



ISSN 1676-7659

Setembro, 2007

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Caprinos  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## **Documentos 74**

### **Linfadenite Caseosa: o Estado da Arte**

*Francisco Selmo Fernandes Alves  
Lauana Borges Santiago  
Raymundo Rizaldo Pinheiro*

Embrapa Caprinos  
Sobral, CE  
2007

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Caprinos**

Endereço: Estrada Sobral/Groaíras, Km 04  
Caixa Postal: 145  
CEP:62010-970  
Fone: (0xx88) 3677-7000  
Fax: (0xx88) 3677-7055  
Home page: [www.cnpc.embrapa.br](http://www.cnpc.embrapa.br)  
E-mail (sac): [www.cnpc.embrapa.br/sac.htm](http://www.cnpc.embrapa.br/sac.htm)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Diônes Oliveira Santos  
Secretária-Executiva: Luciana Cristine Vasques Villela  
Membros: Alexandre César Silva Marinho, Carlos José Mendes Vasconcelos, Marcelo Renato Alves Araújo, Tânia Maria Chaves Campelo e Verônica Maria Vasconcelos Freire.

Supervisão editorial: Alexandre César Silva Marinho  
Revisão gramatical: Carlos José Mendes Vasconcelos  
Normalização bibliográfica: Tânia Maria Chaves Campelo  
Editoração eletrônica: Alexandre César Silva Marinho

**1ª edição on line**

**Todos os direitos reservados**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Embrapa Caprinos**

---

Alves, Francisco Selmo Fernandes.

Linfadenite caseosa: o estado da arte/ Francisco Selmo Fernandes Alves, Lauana Borges Santiago e Raymundo Rizaldo Pinheiro. - Sobral: Embrapa Caprinos, 2007.

60 p. - (Documentos / Embrapa Caprinos, ISSN 1676-7659 ; 74).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader

1. Doença animal - Linfadenite caseosa. 2. Linfadenite caseosa.  
I. Santiago, Lauana Borges. II. Pinheiro, Raymundo Rizaldo. III. Embrapa Caprinos. IV. Título. V. Série.

---

CDD 636.39089

© Embrapa 2007

## **Autores**

### **Francisco Selmo Fernandes Alves**

Méd. Vet., Ph.D em Patologia Comparada

Embrapa Caprinos

Estrada Sobral/Groaíras, Km 04, Caixa Postal 145

CEP - 62010-970 - Sobral/CE

Fone: (0xx88) 3677-7000

Fax: (0xx88) 3677-7055

E-mail: selmo@cnpc.embrapa.br

### **Lauana Borges Santiago**

Méd. Vet., Mestranda em Produção Animal

Universidade Estadual Vale do Acaraú

E-mail: lauanabs@hotmail.com

### **Raymundo Rizaldo Pinheiro**

Méd. Vet., D. Sc. em Ciência Animal

Embrapa Caprinos

E-mail: rizaldo@cnpc.embrapa.br

## Apresentação

A Linfadenite Caseosa (LC) é uma doença crônica debilitante, de ocorrência mundial, que acomete caprinos e ovinos, causada pela bactéria intracelular *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

O documento aborda as características microbiológicas e bioquímicas do microrganismo e as perdas econômicas diversas decorrentes desta enfermidade.

São destacadas no documento as práticas de manejo relacionadas ao controle da LC.

Os autores apresentam também uma abordagem relacionada aos antígenos imunodominantes da *C. pseudotuberculosis*, já que eles exercem um papel fundamental no desenvolvimento de testes sorológicos, de diagnóstico e de vacinas mais eficazes contra a LC.

**Maria Pinheiro Fernandes Corrêa**  
Chefe Geral  
Embrapa Caprinos

## Sumário

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| Introdução .....                     | 09 |
| Ocorrência e Perdas Econômicas ..... | 10 |
| Agente Etiológico, Caracterização    |    |
| Bioquímica e Antígenos .....         | 14 |
| Transmissão .....                    | 23 |
| Patogenia e Sinais Clínicos .....    | 25 |
| Imunologia .....                     | 30 |
| Diagnóstico .....                    | 33 |
| Controle .....                       | 38 |
| Vacinas .....                        | 39 |
| Tratamento .....                     | 46 |
| Prespectivas Futuras .....           | 47 |
| Referências .....                    | 48 |

# Linfadenite Caseosa: o Estado da Arte

---

*Francisco Selmo Fernandes Alves*

*Lauana Borges Santiago*

*Raymundo Rizaldo Pinheiro*

## Introdução

O agronegócio de caprinos e ovinos no Brasil está criando novas possibilidades comerciais e industriais, promovendo, assim, o desenvolvimento do País. A produção das carnes ovina e caprina vem respondendo por uma parcela do mercado mundial, e apresentou, entre 2003 e 2004, um incremento de 2,5% (12,3 milhões de toneladas para 12,6 milhões de toneladas) (Alves & Pinheiro, 2005). No Brasil, a evolução na produção dos produtos em geral de caprinos e ovinos entre os anos de 2000 e 2004, também aumentou, o que gerou expectativas de demandas quanto ao uso de tecnologias e de modelos de sistemas de produção, visando o bem-estar animal e ambiental, a saúde dos animais e a qualidade dos alimentos. A produção de caprinos e ovinos tem sido afetada pela utilização de manejos inadequados e pela ocorrência de doenças, dentre elas, a Linfadenite Caseosa (LC).

A LC é uma doença infecto-contagiosa, de ocorrência mundial, que acomete caprinos e ovinos, caracterizada pela formação de abscessos em gânglios linfáticos superficiais, podendo também acometer órgãos e linfonodos internos. É uma enfermidade crônica e debilitante, causada pela *Corynebacterium pseudotuberculosis*, responsável por grandes perdas econômicas na caprinocultura e na ovinocultura.

A Série Documentos relata o estado da arte da LC, abordando as principais características microbiológicas e bioquímicas da *C. pseudotuberculosis*, assim como os aspectos relacionados à transmissão, patogenia e imunologia da enfermidade. A atual situação do diagnóstico da LC e as estratégias de controle também estão descritas. Estudos relacionados ao desenvolvimento e à eficácia de vacinas comerciais e experimentais contra a infecção causada pela *C. pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos, além das perspectivas futuras de pesquisa relacionadas a esta enfermidade também são discutidos neste documento.

### Ocorrência e Perdas Econômicas

A prevalência e a incidência da LC em rebanhos caprinos e ovinos estão relacionadas às condições inadequadas do ambiente, por diminuição das defesas orgânicas dos animais, e pela falta de um programa sanitário integrado de prevenção e controle (Blood & Henderson, 1999). Ela é descrita em todos os países que possuem significativa população de caprinos e ovinos (Anderson & Nairn, 1984). Em relação à distribuição mundial destas espécies, a China é a detentora do maior rebanho de pequenos ruminantes do mundo (340.693 milhares de cabeças), seguida pela Índia (182.500 milhares de cabeças) e pela Austrália (94.920 milhares de cabeças). O Brasil encontra-se em 14<sup>o</sup> lugar, totalizando um rebanho de 23.269 milhares de cabeças de caprinos e ovinos (FAO, 2004) (Tab. 1).

Tabela 1. Rebanho mundial de pequenos ruminantes em 2004

| Países        | N. cabeças (milhares) |
|---------------|-----------------------|
| China         | 340.693               |
| Índia         | 182.500               |
| Austrália     | 94.920                |
| Sudão         | 89.000                |
| Irã           | 80.000                |
| Paquistão     | 79.400                |
| Nigéria       | 51.000                |
| Nova Zelândia | 40.218                |
| África do Sul | 35.950                |
| Bangladesh    | 35.760                |

continua...

continuação.

|             |        |
|-------------|--------|
| Reino Unido | 35.500 |
| Turquia     | 31.700 |
| Espanha     | 27.000 |
| Brasil      | 23.269 |
| Marrocos    | 21.951 |

Fonte: \* Previsão FAO (2004).

Estudos relacionados à incidência e prevalência da LC nos rebanhos mundiais de caprinos e ovinos têm sido realizados, com o intuito de avaliar a sua distribuição e como uma forma de prever as perdas relacionadas a esta enfermidade na exploração econômica destas espécies. Entretanto, algumas dificuldades enfrentadas na realização deste tipo de estudo, como a forma subclínica de apresentação da doença e seu longo período de incubação, fazem com que esses dados ainda sejam escassos.

Batey et al. (1986) avaliaram um total de 2.920 caprinos, encaminhados ao abate na região da Austrália do Oeste e estimaram a prevalência de LC em  $7,8\% \pm 0,9\%$  desses caprinos. Lesões na cabeça, no corpo e nas vísceras estavam presentes em 49,3%, 46,7% e 12,3% dos animais acometidos, respectivamente.

A prevalência da LC entre os anos de 1990 e 1999 foi estimada em uma investigação através de questionários enviados a cirurgiões veterinários e produtores de ovinos no Reino Unido (Binns et al., 2002). 18% dos veterinários que responderam ao questionário, já haviam presenciado pelo menos um caso de LC, e 45% dos produtores já haviam observado a presença de abscessos nos animais de seus rebanhos. Poucos produtores investigaram a causa dos abscessos; entretanto, 24 dos 32 produtores que coletaram e enviaram material ao laboratório para investigação, tiveram a enfermidade confirmada em seus rebanhos.

Um estudo realizado por Çetinkaya et al. (2002), desenvolvido no período de setembro a dezembro do ano de 2000, estimou a prevalência de LC em caprinos e ovinos abatidos no frigorífico da região de Elazig, no leste da Turquia. Cepas de *Corynebacterium spp* foram isoladas em 81,4% dos abscessos encontrados, resultando em uma prevalência total de LC nesta



região igual a 2,2%, sendo 3,5% em ovinos e 1,1% em caprinos.

Paton et al. (2003) estimaram a prevalência da LC em 223 rebanhos ovinos localizados em Nova Gales do Sul, Vitória e Austrália do Oeste. A prevalência média de LC nos ovinos adultos desses rebanhos foi de 26%, variando de 20% na Austrália do Oeste a 29% em Nova Gales do Sul. De todos os rebanhos analisados, 95% tinham, pelo menos, um animal acometido pela LC.

Arsenault et al. (2003) realizaram um estudo para estimar a prevalência de algumas enfermidades que acometem caprinos e ovinos, em dois abatedouros em Quebec, no Canadá, entre elas a LC. A prevalência estimada para esta enfermidade foi de 21%, sendo que os abscessos estavam presentes, em maior proporção, nos linfonodos da cavidade torácica.

No Brasil, uma maior incidência de LC é observada nos Estados do Nordeste do País, já que, aproximadamente, 93% da população de caprinos e 59% da população ovinos encontram-se nessa região (IBGE, 2005; Alves et al., 1997) (Tab. 2 e 3).

Tabela 2. Rebanho caprino em 2005 – Distribuição regional

|                     | <b>% do Rebanho Total</b> | <b>Nº Cabeças</b> |
|---------------------|---------------------------|-------------------|
| <b>Norte</b>        | 1,50                      | 154.678           |
| <b>Nordeste</b>     | 92,59                     | 9.542.910         |
| <b>Sudeste</b>      | 2,45                      | 252.124           |
| <b>Sul</b>          | 2,35                      | 242.713           |
| <b>Centro-Oeste</b> | 1,11                      | 114.297           |
| <b>Brasil</b>       | <b>100</b>                | <b>10.306.722</b> |

Fonte: IBGE (2005).

Tabela 3. Rebanho ovino em 2005 – Distribuição Regional

|                     | % do Rebanho Total | N°. Cabeças       |
|---------------------|--------------------|-------------------|
| <b>Norte</b>        | 3,09               | 481.528           |
| <b>Nordeste</b>     | 58,44              | 9.109.668         |
| <b>Sudeste</b>      | 3,90               | 606.934           |
| <b>Sul</b>          | 28,56              | 4.452.498         |
| <b>Centro-Oeste</b> | 6,01               | 937.413           |
| <b>Brasil</b>       | <b>100</b>         | <b>15.588.041</b> |

Fonte: IBGE (2005).

Moura-Costa et al. (1973) estudaram a distribuição geográfica da LC nos rebanhos caprinos no Estado da Bahia e relataram que a doença estava presente, particularmente, no Norte do Estado.

Um estudo da prevalência da LC em caprinos, realizado no município de Casa Nova, no Estado da Bahia (Lima, 1980), obteve uma estimativa da prevalência da presença de abscessos de 4,73% em machos e 4,67% em fêmeas, sendo que o grupo etário de machos com 15 a 25 meses de idade apresentou uma maior positividade (6,77%), assim como o grupo etário de fêmeas de 25 a 35 meses de idade (8,96%). Dos 90 abscessos encontrados, 41 estavam em condições de ser coletados e, somente em 25, foi isolada e identificada a *C. pseudotuberculosis*. Em 41,11% dos casos, os abscessos se localizavam no pescoço, estando o restante distribuído nas outras partes do corpo do animal.

Num levantamento realizado em seis localidades do Estado do Ceará, 656 caprinos foram examinados por um período de quase dois anos. Constatou-se a presença de abscessos superficiais em 41,6% dos animais, estando a maioria deles, localizada na região anterior do corpo. 11,5% dos animais

apresentaram abscessos nos órgãos internos, com maior porcentagem de localização nos pulmões e epidídimos. A *C. pseudotuberculosis* foi confirmada em 27,7% dos abscessos (Unanian et al., 1985).

Recentemente, um estudo sorológico desenvolvido na Bahia, demonstrou a presença de anticorpos séricos contra a *C. pseudotuberculosis* em 46,6% dos caprinos analisados (Meyer, 2004).

