto no apêndice 16 e pelo resultado do teste de Anderson-Darling ($P = 2,736 \times 10^{-12}$). No entanto, observou-se normalidade após a transformação dos dados em raiz quadrada (Apêndice 16a; $P = 0,05306$) e após a transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 16b; $P = 0,2182$).

Analisando as respostas à tuberculina bovina verificadas 60-90 dias após a sensibilização com *M. avium* também não se verifica normalidade nos dados sem transformação (apêndice 17; $P = 5,599 \times 10^{-5}$), porém se verifica ao transformá-los em raiz quadrada (apêndice 17a; $P = 0,09835$) e em \log_{10} de $x+1$ (apêndice 17b; $P = 0,5089$). Já os dados de Almeida et al. (2006), nessa mesma situação, apresentaram normalidade ($P = 0,1066$ no teste de Shapiro-Wilk) sem necessidade de transformação.

Nos dados obtidos em resposta à tuberculina bovina 151-230 dias após a sensibilização com *M. avium* observou-se normalidade mesmo sem transformar os dados, como mostra o apêndice 18.

A análise da normalidade da resposta à tuberculina bovina após 151-230 dias de sensibilização com *M. avium* não apontou distribuição gaussiana (Apêndice 19, $P = 0,0284$), mas a transformação em raiz quadrada (Apêndice 19a; $P = 0,4595$) e a transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 19b; $P = 0,5629$) resultaram em normalidade.

Distribuição normal foi observada nas distribuições de frequências das repostas à tuberculina bovina obtidas 231 a 300 dias após a sensibilização com *M. avium*. Essa

distribuição pode ser constatada no apêndice 20 e também pelo resultado do teste de normalidade ($P = 0,7691$).

O apêndice 21 mostra que não se observou normalidade na distribuição das frequências das respostas à tuberculina bovina obtidas 301 a 500 dias após a sensibilização com *M. avium* ($P = 0,0006323$). A normalidade desses dados foi obtida após transformação em raiz quadrada (Apêndice 21a; $P = 0,4557$) e também após transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 21 b; $P = 0,4073$).

Após 501 ou mais dias de sensibilização com *M. avium* (Apêndice 22), os dados das respostas à inoculação de tuberculina bovina apresentaram distribuição normal mesmo sem transformação ($P = 0,4245$).

A análise geral das frequências da resposta à tuberculina aviária em bovinos sensibilizados com *M. bovis* mostrou ausência de normalidade (Apêndice 23; $P = 2,2 \times 10^{-16}$). Não foi observada normalidade nem após a transformação dos dados em raiz quadrada (Apêndice 23a; $P = 0,0006614$), nem após a transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 23b; $P = 0,01169$).

A distribuição das respostas à tuberculina aviária observadas de 60 a 90 dias após a sensibilização com *M. bovis* não apresentou normalidade antes da transformação dos dados (Figura 24; $P = 2,673 \times 10^{-9}$). Após a transformação em raiz quadrada também não se observou normalidade (Apêndice 24a; $P = 0,03875$), mas foi observada distribuição normal após a transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 24b; $P = 0,2388$). Nos dados de Almeida et al. (2006), obtidos 60 dias após a sensibilização, observou-se normalidade mesmo sem transformação ($P = 0,0565$ no teste de Anderson-Darling), embora essa normalidade estivesse próxima do limite de significância ($P = 0,05$).

Na resposta à tuberculina bovina 91 a 150 dias após a sensibilização com *M. bovis* também não se observou distribuição normal nos dados não transformados, uma vez que o teste de Anderson-Darling revelou uma probabilidade de apenas 0,02435 de que essa distribuição fosse normal (Apêndice 25). Normalidade nesses dados, no entanto, foi obtida após transformação em raiz quadrada (Apêndice 25a; $P = 0,2943$) e após transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 25b; $P = 0,4297$).

Após 151 a 230 dias de sensibilização com *M. bovis*, a frequência das respostas à tuberculina aviária não apresentou distribuição normal sem a transformação dos dados (Apêndice 26; $P = 0,002039$), porém a normalidade foi observada após a

transformação em raiz quadrada (Apêndice 26a; $P = 0,3858$) e após a transformação em logaritmo de base 10 de dos valores acrescidos de 1 (Apêndice 26b; $P = 0,5316$).

A mesma situação ocorrida na faixa de tempo anterior foi observada entre os dados das respostas à tuberculina aviária 231 a 300 dias após a sensibilização com *M. bovis*, ou seja, não se observou normalidade antes da transformação (Apêndice 27; $P = 0,006389$), porém observou-se distribuição normal dos dados transformados em raiz quadrada (Apêndice 27a; $P = 0,5417$) e dos dados transformados em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 27b; $P = 0,2241$).

Nas respostas à tuberculina aviária obtidas 301 a 500 dias após a sensibilização com *M. bovis* não se observou distribuição normal, como mostram a Figura 28 e o resultado do teste de normalidade ($P = 0,0003733$). Normalidade foi observada após transformação em raiz quadrada (Apêndice 28a; $P = 0,8756$) e após transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 28b; $P = 0,4374$).

Nos dados obtidos em resposta à tuberculina aviária 501 ou mais dias após a sensibilização com *M. bovis* observou-se distribuição normal ($P = 0,8246$), como mostra o Apêndice 29.

As respostas à tuberculina bovina em animais sensibilizados com *M. bovis* não apresentaram distribuição normal. Isso ocorreu com os dados gerais não transformados (Apêndice 30; $P = 2,003 \times 10^{-13}$) e se repetiu com os dados transformados em raiz quadrada (Apêndice 30a; $P = 0,01802$) e com os dados transformados em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 30b; $P = 6,605 \times 10^{-9}$).

A resposta à tuberculina bovina 60 a 90 dias após a sensibilização com *M. bovis* não apresentou normalidade nos dados não transformados (Apêndice 31; $P = 0,0004146$). Após transformação em raiz observou-se normalidade (Apêndice 31a; $P = 0,2765$), mas após transformação em \log_{10} de $x+1$ não se observou distribuição normal (Apêndice 31b; $P = 0,01782$). A análise dos resultados de Almeida et al. (2006) mostra normalidade na distribuição dos dados ($P = 0,05486$ no teste de Anderson-Darling), sem transformação, embora o valor de P tenha ficado próximo do limite.

A distribuição das respostas à tuberculina bovina 91 a 150 dias após sensibilização com *M. bovis* não apresentou normalidade (Apêndice 32; $P = 0,0001193$). Já as transformações resultaram em distribuição normal, conforme se observa nos Apêndices 32a e 32b.

Após 151 a 230 dias da sensibilização com *M. bovis* as respostas à tuberculina não produziram distribuição normal (Apêndice 33; $P = 0,002225$), e essa ausência de

normalidade persistiu mesmo após a transformação em raiz quadrada (Apêndice 33a; $P = 0,009016$) e após a transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 33b; $P = 0,0006428$).

Após 231 a 300 dias de sensibilização com *M. bovis*, a distribuição das respostas à tuberculina bovina não apresentou normalidade, uma vez que o valor de P foi igual a $0,006203$ (Apêndice 34), mas observou-se normalidade após os dados serem transformados em raiz quadrada (Apêndice 34a; $P = 0,4381$) e após serem transformados em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 34b, $P = 0,247$).

Os dados obtidos em resposta à tuberculina bovina 301 a 500 dias após a sensibilização com *M. bovis* não apresentaram distribuição normal, conforme se observa no Apêndice 35 ($P = 0,0007103$). Após transformação em raiz quadrada os dados apresentaram distribuição normal (Apêndice 35a; $P = 0,3313$), mas isso não ocorreu após transformação em \log_{10} de $x+1$ (Apêndice 35b; $P = 0,03163$).

Foi constatada distribuição normal nas respostas à tuberculina bovina obtidas 501 ou mais dias após a sensibilização com *M. bovis*. Isso pode ser observado nos gráficos do Apêndice 36 e também pelo resultado do teste de normalidade de Anderson-Darling ($P = 0,4044$).

6. CONCLUSÕES

Em animais não sensibilizados e em animais sensibilizados com *M. avium* não se observou diferença significativa entre as proporções de resultados positivos no TCS, no TCC e no TPC conforme o número de vezes em que o animal foi testado. Em animais sensibilizados com *M. bovis* foram observadas diferenças, mas é possível que essas diferenças também estejam relacionadas com o tempo após a sensibilização.

Com o transcorrer do tempo após a sensibilização com *M. avium*, observou-se redução na proporção de positivos no TCS e no TPC, embora essa redução não tenha sido estatisticamente significativa. Nos animais sensibilizados com *M. bovis*, observou-se redução na proporção de animais positivos conforme o tempo após a sensibilização, nos três testes estudados, sendo algumas das diferenças significativas e outras não, mas a observação mais surpreendente foi que a proporção de positivos após mais de 500 dias de sensibilização não diferiu significativamente das proporções de positivos nas outras faixas de tempo pós-sensibilização.

Em animais não sensibilizados, não se observou diferença significativa entre a especificidade dos três testes analisados. Já em animais sensibilizados com *M. avium*, a especificidade do TCC foi significativamente maior do a especificidade dos outros dois testes, e esse teste mostrou-se capaz de discriminar reações inespecíficas induzidas por *M. avium*.

A sensibilidade do TCC em animais sensibilizados com *M. bovis* foi significativamente inferior à sensibilidade dos outros dois testes. Observou-se influência do tempo após a sensibilização na sensibilidade diagnóstica dos três testes analisados.

O ponto de corte do TCS e do TCC que proporcionou melhor combinação de sensibilidade e especificidade nos animais do presente estudo revelou-se bem abaixo do valor adotado como positivo na rotina para diagnóstico de tuberculose em bovinos naturalmente infectados.

Englobando os resultados dos três grupos de animais, o TCS apresentou concordância boa com o TCC e com o TPC. Já a concordância entre o TCC e o TPC pode ser classificada como regular.

Em animais não sensibilizados, a resposta à tuberculina aviária foi significativamente superior à resposta à tuberculina bovina. Tal fato pode estar associado com a presença de antígenos menos específicos.

A repetição dos testes não influenciou significativamente na resposta à tuberculina aviária nem na resposta à tuberculina bovina em animais não sensibilizados.

O tempo após a sensibilização influenciou na resposta às tuberculinas, exceto no caso da resposta de animais sensibilizados com *M. avium* à tuberculina aviária, situação em que não se observou diferença significativa entre as respostas nas diversas faixas de tempo.

Tanto em animais sensibilizados com *M. avium* quanto em animais sensibilizados com *M. bovis* a diferença entre as respostas à tuberculina aviária e as respostas à tuberculina bovina foi significativa.

Não se observou normalidade na distribuição das frequências das respostas dos bovinos não sensibilizados, tanto quando foram inoculados com tuberculina aviária quanto quando foram inoculados com tuberculina bovina.

Não se observou normalidade na distribuição das frequências das respostas à tuberculina aviária e à tuberculina bovina, em bovinos sensibilizados com *M. avium*, nos dados gerais, tendo sido observada normalidade nas respostas em alguns períodos pós-sensibilização e também em dados transformados em raiz quadrada e dados transformados em \log_{10} de $x+1$.

Em bovinos sensibilizados com *M. bovis* não se observou normalidade na distribuição dos dados gerais, em resposta à tuberculina aviária e à tuberculina bovina. Foi observada normalidade apenas nas respostas após quinhentos dias de sensibilização. Em alguns outros períodos de tempo após a sensibilização observou-se normalidade apenas após a transformação dos dados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, R. M. C. M. **Tuberculose humana causada pelo *Mycobacterium bovis*: considerações gerais e a importância dos reservatórios animais**. 1998. 273 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

ALMEIDA, R. F. C.; MADRUGA, C. R.; SOARES, C. O.; FERNANDES, M. C.; CARVALHO, N. M.; JORGE, K. S. G.; OSÓRIO, A. L. A. R. Resposta imune específica de bovinos experimentalmente sensibilizados com inóculos inativados de *Mycobacterium bovis* e *Mycobacterium avim*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 195-200, 2006.

ALVAREZ, J.; PEREZ, A.; BEZOS, J.; MARQUÉS, S.; GRAU, A.; SAEZ, J. L.; MÍNGUEZ, O.; DE JUAN, L.; DOMÍNGUEZ, L. Evaluation of the sensitivity and specificity of bovine tuberculosis diagnostic tests in naturally infected cattle herds using a Bayesian approach. **Veterinary Microbiology**, n. 155, p. 38-43, 2012.

AMENI, G.; MIÖRNER, H.; ROGER, F.; TIBBO, M. Comparison between comparative tuberculin and gamma-interferon tests for the diagnosis of bovine tuberculosis in Ethiopia. **Tropical Animal and Production**, v.32, p.267-276, 2000.

BRASIL. Instrução Normativa SDA n.6, de 08 de janeiro de 2004. Aprova o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 jan. 2004, Seção 1, p. 6-10.

BRASIL. **Manual técnico do programa nacional de controle e erradicação da brucelose e da tuberculose animal – PNCEBT**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, 2006. 184 p.

BUDDLE, B. M.; WEDLOCK, D. N.; DENIS, M.; SKINNER, M. A. Identification of immune response correlates for protection against bovine tuberculosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, n. 108, p. 45-51, 2005

BUDDLE, B.M.; LIVINGSTONE, P.G.; DE LISLE, G.W. Advances in antemortem diagnosis of tuberculosis in cattle. **New Zealand Veterinary Journal**, n. 57, p. 173-80, 2009.

CÂMARA, F.P. Psiquiatria e estatística. Validação de procedimentos de diagnóstico pela curva ROC. **Psychiatry on line Brasil**, v. 21. 2016. Disponível em: <<http://www.polbr.med.br/ano09/cpc0409.php>>. Acesso em: 13 maio 2016.

CASSEB, A. R.; NEGRÃO, A. G.; CASSEB, L. M. N.; SILVA, S. P.; RODRIGUES, E. D. L.; LIMA, W. F.; LANGONI, H. Comparação de três testes de tuberculina usados para o diagnóstico de tuberculose em búfalos de água na Ilha de Marajó. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 2, p. 231-237, 2015.

CASTRO, K. G.; LIEVORE, J. P. M.; CARVALHO, G. D. Tuberculose bovina: diagnóstico, controle e profilaxia. **PUBVET**, v. 3, n. 30, p. 648, 2009.

CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. **Manual de normas y procedimientos tecnicos para la bacteriologia de la tuberculosis. Parte I: La muestra. El exame microscopio**. Buenos Aires: CEPANZO, 30 p. 1988.

CHEVILLE, N. F. **Introdução à patologia veterinária**. 2.ed. São Paulo: Editora Roca, 2004.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos – Tuberculose**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 1992. p. 317–337.

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. **Veterinary epidemiologic research**. 2. ed. Ver Inc., 2009. 865 p.

FRAGUÁS, S.A.; CUNHA-ABREU, M. S.; FERREIRA, A. M. R.; MARASSI, C. D.; OELEMANN, W.; FONSECA, L. S.; FERREIRA, R.; LILEMBAUM, W. Estudo comparativo de métodos complementares para o diagnóstico da tuberculose bovina em animais reagentes à tuberculinização. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 15, p. 117-121, 2008.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6. ed. São Paulo: Editora Manole LTDA, 2000.

JORGE, K. S. G. **Aplicação de testes específicos e presuntivos para o diagnóstico da tuberculose bovina no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2001. 68 f. Dissertação (Mestrado) - FIOCRUZ/UFMS, Campo Grande, MS, 2001.

JÚNIOR, M. E. K.; SOUSA, C. L. M. Considerações sobre a tuberculose bovina no norte Fluminense e no município de Campos dos Goytacazes após o advento do PNCEBT – Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina. **Perspectivas Online**, v. 2, n. 8, 2008.

HAJIAN-TILAKI, K. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation. **Caspian Journal Intern Medicine**, n. 4, v. 2, p. 627-635, 2013.

KANTOR, I. N.; ODEÓN, A. C.; STEFAN, P. E.; AIANUZA, M. J.; MADRID, C. R.; MARCHEVSKY, N. Sensitivity of the cervical and the 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. Revue

KAYA, A.; IÇEN, H.; TUZCU, N.; SIMSEK, A.; YESILMEN, S.; YILDIRIM, I.; ALAN, A. Comparison of tuberculin skin test, IFN-γ assay, real time PCR and lateral flow rapid test in diagnosis of field outbreaks of bovine tuberculosis. **Kafkas University Veterinary Fak Derg**, v. 21, n. 5, p. 739-743, 2015.

LILENBAUM, W.; FONSECA, L. The use of ELISA as a complementary tool for bovine tuberculosis control in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Scienc**, n. 43, p. 256-261. 2006.

LLAMAZARES, O.R.G.; MARTÍN, C.B.G.; NISTAL, D. et al. Field evaluation of the single intradermal cervical tuberculin test and the interferon- γ assay for detection and eradication of bovine tuberculosis in Spain. **Veterinary Microbiology**, v.70, p.55-66, 1999.

LOPES, L.B. **Avaliação do teste Bovigan™ na dosagem de interferon gama para diagnóstico da tuberculose bovina**. 2003. 25 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

LOPES, L.B.; CUNHA, A.P.; MOTA, R.A.; LEITE, R.C. Comparação de duas técnicas de tuberculinização em búfalos. **Ciência Animal Brasileira**, v.7, p.187-191. 2006.

MARASSI, C. D.; MEDEIROS, L.; FIGUEIREDO, E.; FONSECA, L. S.; DUARTE, R.; PASCHOALIN, V.; OELEMANN, W. M. R.; LILENBAUM, W. A multidisciplinary approach to diagnose naturally occurring bovine tuberculosis in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 33, p. 15-20, 2013.

MARTINEZ, E. Z.; LOUZADA-NETO, F.; PEREIRA, B. B. A curva ROC para testes diagnósticos. **Cadernos de Saúde Coletiva**, n. 11, v. 1, p. 7-31, 2003.

MEDEIROS, L.; MARASSI, C. D.; FIGUEIREDO, E. E. S; LILENBAUM, W. Potential application of new diagnostic methods for controlling bovine tuberculosis in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. 41, p. 531-541, 2010.

MONAGHAN, M. L.; DOHERTY, M. L.; COLLINS, J. D.; KAZDA, J. F.; QUINN, P. J. The tuberculin test. **Veterinary Microbiology**. v.40, p.111-124, 1994.

