

INFECÇÕES POR *Corynebacterium pseudotuberculosis* EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO

Rodrigo Garcia Motta¹
Arita de Cássia Marella Cremasco¹
Márcio Garcia Ribeiro²

RESUMO

As infecções por *Corynebacterium pseudotuberculosis* são caracterizadas por processos piogranulomatosos crônicos em várias espécies de animais de produção. Nos equinos, bovinos e pequenos ruminantes a infecção por este actinomiceto causa abscesso peitoral ou “peito de pombo”, linfangite ulcerativa e linfadenite caseosa, respectivamente. O presente estudo procura revisar os principais aspectos da infecção por *C. pseudotuberculosis* em ruminantes domésticos e equinos, com ênfase nos fatores de virulência, epidemiologia, manifestações clínicas, métodos de diagnósticos, controle, profilaxia e reflexos na saúde pública.

Palavras Chave: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, linfadenite caseosa, linfangite ulcerativa, abscessos peitorais, ovinos, equinos, bovinos.

Corynebacterium pseudotuberculosis INFECTION IN PRODUCTION ANIMALS

ABSTRACT

Corynebacterium pseudotuberculosis infections are characterized by chronic pyogranulotous process in several domestic animals. In equine, bovine and small ruminants the affection by this actinomycete lead to pectoral abscesses, ulcerative lymphangites and caseous lymphadenitis, respectively. The present study reviewed the most-important aspects of *C. pseudotuberculosis* infections, in domestic ruminants and equines, with emphasis for virulence factors of microorganism, epidemiology, clinical manifestations, methods of diagnosis, control aspects and impact in public health of bacteria.

Key-Words: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, caseous lymphadenitis, ulcerative lymphangitis, pectoral abscesses, sheep, goat, equine, bovine.

INFECCIONES POR *Corynebacterium pseudotuberculosis* EN ANIMALES DE PRODUCCIÓN

RESUMEN

Las infecciones por *C. pseudotuberculosis* son caracterizadas por procesos piogranulomatosos crónicos en muchas especies de animales de producción. En los equinos, bovinos y pequeños rumiantes la infección por este actinomiceto causa absceso peitoral o “pecho de paloma”, linfangitis ulcerativa y linfadenitis caseosa, respectivamente. El presente estudio busca revisar los principales aspectos de la infección por *C. pseudotuberculosis* en

¹ Mestrando da Área de Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar – DHVSP – FMVZ – UNESP – Botucatu-SP. Autor para correspondência: Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ – UNESP – Botucatu-SP, CEP: 18.618-000.

² Professor Doutor da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais – DHVSP – FMVZ – UNESP – Botucatu-SP.

Motta RG., Cremasco ACM, Ribeiro MG. Infecções por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em animais de produção. Vet. e Zootec. 2010 jun.; 17(2): 200-213.

rumiantes domésticos y equinos, con énfasis en los factores de virulencia, epidemiología, manifestaciones clínicas, métodos de diagnósticos, control, profilaxis y reflejos directos en salud pública.

Palabras-clave: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, linfadenitis caseosa, linfangitis ulcerativa, abscessos pectorales, ovinos, equinos, bovinos.

INTRODUÇÃO

Edmond Nocard descreveu pioneiramente, em 1888, bactérias pleomórficas em caso de linfangite bovina (1). Em 1891, o búlgaro Hugo Von Preisz identificou bactérias semelhantes em cultura de abscesso renal de ovelha (2). Como consequência destes relatos, o microrganismo foi denominado originalmente como Bacilo de Preisz-Nocard (3).

Lehmann e Neumann, em 1896, na Alemanha, renomearam a bactéria como *Bacillus pseudotuberculosis*, do grego “*pseudos tuberculosis*”, que significa “tubérculos falsos”, em virtude da semelhança com os abscessos caseosos comumente encontrados na tuberculose (2). Em 1923 o microrganismo foi agrupado no gênero *Corynebacterium*, recebendo nova denominação de *Corynebacterium ovis* (4). Em 1948 foi atribuída a nomenclatura de *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. pseudotuberculosis*), que se mantém até os dias atuais (5, 6).

C. pseudotuberculosis são bactérias intracelulares facultativas (2, 7), Gram-positivas, pleomórficas, anaeróbicas facultativas (5, 8, 9). O microrganismo tem sido relacionado, em diferentes países, a diversas síndromes clínicas nos equídeos e em ruminantes domésticos em geral, caracterizadas pela formação de abscessos e/ou linfangite (10). As doenças em animais de produção que tem *C. pseudotuberculosis* como agente etiológico são a linfadenite caseosa dos ovinos e caprinos, a linfangite ulcerativa dos equinos, o abscesso peitoral do cavalo (“febre dos pombos”, “peito de pombo” ou garrotilho das terras secas) e os abscessos cutâneos em bovinos (2, 11).

As afecções causadas por *C. pseudotuberculosis* em animais de produção geram grandes prejuízos aos produtores, que incluem a depreciação da pele e lã, redução na produção de carne e leite em ruminantes, indisponibilidade para o exercício ou treinamento em equinos e morte ocasional de animais com disseminação sistêmica do organismo (3, 11).

O presente estudo revisou os principais aspectos das infecções por *C. pseudotuberculosis*, em animais de produção, com ênfase aos fatores de virulência do microrganismo, principais aspectos da epidemiologia, métodos de diagnóstico, ações de controle e profilaxia e implicações em Saúde Pública.

REVISÃO DA LITERATURA

Etiologia e propriedades gerais

O gênero *Corynebacterium* pertence aos actinomicetos aeróbicos, que também contempla outros microrganismos patogênicos para animais incluindo: *Nocardia sp*, *Rhodococcus equi*, *Mycobacterium sp* e *Arcanobacterium pyogenes* (12), visto que compartilham certas características da parede celular, incluindo espessura, presença de ácidos micólicos, ácidos graxos saturados e insaturados (4, 11).