Os prejuízos causados pela LC na produção de caprinos e ovinos estão relacionados a alguns aspectos da patogenia desta enfermidade. Inicialmente, a presença de abscessos em linfonodos superficiais pode interferir na execução das funções normais do animal como pastejar, mastigar, regurgitar e amamentar as crias. Já a forma visceral da doença, pode acarretar consequências mais sérias ao organismo, como debilitação do animal e disseminação dos abscessos, causando problemas reprodutivos (Lal Krishna et al., 1977; Alves, 1988), condenação de carcaças e, até mesmo, morte dos animais (Burrell, 1981). A presença de abscessos superficiais nos animais é responsável pela desvalorização das peles (Alves et al., 1997), sendo que um único abscesso na pele do animal, pode depreciar seu valor em até 40% (Figueiredo et al., 1982). Além disso, perdas econômicas estão relacionadas à produção de lã (Paton et al., 1994) e aos gastos com mão-de-obra (R\$0,19) e medicamentos (R\$3,30) no tratamento dos abscessos (Pinheiro et al., 2002).

Estudos realizados na Austrália indicam uma perda de \$12 a 15 milhões nos abatedouros de caprinos e ovinos, anualmente, relacionada a danos totais causados pela LC conforme demonstram Paton et al. (1993) citados por Paton et al. (2003). Em relação à produção de lã, a LC é responsável por uma perda de \$17 milhões para a indústria de lã australiana, por ano (Paton et al., 1994).

### **Agente Etiológico, Caracterização bioquímica e Antígenos**

A *Corynebacterium pseudotuberculosis*, agente etiológico da LC, foi descrita pela primeira vez por Nocard em 1888, a partir de um caso de linfangite bovina. Sua nomenclatura atual foi adotada em 1948, na 6ª edição do *Bergey's Manual*. No entanto, a designação *Corynebacterium*

*ovis* ainda é usada como sinônimo.

A *C. pseudotuberculosis* caracteriza-se como um bacilo Gram-positivo curto e irregular, medindo 0,5 a 0,6  $\mu\text{m}$  por 1 a 3  $\mu\text{m}$ , podendo apresentar aspecto cocoide, mostrando-se isolado ou formando grupamentos irregulares ou em paliçada (Fig. 1). São imóveis, anaeróbios facultativos, fermentativos e não formam esporos, como afirmam Benham et al. (1962), Batey, (1986), Merchant & Packer (1975) e Quinn et al. (1994), citados por Costa (2002).

Hard (1969) examinou a *C. pseudotuberculosis* através de microscopia eletrônica e observou que o microrganismo exibia uma estrutura similar às outras espécies do gênero, na aparência de sua parede celular, membrana plasmática, material genético, matriz citoplasmática e complexidade dos sistemas de membrana intracitoplasmática. Uma importante característica encontrada foi uma camada densa, externa à parede celular, que demonstrou ser composta por lipídeos.

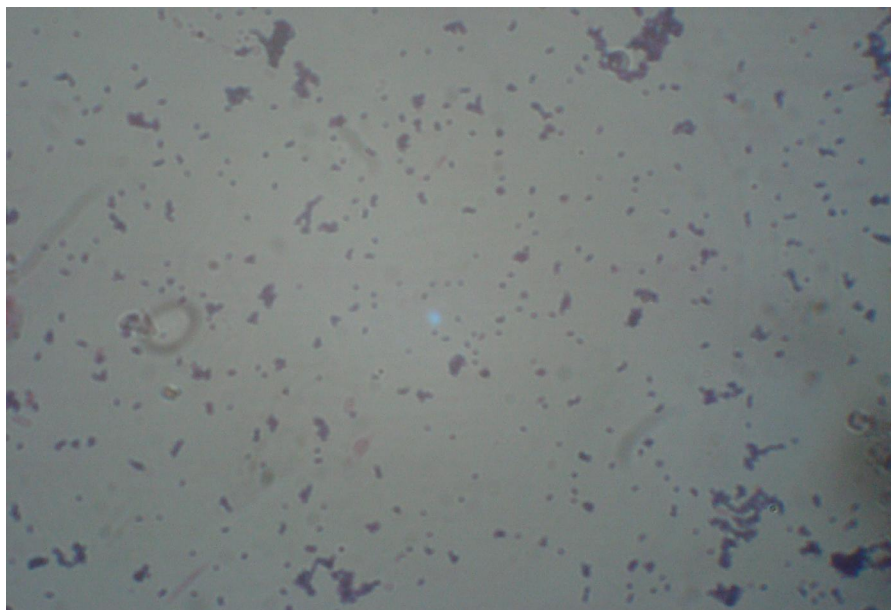


Fig. 1. *Corynebacterium pseudotuberculosis* em material purulento drenado de um abscesso de um caprino  
– Coloração Gram, 100 X.

Foto: Lauana Santiago e Francisco Selmo Alves.

Baseado no conteúdo lipídico da parede celular, bactérias do gênero *Corynebacterium* são agrupadas com bactérias do gênero *Mycobacterium*, *Nocardia* e *Rhodococcus*, formando o complexo "CMNR" conforme aponta Barksdale (1981), citado por Brown (1985). Os representantes deste grupo possuem a parede celular rica em componentes lipídicos similares, sendo o ácido micólico, o mais caracterizado dentre eles.

Takahashi et al. (1997) demonstraram a relação filogenética entre várias espécies de *Corynebacterium*, baseados na estrutura do gene *16S* rRNA. Neste estudo, a posição filogenética da *C. pseudotuberculosis* foi relacionada com a da *C. ulcerans* e com a da *C. seminale*.

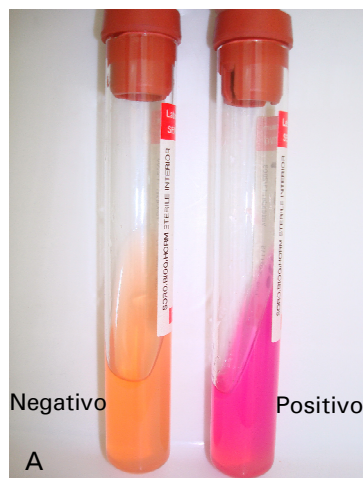
Os lipídeos associados à parede celular da *C. pseudotuberculosis* correspondem a 11,3% do peso seco da célula bacteriana (Jolly, 1966; Ionedá & Silva, 1979) e exercem um importante papel na virulência do microrganismo (Jolly, 1966).

Assim como outras corinebactérias, a *C. pseudotuberculosis* é capaz de produzir uma potente exotoxina, primeiramente descrita por Carne (1940). A fosfolipase D é encontrada no citoplasma e, em menores quantidades, na parede celular bacteriana. Seu peso molecular varia de 14.500 a 31.000 Daltons, conforme afirmam Bernheimer et al. (1985) e Onon (1979), citados por Alves (1988). É inativada pelo calor (60°C por 10 minutos, 37°C por 2 semanas ou 25°C por três meses), pela acidez (pH abaixo de 5), ou pela formalina (Carne, 1940). Todas as cepas e os dois biótipos sugeridos da *C. pseudotuberculosis*, que serão detalhados a seguir, produzem esta exotoxina que são antigenicamente semelhantes, segundo Carne (1940), Burrell (1978) e Muckle & Gyles (1982), citados por Alves (1988).

Algumas características da fosfolipase D são descritas por Songer et al. (1990), em citação de Costa (2002), entre elas: ação de hidrolisar a lisofosfatidilcolina e esfingomiéline; ponto isoelétrico de 9,8; necessidade de íons  $Ca^{++}$  e  $Mg^{++}$  para sua atividade; toxicidade para roedores de laboratório; atividade hemolítica em sinergia com a colesterol-oxidase e a fosfolipase C da *Rhodococcus equi* (Burrell, 1979; Songer, 1997) e resistência à hemólise pela toxina  $\beta$  estafilocócica (Songer et al., 1988). As

duas últimas propriedades deram origem a dois testes sorológicos para a detecção de anticorpos anti-exotoxina (teste da inibição da ação anti-hemolisina e teste da inibição da hemólise sinérgica), além do teste para dosagem da exotoxina sobrenadante de cultura (Zaki, 1968; Knight, 1978).

Em relação às provas bioquímicas, a *C. pseudotuberculosis* é caracterizada por ser catalase positiva, urease positiva, fermentar carboidratos sem produção de gás, como maltose, manose, glicose, galactose, não fermentar lactose, não possuir atividade proteolítica e ser  $\beta$ -hemolítica, conforme afirmam Muckle & Gyles (1982), Songer et al. (1988), Sutherland et al. (1996), Costa et al. (1998), Merchant & Packer (1975), Quinn et al. (1994), citados por Costa (2002) (Fig. 2). Carne (1940) relatou variação na fermentação de carboidratos entre 50 cepas de *C. pseudotuberculosis*. Em relação à redução do nitrato, Biberstein et al. (1971) sugeriram a separação em dois biótipos diferentes. Songer et al. (1988) confirmaram a existência de duas biovariedades de *C. pseudotuberculosis*, após realização de um estudo, no qual foram avaliadas 94 amostras do microrganismo, obtidas a partir de ovinos, caprinos, eqüinos e bovinos, e realizadas provas bioquímicas e análises de DNA. Não foram observadas diferenças significativas em relação à fermentação de carboidratos, produção de urease, catalase e fosfolipase D entre as amostras. Entretanto, as amostras



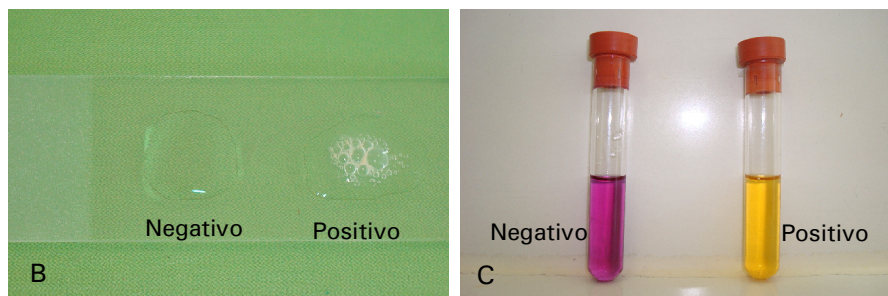


Fig. 2. Provas bioquímicas para identificação da *Corynebacterium pseudotuberculosis*: A) urease; B) catalase; C) fermentação de carboidratos.

Foto: Lauana Santiago e Francisco Selmo Alves

obtidas a partir de eqüinos foram capazes de reduzir o nitrato, ao contrário das amostras obtidas a partir de ovinos e caprinos. Os bovinos, segundo esses autores, são infectados tanto por cepas nitrato positivas, quanto por cepas nitrato negativas. Além disso, os autores sugerem que o biótipo que infecta eqüinos seja denominado *equi*, e que o biótipo que infecta caprinos e ovinos, seja denominado *ovis*. A análise através de enzimas de restrição confirmou a diferença entre os dois biótipos (Tab. 4).

Tabela 4. Redução do nitrato e tipo de manifestação da doença de acordo com a espécie animal afetada pela *C. pseudotuberculosis*

| Espécie Animal Afetada | Redução do Nitrato | Doença/Sintoma                  |
|------------------------|--------------------|---------------------------------|
| Caprinos e Ovinos      | -                  | Linfadenite Caseosa             |
| Eqüinos                | +                  | Linfangite Ulcerativa           |
| Bovinos                | +/-                | Lesões Piogênicas e Supurativas |

(-): Reação Negativo; (+): Reação Positivo; (+/-): Reação de pelo menos 90% para cada.

Fonte: Adaptado de Brown & Olander (1987).

Em condições aeróbicas e anaeróbicas, observa-se o crescimento da *C. pseudotuberculosis* na faixa de temperatura entre 14 e 40°C, porém seu crescimento ótimo se dá em uma temperatura de 37°C e em pH de 7,0 a 7,8. Alguns autores relacionam um crescimento melhor do microrganismo

em uma atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, como Benham et al. (1962) e Muckle & Gyles (1982), citados por Costa (2002). Batey (1986), através da adição de Tween 80, obteve uma taxa ótima de crescimento, em pH de 7,0 a 7,5, conforme citação de Costa (2002).

A *C. pseudotuberculosis* cresce bem em meios enriquecidos como ágar sangue, ágar BHI (infusão de coração e cérebro) ou caldo BHI, ou enriquecidos com soro animal ou proteínas vegetais. Através da adição de extrato de levedura, triptona ou lactoalbumina, consegue-se uma melhora em seu crescimento como observado por Cameron & Swart (1965), citados por Costa (2002). No ágar sangue, formam-se colônias pequenas, de coloração branco-acinzentada, opacas e friáveis, após um período de 24 a 48 horas (Brown, 1985). Após alguns dias de incubação, as colônias podem alcançar 3 mm de diâmetro e possuem coloração creme, conforme afirmam Quinn et al. (1994), citados por Costa (2002) (Fig. 3).

Em meio líquido, ocorre formação de uma frágil película na superfície, com leve turvação do meio (Fig. 4). Com agitação, desfaz-se a película e formam-se os flocos (Carne, 1939; Merchant & Packer, 1975; Muckle & Gyles, 1982).



Fig. 3. Crescimento de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em placa de ágar sangue, apresentando colônias de coloração branca e aspecto seco.

Foto: Francisco Selmo Alves e Raymundo Rizaldo Pinheiro.

Costa et al. (2002) descreveram um meio quimicamente definido para o cultivo da *C. pseudotuberculosis*, composto por 72% de fosfato dibásico, 4% de vitaminas e 1% de aminoácidos. Este meio foi usado para a produção de complexo antigênico secretado por *C. pseudotuberculosis*, que se





Fig. 4. Crescimento da *Corynebacterium pseudotuberculosis* em meio líquido de BHI com formação de película. Foto: Lauana Santiago e Francisco Selmo Alves.

mostrou capaz de induzir a produção de Interferon-gamma (IFN-gamma) por células do sangue periférico de caprinos com sinais clínicos da LC (Regis, 2001). Livre de macromoléculas na sua composição, o meio quimicamente definido permitiu a obtenção de complexos antigênicos compostos apenas por proteínas da bactéria e abriu novas perspectivas para o estudo das proteínas secretadas (Costa et al., 2002).