MORRISON, W. I.; BOURNE, F. J.; COX, D. R.; DONNELLY, C. A.; GETTINBY, G.; MCINERNEY, J. P.; WOODROFFE, R. Pathogenesis and diagnosis of infections with *Mycobacterium bovis* in cattle. Independent Scientific Group on Cattle TB. **Veterinary Records**, v. 146, p. 236-242, 2000.

MOSSAD, A. A., ABDEL-HAMED, A. S., FATHALLA, S. I., GHAZY, A. A., ELBALLA, S., ELBAGORY, A., MAHBOUB, H., GAAFAR, K., ELGAVAR, K. E., MOHAMED, A. S., AMIN, A. I., AKEILA, M. A., ABDELRAHMAN, H. A. Sensitive and specific diagnostic assay for detection of tuberculosis in cattle. **Global Vet.**, n. 8, v. 6, p. 555-564, 2012.

NEILL, S. D.; POLLOCK, J. M.; BRYSON, D. B.; HANNA, J. Pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. **Veterinary Microbiology**. v.40, n.1/2, p.41-52, 1994.

NEILL, S. D.; HANNA, J.; O'BRIEN, J. J.; MCCRACKEN, R. M. Excretion of *Mycobacterium bovis* by experimentally infected cattle. **Veterinary Records**, v. 123, p. 340-343, 1998.

PACHECO, A.M.; HAMZÈ, A.L.; PEREIRA, M.F.B.; PEREIRA, D.M.; CIPRIANO, R.E.P.; LOT, R.F.S. Tuberculose bovina – Relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.07, n.03, 2009.

PEREIRA, M. G. **Epidemiologia. Teoria e prática**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995, 596 p.

PINTO, F. O. **Métodos estatísticos e neurais para o diagnóstico da tuberculose bovina via testes cervicais**. 2015. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

PLATTNER, B. L.; DOYLE, R. T.; HOSTETTER, J. M. Gamma-delta t cell subsets are differentially associated with granuloma development and organization in a bovine model of mycobacterial disease. **Internal Journal of Experimental Pathology**, n. 90, p. 587-597, 2009.

POLLOCK, J. M.; NEILL, S. D. *Mycobacterium bovis* infection and tuberculosis in cattle. **The Veterinary Journal**, n. 163, p. 115-127, 2002.

POLLOCK, J. M.; WELSH, M. D.; MCNAIR, J. Immune response in bovine tuberculosis: towards new strategies for the diagnosis and control of disease. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, n. 108, p. 37-43. 2005.

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

ROXO, E. Tuberculose bovina: Revisão. (BOVINE TUBERCULOSIS: REVIEW). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.63, n.2, p.91-97, 1996.

RUSSELL, A. D.; YARNYCH, V. S.; KOULIKOVSKII, A. V. **Guidelines on disinfection in animal husbandry for prevention and control of zoonotic diseases**. Geneva: WHO/VPH/84.4, 1984. 61 p.

SCACCHIA, M.; LELLI, R.; PETRINI, A. et al. Use of innovative methods in the eradication of bovine tuberculosis. **Journal of Veterinary Medicine Series B**, v.47, p.321-327, 2000.

SCHILLER, I. B.; OESCH, H. M.; VORDERMEIER, M. V.; PALMER, B. N.; HARRIS, K. A.; ORLOSKI, B. M.; BUDDLE, T. C.; THACKER, K. P.; LYASHCHENKO, W. R.; WATERS, W. R. Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication. **Transboundary and Emerging Diseases**, n. 57, p. 205–220, 2010.

SIM, J.; WRIGHT, C. C. The kappa statistic in reliability studies: Use, interpretation, and sample size requirements. **Physical Therapy**, v.85, n.3, p.257-268, 2005.

SIQUEIRA, A. L.; TIBÚRCIO, J. D. **Estatística na área da saúde: conceitos, metodologia, aplicações e prática computacional**. Belo Horizonte: Coopmed, 2011. 520 p.

STEVENSON, M. An R package for the analysis of epidemiological data. Version 0.9-43, 2012. Disponível em: <<http://epicentre.massey.ac.nz>>. Acesso em: 03 mar 16.

THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology**. 3 ed., Blackwell, 2010. 610 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6.ed. São Paulo: ARTMED EDITORA S.A., 1998.

WATERS, W. R.; BUDDLE, B. M.; VORDERMEIER, H. M.; GORMLEY, E.; PALMER, M. V.; THACKER, T. C.; BANNANTINE, J. P.; STABEL, J. R. LINSKOTT, R.; MARTEL, E.; MILIAN, F.; FOSHAUG, W.; LAWRENCE, J. C. Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for use in the detection of bovine tuberculosis in cattle. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.18, n.11, p. 1882-1888, 2011.

WELSH, M. D.; CUNNINGHAM, R. T.; CORBETT, D. M.; GIRVIN, R. M.; MCNAIR, J.; SKUCE, R. A.; BRYSON, D. G.; POLLOCK, J. M. Influence of pathological progression on the balance between cellular and humoral immune responses in bovine tuberculosis. **Immunology**, n. 114, p. 101-111, 2005.

WOOD, P.R.; CORNER, L.A.; ROTHEL, J.S.; RIPPER, J.L. et al. A field evaluation of serological and cellular diagnostic tests for bovine tuberculosis. **Veterinary Microbiology**, v.31, p.71-79, 1992.

VÁLDES, R. A.; PIRATELLI-FILHO, A.; COSTA, H. L.; RIBEIRO, A. M. C. L.; NASCIMENTO, M. D.; SOARES, P. M. A metrological contribution to the diagnosis of bovine tuberculosis. **British Journal of Applied Science & Technology**, n. 4, v. 34, p. 4771-4790, 2014.

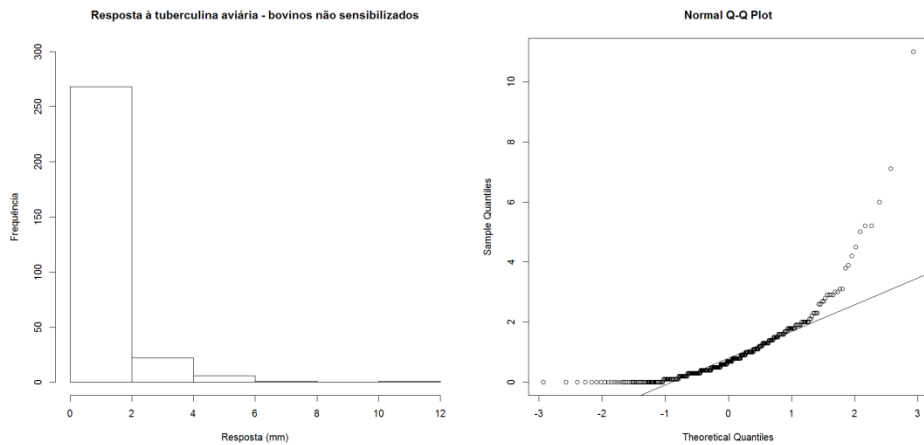
VARELLO, K., PEZZOLATO, M., MASCARINO, D., INGRAVALLE, F., CARAMELLI, M.; BOZZETTA, E. Comparison of histologic techniques for the diagnosis of bovine tuberculosis in the framework of eradication programs. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, n. 20, p.164-169, 2008.

ZARDEN, C. F.; MARASSI, C. D.; FIGUEIREDO, E. E.; LILENBAUM, W. *Mycobacterium bovis* detection from milk of negative skin test cows. **Veterinary Record**, n. 172, v. 5, p. 130, 2013.

APÊNDICE - Análise da normalidade da distribuição de frequência da resposta dos bovinos à tuberculina.

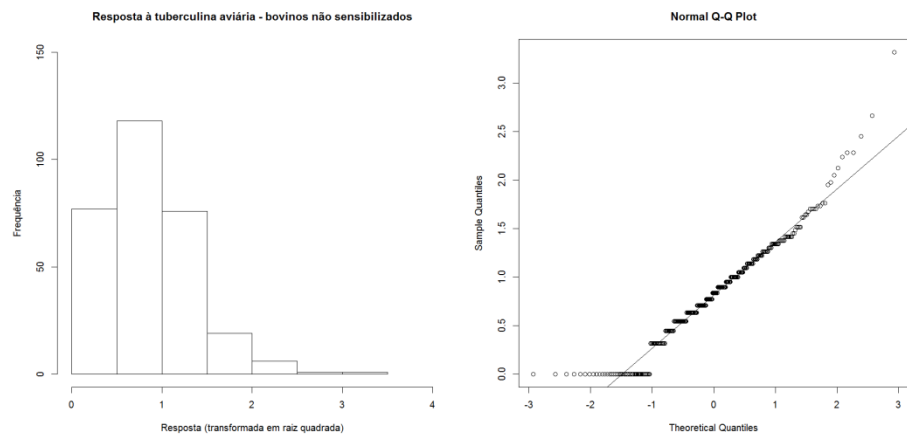
Apêndice 1. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,2 \times 10^{-16}$.



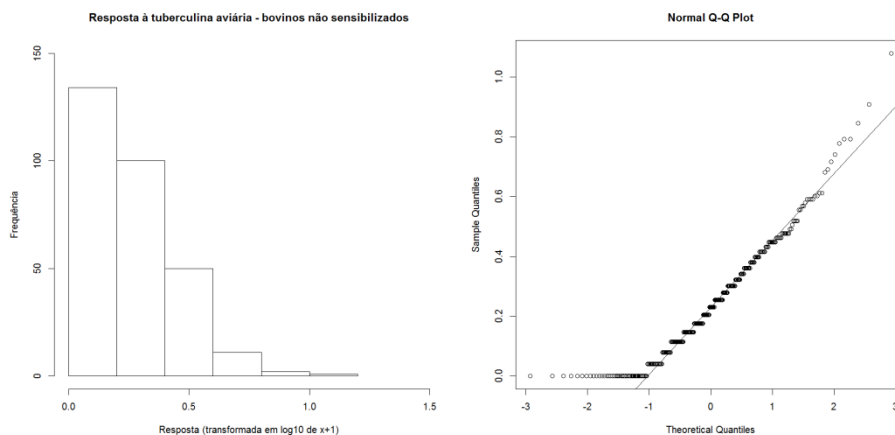
Apêndice 1a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,995 \times 10^{-5}$.



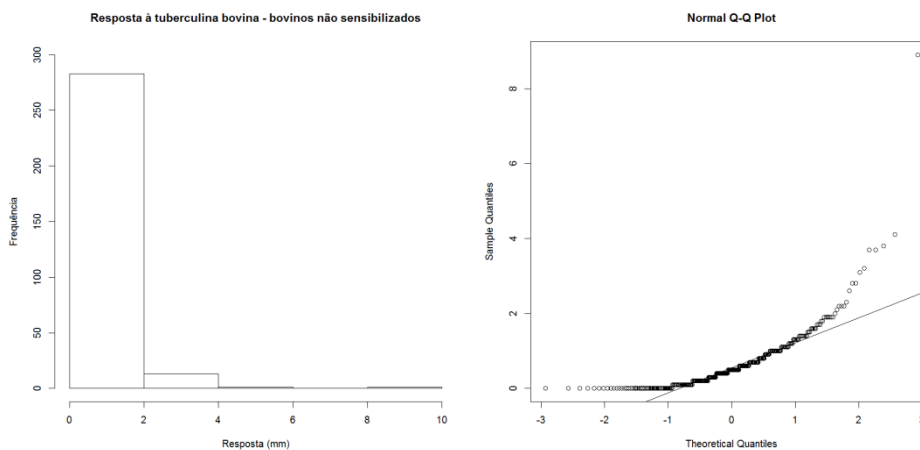
Apêndice 1b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 1,649 \times 10^{-9}$.



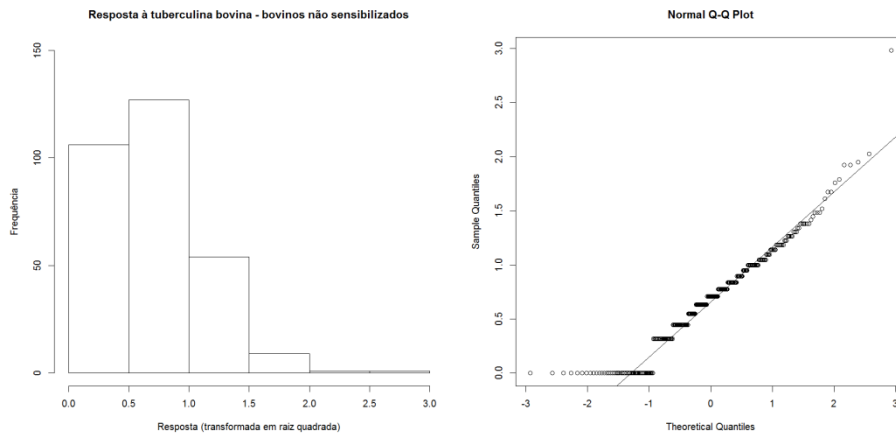
Apêndice 2. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,2 \times 10^{-16}$.



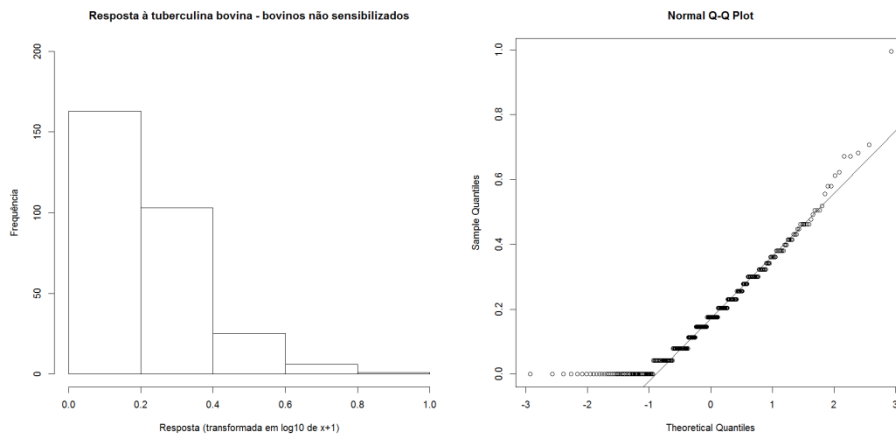
Apêndice 2a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 1,103 \times 10^{-6}$.



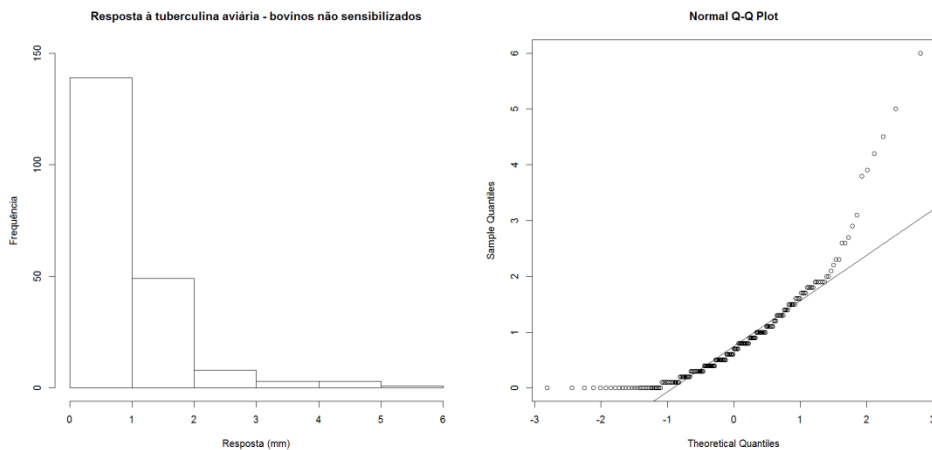
Apêndice 2b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 5,353 \times 10^{-13}$.



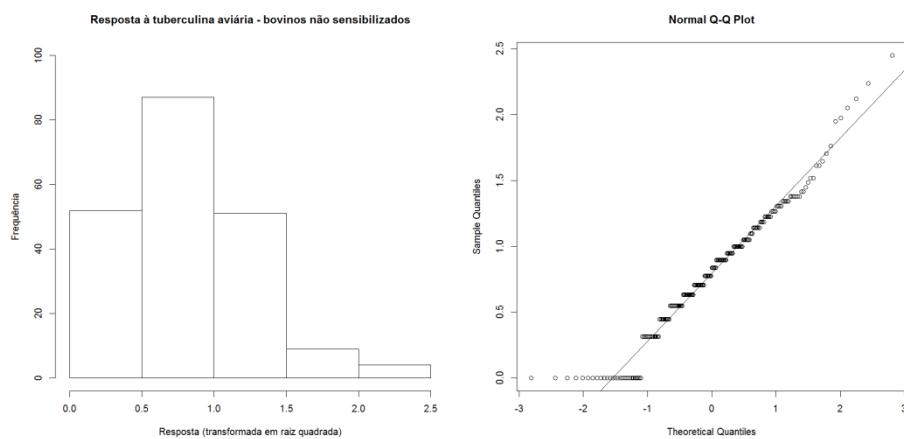
Apêndice 3. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, na primeira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,2 \times 10^{-16}$.



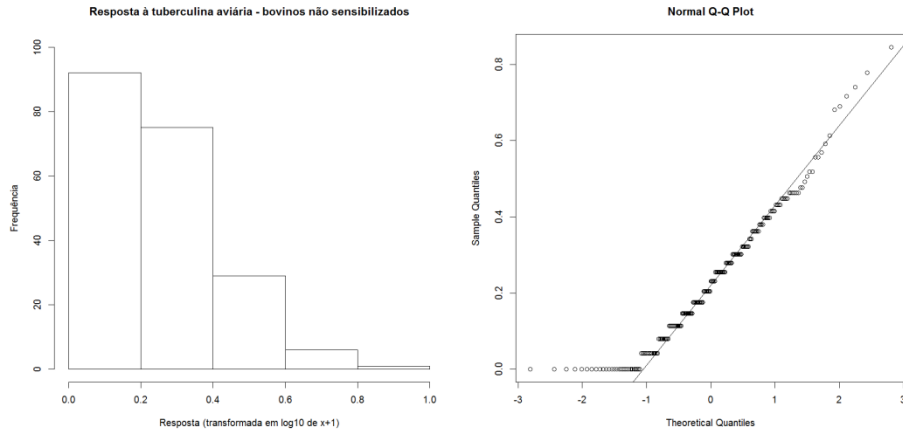
Apêndice 3a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, na primeira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,001978$.