C. pseudotuberculosis caracterizam-se como organismos em forma de cocobacilos, Gram-positivos, pleomórficos, imóveis, desprovidos de esporos, medindo entre 0,5-0,8 mm por 1,0-3,0 mm, isolados ou em grupamentos irregulares em “paliçadas ou trançados”, decorrentes da grande quantidade de lipídeos na sua parede celular, particularmente o ácido

corinomicólico (6, 13). São microaerófilos (5% de gás carbônico), mas toleram condições de aerofilia em meios de cultura (14). À microscopia assemelham-se a “letras chinesas” (2).

A classificação fenotípica de *C. pseudotuberculosis* é fundamentada nas características de cultivo microbiano e em provas bioquímicas (14). Os microrganismos são catalase e urease positivos, fermentam carboidratos sem a produção de gás (maltose, manose, glicose) e não fermentam a lactose (6). Não possuem atividade proteolítica, portanto são incapazes de hidrolisar a gelatina ou digerir a caseína (13, 15). Apresentam multiplicação facilitada em temperaturas ao redor de 37°C (6, 13, 16).

No meio de ágar sangue ovino ou bovino, *C. pseudotuberculosis* é isolado caracteristicamente a partir de 48 horas de incubação, apresentando colônias brancas ou opacas, rodeadas por delicado halo de beta-hemólise (6, 17). Após 72 horas de incubação, as colônias podem atingir 2 a 3 mm de diâmetro e assumem coloração creme-amarelada (13). A adição de extratos de leveduras, triptona ou albumina ao caldo infusão cérebro-coração (BHI) favorecem a multiplicação do microrganismo (6, 18). O acréscimo do Tween 80 ao meio também favorece a atividade hemolítica das linhagens de *C. pseudotuberculosis* (13).

C. pseudotuberculosis possui dois biotipos ou biovars denominados *ovis* e *equi*, que são classicamente definidos pela sua capacidade de produzir a enzima nitrato-redutase, que permite a conversão do nitrato para nitrito em provas bioquímicas (4, 14, 19). O biotipo *equi* possui capacidade de reduzir o nitrato a nitrito, enquanto o biotipo *ovis* não reduz este substrato (6). O biotipo *equi* infecta preferencialmente os equinos, enquanto o biotipo *ovis* acomete os pequenos ruminantes (4, 6, 18, 19, 20). Os bovinos podem ser infectados pelos dois biovars, com predomínio do biotipo *equi* (6).

A classificação dos biotipos de *C. pseudotuberculosis* por técnicas de biologia molecular, particularmente usando PCR e enzimas de restrição, tem ratificado a classificação com base bioquímica pela redução ou não do nitrato (2).

C. pseudotuberculosis contém lipídeos na parede bacteriana ou ácidos corinomicólicos, à semelhança dos ácidos micólicos presentes nos gêneros *Nocardia*, *Rhodococcus* e *Mycobacterium* (21). Entretanto, não apresenta álcool-ácido resistência, que é característica nas micobactérias (2, 20, 22). A fração lipídica da parede dificulta o processo de fagocitose, pois impede a hidrólise enzimática dos lisossomos e potencializa os efeitos citotóxicos no hospedeiro e está diretamente relacionada a característica piogênica da afecção, reconhecida como fator determinante na virulência do microrganismo (8, 23, 24).

O ácido corinomicólico quando purificado e inoculado em camundongos resulta num processo inflamatório local, caracterizado por área central necrótica e significativa redução na atividade dos leucócitos na região periférica do inóculo (22, 25). A composição da parede celular dos actinomicetos confere a este grupo de patógenos a capacidade de resistência ambiental por longos períodos, mesmo sob situações adversas de exposição à luz solar direta ou dessecação (2, 26). *C. pseudotuberculosis* mantém-se viável 55 dias em objetos inanimados contaminados por pus, ou até 8 meses em ampla variação das condições de temperatura e umidade (6, 27).

A enzima Fosfolipase D é encontrada nas linhagens de *C. pseudotuberculosis* (15). Esta enzima possui ação de exotoxina glicoprotéica ou citotoxina capaz de hidrolisar a esfingomiélna, enfraquecendo as membranas celulares e favorecendo a infecção pelo microrganismo (2, 28). A fosfolipase D ativa os íons cálcio e magnésio, e possui citotoxicidade direta quando inoculada em roedores de laboratório (27). Ademais, promove a lise de eritrócitos ovinos e bovinos nos meios de cultura (3). O efeito hemolítico da fosfolipase D de *C. pseudotuberculosis* possui sinergismo com a fosfolipase C de *Rhodococcus equi*, possibilitando a confirmação diagnóstica destes microrganismos pelo método clássico do CAMP-test (6, 13). Aparentemente, *C. pseudotuberculosis* não sintetiza outra citolisina com efeito hemolítico (29).

Baird e Fontaine (2) descreveram que a fosfolipase D também atua sobre o endotélio vascular, aumentando a permeabilidade e contribuindo para a disseminação do patógeno do local da infecção primária para os linfonodos, determinando necrose dérmica, agregação plaquetária e, em casos graves, falência renal.

A infecção experimental de caprinos com Fosfolipase D inativada foi incapaz de promover a infecção, mostrando que esta enzima não atua isoladamente no estabelecimento das infecções por *C. pseudotuberculosis* em animais (2, 6, 15).

A espécie e higidez dos animais, os biótipos do microrganismo, a capacidade de manutenção no interior de fagócitos, o estabelecimento de lesões piogranulomatosas, aliadas à ação da enzima fosfolipase D e a resistência aos antimicrobianos convencionais, provavelmente determinam a patogenicidade do microrganismo e o estabelecimento das infecções nos animais (6, 30).