Muitos estudos vêm sendo realizados com o intuito de identificar e caracterizar outros antígenos relacionados à *C. pseudotuberculosis*, que podem estar associados à célula bacteriana (antígenos somáticos), como no caso da fosfolipase D, ou aparecerem no sobrenadante (antígenos secretados), apesar dos resultados destes estudos terem mostrado alguma discrepância em relação ao número de antígenos identificados (Tab. 5).

Ellis et al. (1991a), citados por Vale (2000), analisando a resposta de anticorpos de 40 ovinos naturalmente infectados, através do método Western Blotting (WB), verificaram uma predominância de proteínas com pesos moleculares entre 12 e 112 kDa, reconhecidas por anticorpos presentes nos soros. Em um outro estudo, Ellis et al. (1991b) verificaram que soros de ovinos imunizados, reconheciam pelo menos oito antígenos celulares através do WB.

Em um trabalho desenvolvido por Muckle et al. (1992), citados por Vale (2000) através da mesma técnica descrita anteriormente, foi observado que anticorpos contra sete antígenos de peso molecular entre 22 a 120 kDa estavam presentes no soro de 40 caprinos e ovinos infectados pela *C. pseudotuberculosis*. Três antígenos de 120, 68 e 31,5 kDa foram detectados no soro de todos os animais e 22 animais possuíam anticorpos para antígenos de 64, 43, 40 e 22 kDa. Nenhum destes antígenos foi detectado pelos soros de 160 ovinos sem a doença.

Ter Laak et al. (1992) utilizaram o sobrenadante da cultura da *C. pseudotuberculosis* e observaram, pela técnica WB, que seis proteínas de peso molecular de 68, 65, 39, 38, 31 e 29 kDa reagiram com o soro de caprinos e ovinos, naturalmente e experimentalmente infectados.

Braitwaite et al. (1993), citados por Vale (2000) observaram mais de 20 bandas protéicas através da análise dos componentes das células bacterianas, utilizando o método Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE). Estas proteínas foram classificadas em quatro grupos, sendo eles: o grupo de proteínas de alto peso molecular (maior que 119 kDa); o grupo de proteínas de pesos moleculares de 84, 64 e 58 kDa; o grupo de proteínas de pesos moleculares de 33 e 30 kDa; e o grupo de proteínas de pesos moleculares entre 25 e 20 kDa. Os autores observaram, através do WB, utilizando o sobrenadante de concentrado de cultura da *C. pseudotuberculosis*, mais de sete bandas protéicas com pesos moleculares que variavam entre 64 e 14 kDa, sendo mais de cinco delas reconhecidas por anticorpos presentes em amostras de soro de caprinos naturalmente infectados.

Utilizando antígenos de parede celular e exotoxina de *C. pseudotuberculosis*, através do WB, Sting et al. (1998), citados por Vale (2000) observaram reatividade de anticorpos nos soros de caprinos naturalmente infectados com proteínas de pesos moleculares entre 20 e 120 kDa e entre 30 e 55 kDa, respectivamente.

Walker et al. (1994) identificaram um antígeno protéico imunodominante

Tabela 5. Estruturas antigênicas determinadas a partir das frações secretada e somática da *Corynebacterium pseudotuberculosis*, descritas na literatura.

| Referências               | Nº de bandas imunogênicas | Antígenos (kDa)  |
|---------------------------|---------------------------|--|
| <b>Fração Secretada</b>   |                           |  |
| Ter Laak et al. (1992)    | 6                         | 29, 31, 38, 39, 65, 68                                 |
| Braithwaite et al. (1993) | 4                         | 31.5, 36, 56, 63                                       |
| Ellis et al. (1991a)      | 6                         | 20, 25.1, 31.6, 39.8, 63, 68                           |
| Walker et al. (1994)      | 2                         | 31.5, 40   |
| <b>Fração Somática</b>    |                           |  |
| Ellis et al. (1991b)      | 10                        | 20, 22, 31.6, 35.5, 39.8, 45.7, 56, 63, 79, 100        |
| Ellis et al. (1991a)      | 11                        | 12, 25.1, 31.6, 36.3, 39.8, 63, 70, 75, 79.4, 100, 120 |
| Braithwaite et al. (1993) | 9                         | 14, 30, 33, 36, 48, 58, 64, 84, 120                    |
| Muckle et al. (1992)      | 7                         | 22, 31.5, 40, 43, 64, 68, 120                          |
| Sting et al. (1998)       | 7                         | 30, 45, 48, 55, 66, 80, 110                            |

Fonte: Paule et al. (2004).

de massa molecular de 40 kDa, através do WB. Este antígeno (nomeado CP-40), associado ao hidróxido de alumínio, foi utilizado como vacina em ovinos, induzindo uma proteção significativa contra a LC nos animais, com redução de 82% de linfadenite geral e 98% de redução de lesões pulmonares. Wilson et al. (1995), citados por Vale (2000) clonaram e sequenciaram o gen desta proteína de 40 kDa, e verificaram que ela é diferente daquelas proteínas já seqüenciadas, revelando uma atividade do tipo serino-protease.

Recentemente, Paule et al. (2004) desenvolveram um estudo para isolar e identificar antígenos das frações secretadas de superfície e somáticas da *C. pseudotuberculosis*, utilizando os métodos SDS-PAGE e Imunoblot. Os antígenos secretados foram obtidos do sobrenadante de cultura da bactéria cultivada em meio quimicamente definido ou em meio BHI. A fração de

superfície foi obtida por tratamento com NaCl 1M, e as frações somáticas foram obtidas por vários procedimentos (detergentes e ultra-som). Os autores observaram que a utilização do meio quimicamente definido, permitiu a identificação de, entre outros antígenos, proteínas de alto peso molecular na fração secretada, que não haviam sido previamente descritas.

Maiores investigações direcionadas à identificação e caracterização dos antígenos imunodominantes da *C. pseudotuberculosis* se fazem necessárias, pelo fato de serem fundamentais para o desenvolvimento de novos testes sorológicos de diagnóstico, vacinas altamente eficazes e, conseqüentemente, obtenção do real controle da LC.

## Transmissão

A transmissão da LC em ovinos ocorre, principalmente, através de ferimentos na pele (Nairn & Robertson, 1974). Em caprinos, provavelmente, a forma de transmissão seja a mesma. Unanian et al. (1985) sugeriram que a infecção através da pele é importante, particularmente em caprinos do Nordeste do Brasil, devido ao tipo de vegetação predominante na região (caatinga), caracterizada por pequenas árvores contendo espinhos que podem causar ferimentos superficiais. Em estudos sobre indução experimental da LC em cabras, demonstrou-se que 100% dos animais infectados por inoculação subgingival apresentaram granulomas mandibulares conforme afirmam Ashfaq & Campbell (1980), citado por Alves (1988). A aspiração de aerossóis também é citada como forma de contágio desta enfermidade (Chaplin et al., 1999).

A porta de entrada da *C. pseudotuberculosis* no organismo do animal ainda não está bem esclarecida, porém alguns autores afirmam que a infecção ocorre através da pele ou mucosa e a partir daí, atinge os linfonodos locais (Burrell, 1981; Batey, 1986). A porta de entrada e distribuição dos abscessos no corpo diferem entre caprinos e ovinos, por ocasião da tosquia e diferentes comportamentos entre as espécies conforme dados fornecidos por Nairn & Robertson (1974), Paton et al. (1995), Ashfaq & Campbell (1979), citados por Costa (2002).

Lesões pulmonares clinicamente não diagnosticadas em ovinos seriam responsáveis pela liberação das bactérias em aerossóis, atuando como fonte de infecção para os animais, segundo Paton et al. (1995), em citação de Costa (2002). Pelo fato de o microrganismo ser capaz de sobreviver por um longo período no ambiente, ele se torna uma constante fonte de infecção para os animais (Williams, 1980). A disseminação desta bactéria no meio ambiente ocorre através da ruptura dos abscessos e da habilidade de sobrevivência desse microrganismo por longos períodos no solo e em materiais diversos. De acordo com Augustine & Renshaw (1982), citados por Alves (1988) a *C. pseudotuberculosis* é capaz de sobreviver por vários dias sob as unhas e em superfícies de madeira, e por várias semanas em fezes de caprinos e em fenos em temperatura entre 10 e 25°C. Existem outros importantes métodos de disseminação, como tatuagem, marcação, castração, vacinação, briga entre os animais e compra de animais infectados ou em estado subclínico da enfermidade.

A infecção experimental por várias vias em ovinos, caprinos e animais de laboratório, tem mostrado que a LC pode ser facilmente reproduzida (Nairn & Robertson, 1974), através de lesões localizadas nos linfonodos periféricos e abscessos viscerais disseminados nos pulmões e linfonodos torácicos. Vários experimentos indicam que os principais determinantes da severidade da enfermidade na infecção experimental são a dose do inóculo e a via de inoculação. Entretanto, na ocorrência natural da doença, esses parâmetros não são reconhecidos (Brown et al., 1986).

A infecção em humanos é rara, mas produz linfadenite recidivante e de curso longo (Peel et al., 1997), com lesões caracterizando linfadenite granulomatosa (Batey, 1986). Grande parte das infecções humanas está relacionada a pessoas envolvidas na lida com os animais e trabalhadores de frigoríficos. O primeiro caso de infecção pela *C. pseudotuberculosis* em humanos foi relatado por Lopez et al. (1966). O quadro clínico era caracterizado pela presença de fadiga, dor muscular, fígado aumentado e macio e linfadenopatia localizada. A caracterização do microrganismo foi realizada pela identificação microbiológica do material coletado, através de aspiração e incisão do linfonodo inguinal afetado. Ao exame anátomo-patológico

do linfonodo, foram observadas áreas com foco de inflamação crônica e células epitelióides circundadas por reação fibroblástica, caracterizando linfadenite esclerótica crônica. Mills et al. (1997) relataram o caso de um jovem estudante com a presença de uma massa na axila. O paciente apresentava febre, dor e indisposição e estava exposto a ovelhas e bovinos. Os autores sugeriram que a infecção tenha ocorrido a partir do contato das fezes de um animal, com uma provável lesão na pele do jovem. Peel et al. (1997) descreveram um caso humano de infecção pela *C. pseudotuberculosis*, envolvendo a ingestão de carne crua de caprinos e leite de vaca. Em torno de 25 casos de infecção pela *C. pseudotuberculosis* em humanos foram descritos na literatura, segundo Dorella et al. (2005). Na maioria dos casos, os pacientes receberam antibioticoterapia e os linfonodos afetados foram removidos cirurgicamente (Liu et al., 2005; Mills et al., 1997; Peel et al., 1997). A LC, apesar de ocorrer com rara frequência em seres humanos e possuir um potencial zoonótico já demonstrado, não é caracterizada como uma doença zoonótica em sua definição. Uma boa higiene, quando se manuseia animais doentes e materiais contaminados com exsudatos, é de suma importância para impedir a propagação da doença (Peel et al., 1997).

## Patogenia e Sinais Clínicos

A *C. pseudotuberculosis* possui dois fatores de virulência que estão diretamente relacionados com a patogenia da LC: a parede celular lipídica, por atuar como fator piogênico e a exotoxina, por promover a disseminação da bactéria no organismo (Jolly, 1966; Zaki, 1976).

A presença de lipídeos associados à parede celular bacteriana, além de atuar como fator piogênico, está relacionada a um aumento da virulência do microrganismo, por impedir sua fagocitose pelas enzimas lisossômicas da célula hospedeira (Jolly, 1966). Outros autores acreditam que estes lipídeos estejam relacionados à citotoxicidade (Batey, 1986; Songer et al., 1990).

Uma relação entre virulência e quantidade de lipídeos na parede celular da *C. pseudotuberculosis* foi evidenciada em infecções experimentais, tanto

em camundongos quanto em ovinos, segundo Burrell (1978) e Muckle & Gyles (1984), citados por Brown (1985). Nos dois casos, foi observada uma alta relação entre o conteúdo lipídico das cepas testadas e sua capacidade de formar granuloma. Segundo Williamson (2001), os lipídeos celulares da bactéria têm característica piogênica e este fator de virulência está associado à formação de granulomas.

Já a fosfolipase D é responsável por causar supuração, dermonecrose e morte em diversas espécies de animais de laboratório e de animais domésticos (Carne, 1940; Jolly, 1965; Lovell & Zaki, 1966). Além disso, ela é capaz de agir como um fator de permeabilidade, promovendo a disseminação do agente do local infectado a outras partes do organismo animal, uma vez que as membranas das células dos mamíferos possuem altos teores de fosfolipídeos. Estudos *in vitro* com neutrófilos de ovinos, demonstraram que a fosfolipase D, quando no interior das células, tem a habilidade de destruí-las. Assim, a exotoxina pode aumentar a sobrevivência da *C.*

*pseudotuberculosis* no hospedeiro, devido à sua capacidade de destruir e escapar da ação destas células, como demonstram Yozwiak & Songer (1993), citados por Carminati (2005). Em um estudo conduzido por McNamara et al. (1994), linhagens mutantes com o gen da fosfolipase D deletado foram utilizadas para demonstrar que estes mutantes não são capazes de estabelecer uma infecção primária ou formar granulomas nos linfonodos regionais, confirmando que a exotoxina está envolvida na persistência e disseminação da bactéria no organismo do hospedeiro.

Burrell (1981), citado por Costa (2002), demonstrou, em ovinos, a presença de uma grande quantidade de prostaglandina, induzindo uma resposta inflamatória local, levando a um aumento da permeabilidade e a um deslocamento de fagócitos para os linfonodos.

As atividades hemolítica, vasodilatadora e fosfolipásica da exotoxina são essenciais para a disseminação da bactéria no organismo animal, como afirmam Benham et al. (1962), Jolly (1966), Burrell (1981), Batey (1986) e Songer (1997), citados por Costa (2002).

Após atingir os linfonodos locais, a infecção evolui com fagocitose, multiplicação intracelular da *C. pseudotuberculosis*, desintegração e morte celular. Esse processo é cíclico e recorrente, causando as lesões crônicas típicas da LC em ovinos.