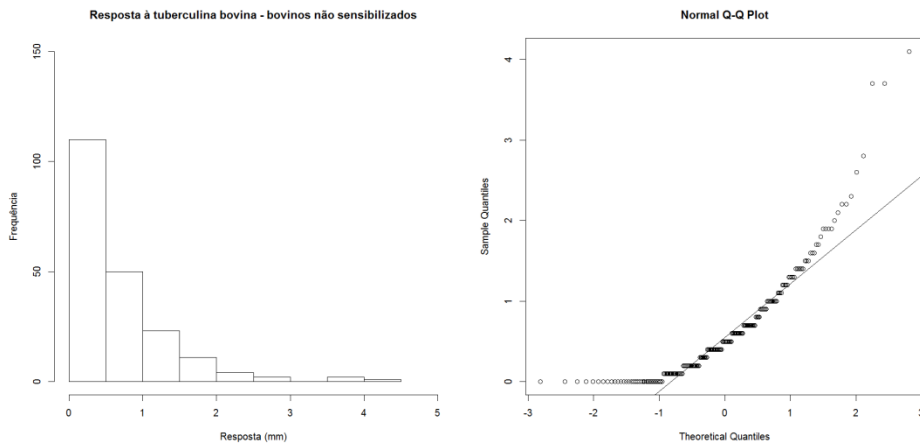
Apêndice 3b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, na primeira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 1,641 \times 10^{-5}$.



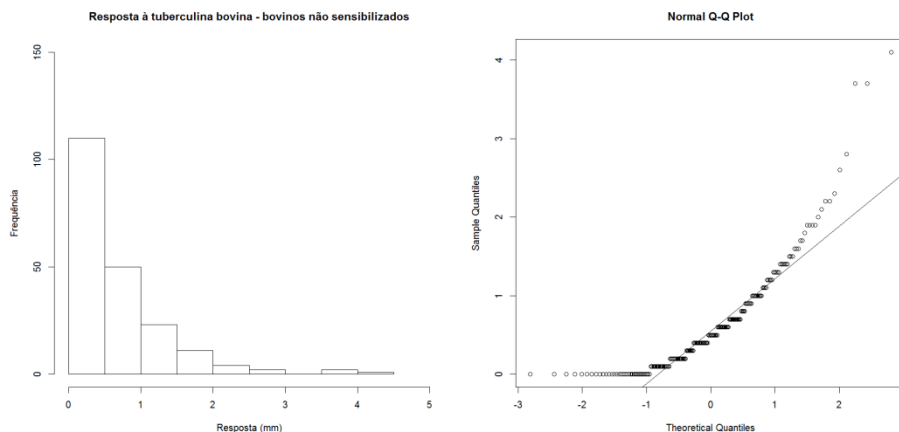
Apêndice 4. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, na primeira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,2 \times 10^{-16}$.



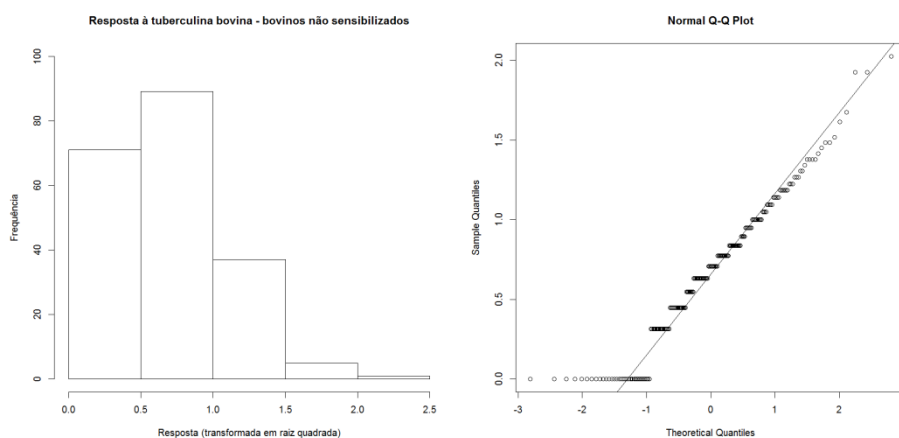
Apêndice 4a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, na primeira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,2 \times 10^{-16}$.



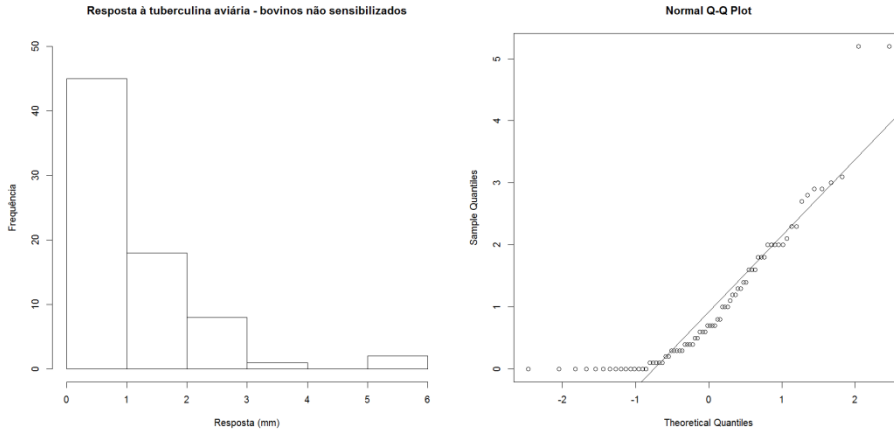
Apêndice 4b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, na primeira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 9,841 \times 10^{-5}$.



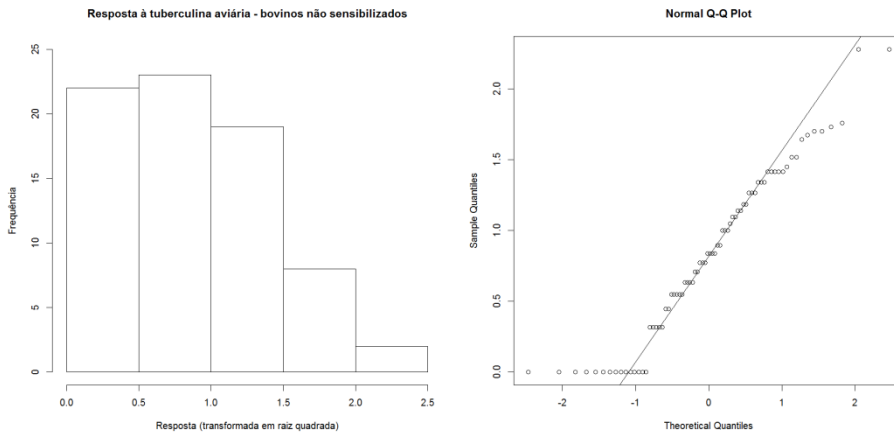
Apêndice 5. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, na segunda vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 4,359 \times 10^{-8}$.



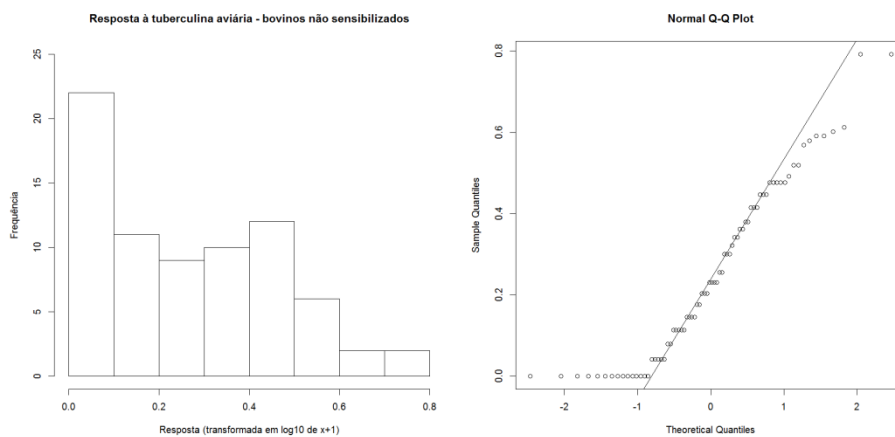
Apêndice 5a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, na segunda vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,01306$.



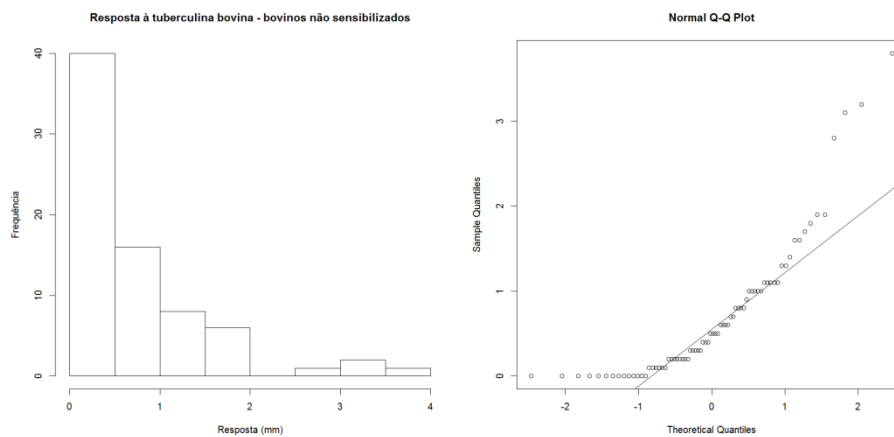
Apêndice 5b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, na segunda vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,0003008$.



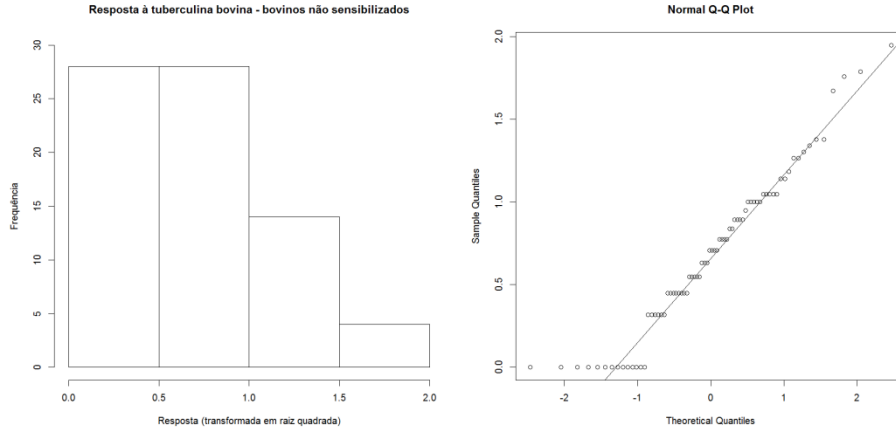
Apêndice 6. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, na segunda vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 7,24 \times 10^{-10}$.



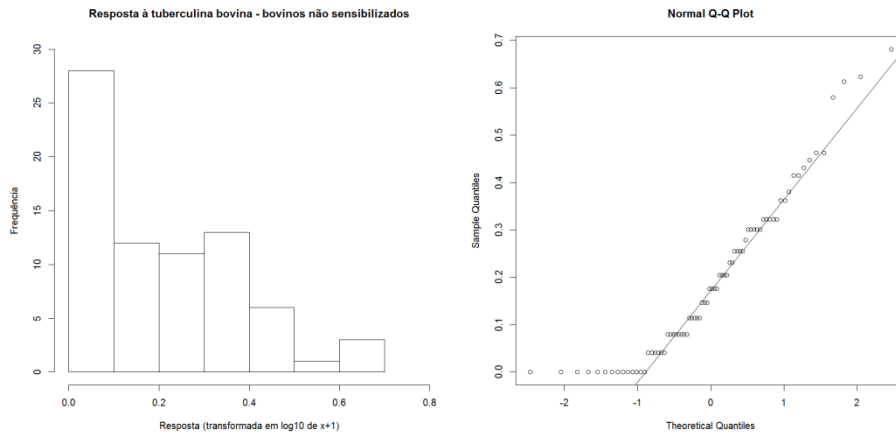
Apêndice 6a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, na segunda vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,03384$.



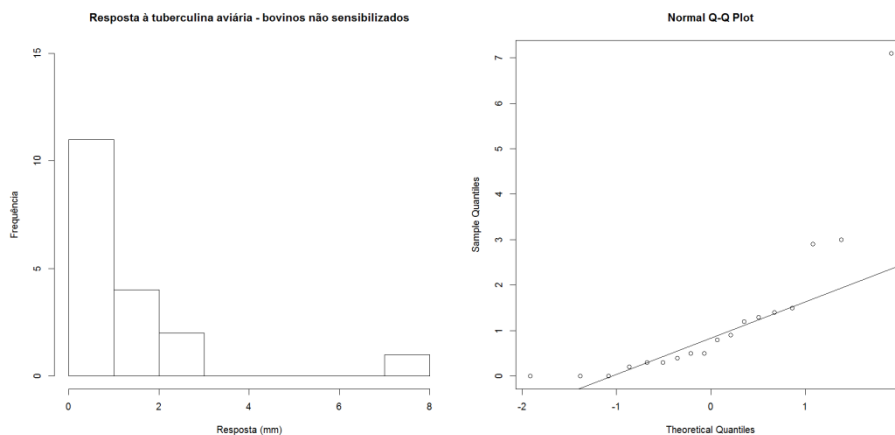
Apêndice 6b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em log10 de x+1) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, na segunda vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,0002601$.



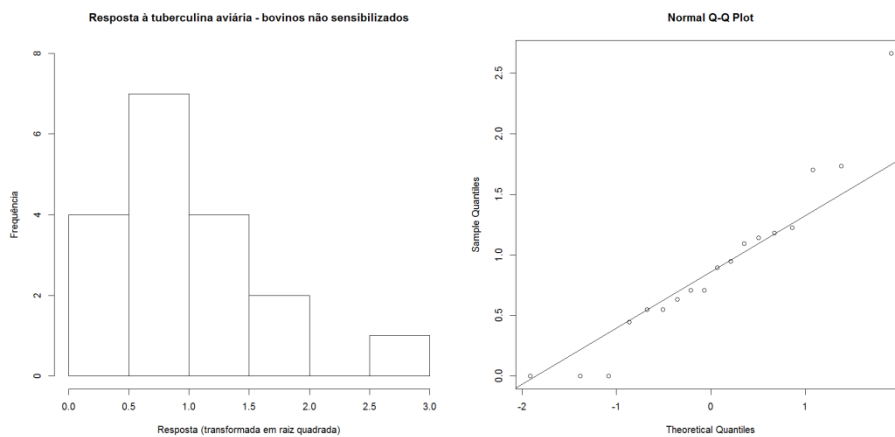
Apêndice 7. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, na terceira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 5,22 \times 10^{-5}$.



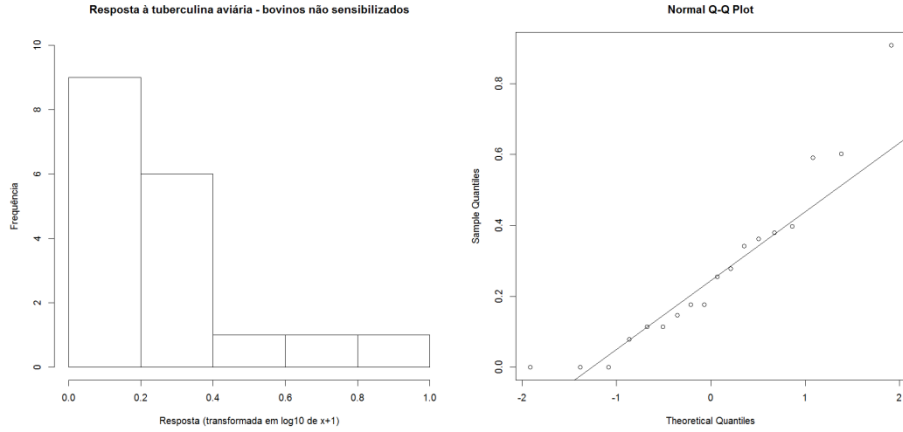
Apêndice 7a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, na terceira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,3079$.



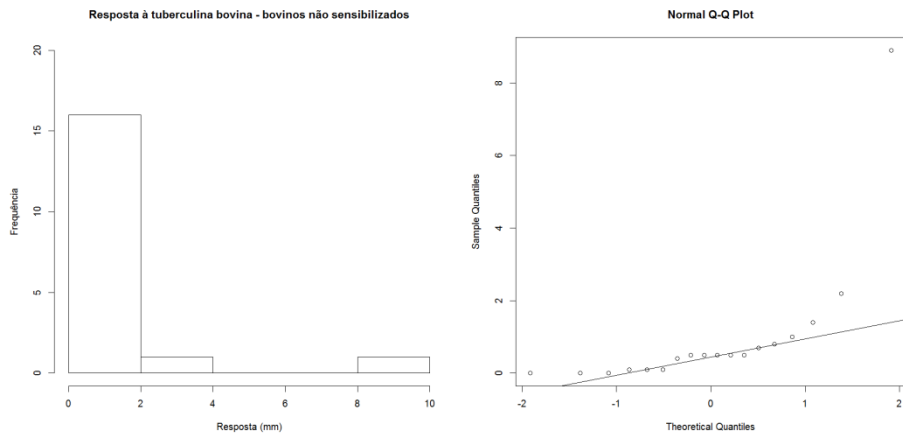
Apêndice 7b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, na terceira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,1395$.