Epidemiologia

C. pseudotuberculosis são microrganismos cosmopolitas, encontrados predominantemente no solo, na pele, ou mucosas dos animais (17). Ao abrigo da luz solar direta pode manter-se viável por longos períodos no ambiente (30) e em secreções purulentas por 6 a 12 meses (31).

Em ovinos e caprinos as infecções por *C. pseudotuberculosis* determinam a linfadenite caseosa, reconhecida como doença de importância mundial, em decorrência da alta prevalência e pelos prejuízos econômicos nos rebanhos (2, 31, 32). A linfadenite caseosa provoca a redução na produção de carne e leite, depreciação da lã, retardo no desenvolvimento dos animais, gastos com tratamento e honorários veterinários, deficiências nos índices reprodutivos do rebanho, condenação de carcaças, descarte precoce e morte ocasional de animais (30, 32, 33).

Em bovinos e equinos o microrganismo provoca, respectivamente, a linfangite ulcerativa e o abscesso de peito, também associados a grandes prejuízos nos plantéis (10, 30). Na Califórnia, EUA, em 110 equinos apresentando abscessos subcutâneos, em 36 (38%) foi isolado *C. pseudotuberculosis* (10). A linfangite em bovinos está intimamente associada às condições inadequadas de manejo e higiene nos criatórios, visto que a doença é frequente em animais com lesões cutâneas em ambientes com excesso de umidade (10). Postula-se também, que a participação de insetos hematófagos na transmissão, lesionando mecanicamente a derme, poderiam contribuir com a incidência sazonal da doença (3).

No Brasil, a linfadenite caseosa apresenta ocorrência variável (34). A identificação de lesões na linha de abate nos frigoríficos gera perda econômica significativa por condenação de carcaças, além de representar fator limitante para a exportação de carne (6, 33). Na região sul do país foi descrita a ocorrência de 8,09% de linfadenite caseosa em ovinos (4). Na região nordeste, em especial no Estado de Pernambuco, inquéritos soro-epidemiológicos realizados em caprinos revelaram 24 a 50% dos animais infectados (34). A alta prevalência da doença nessa região seria creditada à presença de plantas cactáceas que causariam ferimentos na pele e na cavidade oral dos animais, favorecendo a disseminação da doença, notadamente, em caprinos (6, 34). No Rio de Janeiro foi estimada prevalência média de 12,2% em ovinos assintomáticos, e 32,5% em animais com sinais sugestivos de linfadenite (4).

A infecção dos ovinos ocorre predominantemente por contaminação de feridas, resultantes de procedimentos cirúrgicos de rotina no manejo como: tosquia, castração e caudectomia (34). Os banhos de imersão parecem representar uma das principais vias de transmissão na cadeia epidemiológica da afecção em ovinos (2, 30). Ademais, o confinamento de animais em currais ou galpões favorece a disseminação da doença (27).

As portas de entrada variam entre ovinos e caprinos, fato que refletiria a diferença anatômica na localização dos abscessos (6, 35). Nos ovinos, a contaminação da pele após as tosquiadas e banhos de imersão parecem representar os principais fatores de risco na transmissão do patógeno, resultando em abscessos de pele em várias regiões do corpo, e enfartamento de linfonodos regionais (6). Nos caprinos, a alimentação com forragens grosseiras e as abrasões em animais alimentados em canzils, determinariam o predomínio da linfadenomegalia em região de cabeça e pescoço (35).

O material fecal no ambiente dos criatórios funciona como via de transmissão, visto que, a bactéria pode permanecer por até oito meses no ambiente (36, 37). Entretanto, Ribeiro et al. (32) avaliaram caprinos naturalmente infectados pelo *C. pseudotuberculosis* e não obtiveram sucesso no isolamento do microrganismo em material fecal, canzil, água e ração de animais com linfadenite caseosa. A aspiração de aerossóis em ambientes excessivamente contaminados também é sugerida como possível via de transmissão nas corinebacterioses (38).

A linfadenite caseosa figura entre as principais doenças infecciosas em países com tradição na criação de ovinos e caprinos, incluindo Nova Zelândia, Espanha, França, Austrália, Suíça e Holanda (4). Nos EUA, a soroprevalência estimada foi de 5 a 10% nos rebanhos (39), enquanto no Canadá a soroprevalência foi superior, ao redor de 62% das ovelhas (37).

Nos EUA, Noruega e Espanha, 70%, 61% e 25% dos animais respectivamente, foram soro-positivos para a linfadenite caseosa (4, 29, 40). Na Nigéria, 0,3% das mastites clínicas em cabras foram causadas por *C. pseudotuberculosis* (41). Recentemente foi notificado surto de linfadenite caseosa na Dinamarca, país considerado até então livre da doença, cuja transmissão foi creditada à importação de animais infectados (42). Em caprinos criados no Brasil, a ocorrência da doença foi descrita em 58,4% (40).

A forma mais comum de infecção por *C. pseudotuberculosis* em animais de produção é representada pela contaminação de água, alimentos e feridas por descargas purulentas resultantes da fistulação dos abscessos (30). As lesões supuradas contaminam também o ambiente, utensílios (corda, tosquiadeira, pinças de casco), materiais cirúrgicos (bisturis, tesouras, pinças) e canzils (4). Ao contrário dos equinos, os vetores como mosca doméstica, *Stomoxys calcitrans* e *Culicoides* apresentam pouca importância epidemiológica na disseminação do microrganismo em pequenos ruminantes (43).

A infecção experimental de ovinos com o biotipo *equi* reproduziu a doença, embora pareça não haver infecção inter-espécies nas condições naturais de criação consorciada de equinos e pequenos ruminantes (10).