Através da via linfática, ocorre o acometimento de linfonodos torácicos e dos pulmões e posteriormente, de outros órgãos, causando debilitação progressiva do animal (Batey, 1986; Alves et al., 1997) (Fig. 5).

Onde quer que a *C. pseudotuberculosis* se instale, seja nos linfonodos ou nos pulmões, ocorre a formação de um exsudato caseoso denso, de coloração branca-amarelada, contido na cápsula fibrosa que pode assumir um grande diâmetro. Com o avanço da doença, este exsudato torna-se

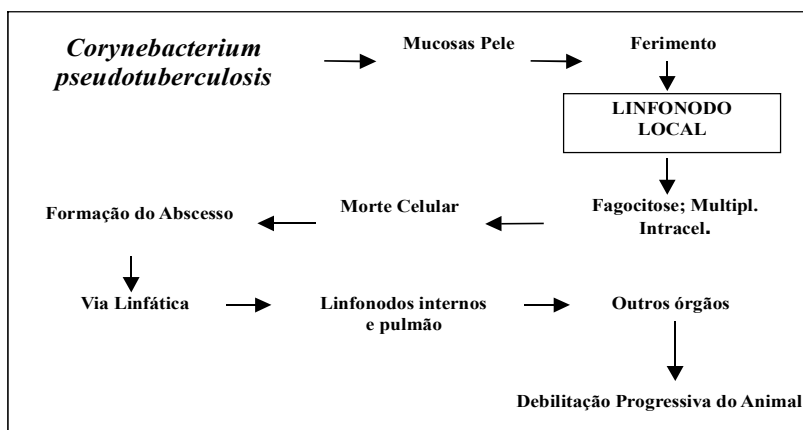


Fig. 5. Esquema da evolução da patogenia da Linfadenite Caseosa.  
Fonte: Alves et al. (1997), adaptado de Batey (1986).

seco e com infiltrações de sais de cálcio. Em abscessos avançados, o pus organiza-se em camadas concêntricas. Nos focos pulmonares primários, os abscessos confluem, gerando um aspecto lardáceo, de forma irregular. Lesões subpleurais ocasionam aderências da víscera à pleura parietal. Em alguns casos, o pus, que geralmente apresenta coloração creme, pode assumir uma coloração esverdeada ou acinzentada, pela contaminação por outras bactérias, da flora normal (Corrêa & Corrêa, 1992).



A disseminação hematogena do microrganismo resulta na formação de abscessos em órgãos, podendo ocorrer na ausência de lesões periféricas (Radostits et al., 2002) (Fig. 6). É relatado que 25% dos ovinos acometidos em abatedouros, apresentam lesões somente nas vísceras torácicas (Brown & Olander, 1987).

Em relação aos achados clínicos, a LC apresenta-se sob duas formas: a forma cutânea externa, caracterizada por linfadenopatia unilateral ou bilateral, e a forma visceral interna, com abscessos nos linfonodos internos, órgãos e vísceras. Os linfonodos externos mais comumente acometi-

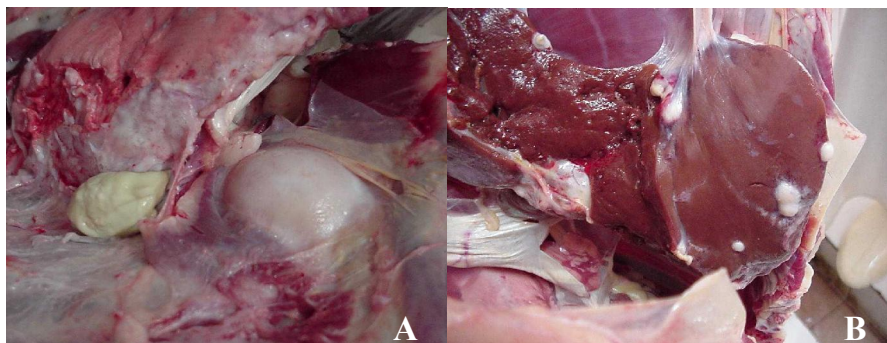


Fig. 6. Abscessos internos e aderências causadas pela Linfadenite Caseosa: A) abscessos pulmonares; B) abscessos hepáticos.

Foto: Raymundo Rizaldo Pinheiro e Francisco Selmo Alves.

dos são os submaxilares, pré-escapulares, pré-crurais, supramamários e poplíteos (Fig. 7). Os abscessos comumente se rompem, eliminando pus, cremoso a caseoso, sem odor (Radostits et al., 2002). Os caprinos apresentam maior proporção de lesões nos linfonodos que drenam a cabeça, possivelmente relacionados a lesões superficiais da pele e mucosa oral, durante o pastoreio (Batey, 1986). Os abscessos podem se desenvolver, subseqüentemente, em outros linfonodos. Tanto nos ovinos, quanto nos caprinos, podem aparecer abscessos na pele e, particularmente, na face, com perda dos pêlos subjacentes (Radostits et al., 2002) (Fig. 8).

Uma condição debilitante observada em ovelhas adultas, comumente referida como “Síndrome da Ovelha Magra”, está associada à forma visceral da LC (Gates et al., 1977), promovendo a perda de peso, e

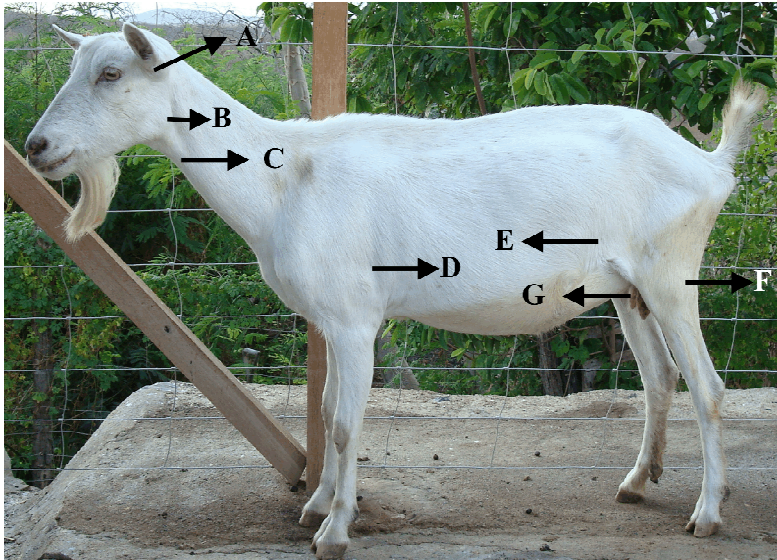


Fig. 7. Localização dos linfonodos externos de caprinos e ovinos, comumente afetados pela Linfadenite Caseosa: a) parotídeo; b) mandibular; c) retrofaríngeo; d) pré-escapular; e) inguinal; f) poplíteo; g) mamário.

Foto: Lauana Santiago e Francisco Selmo Alves.



Fig.8. Abscesso externo de Linfadenite Caseosa localização mandibular.

Foto: Raymundo Rizaldo Pinheiro e Francisco Selmo Alves.

resultando em morbidade e deficiência reprodutiva dos animais. Em um reprodutor caprino portando LC crônica foram observados caquexia (emagrecimento) e comprometimento dos testículos e anexos, causando infertilidade (Alves et al., 2004) (Fig. 9).

## Imunologia

Com base nos componentes do sistema imune que funcionam como



Fig. 9. Emagrecimento e presença de abscessos no testículo e anexos em reprodutor caprino. Foto: Francisco Selmo Alves e Raymundo Rizaldo Pinheiro.

mediadores, as respostas imunes específicas do hospedeiro são classificadas em dois tipos, sendo eles: a imunidade humoral e a imunidade celular, mediadas por respostas de tipos distintos de linfócitos. As células da imunidade humoral são os linfócitos B (LB), que respondem aos antígenos estranhos, pelo desenvolvimento de células produtoras de anticorpos, enquanto que os mediadores da imunidade celular são os linfócitos T (LT).

O principal mecanismo de defesa contra os microrganismos extracelulares e as toxinas por eles secretadas é a imunidade humoral, pois os anticorpos podem se ligar a esses elementos e auxiliar na sua eliminação, ao contrário dos microrganismos intracelulares, que sobrevivem e proliferam dentro dos fagócitos e de outras células do hospedeiro, onde ficam inacessíveis aos anticorpos circulantes. A defesa contra essas infecções está a cargo da imunidade celular, que funciona promovendo destruição dos microrganismos que residem nos fagócitos ou lisando as células infectadas.

Os LT se subdividem em populações funcionalmente distintas, sendo elas,

as células T auxiliares e as células T citolíticas, que expressam diferentes proteínas de membrana. A maioria dos LT auxiliares expressa uma proteína específica chamada CD4+ e a maioria dos LT citolíticos expressa uma proteína específica chamada CD8+.

A resposta imune do hospedeiro promovida contra a *C. pseudotuberculosis* é complexa e envolve tanto a resposta imune mediada por células, quanto a resposta imune humoral (Ellis et al., 1990).

Cameron & Engelbrecht (1971), citados por Carminati (2005), demonstraram a proteção desencadeada por anticorpos, através da imunização passiva de camundongos com soro de coelhos imunizados contra a *C. pseudotuberculosis*. Posteriormente, Yozwiak & Songer (1993), citados por Carminati (2005) relataram que anticorpos anti-fosfolipase D, presentes antes da infecção, exercem um efeito protetor contra a disseminação da bactéria para os linfonodos. Em estudo de Muckle et al. (1992), citados por Vale (2000), anticorpos presentes em soros de animais infectados reagiram com várias frações protéicas em WB, quando foram utilizados antígenos de parede celular, células inteiras mortas e sobrenadante de cultura da *C. pseudotuberculosis*. Entretanto, segundo Vale (2000), esta forte resposta humoral, por si só, não é capaz de eliminar a infecção.

Conforme Roitt (1999), citado por Vale (2000), a principal resposta imune protetora contra a *C. pseudotuberculosis* é a imunidade mediada por células. Ela consiste em dois tipos principais de reações: morte dos microorganismos fagocitados, devido a ativação dos macrófagos pela citocinas derivadas dos linfócitos, principalmente o IFN-gamma, e lise das células infectadas, efetuada pelas células T citolíticas (CD8+).

A fagocitose é o mecanismo de maior importância da imunidade natural contra microrganismos intracelulares (North, 1978). Entretanto, bactérias intracelulares patogênicas são resistentes à degradação dentro dos fagócitos, razão pela qual estes microrganismos tendem a causar infecções crônicas, difíceis de serem erradicadas. Segundo Tashjian & Campbell (1983), a resistência da *C. pseudotuberculosis* à morte e à

digestão no interior dos fagócitos está relacionada aos lipídeos da parede celular bacteriana.

Os granulomas são formados por várias camadas, constituídos por um centro necrótico, seguido de uma camada rica em macrófagos, com uma zona com predominância de LT CD4 + , LT CD8 + e LTgamma-delta (linfócitos T expressando as cadeias gamma e delta em seus receptores), e outra rica em LB, limitada externamente por uma capsula fibrótica (Walker et al., 1991). Pépin et al. (1994) relataram que nos estágios iniciais das lesões, existe uma predominância de células T CD4 + e na fase crônica da infecção, a predominância passa a ser de células T CD8 + e Tgamma-delta.

A resistência às infecções causadas por bactérias intracelulares facultativas está relacionada às células T CD4 + e mais especificamente aos clones Th1, pelo aumento da atividade microbicida dos macrófagos pela produção de INF-gamma e Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF-alfa). O papel das células T CD8 + na resistência deste tipo de infecção está relacionado à capacidade de produzir INF-gamma e lisar as células infectadas (Lan et al., 1998; Carminati, 2005).

O papel do IFN-gamma no controle da infecção pela *C. pseudotuberculosis* foi observado em ratos, nos quais foi detectado um aumento no crescimento bacteriano após a administração de anticorpos monoclonais anti-IFN-gamma, segundo dados fornecidos por Lan et al. (1998), citado por Meyer et al. (2005). Além disso, estudos em animais que apresentam deleção do gene que codifica esta citocina, também demonstraram a fundamental importância do IFN-gamma para a proteção imune do hospedeiro, conforme afirmam Pépin et al. (1997), em citação de Meyer et al. (2005).

Paule et al. (2003) conduziram um estudo para avaliar as respostas imunes humoral e celular a partir de infecção experimental pela *C. pseudotuberculosis* em caprinos, no qual confirmaram o envolvimento de Imunoglobulinas G (IgG) e de IFN-gamma na resposta imune. Neste experimento, os animais foram divididos em dois grupos de acordo com a intensidade da resposta imune observada, mais relacionada a produção de IFN-

gamma, do que à resposta imune humoral. Um grupo foi composto por animais com alta resposta (1), e o outro grupo, por animais com resposta de média a baixa (2). Os dois grupos apresentaram uma resposta primária de curta duração no dia 5 após a infecção. Já a partir do 16º dia, uma forte resposta secundária e de longa duração foi observada no grupo 1. O teste ELISA indireto foi capaz de detectar títulos de anticorpos positivos contra a *C. pseudotuberculosis* entre o dia 6 e 11 após a infecção nos dois grupos. A afinidade pela IgG oscilou, inicialmente, em uma faixa de 15 a 45%, mostrando um incremento de 5% ao longo das 20 semanas de experimento.

Meyer et al. (2005) utilizaram a produção de IFN-gamma para avaliar a resposta imune produzida contra antígenos secretados e antígenos somáticos de *C. pseudotuberculosis*. Os resultados demonstraram uma diferença significativa na habilidade dos dois antígenos em induzir uma resposta imune celular. A produção de IFN-gamma foi alta em resposta aos antígenos secretados, ao contrário da resposta contra antígenos somáticos, em que a produção de IFN-gamma foi baixa.