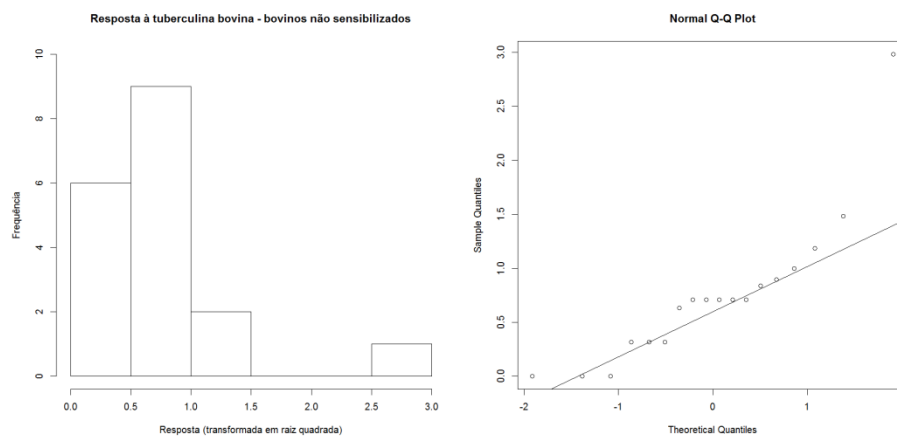
Apêndice 8. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, na terceira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,739 \times 10^{-9}$.



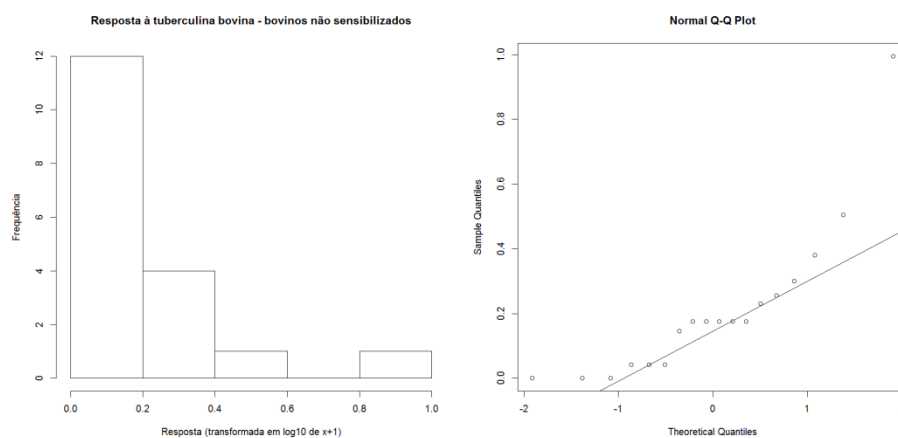
Apêndice 8a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, na terceira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,005655$.



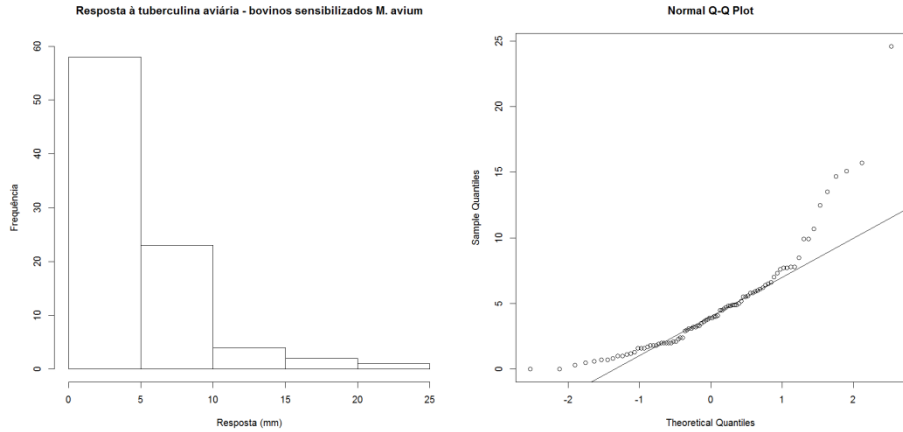
Apêndice 8b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos não sensibilizados à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, na terceira vez em que foram testados.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,001357$.



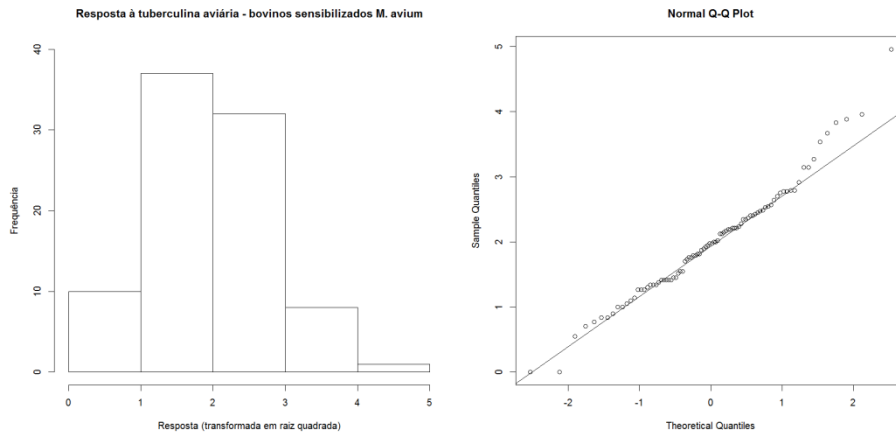
Apêndice 9. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium* à inoculação de tuberculina aviária na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 5,242 \times 10^{-9}$.



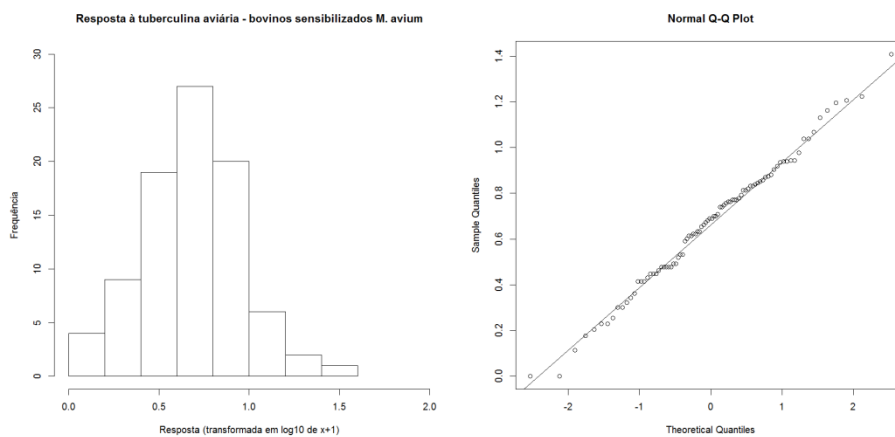
Apêndice 9a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em raiz quadrada) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium* à inoculação de tuberculina aviária na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,1801$.



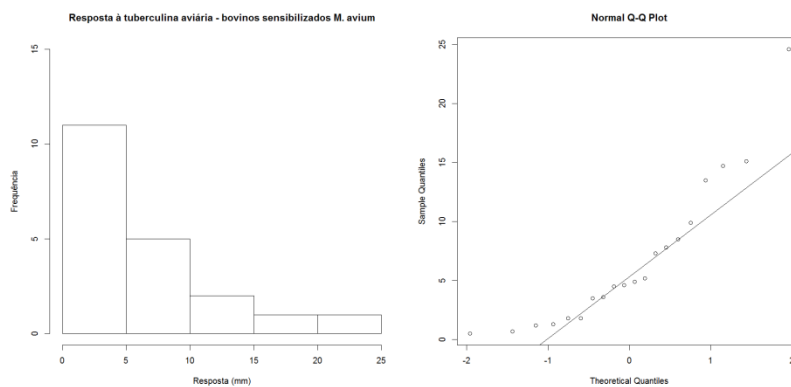
Apêndice 9b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em \log_{10} de $x+1$) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium* à inoculação de tuberculina aviária na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,7306$.



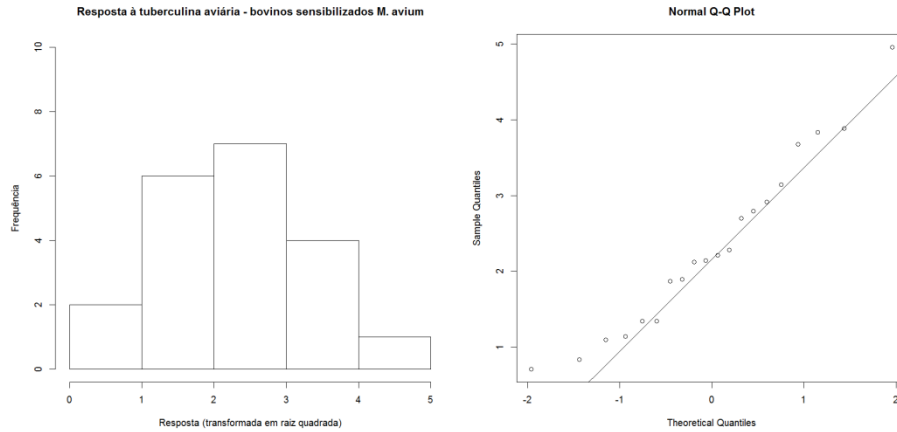
Apêndice 10. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,01472$.



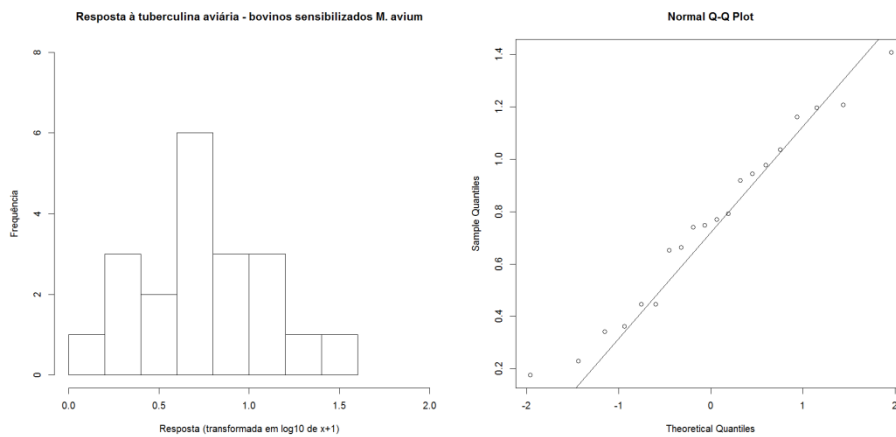
Apêndice 10a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,6034$.

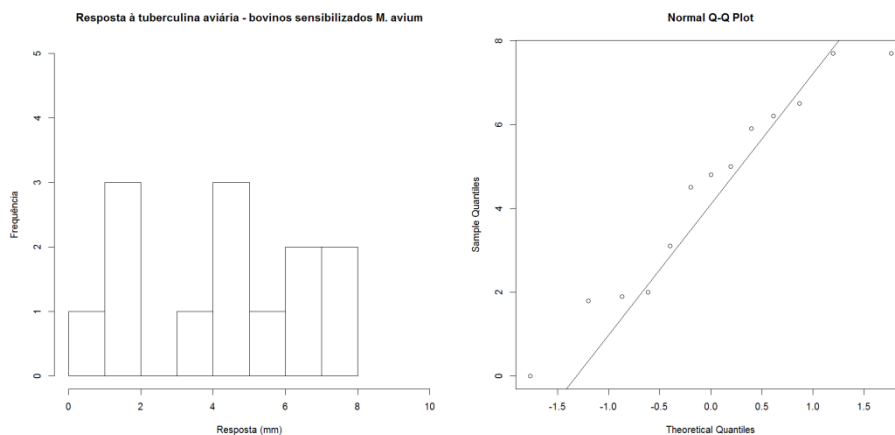


Apêndice 10b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.

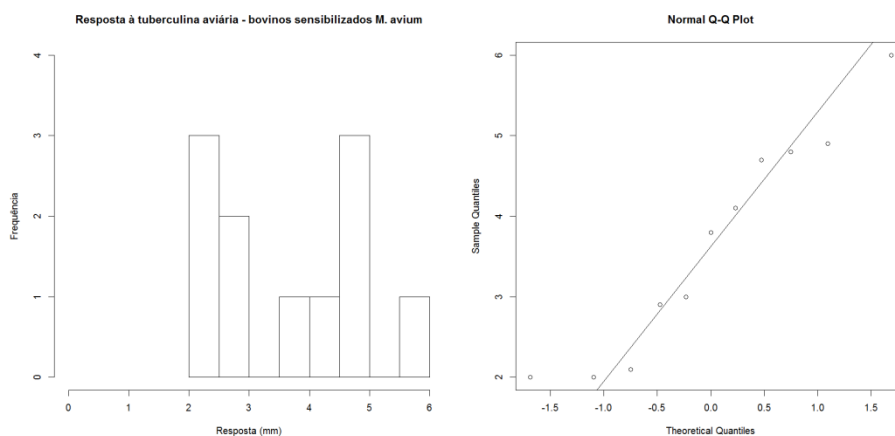
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,8197$.



Apêndice 11. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 91 a 150 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,5318$.

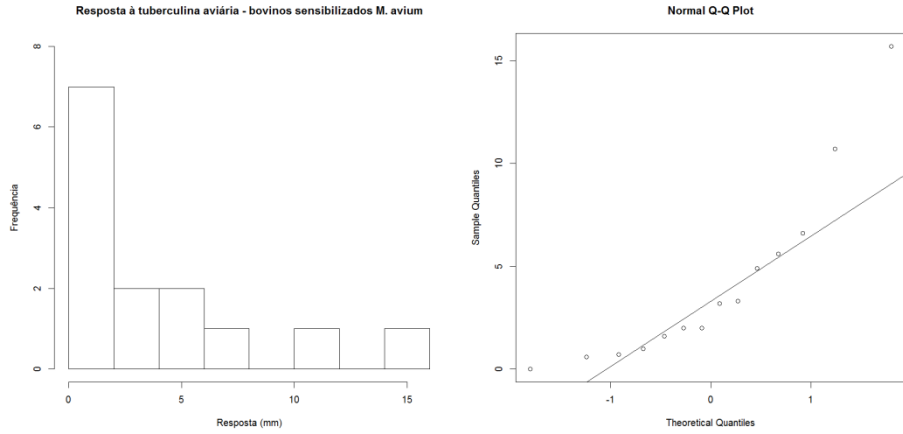


Apêndice 12. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 151 a 230 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,4421$.



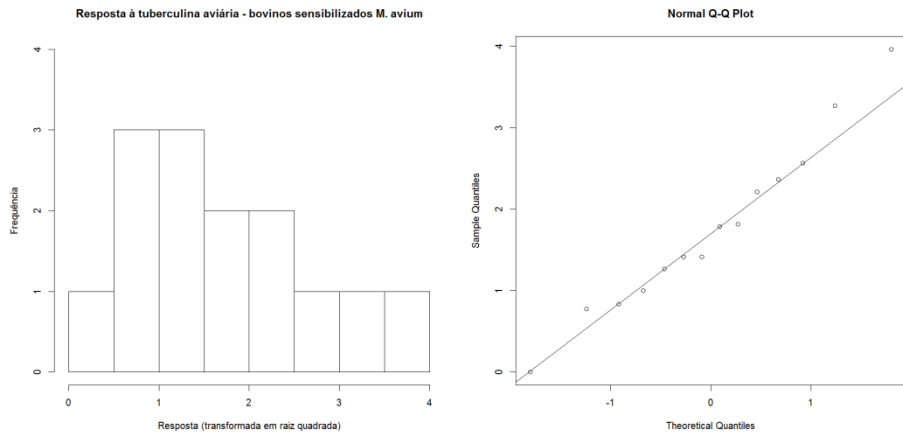
Apêndice 13. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 231 a 300 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,01189$.

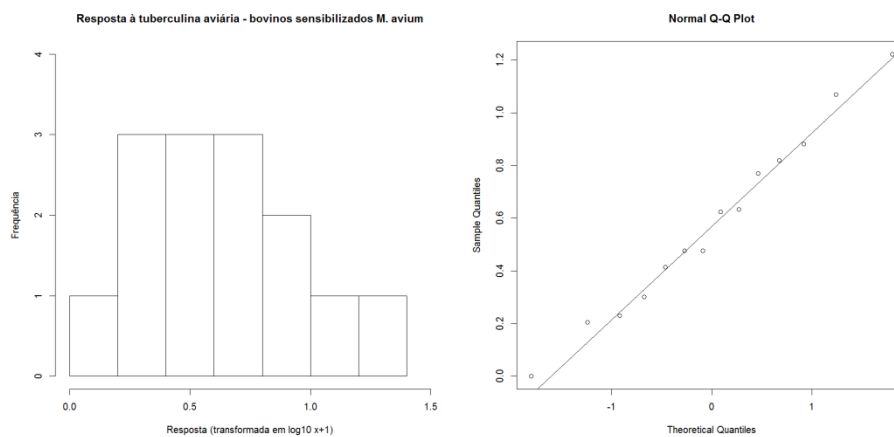


Apêndice 13a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 231 a 300 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.

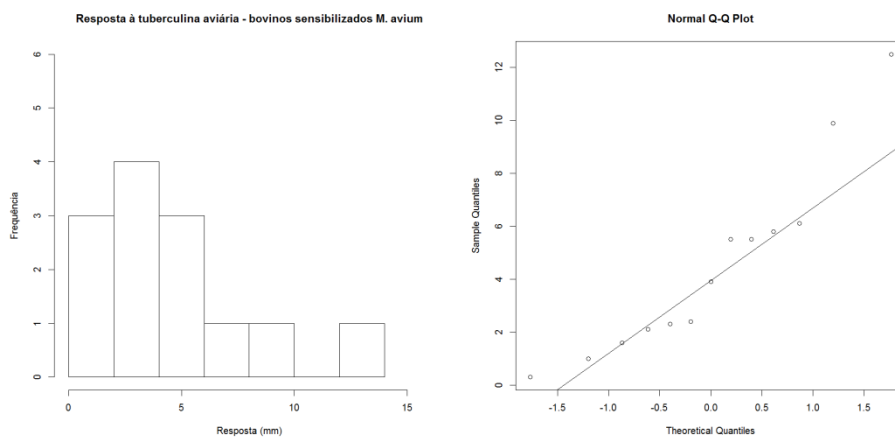
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,81019$.



Apêndice 13b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 231 a 300 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,9689$.