Patogenia

Nos ovinos, a partir da infecção por via oral, respiratória e ou contaminação de feridas, a bactéria é ativamente fagocitada por neutrófilos e macrófagos (7). Nos fagócitos o microrganismo mantém-se viável no interior celular e é sequestrado para os linfonodos regionais principalmente, pré-crurais, pré-escapulares ou sub-mandibulares, nos quais induz a formação de múltiplos piogranulomas (3, 17), que podem coalescer e formar grandes abscessos (7, 44). A disseminação do organismo do linfonodo regional para outros órgãos e tecidos depende da virulência da linhagem, da carga bacteriana infectante e higidez do animal (4). Nos casos de disseminação via linfo-hemática a bactéria atinge outros órgãos alvo incluindo pulmão, fígado, rins e encéfalo, determinando forma visceral grave da doença (9).

Experimentalmente, várias portas de entrada tem sido evidenciadas em infecções por *C. pseudotuberculosis* em ovinos e caprinos, incluindo intradérmica, subcutânea, intravenosa, intratraqueal, intravaginal e intralinfática (28, 37).

A inoculação experimental de *C. pseudotuberculosis* em camundongos demonstrou que independentemente da localização da bactéria a disseminação ocorre por todo o organismo, livre ou no interior dos fagócitos, com predominância nos órgãos do sistema mononuclear-fagocitário (linfonodos, baço) além do rim, fígado, pulmões e intestinos (2).

A enzima Fosfolipase D apresenta função determinante na fisiopatologia das corinebacterioses, visto que as membranas das células dos mamíferos são constituídas por grande quantidade de fosfolipídeos (4). Em ovinos foi demonstrada também a presença de grande quantidade de mediadores pró-inflamatórios como: calicreínas, bradicininas, histaminas, fator de necrose tecidual, óxido nítrico e prostaglandinas (36, 38, 45), que levam ao aumento da permeabilidade vascular e migração dos fagócitos infectados para os linfonodos regionais (38). A ação destes mediadores na cronicidade do processo induzirá a formação de piogranulomas e abscessos caseosos, característicos das infecções por actinomicetos, incluindo *C. pseudotuberculosis* (4, 45).

A partir de uma semana após inoculação experimental, numerosos pequenos piogranulomas são formados que, em seguida, coalescem dando origem a grandes áreas focais purulentas (3, 8, 24, 37).

Os piogranulomas possuem estrutura celular complexa, são formados geralmente em decorrência de infecções por microrganismos que possuem mecanismos de evasão do sistema convencional de resolução de processos infecciosos (6, 45). A arquitetura dos piogranulomas revela geralmente grande contingente de células epitelióides, macrófagos, neutrófilos, *caseum* e em menor número linfócitos, anticorpos, células gigantes e o agente no centro, circundado por cápsula fibrosa (6, 13).

O mecanismo de calcificação distrófica comum em processos piogranulomatosos (36, 38, 45), aliado a atuação da Fosfolipase D que estimula a migração de íons cálcio para o local da inflamação (9, 45), formam arranjo concêntrico no foco lesional, ao corte a lesão possui aspecto de “cebola picada”, achado característico dos piogranulomas por actinomicetos (13, 35).

Manifestações clínicas

A infecção por *C. pseudotuberculosis* em ovinos e caprinos é popularmente conhecida como “mal do carço”, “furúnculo ovino” ou “síndrome da ovelha magra” (32, 46, 47).

A doença apresenta período de incubação longo que pode variar de 2 a 6 semanas, o que torna difícil a segregação dos animais infectados dos não infectados (38). A introdução de animais enfermos nos rebanhos leva a rápida disseminação da doença nos plantéis (6, 35, 38). *C. pseudotuberculosis* já foi isolado em animais com três anos de infecção latente, comprovando a dificuldade em erradicar o microrganismo nas áreas endêmicas (36, 37, 38).

Na linfadenite caseosa os abscessos externos predominam nos linfonodos mandibulares, parotídeos, pré-femorais ou pré escapulares (4, 30), embora possam ocorrer também nos linfonodos mesentéricos, vísceras abdominais ou torácicas (38). Raramente são encontrados nos rins, coração, testículos, útero e articulações (8, 37). Nos casos de abscessos internos, pode-se constatar perda de peso crônica (2, 40), subfertilidade (24), redução na produção de leite (36), menor número de crias (6), baixo peso dos cordeiros à desmama (3), “déficit” no desenvolvimento e baixa produção de lã (4, 45). A presença de abscessos nos pulmões determina sinais de dispnéia crônica (36). Bogdan et al. (45) descreveram quadro neurológico por *C. pseudotuberculosis* como resultado da compressão da medula espinhal, secundário a abscessos nos corpos vertebrais.

Os abscessos quando lancetados drenam pus espesso de coloração branca, ou esverdeada, com consistência pastosa, que contém grande quantidade de microrganismos viáveis (4, 9).

Nos bovinos, a infecção por *C. pseudotuberculosis* é esporádica (48). Ocorre sob a forma de grandes úlceras na região de flancos e membros, pescoço e face (3), também denominadas de linfangite ulcerativa (40). As úlceras contêm restos celulares necrosados com coloração escura e intenso tecido de granulação (48). As lesões podem ser auto-limitantes, regredindo entre de 2 a 4 semanas (40). Outras formas clínicas referidas para bovinos incluem mastite e broncopneumonia necróticopurulenta (41).

Nos equídeos as infecções por *C. pseudotuberculosis* distinguem-se em três formas típicas (39, 49). A mais comum ocorre sob a forma de abscessos superficiais em área ventral ou peitoral também denominada “peito de pombo”, decorrentes da formação de grandes abscessos peitorais (10, 49). Secundariamente, ocorrem abscessos internos e linfangite ulcerativa (50). Vários casos em equinos foram observados em animais criados em regiões semi-áridas do oeste dos EUA e no Brasil (3, 34). Na Califórnia, a incidência da doença aumenta nos meses de setembro e novembro, provavelmente pela proliferação de insetos que atuam como vetores na disseminação da doença (10).