Os testes de diagnósticos que detectam a presença de anticorpos são incapazes de diferenciar animais infectados pela *C. pseudotuberculosis*, de animais uma vez expostos a infecção, já que não existe correlação entre os títulos de anticorpos e a intensidade da infecção (Ellis et al., 1990). Entretanto, a utilização do IFN-gamma na detecção da resposta imune mediada por células contra a *C. pseudotuberculosis* tem mostrado um grande avanço nos testes de diagnóstico e para as estratégias de erradicação, que propõem a eliminação dos animais positivos do rebanho.

## Diagnóstico

A identificação dos animais infectados e sua remoção do rebanho são os métodos mais efetivos para o controle da LC. Essa identificação pode ser realizada, inicialmente, através do diagnóstico clínico, no qual se visualiza a presença de abscessos nos linfonodos superficiais do animal.

Além deste, pode ser realizado o isolamento e a identificação do agente

através do exame bacteriológico do material caseoso drenado a partir dos abscessos. As provas bioquímicas são métodos bastante simples utilizados para realizar o diagnóstico diferencial, em relação aos possíveis agentes que são encontrados no material drenado a partir dos linfonodos de animais acometidos (Fig. 10).

*Seqüência de identificação de microrganismos Gram Positivos*

Prova de Catalase: Positiva

Presença de Endosporo: *Bacillus*  
 Imóveis: *B. Anthracis*  
 Móveis: *Bacillus sp.*

Ausência de Endosporo

---

***Corynebacterium***

|                       | <i>Actino-<br/>myces<br/>sp.</i> | <i>Rhodo-<br/>coccus<br/>equi</i> | <i>pseudo-<br/>diphthe-<br/>riticum</i> | <i>bovis</i> | <i>diphte-<br/>riae</i> | <i>renale</i> | <i>kuts-<br/>cheri</i> | <i>pseudo-<br/>tuber-<br/>culosis</i> | <i>ulce-<br/>rans</i> | <i>Listeria<br/>mono-<br/>cytoge-<br/>nes</i> |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---|--------------|-------------------------|---------------|------------------------|---------------------------------------|-----------------------|---|
| Urease                | -                                | -                                 | +                                       | +            | -                       | +             | +                      | +                                     | -                     | -   |
| Glicose               | d +                              | d -                               | -                                       | -            | +                       | +             | +                      | +                                     | +                     | +   |
| Redução<br>do nitrato |                                  |                                   | +                                       | +            | -                       | +             | d                      | -                                     | d                     | -   |
| Sacarose              |                                  |                                   |   |              |                         | -             | +                      | d                                     | -                     | d   |
| Hemólise              |                                  |                                   |   |              |                         |               |                        | +                                     | +                     | +   |
| Hidrólise<br>do amido |                                  |                                   |   |              |                         |               |                        | -                                     | +                     | -   |
| Motilidade            |                                  |                                   |   |              |                         |               |                        |                                       |                       | +(25°C)                                       |
| Teste de campo        |                                  |                                   |   |              |                         |               |                        |                                       |                       | +(25°C)                                       |

**Fig. 10.** Identificação da *Corynebacterium pseudotuberculosis* através da realização de provas bioquímicas (+/-: reação positiva/negativa em 90% dos casos, em 48 horas; d +/-: diferentes tipos de reação, com predominância de reação positiva/negativa; d: diferentes tipos de reação, com menos de 90% dos casos com reação positiva ou negativa).

Fonte: Carter et al. (1986).

Estudos desenvolvidos recentemente demonstram a utilização da técnica de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase) para detecção da *C. pseudotuberculosis* diretamente do material infectante, mostrando avanços no diagnóstico da LC. Em um estudo conduzido por Pacheco (2006), foi desenvolvido um ensaio de PCR-multiplex (mPCR) que amplifica, simultaneamente, três genes específicos da *C. pseudotuberculosis*: 16S rDNA (RNA ribossômico 16S), *rpoB* (subunidade beta da RNA polimerase), e *pld* (exotoxina fosfolipase D). Esse novo método permitiu a identificação de 40 isolados de campo de *C. pseudotuberculosis*, confirmada através de testes bioquímicos. Çetinkaya et al. (2002) propuseram um teste baseado na PCR para identificar isolados da *C. pseudotuberculosis* através da amplificação parcial da seqüência do gene do RNA ribossômico 16S (16S rDNA). Segundo Pacheco (2006), este teste apresenta algumas limitações, incluindo a inabilidade de distinguir a bactéria *C. ulcerans* e a dependência de cultivo bacteriano prévio.

Ribeiro et al. (2001) citam a punção aspirativa com agulha fina como um método alternativo para diagnóstico citológico presuntivo do agente, antes da abscedação dos linfonodos acometidos, permitindo a adoção de medidas profiláticas e terapêuticas adequadas.

Em relação aos animais acometidos que não apresentam sintomatologia clínica, deve-se lançar mão dos testes sorológicos para detecção de anticorpos contra o agente causador da infecção. Existe uma variedade de testes sorológicos estudados e validados, porém, apresentando diferentes graus de sensibilidade e especificidade, entre eles: aglutinação indireta, hemo-aglutinação, teste de inibição da anti-hemolisina, testes de neutralização em pele de coelho, teste de imunodifusão, teste de inibição de hemólise sinérgica (IHS), o "enzyme linked immunosorbent assay" (ELISA) e o Dot-Blot. A sensibilidade de um teste é definida pela proporção de animais doentes que têm o resultado do teste positivo, ou seja, pela capacidade do teste de detectar os animais doentes de um rebanho. Já a especificidade de um teste é definida como a proporção de animais sadios que têm o resultado do teste negativo, ou seja, pela capacidade do teste em detectar os animais não doentes de um rebanho.



O teste de IHS foi, inicialmente, desenvolvido para o diagnóstico da *C. pseudotuberculosis* em eqüinos. Baseia-se na neutralização da fosfolipase D por anticorpos contra essa toxina presentes no soro de caprinos e ovinos infectados pela *C. pseudotuberculosis*. A reação dos anticorpos com a exotoxina impede que aconteça a hemólise sinérgica característica com a toxina de *Rhodococcus equi* (Fosfolipase C) em ágar sangue (Knight, 1978). Este teste mostrou-se sensível, embora com pouca especificidade, uma vez que, pode indicar resultados positivos em animais infectados por outros agentes etiológicos, como *Staphylococcus aureus*, *Arcanobacterium pyogenes* e outros bacilos Gram positivos (Brown et al., 1986; Brown et al., 1987).

Dercksen et al. (2000) desenvolveram um teste ELISA sanduíche, baseado no teste ELISA descrito por ter Laak et al. (1992) para a detecção da *C. pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos, com o objetivo de obter uma melhora na sensibilidade. Através deste teste ELISA melhorado, constatou-se uma sensibilidade equivalente a 72% e uma especificidade de 99% em caprinos, e de 51% e 97%, respectivamente, em ovinos.

Kaba et al. (2001), utilizando como referência a técnica de WB, padronizaram um teste ELISA, obtendo uma sensibilidade de 85% e uma especificidade de 96%.

Em estudo recente, Binns et al. (2007) desenvolveram e validaram um teste ELISA utilizando especificidade de 100% e obtendo sensibilidade de 83% na detecção de IgG contra *C. pseudotuberculosis*. Além deste, um teste ELISA para detecção de IFN-gamma, como marcador de imunidade celular mediada contra a *C. pseudotuberculosis* foi desenvolvido por Prescott et al. (2002) e demonstrou não ter seus resultados influenciados pela vacinação. Vaiseh (1990) desenvolveu um teste de diagnóstico sorológico utilizando a toxina da *C. pseudotuberculosis*, o Dot-Blot, com sensibilidade de 94% e especificidade de 99%.

Prodhan et al. (1993) realizaram um experimento para comparar o teste de IHS com o teste Dot-Blot. Das 145 amostras testadas, 36 foram detecta-

das como positivas a partir do IHS, diferentemente do Dot-Blot, que detectou apenas 27 amostras como positivas. As 9 amostras que apresentaram resultado positivo apenas para o IHS, foram consideradas falso-positivas, devido à reação cruzada com alguma outra bactéria Gram positiva. A partir dos resultados obtidos, os autores concluíram que o teste Dot-Blot é mais confiável para detecção da *C. pseudotuberculosis*, em comparação ao teste IHS.

Um estudo desenvolvido por Carminati (2005) avaliou a sensibilidade e a especificidade de quatro ensaios imunoenzimáticos (ELISA), utilizando, como padrão ouro, o isolamento microbiológico confirmado por PCR. Foram utilizados dois antígenos, sendo o primeiro o sobrenadante da cultura de *C. pseudotuberculosis* em meio BHI e o outro obtido a partir do fracionamento em três fases (TPP) do sobrenadante de cultura de *C. pseudotuberculosis*, no mesmo meio. A sensibilidade e especificidade do ELISA indireto BHI foram de 98% e 98%, respectivamente, e para o ELISA indireto TPP, de 100% e 100%, respectivamente. Para o ELISA sanduíche BHI, a sensibilidade e especificidade foram de 86% e 84%, respectivamente, e para o ELISA sanduíche TPP de 74% e 72%, respectivamente.

Alguns autores questionam a utilização apenas de métodos sorológicos para o diagnóstico da LC, e defendem o seu uso principalmente para estudos epidemiológicos (Sting et al., 1998). Segundo eles, a utilização de métodos sorológicos na tentativa de erradicação da LC é bastante controversa. Entretanto, pesquisadores como Ter Laak et al. (1992) e Dercksen et al. (2000) preconizam a utilização destes testes em programas de erradicação da LC, para eliminação dos animais com sorologia positiva do rebanho. Estes autores defendem o uso da técnica de WB para confirmação dos casos suspeitos (Ter Laak et al., 1992) ou a repetição do teste de ELISA após 4 semanas (Dercksen et al., 2000).

Além dos testes sorológicos existentes, existe um teste de pele que detecta a resposta mediada por células, através de uma reação dérmica, que também pode ser utilizado para o diagnóstico da LC (Brown et al., 1986). Um alérgeno conhecido como "linfadenina", constituído por proteína

hidrossolúvel extraída a partir de células lavadas da *C. pseudotuberculosis*, foi utilizado por Langenegger et al. (1987) em 40 caprinos. Utilizando o alérgeno em grupos de caprinos portadores e em grupos de caprinos saudáveis, diferenças foram encontradas entre as respostas dos animais doentes e saudáveis, mostrando assim, resultados promissores em relação ao teste. Alves & Olander (1999) utilizaram células fragmentadas, formolizadas da *C. pseudotuberculosis* como teste de pele e inocularam, em diferentes intervalos de tempo, em um grupo de caprinos vacinados com toxóide a 3%, e em outro grupo de caprinos vacinados com uma bacterina, e depois desafiados com *C. pseudotuberculosis*. Não foi observada reação antes da infecção. Entretanto, após o desafio, todos os animais apresentaram reação ao teste. Esses resultados sugerem que, o teste de pele é capaz de estimular a resposta imunocelular em animais previamente expostos a *C. pseudotuberculosis*, sendo, portanto, útil no diagnóstico de casos subclínicos da LC. Entretanto, os mesmos autores afirmam que, para elevar a confiabilidade do teste, é necessária a purificação do antígeno utilizado.

## Controle

O principal aspecto relacionado ao controle da LC está no isolamento imediato dos animais afetados e na remoção do material infectivo antes do rompimento do abscesso e da contaminação ambiental. Deve ser dada uma importância especial aos cuidados utilizados na drenagem cirúrgica dos abscessos e adequada eliminação do material, prevenindo a contaminação ambiental. Os animais tratados só devem retornar ao rebanho depois da completa cicatrização da lesão. No caso de animais com abscessos recorrentes, sugere-se que sejam eliminados do plantel.

Pelo fato do microrganismo infectante ser capaz de sobreviver e persistir no meio ambiente por um longo período de tempo, sendo uma constante fonte de infecção para os animais (Williams, 1980), a conscientização em relação às práticas de manejo adotadas para evitar sua disseminação é fundamental para o controle eficaz desta enfermidade. Essas práticas incluem a desinfecção dos instrumentos utilizados no manejo dos animais, como, por exemplo, na caudectomia e na reutilização dos brincos de orelha

e tesouras de tosquia. Devem ser feitas limpeza e higienização das instalações, assim como dos bebedouros e comedouros. Em relação à tosquia, os grupos mais jovens devem ser tosquiados em primeiro lugar, e qualquer ovino com lesões palpáveis deve ser tosquiado posteriormente. O pus derramado no recinto deve ser limpo e a área desinfetada. O contato íntimo dos animais após a tosquia deve ser evitado. O banho após a tosquia não é recomendado em rebanhos gravemente acometidos. É digna de consideração a adição de agente bactericida eficiente no líquido de banho (Radostits et al., 2002). O estábulo não deve conter objetos que possam provocar lesões cutâneas nos animais, assim como deve ser realizado um controle de parasitos externos, com o intuito de controlar o prurido. Deve ser realizada esterilização do material cirúrgico e utilizadas agulhas e seringas descartáveis.

Entretanto, devido à fácil disseminação deste microrganismo no meio ambiente e contaminação dos animais, a prevenção quanto à introdução de animais infectados no rebanho talvez seja o melhor método de controle desta enfermidade. Recomenda-se que a aquisição de animais seja feita somente a partir de rebanho livre de LC, sendo estes mantidos longe dos animais infectados. Segundo Batey (1986), pelo fato desta enfermidade apresentar um longo período de incubação, a separação de animais infectados dos animais não infectados se torna bastante difícil, pela própria condição da doença que, em determinados momentos, apresenta-se com abscessos visíveis e em outros, com abscessos internos ou sem sinais. A introdução de um animal infectado em um rebanho leva ao aparecimento de abscessos nos animais em um período de dois a três anos conforme Ayers (1977) e Alves & Olander (1998), citados por Costa (2002).