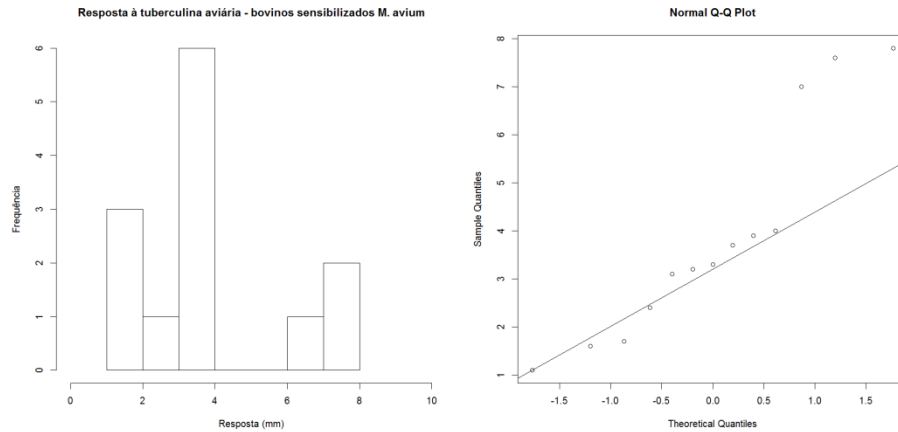


Apêndice 14. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 301 a 500 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,145$.



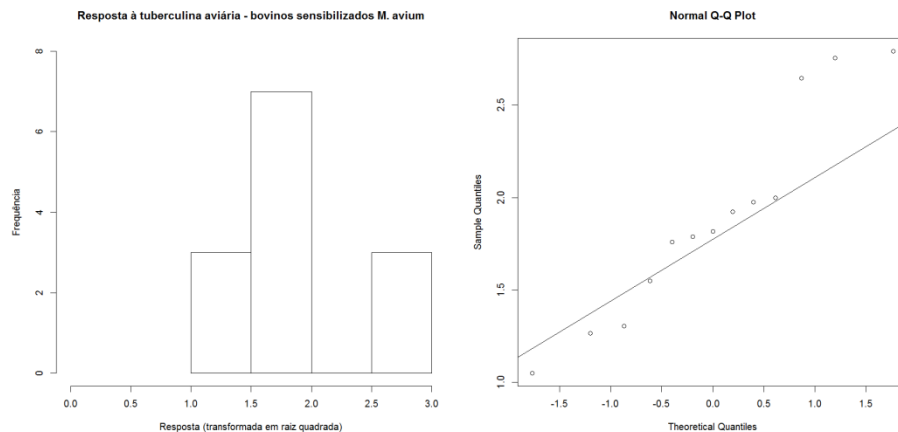
Apêndice 15. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 501 ou mais dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,04768$.

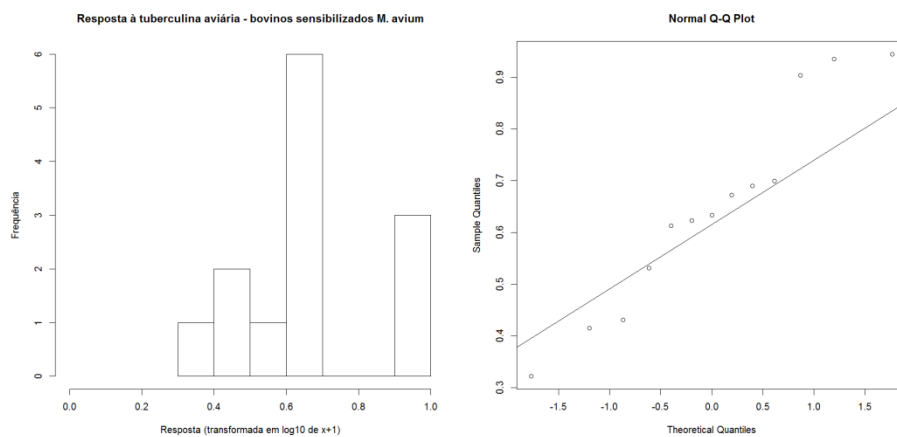


Apêndice 15a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 501 ou mais dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.

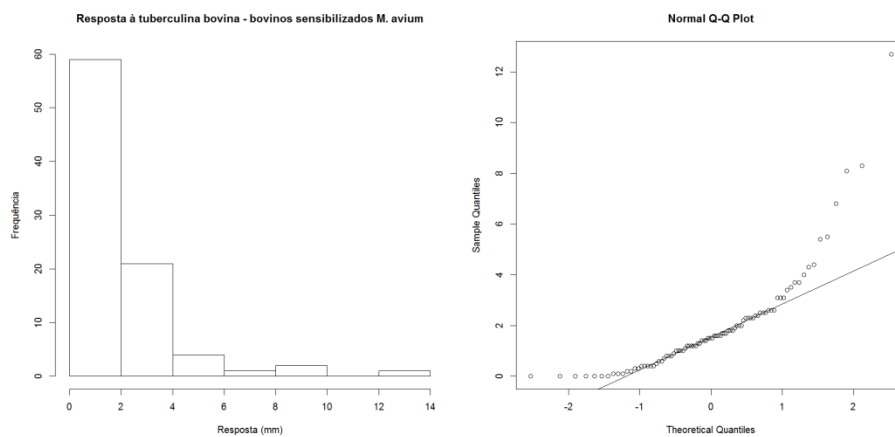
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,2695$.



Apêndice 15b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 501 ou mais dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,437$.

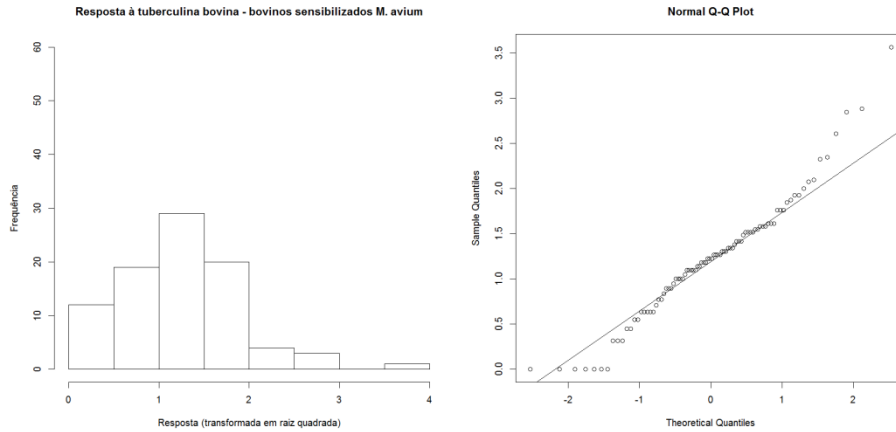


Apêndice 16. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium* à inoculação de tuberculina bovina na região cervical.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,736 \times 10^{-12}$.



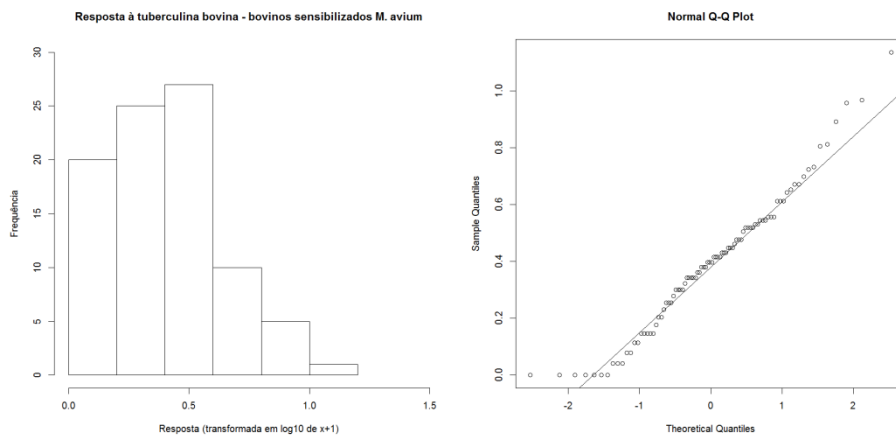
Apêndice 16a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em raiz quadrada) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium* à inoculação de tuberculina bovina na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,05306$.

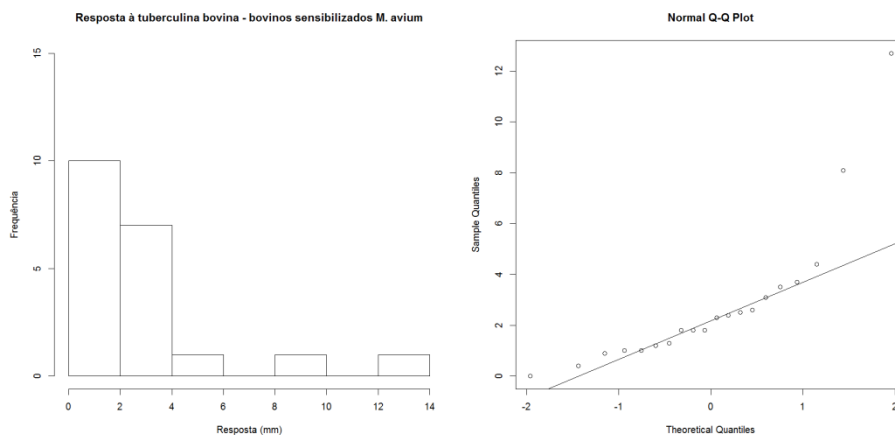


Apêndice 16b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em \log_{10} de $x+1$) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium avium* à inoculação de tuberculina bovina na região cervical.

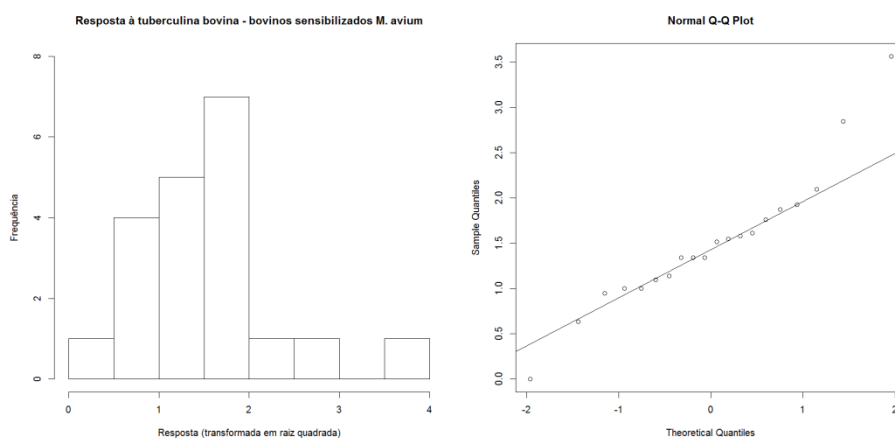
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,2182$.



Apêndice 17. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 5,599 \times 10^{-5}$.

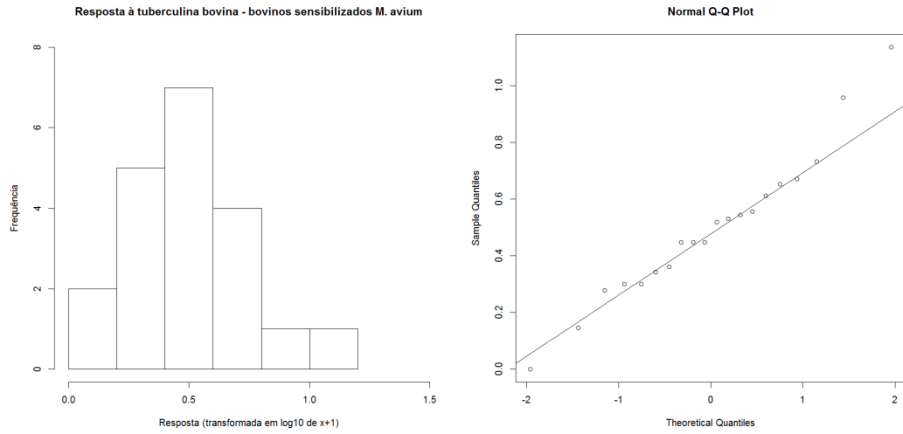


Apêndice 17a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,09835$.



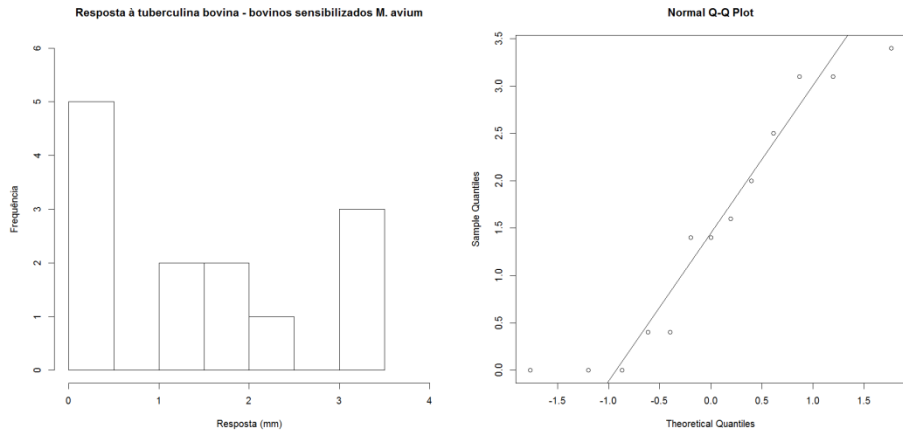
Apêndice 17b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,5089$.

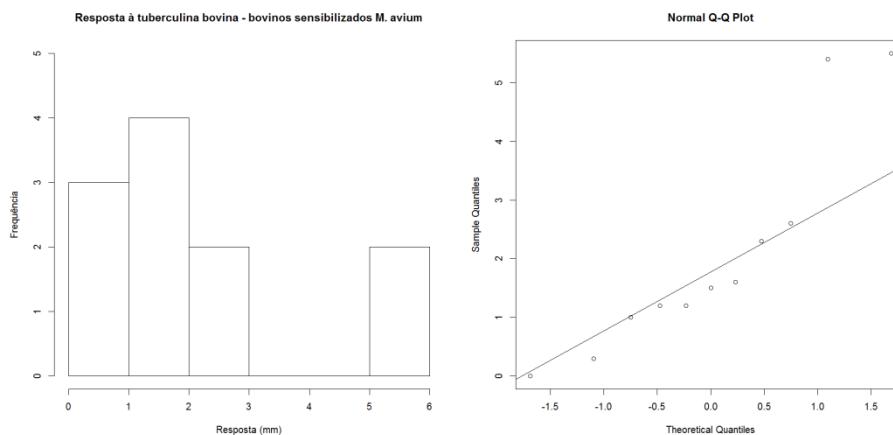


Apêndice 18. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 91 a 150 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.

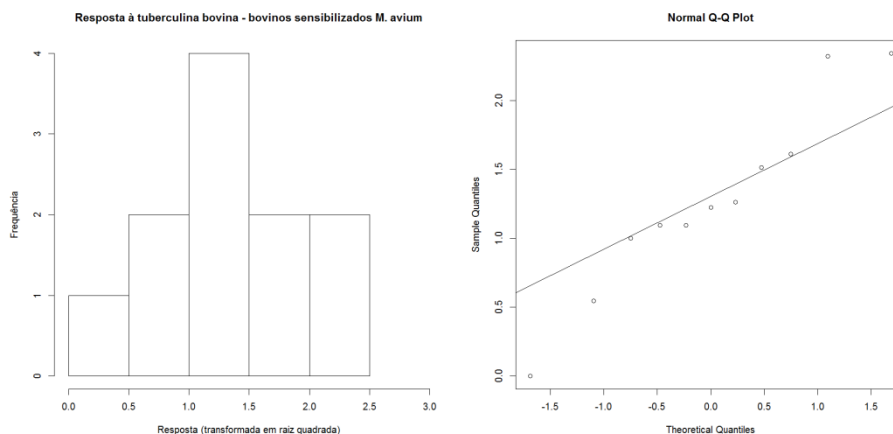
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,1991$.



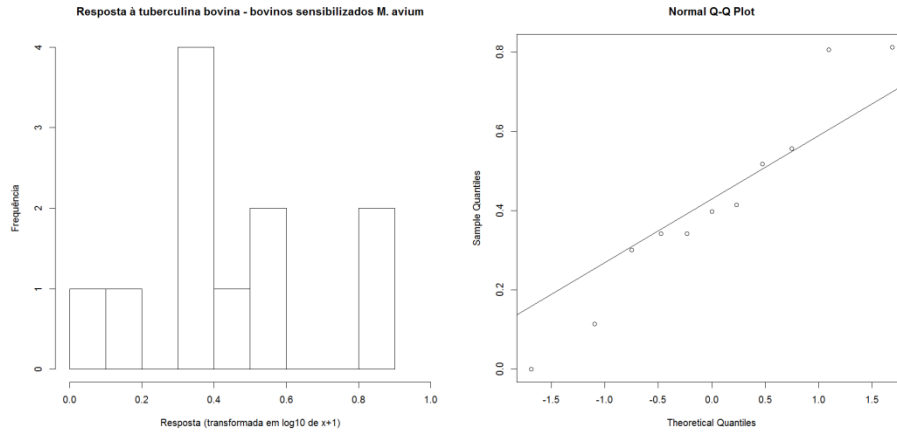
Apêndice 19. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 151 a 230 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,0284$.



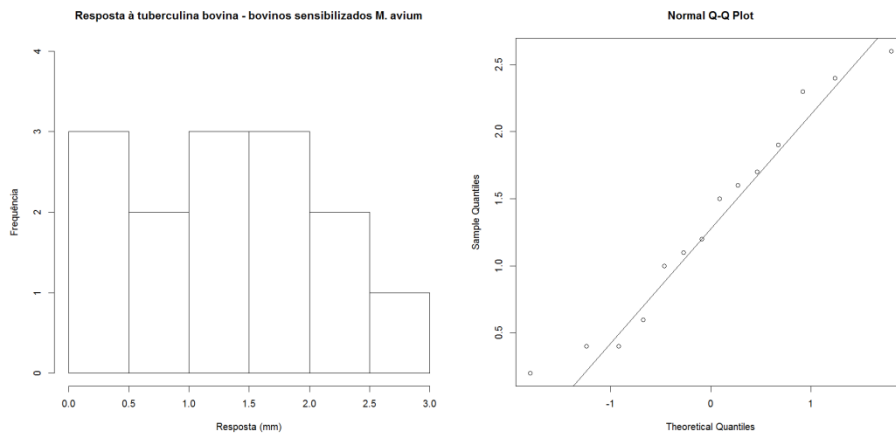
Apêndice 19a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 151 a 230 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,4595$.