A linfangite ulcerativa por *C. pseudotuberculosis* consiste na inflamação dos vasos linfáticos, particularmente, na porção distal dos membros, sendo manifestada clinicamente por celulite severa (39). Os linfonodos regionais (cervical superficial e axilar) também desencadeiam linfadenite purulenta (48). Ocasionalmente são observados febre, claudicação, anorexia e letargia (10). Este conjunto de sinais clínicos também são observados no mormo em equídeos, tornando necessário o diagnóstico diferencial entre estas enfermidades (30). Traumatismos nos membros, perfurações por corpo estranho ou celulite estafilocócica são frequentemente confundidos com a linfangite ulcerativa (41). Contudo, abscessos causados por *Streptococcus*, *Actinomyces* e *Corynebacterium pyogenes* possuem aspecto lesional semelhante ao *C. pseudotuberculosis* e requerem diagnóstico diferencial (10).

Nos EUA, são frequentes os abscessos cutâneos em vacas de leite causados por *C. pseudotuberculosis* (51). Em contraste, no Brasil, os abscessos cutâneos em bovinos por *C. pseudotuberculosis* parecem não apresentar importância clínica, possivelmente pelo subdiagnóstico do microrganismo. Em ruminantes silvestres como veados (52), carneiros selvagens, camelos, alpacas (51) e bubalinos, a apresentação clínica é rara e semelhante a descrita para ovinos e caprinos (40).

Diagnóstico

O diagnóstico de rotina das corinebacterioses é fundamentado nos achados clínico-epidemiológicos, apoiado nos exames laboratoriais subsidiários (39).

Na linfadenite caseosa em pequenos ruminantes a palpação dos linfonodos superficiais aumentados (4), somados ao aspecto macroscópico dos exsudatos (6, 13) e a presença de febre, inapetência e emaciação (30) são indícios da doença em ovinos e caprinos (9). O hemograma geralmente revela leucocitose por neutrofilia e monocitose, anemia hemolítica do tipo macrocítica normocrômica (30,34), embora, estes achados não são patognomônicos da doença (3). Níveis aumentados de fibrinogênio podem ocorrer em animais com lesões abscedantes (30). Contudo, animais com abscessos crônicos, particularmente os pequenos ruminantes, podem apresentar parâmetros hematológicos normais (3).

Na prática, o diagnóstico definitivo é firmado pelo cultivo do microrganismo, a partir do conteúdo dos abscessos obtidos por punção aspirativa ou extirpação cirúrgica (43,48).

A análise microbiológica inclui a bacterioscopia direta e o cultivo do conteúdo dos abscessos nas corinebacterioses (4). Na rotina é utilizada a coloração de Gram, Giemsa e Panóptico (2, 13). Na coloração de Gram o microrganismo se apresenta como cocobacilos Gram-positivos, irregulares ou pleomórficos lembrando “letras chinesas” (35, 38). No meio de ágar-sangue ovino ou bovino (5%) desfibrinado, as colônias são observadas com

aproximadamente 48 horas de incubação, de aspecto diminuto, brancas e secas (6, 13), rodeadas por discreto halo de beta-hemólise (2, 4, 14). Como confirmação de *C. pseudotuberculosis* é realizado o teste de CAMP, semeando de forma perpendicular no ágar sangue linhagem de *R. equi*, que resultará em hemólise sinérgica na intercessão das sementeiras, ao redor de 48 horas de incubação a 37°C (2, 13). A prova de redução de nitrato a nitrito diferencia os biotipos em *ovis* ou *equi*, que apresentam, respectivamente, reações nitrato-negativas e nitrato-positivas (35, 38).

Diferentes técnicas são utilizadas como alternativas no diagnóstico das corinebacterioses, que incluem a citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) e métodos sorológicos (32,53). A citologia das lesões por *C. pseudotuberculosis* apresenta vantagens como baixo custo, simplicidade de execução, reduzida agressão no local da punção e a possibilidade de diagnóstico citológico acurado, em curto espaço de tempo, quando comparada a histopatologia (53). Assim, a CAAF pode ser incluída como método prático no diagnóstico da linfadenite caseosa em ovinos e caprinos (32).

Vários métodos sorológicos tem sido utilizados no diagnóstico das corinebacterioses. Estes ensaios sorológicos são baseados em técnicas de imunofluorescência indireta (4), microaglutinação, imunodifusão em gel de ágar, (2), inibição sinérgica da hemólise (2, 4, 14) western blotting, fixação de complemento, ELISA (54) e hemaglutinação indireta (55). Recentemente, testes alérgicos também foram utilizados no diagnóstico da linfadenite caseosa (4).

Comercialmente estão disponíveis “kits” de ELISA, que acusam animais infectados entre 30 a 60 dias pós-infecção, com especificidade e sensibilidade ao redor de 85% (39, 56).

Apesar da boa sensibilidade em geral, os métodos sorológicos apresentam como desvantagens resultados falso-positivos, devido a similaridade antigênica entre as corinebactérias ou em animais vacinados contra a doença (35, 38).

Recentemente, foi utilizado no diagnóstico a amplificação do DNA bacteriano pelas técnicas de PCR (40). A técnica é altamente sensível e específica no diagnóstico (2). Porém, tem como limitação o custo de implantação inicial, e eventuais reações cruzadas entre espécies geneticamente relacionadas como *C. ulcerans* (2, 4, 14).

Tratamento

C. pseudotuberculosis é sensível “in vitro” a vários antimicrobianos usados na clínica veterinária, que incluem fármacos dos grupos dos beta-lactâmicos e derivados, aminoglicosídeos, fluorquinolonas, macrolídeos, tetraciclina e rifampicina (6, 13). Entretanto, no tratamento *in vivo* o microrganismo é refratário (6, 56), devido, provavelmente, a espessa cápsula de tecido conectivo que reveste os abscessos típicos (24), e o denso conteúdo caseoso presente no interior dos piogranulomas (2), que dificultam a ação dos antimicrobianos (39). A viabilidade intracelular do microrganismo é outra propriedade de virulência que limita a ação dos antimicrobianos convencionais (30). Com efeito, os insucessos terapêuticos são creditados, geralmente, a dificuldade de obtenção dos níveis terapêuticos nos locais de infecção (3). Os antimicrobianos de escolha para o tratamento das infecções causadas por *C. pseudotuberculosis* são oxitetraciclina, florfenicol, eritromicina, sulfonamidas-trimetoprim, penicilina e rifampicina (57).