## Vacinas

Muitos estudos vêm sendo realizados para obtenção de vacinas que induzam alto nível de proteção aos animais, contra a LC. Estas vacinas podem ser constituídas por células bacterianas mortas (bacterinas), células bacterianas vivas, pela toxina inativada (toxóide) da *C. pseudotuberculosis* ou pela associação destes componentes, utilizando ou

não algum tipo de adjuvante. Além dessas, recentemente vêm sendo desenvolvidas vacinas a partir de modificações no material genético do microrganismo, com intuito de obter avanços quanto à proteção imune, por elas oferecida. Para realizar uma devida avaliação das vacinas, a eficácia, potência, segurança, viabilidade, entre outros aspectos, devem ser levados em consideração para uma boa análise.

Eggleton et al. (1991) realizaram um experimento comparando a eficácia de vacinas preparadas a partir de toxóides com a presença e ausência de células bacterianas mortas pela formalina, da *C. pseudotuberculosis*. A partir dos resultados obtidos, concluíram que o potencial de proteção vacinal não foi alterado devido inclusão de células bacterianas mortas.

Um outro estudo realizado, posteriormente, por Paton et al. (1991), verificou a eficácia de uma vacina que continha uma associação de bacterina e toxóide da *C. pseudotuberculosis* e ainda, toxóide da *C. perfringens* tipo D e da *C. tetani* ("Caseous D-T"). Foi observada uma média de  $1,2 \pm 2$  no número de abscessos externos no grupo de animais vacinados, contra uma média de  $26,8 \pm 23,8$  no grupo de animais controle. Em relação aos abscessos internos, foi obtida uma média de  $0,1 \pm 0,3$  no grupo de animais vacinados, contra uma média de  $6,8 \pm 5,9$  no grupo de animais controle. Os autores afirmam que a eficácia de uma vacina contendo tanto a bacterina quanto o toxóide da *C. pseudotuberculosis* tende a ser maior do que vacinas que contenham apenas células bacterianas mortas. A partir dos resultados deste experimento, supõem ainda que os anticorpos produzidos contra as células bacterianas mortas ajudam a eliminar a *C. pseudotuberculosis* do local inicial da infecção; e anticorpos produzidos contra a exotoxina inativada ajudam a prevenir a disseminação da infecção a partir de seu sítio original. Vale ressaltar que não é recomendada a utilização desta vacina em caprinos, devido a seus sérios efeitos colaterais, como febre, letargia e queda na alimentação e na produção de leite (Berrier, 2002). Mesmo em ovinos, as primeiras vinte e quatro horas após a vacinação podem ser seguidas de anorexia e depressão dos animais (Paton et al., 1991).

Um estudo realizado por Stanford et al. (1998) avaliou a eficácia de duas vacinas comerciais ("Glanvac-6" e "Case-Vac") e uma experimental contendo células bacterianas inativadas associadas a um adjuvante sintético (MDP-GPD) contra LC, em Alberta, no Canadá. A vacina "Case-Vac" e a vacina experimental induziram títulos significativos de anticorpos contra a *C. pseudotuberculosis*, em cordeiros, por um período de 12 meses após a vacinação, sendo que os títulos produzidos pela vacina experimental se mantiveram mais elevados do que os produzidos pela "Case-Vac", neste período. Os títulos de anticorpos produzidos pela "Glanvac-6" em cordeiros não diferiram do grupo controle. O número de reações locais foi mais elevado em cordeiros vacinados pela "Glanvac", em comparação aos cordeiros imunizados pela vacina experimental, porém não foi observada diferença significativa entre as duas vacinas em relação ao tamanho da reação.

Através de um estudo realizado por Alves & Olander (1998), a eficácia de uma vacina de toxóide a 3% foi avaliada contra LC em caprinos. Dos 15 animais da raça Alpina com 10 semanas de idade, 10 foram vacinados, pela via subcutânea. Duas aplicações foram realizadas, com um intervalo de 14 dias. Os animais eram avaliados diariamente quanto à apresentação de aumento dos linfonodos e, semanalmente, amostras de sangue eram coletadas para avaliação sorológica. Lesões no local de inoculação foram observadas em 4 dos 5 animais do grupo controle, e em 7 dos 10 animais vacinados, demonstrando baixa proteção vacinal. Entretanto, as lesões não se disseminaram para outras partes do corpo no caso dos animais vacinados, ao contrário do que ocorreu com os animais do grupo controle.

Paton et al. (1995) em uma análise da eficácia de um composto de toxóide vacinal contra LC, relatou uma redução no número, no tamanho dos abscessos pulmonares e na disseminação da enfermidade no rebanho. Em estudo realizado posteriormente, Paton et al. (2003) avaliaram a eficácia da vacinação contra LC, em rebanhos ovinos de Nova Gales do Sul, Vitória e Austrália do Oeste. Foi observado que, somente 10% a 15% dos produtores estavam obtendo sucesso no controle da LC a partir dos programas de vacinação recomendados. Além disso, os autores afirmaram que, embora 43% dos criadores utilizassem vacina contra LC, apenas

12% deles utilizavam-na corretamente. Com isso, concluíram que ajustes nos programas de vacinação iriam reduzir drasticamente os índices de prevalência da LC nos rebanhos. Através da utilização de questionários, os autores obtiveram a informação que, dos rebanhos avaliados, 10% utilizavam uma vacina 3 em 1 (contra LC, tétano e enterotoxemia), 32% utilizavam uma vacina 5 em 1 (contra tétano, enterotoxemia, hepatite necrótica infecciosa, edema maligno e carbúnculo sintomático), 36% utilizavam uma vacina 6 em 1 (contra as cinco doenças citadas e LC) e 22% dos rebanhos avaliados não utilizavam qualquer tipo de vacina.

Recentemente, Fontaine et al. (2006) avaliaram a eficácia de vacinas contendo um derivado recombinante da fosfolipase D, células bacterianas mortas pela formalina e uma outra contendo a associação desses dois componentes. Foi observado que as vacinas que continham separadamente a fosfolipase D e células bacterianas mortas conferiram proteção significativa contra a infecção. Mais importante que isso, a vacina que continha a combinação dos dois componentes promoveu proteção absoluta contra a infecção. Neste mesmo experimento, foi avaliada a eficácia de uma vacina não licenciada disponível comercialmente na União Européia. Observou-se uma proteção significativa contra a infecção, embora a disseminação da infecção através do sítio de inoculação não tenha sido restrito, como nas outras vacinas testadas. Entretanto, nenhum animal imunizado por esta vacina apresentou abscessos pulmonares, eliminando, então, uma importante via de disseminação do microrganismo no rebanho.

Uma vacina viva atenuada contra LC (1002), produzida pela Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola – EBDA foi licenciada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento no ano de 2000, para sua produção e comercialização em todo o território nacional brasileiro. A vacina está disponível sob a forma líquida e deve ser administrada pela via subcutânea. Estudos preliminares realizados com o intuito de verificar a eficácia da vacina viva com a cepa 1002 da *C. pseudotuberculosis* demonstraram uma proteção de 83,3% contra a LC em caprinos (Ribeiro et al., 1991). Entretanto, deve-se levar em consideração que o período pelo qual os animais são avaliados após o desafio, assim como a dose do

inóculo para ele utilizada, podem influenciar os resultados da pesquisa. Segundo Brogden et al. (1996), pelo fato de a LC ser uma enfermidade crônica, o sucesso da utilização da vacina não pode ser avaliado somente durante um ano, mas em extensos períodos de tempo de utilização. É importante ressaltar a necessidade de avaliação desta vacina em ambiente controlado, utilizando a mesma quantidade de bactérias no desafio, com acompanhamento dos animais por um período mais prolongado, e que o mesmo experimento seja realizado em meio real, sem o desafio.

Existem duas vacinas comerciais contra LC licenciadas para sua utilização em ovinos, nos Estados Unidos. Uma delas é a "Case-Bac" que contém uma combinação de bacterina e toxóide de *C. pseudotuberculosis*. A outra vacina, a "Caseous D-T", citada anteriormente no estudo de Paton et al. (1991) contém também toxóide de *C. tetani* e de *C. perfringens* tipo D. Berrier (2002) cita um procedimento a ser realizado, no caso de infecção pela *C. pseudotuberculosis* em caprinos, já que estas duas vacinas não devem ser utilizadas nesta espécie animal. Segundo ele, inicialmente, deve ser feito o isolamento e identificação do agente, para confirmar se o agente causador dos abscessos no rebanho é a *C. pseudotuberculosis*. Posteriormente, o autor sugere a produção de vacinas autógenas para o controle da LC. A vacina autógena é caracterizada por ser preparada a partir de um microrganismo causador de doença em um animal ou rebanho e, posteriormente, utilizada nesse mesmo animal ou rebanho, para estimular a imunidade. Antes de utilizá-la em todos os animais do rebanho, Berrier (2002) sugere que, inicialmente, a vacina seja testada em um número limitado de animais, para verificar a eficácia e a viabilidade de sua aplicação.

Brogden et al. (1990) conduziu um estudo para avaliação do efeito do dipeptídeo muramyl (MDP) na resposta imune produzida por uma vacina contendo células bacterianas mortas (CBM) da *C. pseudotuberculosis*, em ratos e cordeiros. Em ratos, a proteção induzida pela vacina estava relacionada à concentração de CBM utilizada. Utilizando-se concentrações de 10 e 25  $\mu\text{g}$ , a proteção vacinal desenvolvida foi baixa (54,7%), ao contrário da proteção desenvolvida com o uso de concentrações de 50, 100 e 150  $\mu\text{g}$  de CBM (78,8%). Em altas concentrações de CBM, houve um pequeno



aumento na proteção para 82,3%, com a utilização de altas concentrações de MDP (50 e 100  $\mu\text{g}$ ). Entretanto, um aumento significativo na proteção para 90%, foi observado com a utilização de baixas concentrações de MDP (5 e 10  $\mu\text{g}$ ). Em baixas concentrações de CBM, a utilização de altas concentrações de MDP ocasionou um decréscimo significativo para 32% na proteção. Porém, a utilização de baixas concentrações de CBM foi responsável por um aumento na proteção vacinal para 72,5%. A proteção induzida a partir de baixas concentrações de CBM e MDP foi, então, similar a altas concentrações de CBM sem a utilização de MDP. A proteção vacinal e a presença de abscessos nos locais de aplicação da vacina em cordeiros, também estavam relacionadas às concentrações de CBM e de MDP. Além disso, foi observado que em todos os cordeiros vacinados com 1 mg de CBM associado a 50  $\mu\text{g}$  de MDP, não houve desenvolvimento de abscessos pulmonares ou nos locais da vacinação.

A partir dos estudos citados anteriormente, observa-se que uma série de vacinas produzidas a partir da inativação da fosfolipase D pela formalina, vem sendo testada ultimamente, já que este antígeno é considerado o principal fator de proteção contra a infecção pela *C. pseudotuberculosis*. Entretanto, a inativação genética da fosfolipase D ("Toxminus") tem-se mostrado como uma alternativa para produção de novas vacinas contra a LC, apesar de ainda não existirem resultados concretos quanto a sua eficácia.

Um estudo realizado por Hodgson et al. (1999), testou a eficácia de uma vacina com a forma geneticamente inativada da fosfolipase D, em ovinos, com substituição da histidina-20 pela serina. Os resultados indicaram que a vacina alterada geneticamente conferiu uma proteção de somente 44% dos animais, contra uma proteção de 95% oferecida pela vacina com inativação da fosfolipase D pela formalina. Segundo os autores deste estudo, a razão para a variação observada entre as duas vacinas é desconhecida, já que não havia sido constatada diferença significativa em relação aos níveis de anticorpos produzidos pelos animais.

Moore et al. (1999) avaliaram a capacidade de atuação do "Toxminus" como vetor vacinal vivo, através da expressão de gens externos e indução

de produção de anticorpos contra a *C. pseudotuberculosis*. Como resultados, os autores observaram que, em geral, os níveis de expressões gênicas foram baixos, e aparentemente, houve uma boa tolerância do "Toxminus" em relação às proteínas recombinantes produzidas. As expressões gênicas, entretanto, foram suficientemente altas para induzir níveis de anticorpos específicos contra as proteínas recombinantes, a partir da aplicação de uma dose única de "Toxminus".

O gen *pld*, que codifica a fosfolipase D e o gen *aro Q* da *C. pseudotuberculosis*, que codifica a enzima 3-desidroquinase tipo II, também foram modificados com o intuito de induzir uma proteção vacinal em ovinos, em estudo de Simmons et al. (1998). Os autores observaram que mutantes *aro Q* foram incapazes de induzir a produção de IFN-gamma em ovinos, e foram responsáveis por uma baixa produção de anticorpos contra a *C. pseudotuberculosis* nesses animais. Entretanto, constatou-se uma redução na severidade da enfermidade após o desafio. Já os mutantes *pld*, induziram uma resposta imune relacionada à produção de IFN-gamma pelos linfócitos, e níveis, relativamente altos de anticorpos.

Um estudo realizado por Chaplin et al. (1999) foi desenvolvido para avaliar a resposta imune humoral de ovinos, a partir da utilização de vacinas de DNA contendo o domínio extracelular de bovino, CTLA-4 (linfócito T citotóxico associado à proteína 4). A função da utilização do CTLA-4 na produção de vacinas de DNA está relacionada à sua ligação ao antígeno de membrana B7, das células apresentadoras de antígeno (APCs), promovendo a fusão dos antígenos aos sítios de indução da resposta imune. Conforme os resultados obtidos neste trabalho, foi demonstrado um aumento significativo na velocidade, magnitude e longevidade da resposta humoral, em comparação aos dados obtidos a partir da alteração genética do *pld*. Em conclusão, os autores sugerem, como uma nova estratégia para superar a fraca resposta imune que vem sendo associada às vacinas de DNA, a realização de alterações genéticas que promovam a ligação de antígenos às APCs, com conseqüente indução da resposta imune nos animais.

## Tratamento

A *C. pseudotuberculosis* é sensível, *in vitro*, a vários antibióticos, entre eles, penicilina, ampicilina, cloranfenicol, eritromicina, gentamicina e tetraciclina (Campbell et al., 1982). Contudo, de acordo Ashfaq & Campbell (1979), citados por Costa (2002), sua utilização para o tratamento, *in vivo*, da infecção pela *C. pseudotuberculosis* não é eficaz por diversas razões como, o nível baixo do antibiótico no abscesso devido à cápsula fibrosa ou a presença de pus, e a localização intracelular do microrganismo nas células fagocíticas, que impede o contato com quantidades substanciais de antibiótico.