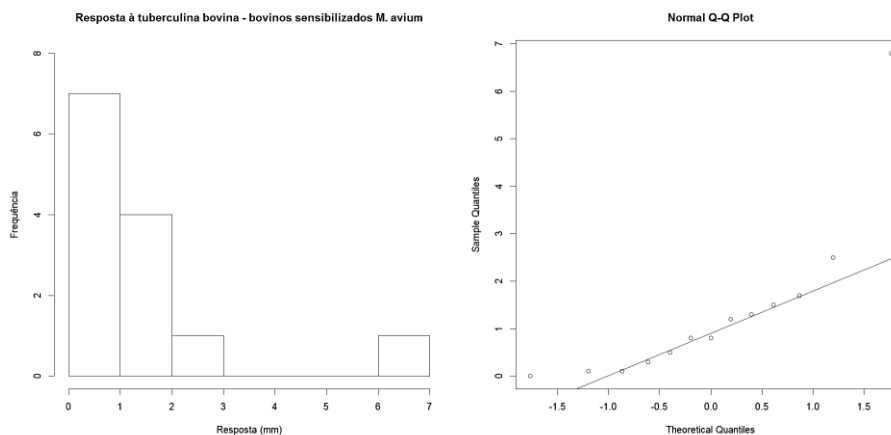
Apêndice 19b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 151 a 230 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,5629$.



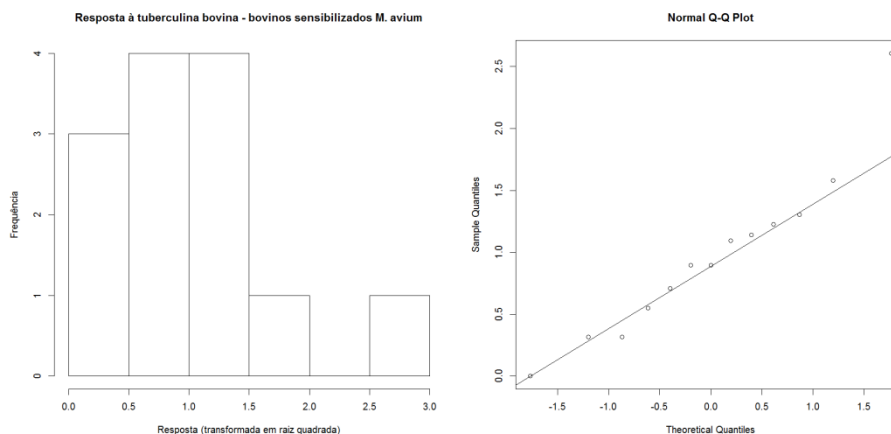
Apêndice 20. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 231 a 300 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,7691$.



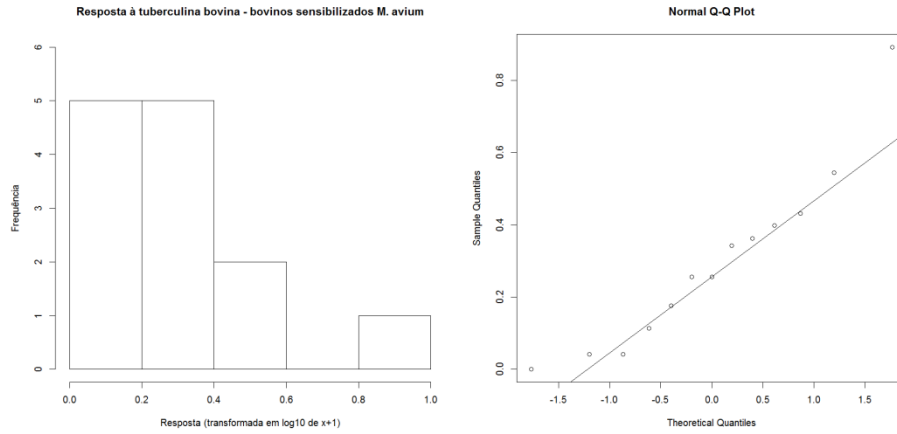
Apêndice 21. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 301 a 500 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,0006323$.



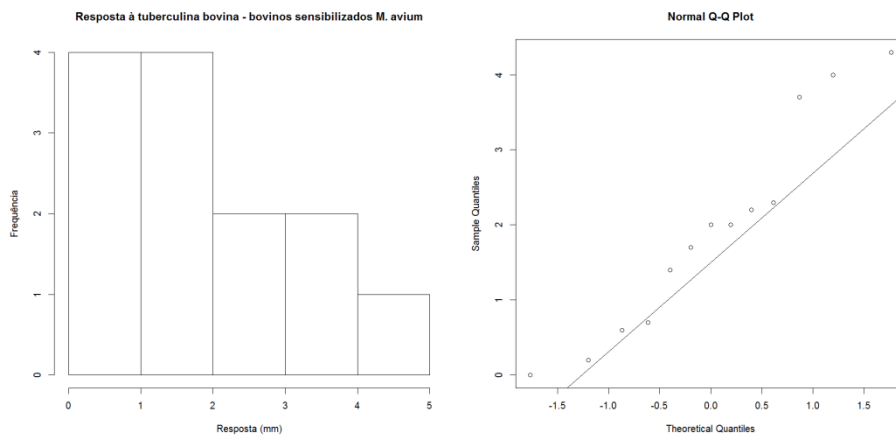
Apêndice 21a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 301 a 500 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,4557$.



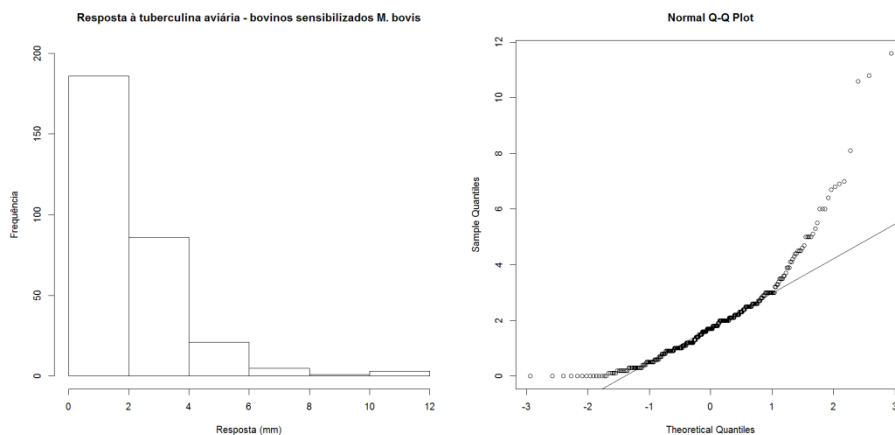
Apêndice 21b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 301 a 500 dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,4073$.



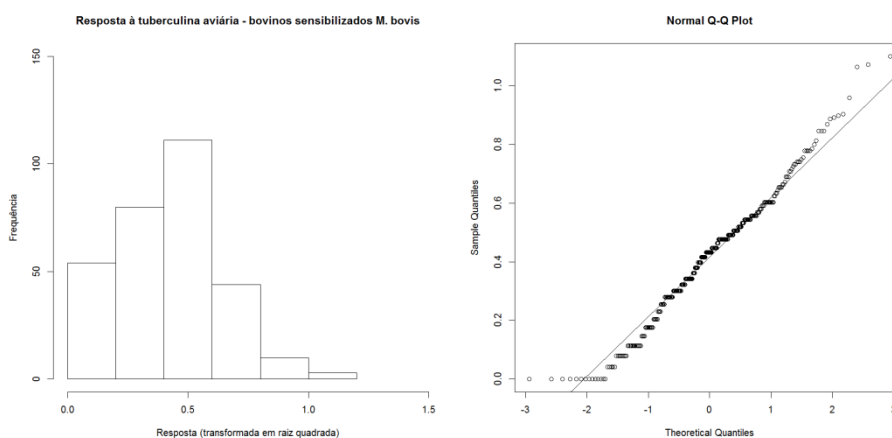
Apêndice 22. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 501 ou mais dias após sensibilização com *Mycobacterium avium*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,4245$.



Apêndice 23. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis* à inoculação de tuberculina aviária na região cervical.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,2 \times 10^{-16}$.

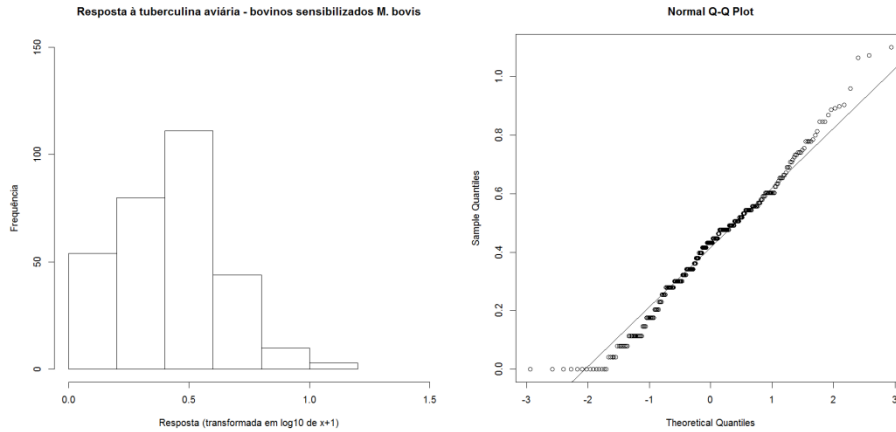


Apêndice 23a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis* à inoculação de tuberculina aviária na região cervical.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,0006614$.



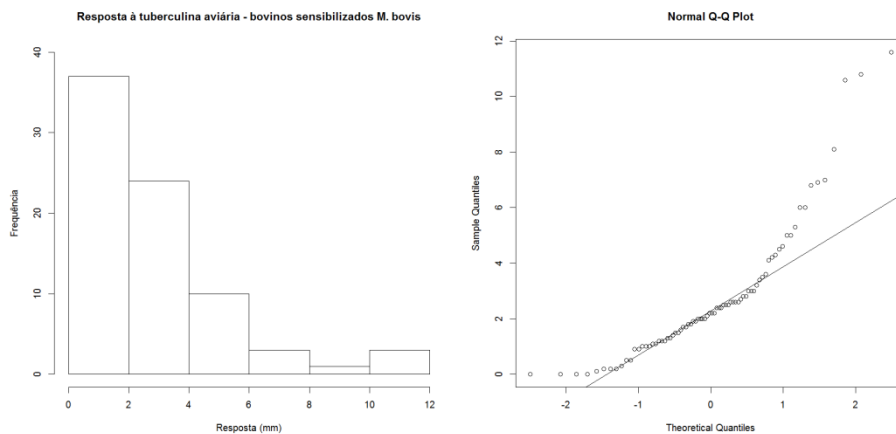
Apêndice 23b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis* à inoculação de tuberculina aviária na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,01169$.



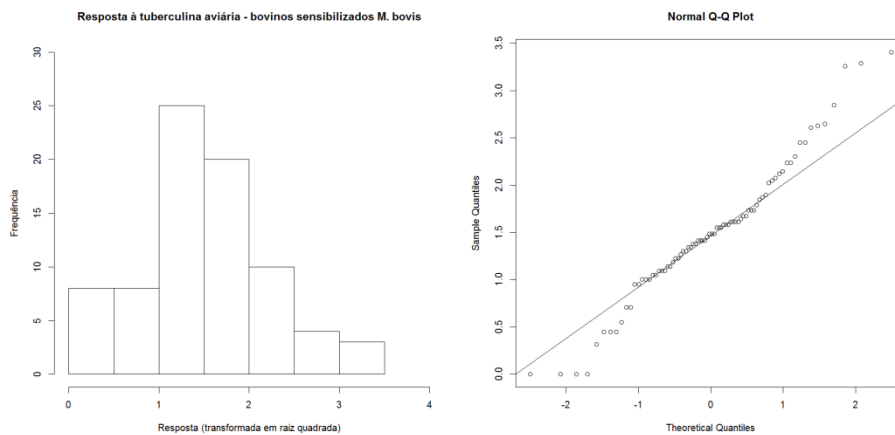
Apêndice 24. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,673 \times 10^{-9}$.



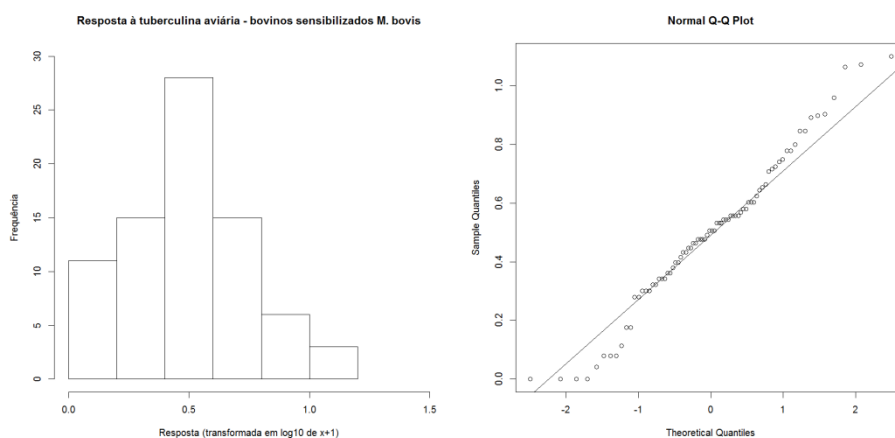
Apêndice 24a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,03875$.



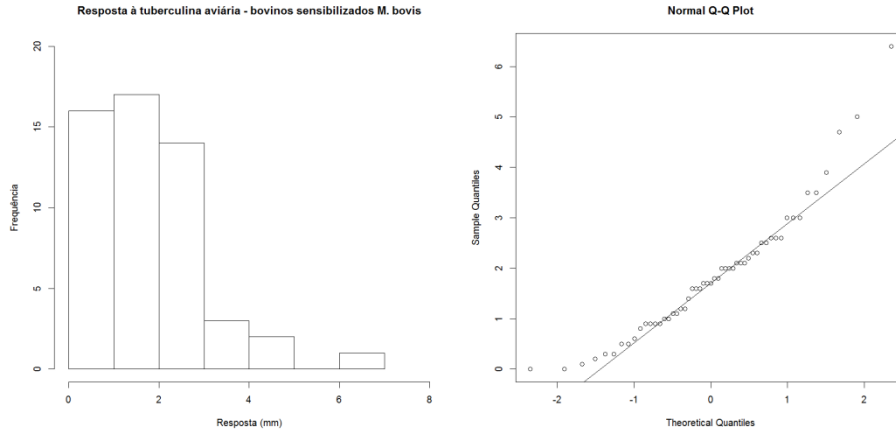
Apêndice 24b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (dados transformados em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,2388$.



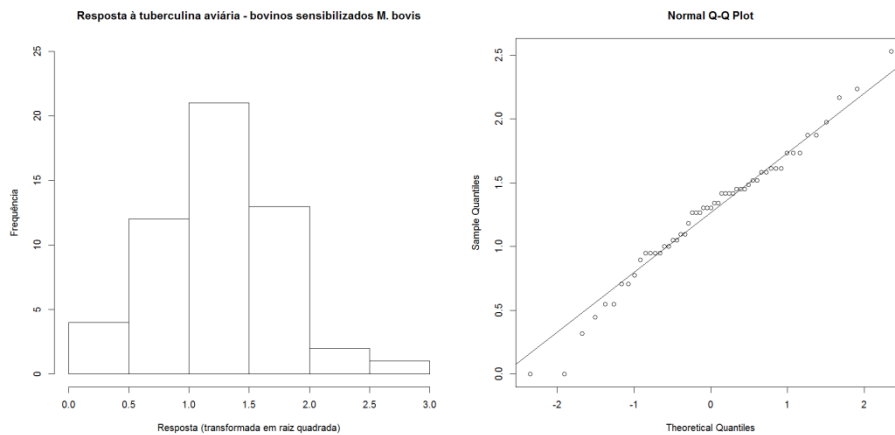
Apêndice 25. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 91 a 150 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,02435$.



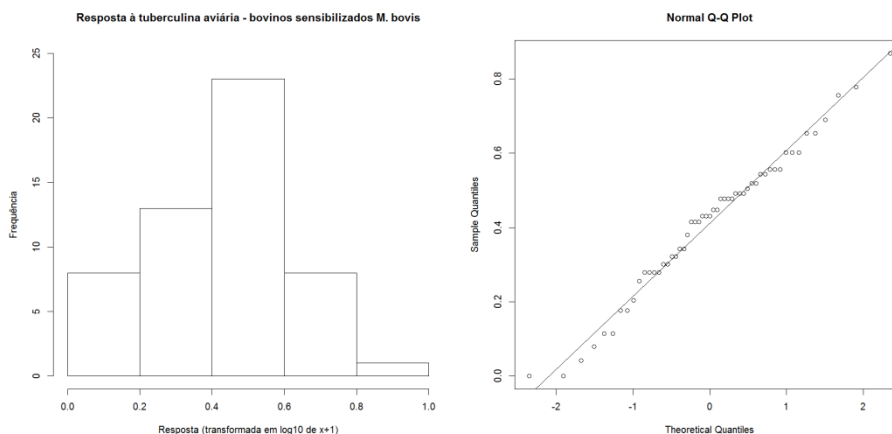
Apêndice 25a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 91 a 150 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,2943$.



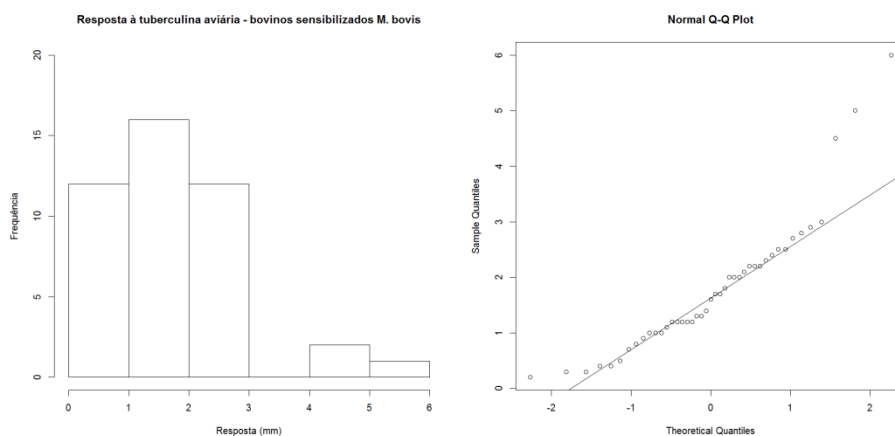
Apêndice 25b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 91 a 150 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,4297$.