A extirpação cirúrgica dos abscessos e ou linfonodos externos é sugerida como parte do tratamento em animais de grande valor zootécnico (33). Outra opção é a lancetagem dos nódulos, com limpeza diária até a cicatrização com tintura de iodo 2 a 5% (29), aliado ao tratamento parenteral prolongado por até oito semanas com antimicrobianos (24). No entanto, a extirpação dos linfonodos retira o órgão de defesa regional, predispondo á disseminação linfática e infecção de outros órgãos (3).

Em equinos, o prognóstico dos abscessos ventrais típicos é bom. Na maioria dos casos, a cura é obtida ao redor de três semanas após a drenagem (3, 10). Contudo, complicações como múltiplos abscessos e linfangite ulcerativa são associados com prognóstico reservado (4, 14).

Controle e Profilaxia

A identificação dos animais infectados e sua remoção do rebanho são os métodos mais eficientes de controle da linfadenite caseosa em pequenos ruminantes (31). O estábulo e canzils não devem conter objetos que possam provocar lesões cutâneas (33). A desinfecção das baias e outros equipamentos contaminados é indicada com desinfetantes comuns, como iodo, amônia quaternária ou hipoclorito (48). Deve-se proceder a limpeza e desinfecção de agulhas, material cirúrgico e alicates de tatuagem (24). Recomenda-se a limpeza periódica e a desinfecção dos locais usados nos banhos carrapaticidas (3). Cuidados com a higiene na tosquia e corte da cauda são decisivos no controle da doença (4). Deve-se adotar cuidados especiais para manter o material de tosquia e de corte de cascos limpos e livres de contaminações por exsudatos oriundos de feridas (36, 38, 45). Todos os animais que apresentarem lesões abscedativas deverão ser isolados até que tenham seu diagnóstico elucidado (57). A cuidadosa seleção na aquisição de novos animais para o plantel, o uso do quarentenário e a desinfecção das instalações e equipamentos são medidas importantes na profilaxia da doença em ovinos e caprinos (58). Testes de aglutinação e de inibição da hemólise sinérgica podem auxiliar na identificação de animais infectados (8, 37), porém não permitem decidir pelo descarte dos animais. Recomenda-se a realização da necropsia dos animais suspeitos e acompanhamento do abate, como medida de vigilância epidemiológica da doença no plantel (8, 37).

A vacinação é considerada também como ação de profilaxia e reduz a ocorrência de abscessos no rebanho em até 70% (2). Porém, isoladamente, não erradica a doença em áreas endêmicas (4).

A presença de vetores invertebrados dificulta o controle das infecções em equinos (40). Em propriedades endêmicas recomenda-se a troca da cama dos animais periodicamente (34). O controle de moscas deve ser implantado com o uso de iscas, telas e repelentes de moscas (3).

Implicações em Saúde Pública

Nas últimas décadas, tem aumentado os registros de infecções humanas por *C. pseudotuberculosis* (4), notadamente em indivíduos imunossuprimidos (4, 59).

Mills et al. (44) e Peel et al. (60) referiram que a infecção em humanos, apresenta quadro clínico semelhante ao encontrado em ovinos e caprinos, e o contato direto com o material purulento proveniente dos abscessos caseosos, e o ambiente dos criatórios é aventado como a provável fonte de infecção (4, 59).

A infecção em humanos por *C. pseudotuberculosis* é esporádica e a doença reconhecida como zoonose ocupacional (32). A transmissão do agente para o homem pode ocorrer pelo contato com material purulento procedente de abscessos de pele (61), linfonodos abscedados e, ocasionalmente, pela ingestão do leite de animais com mastite (62, 63). A maioria dos casos são descritos em países com grande atividade na exploração de pequenos ruminantes, como Austrália, Nova Zelândia, EUA, França e Espanha (4). Clinicamente a doença em humanos manifesta-se principalmente por linfadenite generalizada (63).

Desta forma, médicos veterinários, criadores e outros profissionais que mantêm contato com os animais de produção, particularmente pequenos ruminantes e eqüinos, devem tomar

as precauções necessárias ao abordar animais suspeitos de infecções por *C. pseudotuberculosis*, evitando, especialmente, o contato direto com material purulento das lesões.