O tratamento convencional da doença consiste na drenagem e cauterização química dos abscessos, utilizando-se solução de iodo a 10%. Após isolamento do animal, tricotomia e assepsia do local, deve ser realizada uma incisão vertical longa na região mediana ao bordo inferior do abscesso para facilitar a drenagem e limpeza interna do mesmo. Retira-se todo o material purulento, tendo o cuidado para armazená-lo em saco plástico, ou balde. Injeta-se solução de iodo a 10% externa e internamente, e recomenda-se colocar uma gaze com a mesma solução dentro da lesão, com o objetivo de absorver o restante de material infectivo e ao mesmo tempo, facilitar a cicatrização da lesão. O animal deve ser mantido isolado. A gaze deve ser trocada em 24 horas e o procedimento repetido mais duas vezes. Queimar e enterrar o material purulento e desinfetar os instrumentos em álcool a 70% por imersão e flambar. Cuidados especiais devem ser tomados para evitar a contaminação ambiental prevenindo a disseminação do agente (Alves et al., 1997) e para proteger o pessoal envolvido no manejo dos animais, já que existem relatos na literatura de infecção humana pela *C. pseudotuberculosis*.

Bulgin (1998), citado por Anderson et al. (2005) descreveu a utilização de solução de formalina a 10% como técnica alternativa para o tratamento da LC. Porém, o uso de “autovacinas” em animais destinados ao consumo humano é controverso devido ao risco da formalina ser introduzida na cadeia alimentar.

## Perspectivas Futuras

O campo voltado para a pesquisa relacionada à LC e ao seu agente causador ainda é amplo, almejando alcançar seu completo entendimento, e consequentemente obter o controle eficaz da enfermidade.

As perspectivas de pesquisas em relação à LC baseiam-se em alguns pontos principais. Entre eles, estão incluídos o estudo da cinética da resposta imune em caprinos e ovinos, em diferentes faixas etárias; a avaliação do tipo de vacina e veículo; o estudo da eficácia das vacinas existentes sob condições naturais de exposições à doença e em ambiente controlado; a caracterização bioquímica e genética de cepas da *C. pseudotuberculosis* da região; a caracterização e a identificação dos principais antígenos da *C. pseudotuberculosis* reconhecidos por anticorpos presentes nos soros de caprinos e ovinos infectados naturalmente ou imunizados contra a LC; o estudo da relação entre o padrão de reconhecimento de antígenos da *C. pseudotuberculosis* nas diferentes fases evolutivas da doença; a produção de vacina de DNA contra a LC e realização de testes em camundongos, caprinos e ovinos; e, finalmente, a implantação e a avaliação de programas de controle baseados na vacinação, associados às boas práticas de produção em regiões e propriedades, no meio real.

## Referências Bibliográficas

ALVES, F. S. F. **Immunokinetics of goats with *C. ovis* vaccination and infection**, 1988. 68 p. Tese (Mestrado em Patologia Comparada) – University of California, Davis.

ALVES, F. S. F.; OLANDER, H. J. Teste de pele em caprinos vacinados e infectados com *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 7, p. 1313-1318, jul. 1999.

ALVES, F. S. F.; OLANDER, H. J. Uso de uma vacina toxoide no controle da linfadenite caseosa em caprinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 20, n. 2, p. 74-77, 1998.

ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. A importância da saúde animal no agronegócio da caprino-ovinocultura. In: SEMINÁRIO NORDESTINO DE PECUÁRIA, 9., 2005, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Federação da Agricultura e Pecuária do Estado do Ceará, 2005. v. 1. p. 10-22.

ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; COX, M.; ANDRIOLI, A.; AQUINO NETO, H. M. de; SILVA, A. M. da C. Epididimite-Orquite causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 1, p. 11-16, 2004.

ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; PIRES, P. C. **Linfadenite caseosa: patogenia, diagnóstico, controle.** Sobral: EMBRAPA-CNPC, 1997. 16 p. (EMBRAPA-CNPC. Documentos, 27).

ANDERSON, D. E.; RINGS, D. M.; PUGH, D. G. Enfermidades do sistema tegumentar. In: PUGH, D. G. (Ed.). **Clínica de ovinos e caprinos.** São Paulo: Roca, c2005. Cap. 8. p. 221-249.

ANDERSON, M.; NAIRN, M. E. Control of caseous lymphadenitis in goats by vaccination. **Colloques de L'INRA**, v. 28, p. 605-609, 1984.

ARSENAULT, J.; GIRARD, C.; DUBREUIL, P.; DAIGNAULT, D.; GALARNEAU, J. R.; BOISCLAIR, J.; SIMARD, C.; BELANGER, D. Prevalence of and carcass condemnation from maedi-visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 59, n. 1, p. 67-81, 2003.

BATEY, R. G. Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 63, n. 9, p. 269-272, 1986.

BATEY, R. G.; SPEED, C. M.; KOBES, C. J. Prevalence and distribution of lymphadenitis in feral goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 63, n. 2, p. 33-36, 1986.

BERRIER, R. J. CLA in goats. **Veterinarian's Corner**, v. 2, n. 10, Dec. 2002.

Disponível em: < <http://www.colorado-serum.com/vets.html> > . Acesso em: 9 jul. 2007.

BIBERSTEIN, E. L.; KNIGHT, H. D.; JANG, S. Two biotypes of *Corynebacterium pseudotuberculosis*, **Veterinary Record**, v. 89, n. 26, p. 691–692, 1971.

BINNS, S. H.; BAIRLEY, M.; GREEN, L. E. Postal survey of ovine caseous lymphadenitis in the United Kingdom between 1990 and 1999. **Veterinary Record**, v. 150, n. 9, p. 263–268, 2002.

BINNS, S. H.; GREEN, L. E.; BAIRLEY, M. Development and validation of an ELISA to detect antibodies to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in ovine sera. **Veterinary Microbiology**, v. 123, n. 1/3, p. 169-179, Jul. 2007.

BLOOD, D. C.; HENDERSON, J. A. **Medicina veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 871 p.

BROGDEN, K. A.; CHEDID, L.; CUTLIP, R. C.; LEHMKUHL, H. D.; SACKS, J. Effect of muramyl dipeptide on immunogenicity of *Corynebacterium pseudotuberculosis* whole-cells vaccines in mice and lambs. **American Journal Veterinary Research**, v. 51, n. 2, p. 200-202, Feb. 1990.

BROGDEN, K. A.; GLENN, J.S.; EAST, N.; AUDIBERT, F. A *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacterin with muramyl dipeptide induces antibody titers, increases the time of onset, and decreases naturally occurring external abscesses in sheep and goat. **Small Ruminant Research**, v. 19, n. 2, p. 161-168, Feb. 1996.

BROWN, C. C. **Caseous Lymphadenitis of goats**. 1985. 83 f. (Doctor of Philosophy Thesis) - University of California, Davis.

BROWN, C. C.; OLANDER, H. J. Caseous lymphadenitis of goats and sheep: a review. **Veterinary Bulletin**, v. 57, n. 1, 1987.

BROWN, C. C.; OLANDER, H. J.; ALVES, F. S. F. Synergistic hemolysis-

inhibition titers associated with caseous lymphadenitis in a slaughterhouse survey of goats and sheep in Northeastern Brazil. **Canadian of Journal Veterinary Research**, v. 51, n. 1, p. 46–49, 1987.

BROWN, C. C.; OLANDER H. J. ; BIBERSTEIN E. L. ; MORSE S. M. Use of a toxoid vaccine to protect goats against intradermal challenge exposure to *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **American Journal Veterinary Research**, v. 47, n. 5, p. 1116–1119, 1986.

BURRELL, D. H. Caseous lymphadenitis in goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 57, n. 3, p. 105-110, 1981.

BURRELL, D. H. Conditions for in vitro haemolytic activity by *Corynebacterium ovis* exotoxin. **Research Veterinary Science**, v, 26, n. 3, p. 333-338, 1979.

CAMPBELL, S. G.; ASHFAQ, M. K.; TASHJIAH, J. J. Caseous lymphadenitis in goats in the U.S.A. In: In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOAT PRODUCTION AND DISEASE, 3., 1982, Tucson. **Proceedings...** Scottsdale: Dairy Goat Journal, 1982. p. 449-454.

CARMINATI, R. **Estudo da sensibilidade e especificidade de quatro testes ELISA e utilização da técnica de PCR para o diagnóstico de Linfadenite Caseosa em caprinos**. 2005. 82 f. Tese (Mestrado em Imunologia) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

CARNE, H. R. A bacteriology study of 134 strain of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **The Journal of Pathology and Bacteriology**, n. 49, n. 2, p. 313, 1939.

CARNE, H. R. The toxin of *Corynebacterium ovis*. **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 51, n. 2, p. 199-212, 1940.

CARTER, G.R.; CLAUS, W.; RIKIHISA, Y. **Essentials of veterinary bacteriology and mycology**. 3.th. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 261 p.

ÇETINKAYA, B.; KARAHAN, M.; ATIL, E.; KALIN, R.; DE BAERE, T.; VANECHOUTTE, M. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. **Veterinary Microbiology**, v. 88, n. 1, p 75-83, Aug. 2002.

CHAPLIN, P. J.; DE ROSE, R.; BOYLE, J. S.; McWATERS, P.; KELL, J.; TENNENT, J. M.; LEW, A. M.; SCHEERLINCK, J.-P. Y. Targeting improves the efficacy of a DNA vaccine against *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep. **Infection and Immunity**, v. 67, n. 12, p. 6434–6438, Dec. 1999.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. 843 p.

COSTA, L. F. M. *Corynebacterium pseudotuberculosis*, o agente etiológico da linfadenite caseosa em caprinos. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 1, n. 1, p. 105-115, nov. 2002.

COSTA, L. F. M.; MOURA-COSTA, L. F.; PAULE, B. J. A.; FREIRE, S. M.; NASCIMENTO, I.; SCHAER, R.; REGIS, L. F.; VALE, V. L. C.; MATOS, D. P.; BAHIA, R. C.; CARMINATI, R.; MEYER, R. Meio sintético quimicamente definido para o cultivo de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção. Animal**, v.3, n.1, p.1-9, 2002. Disponível em: < <http://www.rbspa.ufba.br/viewarticle.php?id=66> > . Acesso em: 9 jun. 2007.

DERCKSEN, D. P.; BRINKHOF, J. M. A.; DEKKER-NOOREN, T.; MAANEN, K. van; BODE, C. F.; Baird, G.; Kamp, E. M. A comparison of four serological tests for the diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. **Veterinary Microbiology**, v. 75, n. 2, Jul. p.167–175, 2000.

DORELLA, F. A.; PACHECO, L. G.C.; OLIVEIRA, S. C.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Veterinary Research**, v. 37, p. 201-218, 2005.



- EGGLETON, D. G.; MIDDLETON, H. D.; DOIDGE, C. V.; MINTY, D. W. Immunization against ovine caseous lymphadenitis: comparison of *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccines with and without bacterial cells. **Australian Veterinary Journal**, v. 68, n. 10, p. 317-319, 1991.
- ELLIS, J. A.; HAWK, D. A.; HOLLER, L. D.; MILLS, K.W.; PRATT, D. L. Differential antibody responses to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep with naturally acquired caseous lymphadenitis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 10, p.1609-1613, 1990.
- ELLIS J. A.; HAWK, D. A.; MILLS, K.W.; PRATT, D. L. Antigen specificity of antibody responses to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in naturally infected sheep with caseous lymphadenitis. **Veterinary Immunology Immunopathology**, Amsterdam, v. 28, n. 3/4, p. 289-301, Jul. 1991a.
- ELLIS J. A.; HAWK, D. A.; MILLS, K.W.; PRATT, D. L. Antigen specificity and activity of ovine antibodies induced by immunization with *Corynebacterium pseudotuberculosis* culture filtrate. **Veterinary Immunology Immunopathology**, Amsterdam, v. 28, n. 3/4, p. 303-316, 1991b.
- FAO. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. 2004. Disponível em: <<http://www.fao.org.br>> . Acesso em: 12 out. 2007.
- FAO. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://apps.fao/faostat/notes/citation.htm>> . Acesso em: 27 jul.2007.
- FIGUEIREDO, E. A. P.; SHELTON, M.; PANT, K. P. **Goats skins**. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOAT PRODUCTION AND DISEASE, 3., 1982, Tucson. **Proceedings...** Scottsdale: Dairy Goat Journal, 1982. p. 488-490.
- FONTAINE, M. C.; BAIRD, G.; CONNOR, K. M.; RUDGE, K.; SALES, J.; DONACHIE, W. Vaccination confers significant protection of sheep against infection with a virulent United Kingdom strain of *Corynebacterium*

*pseudotuberculosis*, **Vaccine**, v. 24, n. 33/34, p. 5986-5996, 2006.

GATES, N. L.; EVERSON, D. O.; HULET, C. V. Effects of thin ewe syndrome on reproductive efficiency. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 171, n. 12, p. 1266-1267, Dec. 1977.

HARD, G. C. Electron Microscopic Examination of *Corynebacterium ovis*. **Journal of Bacteriology**, v. 97, n. 3, p. 1480-1485, 1969.

HODGSON, A. L.; CARTER, K.; TACHEDJIAN, M.; KRYWULT, J.; CORNER, L. A.; McCOLL, M.; CAMERON, A. Efficacy of an ovine caseous lymphadenitis vaccine formulated using a genetically inactive form of the *Corynebacterium pseudotuberculosis* phospholipase D. **Vaccine**, v. 17, p. 802-808, 1999.

IBGE - Sistema IBGE de recuperação automática: SIDRA. Banco de dados agregados. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?Z=t&o=21&i=P>. Acesso em: 4 out. 2007.