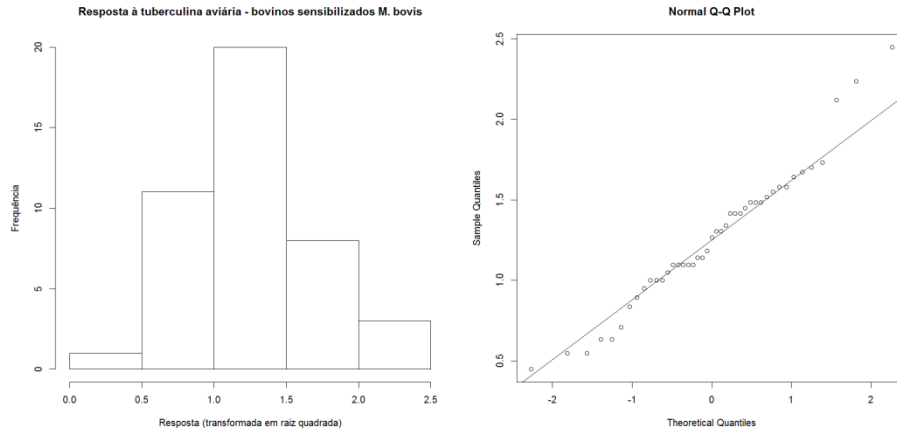
Apêndice 26. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 151 a 230 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,002039$.



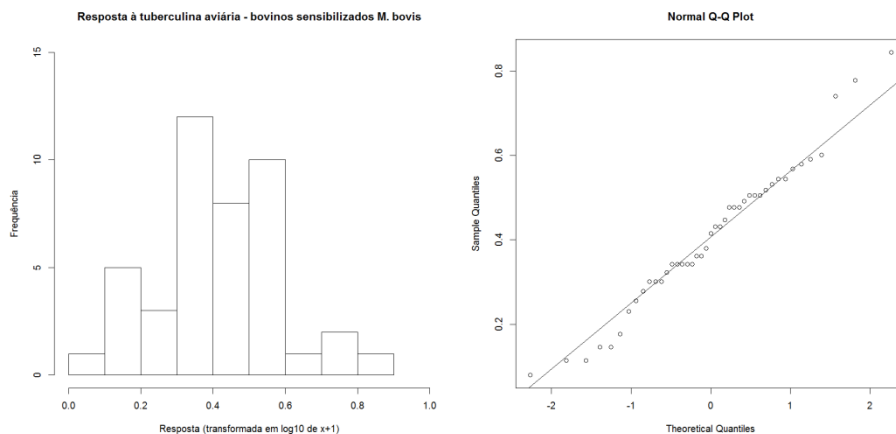
Apêndice 26a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 151 a 230 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,3858$.

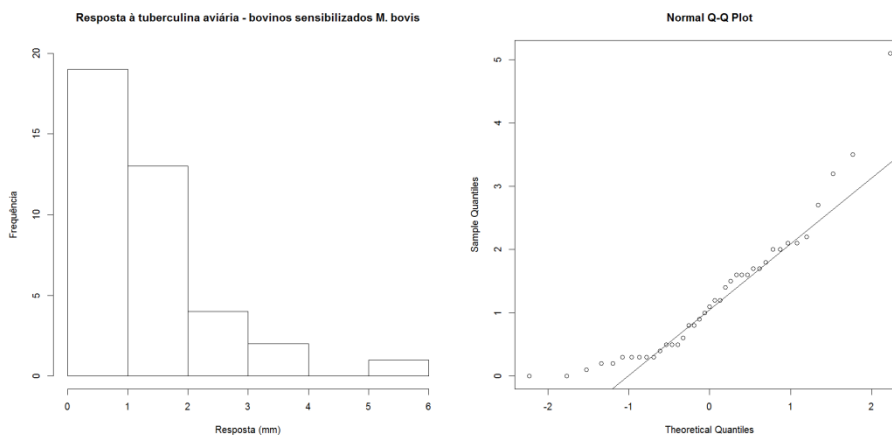


Apêndice 26b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 151 a 230 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

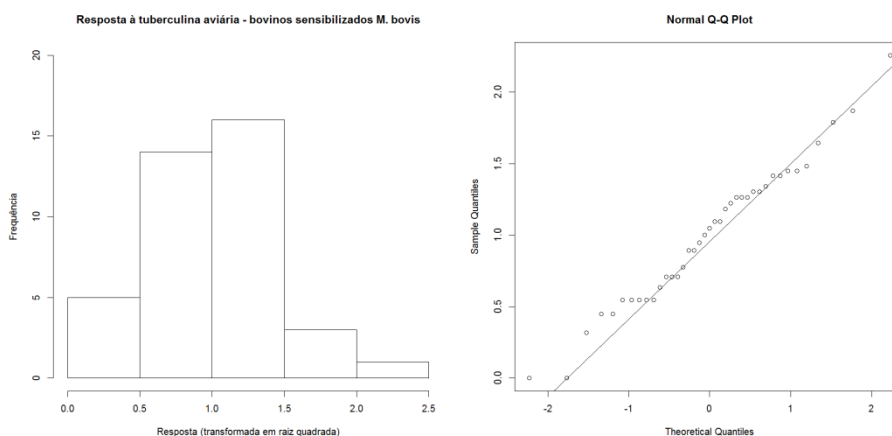
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,5316$.



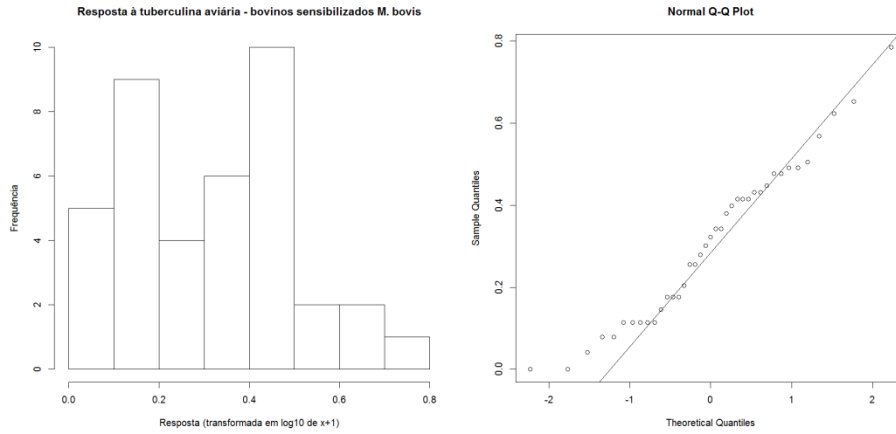
Apêndice 27. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 231 a 300 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,006389$.



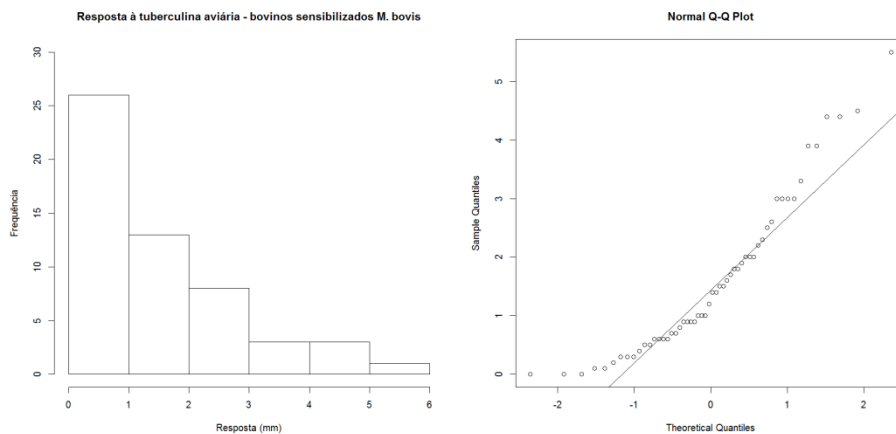
Apêndice 27a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 231 a 300 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,5417$.



Apêndice 27b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 231 a 300 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,2241$.

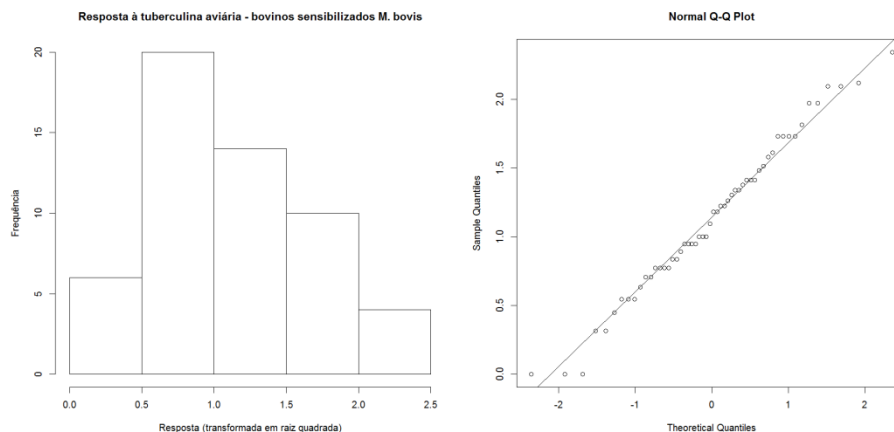


Apêndice 28. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 301 a 500 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,0003733$.



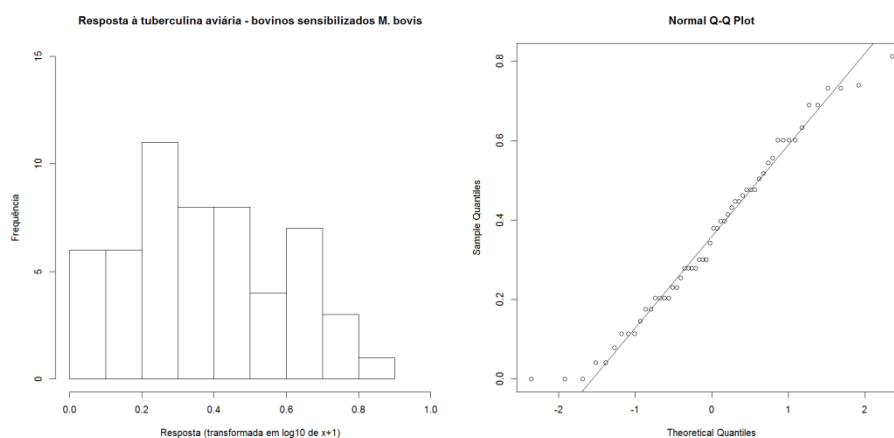
Apêndice 28a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 301 a 500 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,8756$.

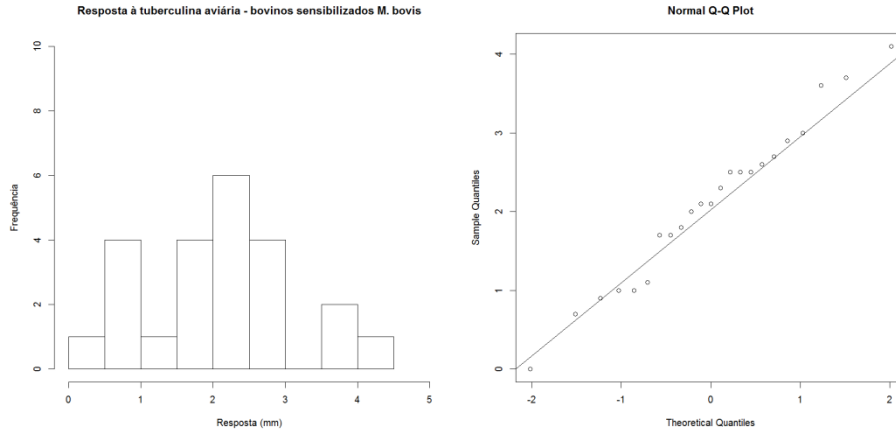


Apêndice 28b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 301 a 500 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

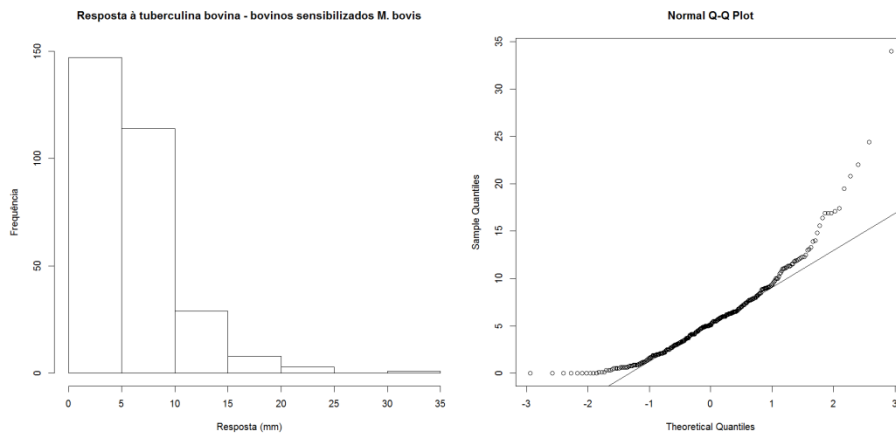
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,4374$.



Apêndice 29. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina aviária na região cervical, 501 ou mais dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,8246$.

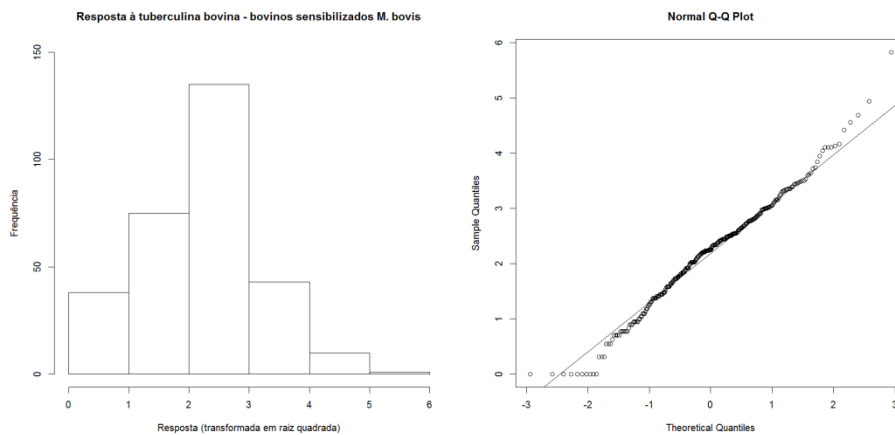


Apêndice 30. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis* à inoculação de tuberculina bovina na região cervical.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 2,003 \times 10^{-13}$.



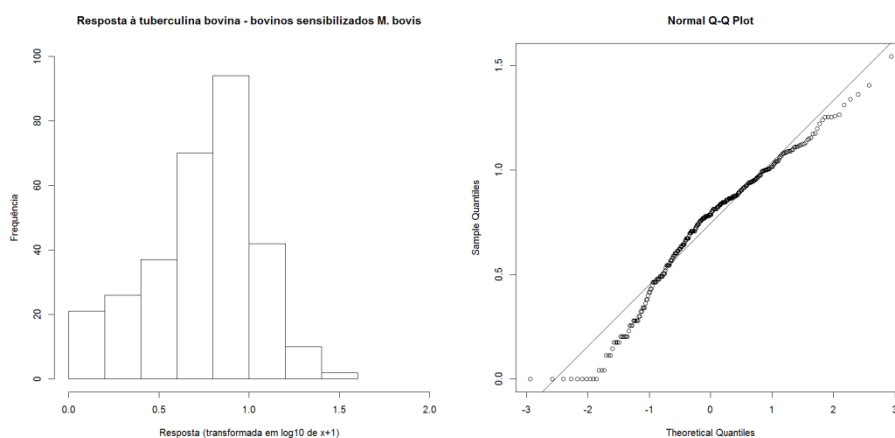
Apêndice 30a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis* à inoculação de tuberculina bovina na região cervical.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,01802$.

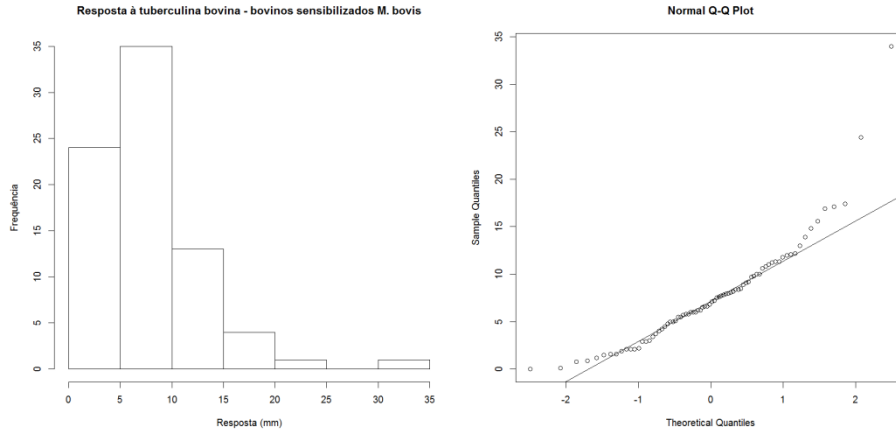


Apêndice 30b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos sensibilizados com *Mycobacterium bovis* à inoculação de tuberculina bovina na região cervical.