REFERÊNCIAS

1. Brown CC, Olander HJ, Alves SF. Synergistic haemolysis-inhibition titers associated with caseous lymphadenitis in slaughterhouse suvery of goats and sheep in northeastern brazil. *Can J Vet Res.* 1987; 51: 46-9.
2. Baird GJ, Fontaine MC. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. *J Comp Pathol.* 2007; 137: 179-210.
3. Smith PB. Large animal internal medicine. 4th. St Louis: Mosby; 2003.
4. Belchior SE, Gallardo A, Abalos A, Jodor N, Jensen O. Actualizacion sobre linfadenitis caseosa: el agente etiológico y la enfermedad. *Rev Vet Argent.* 2006; 23: 258-78.
5. Baird GJ. Caseous lymphadenitis: an increasing cause for concern. *Vet Rec.* 1997; 140: 611.
6. Costa LFM. *Corynebacterium pseudotuberculosis*, o agente etiológico da linfadenite caseosa em caprinos. *Rev Cienc Med Biol.* 2002; 1: 105-15.
7. Paton MW, Walker SB, Rose IR, Watt GF. Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. *Aust Vet J.* 2003; 81: 91-5.
8. Meyer R, Regis L, Vale V, Paule B, Carminati R, Bahia R, et al. In vitro IFN-gamma production by goat blood cells after stimulation with somatic and secreted *Corynebacterium pseudotuberculosis* antigens. *Vet Immunol Immunopathol.* 2005; 107: 249-54.
9. Mckean SC, Davies JK, Moore RJ. Probing the heat shock response of *Corynebacterium pseudotuberculosis*: The major virulence factor, phospholipases D, is downregulated. *Res Microbiol.* 2007; 158: 279-86.
10. Doherr MG, Carpenter TE, Hanson KMP, Wilson WD, Gardner IA. Risk factors associated with *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in California horses. *Prev Vet Med.* 1998; 35: 229-39.
11. Baird GJ, Synge B, Dercksen D. Survery of caseous lymphdenitis seroprevalence in British terminal sire sheep breeds. *Vet Rec.* 2004; 154: 505-6.
12. Clarridge JE, Spiegel CA. *Corynebacterium* and related organisms. In: Barron EJ, editor. *Manual of clinical microbiology.* 6^a ed. Washington: American Society for Microbiology; 1995. p.357-70.
13. Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. *Corynebacterium* species and *Rhodococcus equi*. In: Quinn PJ. *Clinical veterinary microbiology.* London: Wolfe, 1994. p.881-4.

14. Leardini N, Prieto M, Martinez C, Aguerre L, Loaysa R. Infecciones por bacilos gram positivos aeróbicos, corinebacterias, bacillus y actinomycetes. Buenos Aires: Curso A.N.L.I.S. "Dr Carlos Malbran". Departamento de Bacteriología, Servicio de Bacteriologia Especial; 2002.
15. Songer JG, Beckenbach K, Marshall MM, Olson GB, Kelley L. Biochemical and genetic characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Am J Vet Res. 1988; 49: 221-6.
16. Muckle CA, Gyles CL. Characterization of strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Can J Comp Med. 1982; 46: 206-8.
17. Pugh GD. Sheep and goat medicine. New York: Elsevier; 2004.
18. Batey RG. Lesions of the head in ovine caseous lymphadenitis. Aust Vet J. 1986; 63: 131.
19. Batey RG. The effect of caseous lymphadenitis on body condition and weight of Merino mutton carcasses. Aust Vet J. 1986; 63: 268.
20. Batey RG. Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. Aust Vet J. 1986; 63: 269-72.
21. Baird GJ. Current perspectives on caseous lymphadenitis. J Postgrad Clin Study. 2003; 25: 62-8.
22. Johnson E, Vidal C, Santa Rosa J, Kass P. Observation on goats experimentally infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Small Rumin Res. 1993; 12: 357-69.
23. Smith IJ, Squires MB, Mcgregor H. Caseous lymphadenitis: an increasing cause for concern. Vet Rec. 1997; 140: 635.
24. Williamson LH. Caseous lymphadenitis in small ruminants. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2001; 17: 359-71.
25. West DM, Bruere AN, Ridler AL. Caseous lymphadenitis. In: Bruere AN, West DM. The sheep: health, disease and production. Palmerston North: Foudantion for Continuing Education, 2002. p. 274-9.
26. Yozwiak ML, Songer JG. Effect of *Corynebacterium pseudotuberculosis* phospholipase D on viability and chemotactic responses of ovine neutrophils. Am J Vet Res. 1993; 54: 392-7.
27. Winter AC. Caseous lymphadenitis: an increasing cause for concern. Vet Rec. 1997; 140: 611.
28. Pepin M, Bisrame A, Marly J. *Corynebacterium pseudotuberculosis*; biochemical properties, production of toxin and virulence of ovine and caprine strains. Ann Rech Vet. 1989; 20: 111-5.
29. Baird GJ. Treatment of ovine caseous lymphadenitis. Vet Rec. 2006; 159: 500.

30. Radostits OM, Blood DC, Gay CC. Veterinary medicine: a textbook of the diseases of catlee, sheep, pigs, goats and horses. 9th ed. Philadelphia: Bailliere Tindall, 2007. p. 830-9.
31. Binns SH, Bailey M, Green LE. Postal survey of ovine caseous lymphadenitis in the United Kingdom between 1990 and 1999. *Vet Rec.* 2002; 150: 263-8.
32. Ribeiro MG, Dias Junior JG, Paes AC, Barbosa PG, Nardi Junior G, Listoni FJP. Punção aspirativa com agulha fina no diagnóstico do *Corynebacterium pseudotuberculosis* na linfadenite caseosa caprina. *Arq Inst Biol.* 2001; 68: 23-8.
33. Vale V, Freire S, Ribeiro M, Regis L, Bahia R, Carminati R, et al. Reconhecimento de antígenos por anticorpos de caprinos naturalmente infectados ou imunizados contra *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Rev Cienc Med Biol.* 2003; 2: 192-200.
34. Riet-Corrêa F, Schild AL, Mendez MC, Lemos RAA. Doenças de ruminantes e equinos. 2ª ed. São Paulo: Varela; 2004.
35. Cetinkaya B, Karahan M, Atil E, Kalin R, De Baere T, Venechoutte M. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates fom sheep and goats by PCR. *Vet Microbiol.* 2002; 88: 75-83.
36. Paule BJA, Azevedo V, Regis LF, Carminati R, Bahia CR, Vale VL, et al. Experimental *Corynebacterium pseudotuberculosis* primary infection in goats: kinetics of IgG and interferon production, IgG avidity and antigen recognition by Western blotting. *Vet Immunol Immunopathol.* 2003; 96: 129-39.
37. Fontaine MC, Baird G, Connor KM, Rudge K, Sales J, Donachie W. Vaccination confers significant protection of sheep aganist infection with virulent United Kingdom strain of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Vaccine.* 2006; 24: 5986-96.
38. Zarraga CC, Scaramelli A, Valeiron CR. Bacteriological characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Venezuelan goat flocks. *Small Rumin Res.* 2006; 65: 170-5.
39. Aleman M, Spier SJ. *Corynebacterium* infection. In: Smith PB. Large animal internal medicine. 3ª ed. St Louis: Mosby, 2001. p.1078-84.
40. Cubero Pablo MJ, Real Valcárcel F, González Candela M, Leónviscaíno L. Epidemiolgia de la pseudotuberculosis. *Rev Ovis.* 2002. Available from: <<http://exopol.com/cirulares/205.html>>.
41. Yeruham I, Braverman Y, Shpigel NY, Chizov-Ginzburg A, Saran A, Winkler M. Mastitis in dairy cattle caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* and feasibility of transmission by houseflies. *Vet Q.* 1996; 18: 87-9.
42. Moller K, Agerholm JS, Ahrens P, Jensen NE, Nielsen TK. Abscesses disease, caseous lymphadenitis, and pulmonary adenomatosis in imported sheep. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2000; 47: 55-62.