IONEDA, T.; SILVA, C. L. Purification of 1-monoacylglycerols containing alpha-branched-beta-hydroxylated fatty acids from lipids of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 25, n. 1, p. 85-91, 1979.

JOLLY, R. D. The pathogenesis of experimental *Corynebacterium ovis* infection in mice. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 13, n. 6, p. 141-147, Dec. 1965.

JOLLY, R. D. Some observations on surface lipids of virulent and attenuated strains of *Corynebacterium ovis*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 29, p. 189-196, 1966.

KABA, J.; KUTSCHKE, L.; GERALD-F. GERLACH, G. -F. Development of an ELISA for the diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in goats. **Veterinary Microbiology**, v. 78, n. 2, p. 155-163, Jan. 2001.

KNIGHT, H. D. A serological method for the detection of *Corynebacterium*

*pseudotuberculosis* infections in horses. **Cornell Veterinarian**, v. 68, n. 2, p. 220-237, Abr. 1978.

LAL KRISHNA; KULSHRESTHA, S. B.; PALIWAL, O. P. Epididimo-Orchitis in ram due to *Corynebacterium ovis*. **Indian Veterinary Journal**, v. 54, n. 2, p. 517-519, 1977.

LAN, D. T.; TANIGUCHI, S.; MAKINO, S.; SHIRAHATA, T.; NAKANE, A. Role of endogenous tumor necrosis factor alpha and gamma interferon on resistance to *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in mice. **Microbiology and Immunology**, v. 42, n. 12, p. 863-870, 1998.

LANGENEGGER, C.H.; LANGENEGGER, J.; COSTA, S.G. Alérgeno para o diagnóstico da linfadenite caseosa em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 7, n. 2, p. 27-32, 1987.

LIMA, M. C. L. F. **Prevalência da Linfadenite Caseosa dos Caprinos no Município de Casa Nova – Bahia**. 1980. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Salvador.

LIU, D. T.; CHAN, W. M.; FAN, D. S.; LAN, D. S. An infected hydrogel buckle with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **British Journal of Ophthalmology**, v. 89, p. 245–246, 2005.

LOPEZ, J. F.; WONG, F. M.; QUESADA, J. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: first case of human infection. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 46, n. 5, p. 562-567, 1966.

LOVELL, R.; ZAKI, M. M. Studies on growth products of *Corynebacterium ovis*. I. The exotoxin and its lethal action on white mice. **Research in Veterinary Science**, v. 7, n. 3, p. 302-306, 1966.

McNAMARA, P. J.; BRADLEY, G. A.; SONGER, J. G. Targetted mutagenesis of the phospholipase D gen results in decreased virulence of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Molecular Microbiology**, v. 12, p. 921–930, 1994.

- MILLS, A. E.; MITCHELL, R. D.; LIM, E. K. *Corynebacterium pseudotuberculosis* is a cause of human necrotising granulomatous lymphadenitis. **Pathology**, v. 29, n. 2, p. 231–233, May. 1997.
- MOORE, R. J.; ROTHEL, L.; KRYWULT, J.; RADFORD, A. J.; LUND, K.; ADRIAN L. M. HODGSON, A. L. M. Foreign gene expression in *C. pseudotuberculosis*: development of a live vaccine vector. **Vaccine**, v. 18, n. 5/6, p. 487–497, 1999.
- MOURA-COSTA, M. D. de; CAMARA, J. Q.; ROCHA, J. V. N. da; MARTINEZ, T. C. N. Linfadenite Caseosa dos caprinos no estado da Bahia. Distribuição geográfica da doença. **Boletim do Instituto Biológico da Bahia**, Salvador, v. 12, n. 1, p. 1-7, 1973.
- MUCKLE, C. A.; GYLES, C. L. Characterization of strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 46, n. 2, p. 206–208, 1982.
- MEYER, R. ***Corynebacterium pseudotuberculosis* e o hospedeiro caprino: aspectos da prevalência, do diagnóstico e da imunidade.** 2004. Tese (Doutorado em Imunologia) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador.
- MEYER, R.; REGIS, L. F.; VALE, V.; PAULE, B.; CARMINATI, R.; BAHIA, R.; MOURA-COSTA, L.; SCHAER, R.; NASCIMENTO, I.; FREITE, S. M. *In vitro* IFN-gamma production by goat blood cells, after stimulation with somatic and secreted *Corynebacterium pseudotuberculosis* antigens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 15, n. 34, p. 249-254, 2005.
- NAIRN, M. E.; ROBERTSON, J. P. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep: role of skin lesions and dipping fluid. **Australian Veterinary Journal**, v. 50, n. 12, p. 537-342, Dec. 1974.
- NORTH, R. J. The concept of the activated macrophage. **The Journal of Immunology**, v. 121, p. 806-809, 1978.

PACHECO, L. G. C. **Desenvolvimento de um ensaio de PCR-multiplex para identificação de isolados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* e rápida detecção dessa bactéria em amostras clínicas.** 2006. 107 f. Tese (Mestrado em Genética) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

PATON, M. W.; MERCY, A. R.; SUTHERLAND, S. S.; ELLIS, T. M.; DUDA, S. R. The effect of antibody to caseous lymphadenitis in ewes on the efficacy of vaccination in lambs, **Australian Veterinary Journal**, v. 68, n. 4, p. 143–146, 1991.

PATON, M. W.; ROSE, I. R.; HART, R. A.; SUTHERLAND, S. S.; MERCY, A. R.; ELLIS, T. M.; DHALIWAL, J. A. New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production. **Australian Veterinary Journal**, v. 71, n. 2, p. 47–49, Fev. 1994.

PATON, M. W.; SUTHERLAND, S. S.; ROSE, I. R.; HART, R. A.; ELLIS, T. M. The spread of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection to unvaccinated and vaccinated sheep. **Australian Veterinary Journal**, v. 72, n. 7, p. 266–269, Jul. 1995.

PATON, M. W.; WALKER, S. T.; ROSE, I. R.; WATT, G. T.; MERCY, A. R.; Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. **Australian Veterinary Journal**, v. 81, n. ½, p. 91–95, Jan./Fev. 2003.

PAULE, B. J. A.; AZEVEDO, V.; MOURA-COSTA, L. F.; FREIRE, S. M.; REGIS, L. F.; VALE, V. L. C.; BAHIA, R. C.; CARMINATI, R.; MEYER, R. SDS-PAGE and Western blot analysis of somatic and extracellular antigens of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 3, n. 1, p. 44-52, jan./jun. 2004.

PAULE, B. J. A.; AZEVEDO, V.; REGIS, L. F.; CARMINATI, R.; BAHIA, C. R.; VALE, V. L. C.; MOURA-COSTA, L. F.; FREIRE, S. M.; NASCIMENTO, I.; SCHAER, R.; GOES, A. M.; MEYER, R. Experimental *Corynebacterium*

*pseudotuberculosis* primary infection in goats: kinetics of IgG and interferon-gamma production, IgG avidity and antigen recognition by Western blotting. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 96, p. 129–139, 2003.

PEEL, M. M. PALMER, G. G.; STACPOOLE, A. M.; KERR, T. G. Human lymphadenitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis*: report of ten cases from Australia and review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, n. 2, p. 185–191, Fev. 1997.

PÉPIN, M.; PITTET, J. C.; OLIVIER, M.; GOHIN, I. Cellular composition of *Corynebacterium pseudotuberculosis* pyogranulomas in sheep. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 56, n. 5, p. 666-670, 1994.

PINHEIRO R. R.; ALVES F. S. F.; ANDRIOLI, A. Diagnóstico precoce de doenças e sua importância na produção de caprinos e ovinos. In: SEMINARIO NORDESTINO DE PESCUÁRIA, 6.; SEMANA DA CAPRINO-OVINOCULTURA BRASILEIRA 3.; FEIRA DE PRODUCAO E SERVICOS AGROPECUARIOS, 6., 2002, Fortaleza. **Palestras técnicas**. Fortaleza: Federação da Agricultura do Estado do Ceara, 2002. p.7-21.

PRESCOTT, J. F.; MENZIES, P. I.; HWANG, Y. T. An interferon-gamma assay for diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in adult sheep from a research flock. **Veterinary Microbiology**, v. 88, n. 3, p. 287–297, Set. 2002.

PRODHAN, M. A. M.; OLANDER H. J.; GARDNER I. A. A comparison of dot-blot assay with the synergistic haemolytic inhibition test in goats naturally infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Veterinary Research Communications**, v. 17, n.3, p. 193-196, 1993.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária**: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c2002. 1737 p.

REGIS, L. **Aspectos da resposta celular de caprinos a antígeno somático e**

**antígeno secretado de *Corynebacterium pseudotuberculosis***. 2001. 70 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

RIBEIRO, M. G. ; DIAS JUNIOR, J. G. ; PAES, A.C.; BARBOSA, P. G.; NARDI JÚNIOR, G.; LISTONI, F. J. P. Punção Aspirativa com agulha fina no diagnóstico do *Corynebacterium pseudotuberculosis* na linfadenite caseosa caprina. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 23-28, jan./jun., 2001.

RIBEIRO, O. C.; SILVA, J. H. da; OLIVEIRA, S.C.; MEYER, R.; FERNANDES, G. B. Dados preliminares sobre uma vacina viva contra a linfadenite caseosa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 461-465, 1991.

SIMMONS, C. P.; DUNSTAN, S. J.; TACHEDJIAN, M.; KRYWULT, J.; HODGSON, A. L. M.; STRUGNELL, R. A. Vaccine potential of attenuated mutants of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep. **Infection and Immunity**, v. 66, n. 2, p. 474-479, Fev. 1998.

SONGER, J. G. Bacterial phospholipases and their role in virulence. **Trends in Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 156–160, Apr. 1997.

SONGER, J. G. BECKENBACH, K.; MARSHALL, M. M.; OLSON, G. B.; KELLEY, L Biochemical and genetic characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **American Journal of Veterinary Research**, n. 49, v. 2, p. 223–226, 1988.

SONGER, J. G.; LIBBY, S. J.; IANDOLO, J. J.; CUEVAS, W. A. Cloning and expression of the phospholipase D gene from *Corynebacterium pseudotuberculosis* in *Escherichia coli*. **Infection and Immunity**, n. 58, n. 1, p. 131–136, Jan. 1990.

STANFORD, K.; BROGDEN, K. A.; McCLELLAND, L. A.; KOZUB, G. C.; AUDIBERT, F. The incidence of caseous lymphadenitis in Alberta sheep

and assessment of impact by vaccination with commercial and experimental vaccines. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 1, p. 38–43, Jan. 1998.

STING, R.; STENG, G.; SPENGLER, D. Serological studies on *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in goats using enzyme-linked immunosorbent assay. **Zentralbl Veterinarmed B**, Berlim, v. 45, n. 4, p. 209-216, May, 1998.

TAKAHASHI, T.; MORI, Y.; KOBAYASHI, H.; OCHI, M.; KIKUSCHI, N.; HIRAMUNE, T. Phylogenetic positions and assignments of swine and ovine corynebacteria isolated based on the 16S rDNA sequence. **Microbiology and Immunology**, v. 41, p. 649-655, 1997.

TASHJIAN, J. J.; CAMPBELL, S. G. Interaction between caprine macrophages and *Corynebacterium pseudotuberculosis*: an electron microscopy study. **American Journal of Veterinary Research**, v. 44, n. 4, p. 690–693, Apr. 1983.

TER LAAK, E. A.; BOSCH, J.; BIJL, G. C.; SCHREUDER, B. E. C. Double-antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay and immunoblot analysis used for control of caseous lymphadenitis in goats and sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 7, p. 1125–1132, Jul. 1992.

UNANIAN, M. M.; FELICIANO SILVA, A. E. D.; PANT, K. P. Abscesses and caseous lymphadenitis in goats in tropical semi-arid North-east Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 17, n. 1, p. 57-62, Fev. 1985.

VAISEH, F. P. **Development of a dot-blot assay for sero-diagnosis of caseous lymphadenitis, using a purified exotoxin as antigen**. 1990. 65 f. (Doctor of Philosophy Thesis) - University of California, Davis.

VALE, V. L. C. **Reconhecimento de antígenos por caprinos naturalmente infectados e imunizados contra *Corynebacterium pseudotuberculosis***. 2000. 52 f. Tese (Mestrado em Imunologia) – Instituto de Ciências da



Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

WALKER, H.; JACKSON, H.; BRANDON, M. R.; MEEUSEN, E.  
Lymphocyte subpopulations in pyogranulomas of caseous lymphadenitis.  
**Clinical and Experimental Immunology**, v. 86, n. 1, p. 13-18, Oct. 1991.

WALKER, J.; JACKSON, H.; EGGLINTON, D. E.; MEEUSEN, E.; WILSON,  
M. J.; BRANDON, M. R. Identification of a novel antigen from  
*Corynebacterium pseudotuberculosis* that protects sheep against caseous  
lymphadenitis. **Infection and Immunity**, v. 62, n. 6, p. 2562–2567, 1994.

WILLIAMS, C. S. F. Differential diagnosis of caseous lymphadenitis in the  
goat. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*, v. 75, n. 7, p. 1165-  
1169, 1980.

WILLIAMSON, L. H. Caseous lymphadenitis in small ruminants. **The  
Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, n. 17, n. 1, p.  
359–371, Jul. 2001.

WILSON, M. J.; BRANDON, M. R.; WALKER, J. Molecular and biochemical  
characterization of a protective 40 kilo-dalton antigen from  
*Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Infection and Immunity**, v. 63, n. 1,  
p. 206-211, 1995.

ZAKI, M. M. The application of a new technique for diagnosing  
*Corynebacterium ovis* infection. **Research in Veterinary Science**, v. 9, n. 6,  
p. 489-493, Nov. 1968.

ZAKI, M. M. Relation between the toxigenicity and pyogenicity of  
*Corynebacterium ovis* in experimentally infected mice. **Research in  
Veterinary Science**, v. 20, n. 2, p. 197-200, 1976.