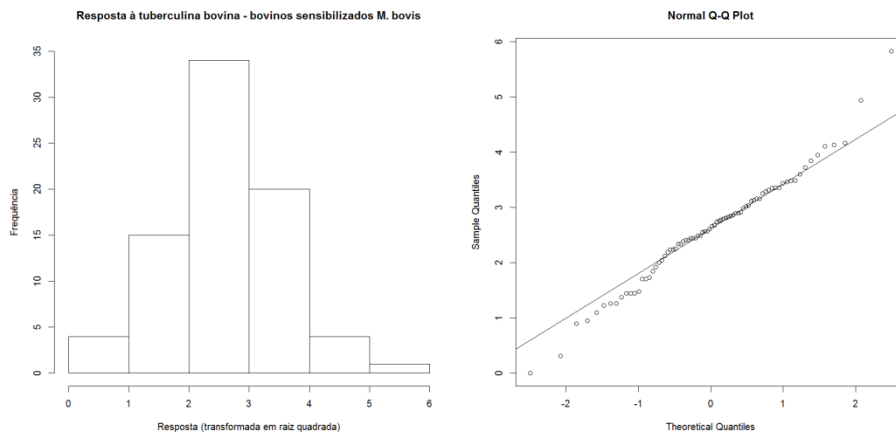
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 6,605 \times 10^{-9}$.



Apêndice 31. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,0004146$.

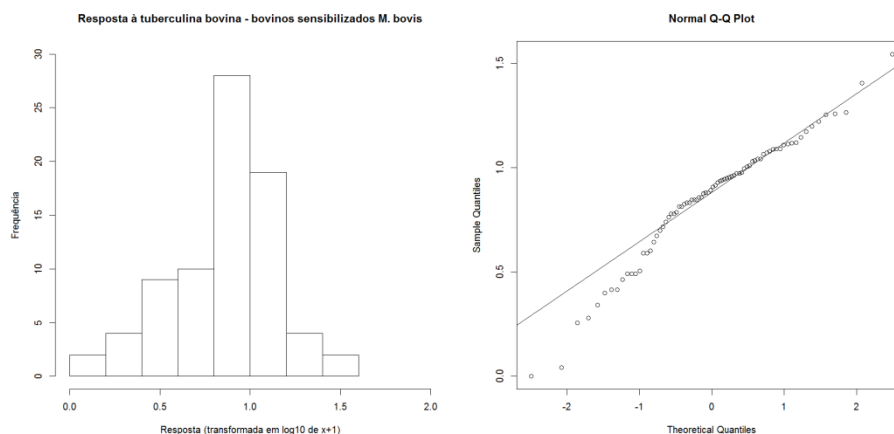


Apêndice 31a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,2765$.



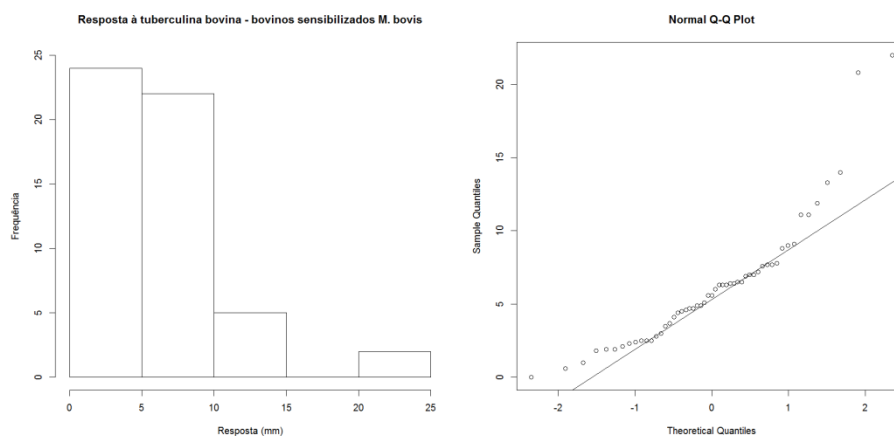
Apêndice 31b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 60 a 90 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,01782$.



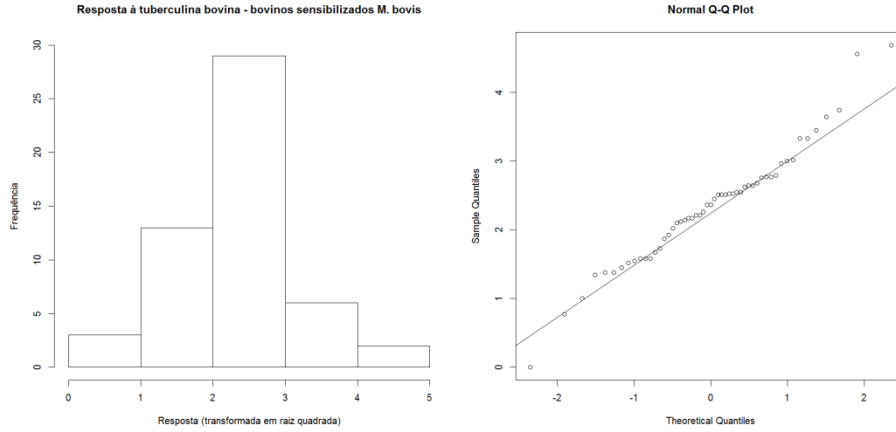
Apêndice 32. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 91 a 150 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,0001193$.



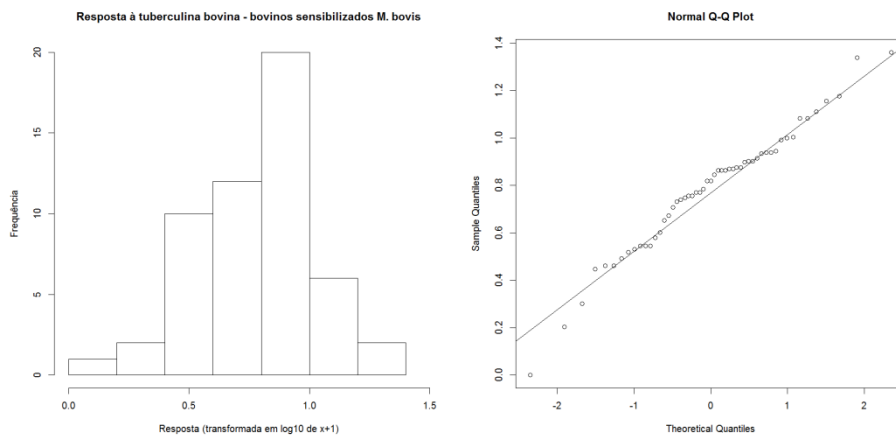
Apêndice 32a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 91 a 150 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,159$.

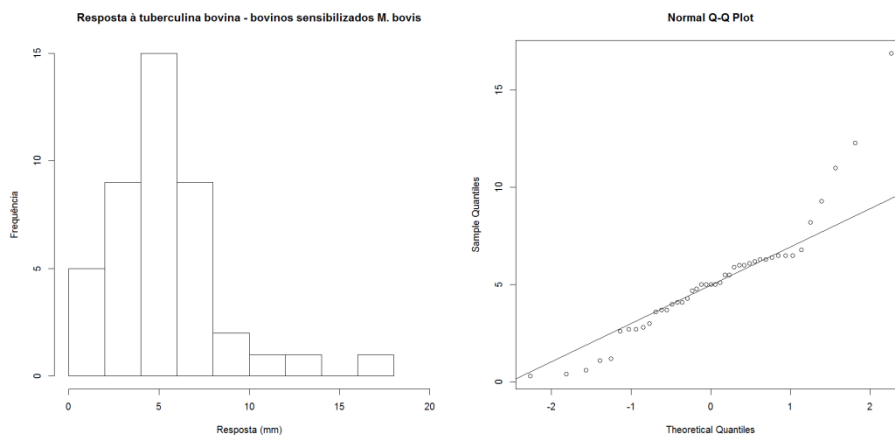


Apêndice 32b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 91 a 150 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

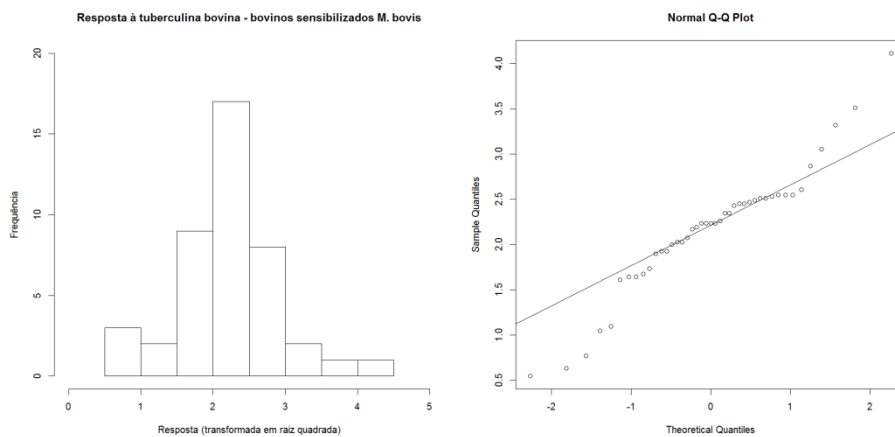
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,1635$.



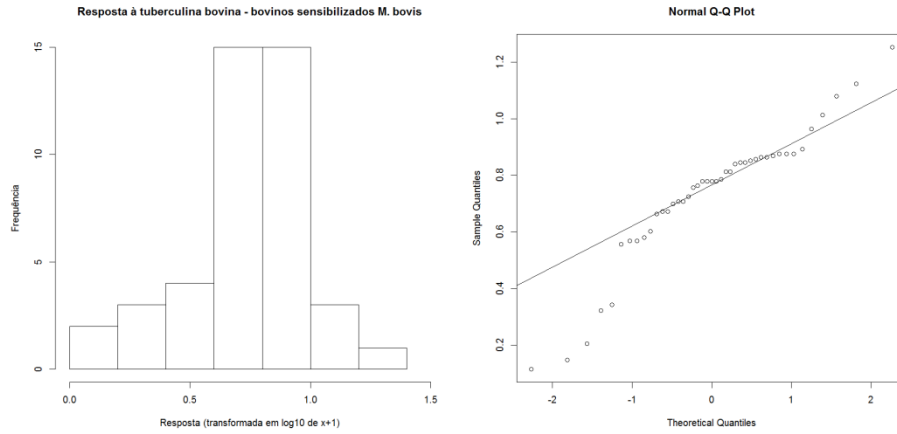
Apêndice 33. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 151 a 230 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,002225$.



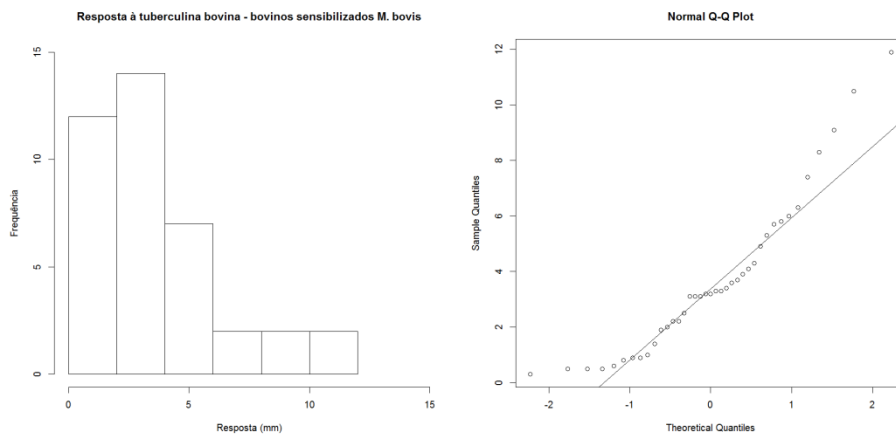
Apêndice 33a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 151 a 230 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,009016$.



Apêndice 33b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 151 a 230 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,0006428$.

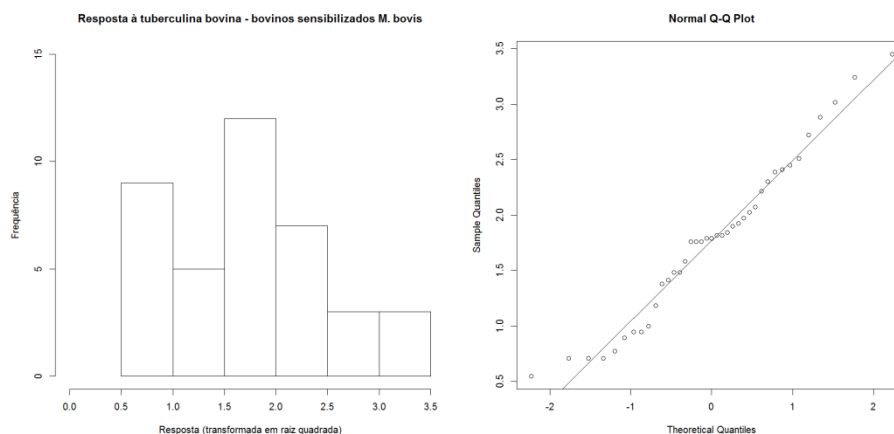


Apêndice 34. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 231 a 300 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,006203$.



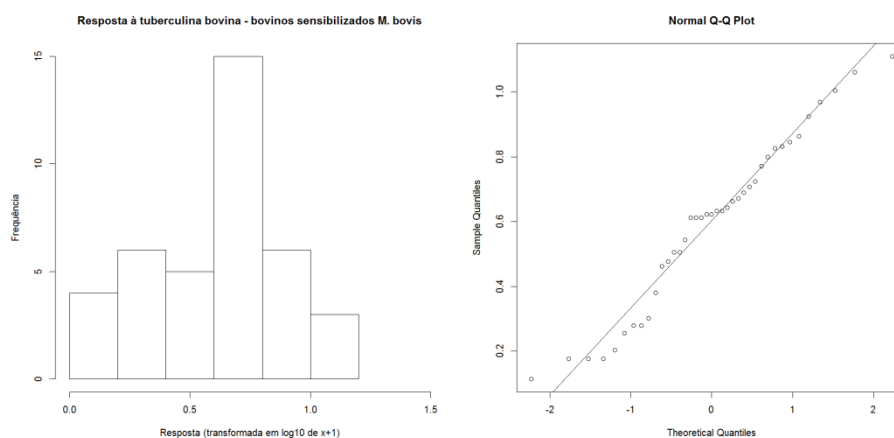
Apêndice 34a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 231 a 300 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,4381$.

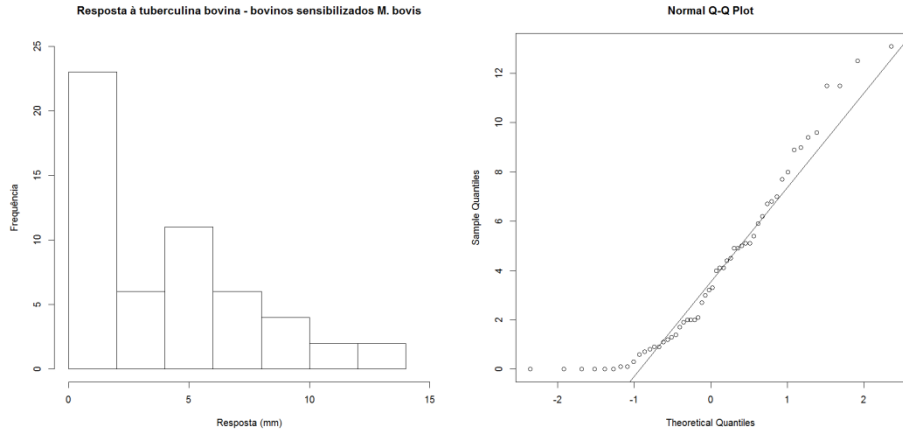


Apêndice 34b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 231 a 300 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

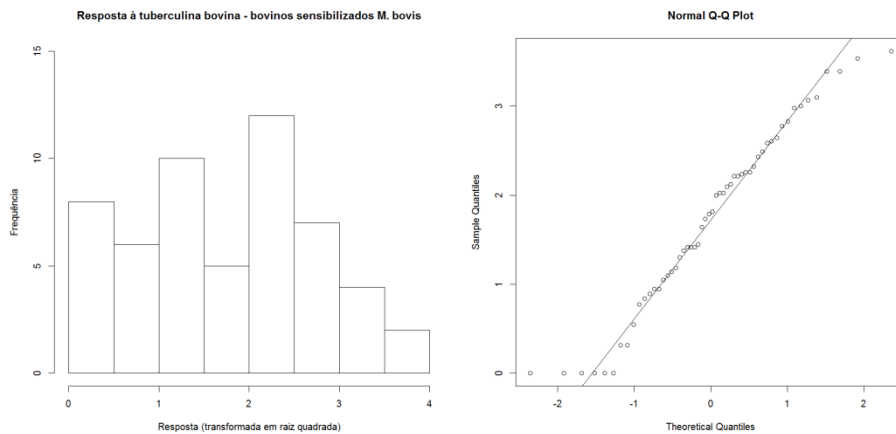
Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,247$.



Apêndice 35. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 301 a 500 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,0007103$.

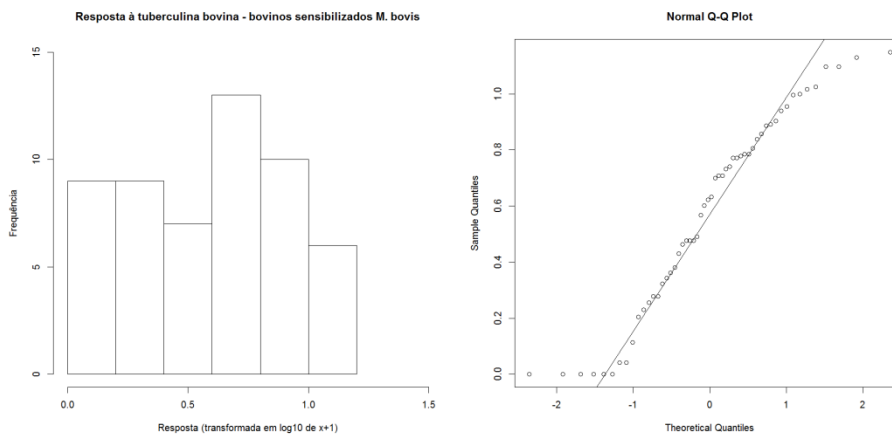


Apêndice 35a. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em raiz quadrada) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 301 a 500 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.
 Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,3313$.



Apêndice 35b. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (transformada em \log_{10} de $x+1$) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 301 a 500 dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,03163$.



Apêndice 36. Análise da normalidade da distribuição de frequências da resposta (mm) de bovinos à inoculação de tuberculina bovina na região cervical, 501 ou mais dias após sensibilização com *Mycobacterium bovis*.

Teste de normalidade de Anderson-Darling: $P = 0,4044$.