43. Nozaki CN, Faria MAR, Machado TNM. Extirpação cirúrgica dos abscessos da linfadenite caseosa em caprinos. *Arq Inst Biol.* 2000; 67: 187-9.
44. Mills AE, Mitchell RD, Lim EK. *Corynebacterium pseudotuberculosis* is a cause of human necrotising granulomatous lymphadenitis. *Pathology.* 1997; 29: 231-3.
45. Bogdan JR, Newlands CF, Ellis JA. Nitric oxide production following in vitro stimulation of ovine pulmonary alveolar macrophages. *Vet Immunol Immunopathol.* 1997; 56: 299-310.
46. Unanian MM, Feliciano Silva AE, Pant KP. Abscess and caseous lymphadenitis in goats in tropical semi-arid north-east Brazil. *Trop Anim Health Prod.* 1985; 17: 52-62.
47. Ribeiro OC, Maia JAH, Campos WG. Avaliação de vacina contra linfadenite caseosa em caprinos mantidos em regime extensivo. *Pesq Vet Bras.* 1988; 8: 27-9.
48. León-Viscaíno L, Garrido Abellán F, Gonzalez Candela M, Cubero Pablo MJ. Clínica de la pseudotuberculosis. *Rev Ovis.* 2002. Available from: <<http://www.exopol.com/circulares/205.html>>.
49. Aleman M, Spier SJ, Wilson WD, Doherr M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in horses: 538 cases (1982-1993). *J Am Vet Med Assoc.* 1996; 209: 804-9.
50. Pratt SM, Spier SJ, Vaughan B, Withcomb MB, Uerling MR, Wilson WD. Respiratory disease caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Clin Tech Equine Pract.* 2006; 5: 239-46.
51. Anderson ML, Lean IJ, Blanchard PC. *Corynebacterium pseudotuberculosis* associated skin disease of Holstein cattle in the San Joaquin Valley, California. *Bov Pract.* 1990; 25: 73-5.
52. Ali HS, Zaitoun AM. Studies on cutaneous suppurative lymphangitis in buffaloes at Assiut Governorate-Egypt. *Assiut Vet Med J.* 1999; 41: 208-22.
53. Ribeiro MG, Costa EO, Rocha NS, Domingues PF, Ribeiro AR, Nardi Junior G. Citología aspirativa com agulha fina e microscopia eletrônica de varredura no diagnóstico de mastite clínica bovina por *Prototheca zopfii*. *Rev Núcleo Apoio Pesq Glândula Mamária Prod Leiteira.* 1999; 2: 15-20.
54. Kaba J, Kutschke L, Gerlach GF. Development of an ELISA for the diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in goats. *Vet Microbiol.* 2001; 26: 155-63.
55. Langenegger H, Langenegger J. Monitoramento sorológico e alérgico da infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos. *Pesq Vet Bras.* 1991; 11: 1-7.
56. Valli VE, Parry BW. Caseous lymphadenitis. In: Juby KVF, Kennedy PC, Palmer N, editors. *Pathology of domestic animals.* 5th ed. San Diego: Academic Press; 2007. v. 3, p. 238-40.

57. Senturk S, Temizel M. Clinical efficacy of rifamycin SV combined with oxytetracycline in the treatment of caseous lymphadenitis in sheep. *Vet Rec.* 2006; 159: 216-7.
58. Binns SH, Green LE, Bailey M. Development and validation of ELISA to detect antibodies to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in ovine sera. *Vet Microbiol.* 2007; 123: 169-79.
59. House RW, Schousboe M, Allen JP, Grant CC. *Corynebacterium ovis* (pseudotuberculosis) lymphadenitis in a sheep farmer: a new occupational disease in New Zealand. *N Z Med J.* 1986; 99: 659-62.
60. Peel MM, Palmer GG, Stacpoole AM, Kerr TG. Human lymphadenitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis*: report of ten cases from Australia and review. *Clin Infect Dis.* 1997; 24: 185-91.
61. Join-Lambert OF, Ouache M, Canioni D, Beretti JL, Blanche S, Berche P, et al. *Corynebacterium pseudotuberculosis* necrotizing lymphadenitis in a twelve-year-old-patient. *Pediatr Infect Dis J.* 2006; 25: 848-51.
62. Watson PJ, Preece BE. Report on 31 caseous lymphadenitis infected sheep farms in England and Wales. *Vet Rec.* 2001; 148: 663-5.
63. Abreu SRO, Motta RA, Rosinha GMS, Forner O, Pinheiro Junior JW, Pereira RRB, et al. Comparação genotípica de isolados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* de caprinos e ovinos do sertão de Pernambuco. *Pesq Vet Bras.* 2008; 28: 481-7.

Recebido em: 09/11/2009

Aceito em: 05/05/2010