

IMUNOPROFILAXIA DA LINFADENITE CASEOSA

Francisco Selmo Fernandes ALVES^{1*}

EMBRAPA/CNPC

INTRODUÇÃO



A Linfadenite Caseosa (LC) é uma doença infecciosa crônica e debilitante de ocorrência mundial que acomete caprinos e ovinos causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*. A doença clássica é caracterizada pela presença de abscessos nos linfonodos externos e internos. A forma superficial causa perdas econômicas de, aproximadamente, 40%, devido à desvalorização da pele (FIGUEREDO et al., 1982, GUSS, 1977; RENSHAW et al., 1979; MADDY, 1953), custos com mão-de-obra, medicamentos e a redução da produção de leite (BURREL, 1981). A forma interna é mais grave e menos freqüente, envolve os gânglios de órgãos como o(s) pulmão(ões), fígado e em menor proporção rins e baço, podendo resultar na perda do animal pela morte e/ou ocasionar a condenação das vísceras e carcaças (GUSS, 1977).

O Nordeste é a região brasileira de maior prevalência, visto que, 93,7% dos caprinos e 48,14% dos ovinos do país encontram-se nesta região (ANUÁRIO, 1998). A vegetação espinhosa e a falta de orientação adequada aos produtores quanto ao manejo sanitário, são fatores de grande relevância na disseminação desta patogenia. SILVA & SILVA (1982); UNANIAN & SILVA (1983), observaram uma prevalência de 50 e 27%, em caprinos, respectivamente, indicando que o ambiente age como fonte constante de contaminação. A via de penetração mais comum é a cutânea, através de ferimentos, arranhões ou mesmo da pele intacta. Entretanto, pode ocorrer por meio das vias respiratória, digestiva e da monta quando na presença de solução de continuidade (NAGY, 1976).

Diante disto, o controle sanitário não tem tido êxito satisfatório, colaborando para isto, a sobrevivência dos microorganismos por longo período de tempo no ambiente e a ruptura de apenas um abscesso pode, teoricamente, vir a infectar todo o rebanho (AUGUSTINE & RENSHAW, 1982). Medidas como o cuidado na abertura dos abscessos antes do rompimento espontâneo e a remoção do material infectado podem limitar a contaminação e reduzir a incidência nos animais. Portanto, a imunoprofilaxia faz-se com a melhor arma para o controle desta enfermidade.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico é realizado através da observação de abscessos nos linfonodos superficiais, de exames bacteriológicos e testes sorológicos. Vários têm sido utilizados, entretanto, a maioria avalia a imunidade humoral causada pela exotoxina da bactéria, que produz uma potente toxina, primeiramente descrita por CARNE (1940). Esta na presença de *C. equi*, produz a hemólise sinérgica (BERNHEIMER, 1980). Isto é a base do teste de Inibição da Hemólise Sinérgica (IHS) descrito por KNIGHT (1978), no qual pode ser utilizado na detecção de anticorpos. Outros como: a aglutinação indireta, a hemo-aglutinação, a inibição de anti-hemolisina, a imunodifusão e o Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) têm demonstrado diferentes graus de sensibilidade e especificidade. O IHS está sendo utilizado na Embrapa Caprinos, em virtude do baixo custo, fácil

*Endereço para correspondência:
Embrapa Caprinos. Cx. Postal D10
CEP. 62011-970, Sobral-CE.
e-mail: selmo@cnpc.embrapa.br

aplicabilidade e elevada sensibilidade e especificidade em caprinos e ovinos. O ELISA é mais sensível que o IHS, quando se utiliza a toxina bacteriana ao invés da parede celular. Entretanto, para a realização daquele ensaio, é necessário um equipamento laboratorial sofisticado, inviabilizando a sua aplicabilidade a campo. O DOT BLOT vem demonstrando similaridade em termos de sensibilidade e especificidade comparado ao IHS e ELISA.

IMUNOPROFILAXIA

Poucos são os grupos que têm investido nos estudos da *C. pseudotuberculosis* para a produção de uma vacina eficiente. Várias tentativas de vacinar ovinos com vacina morta, Bacterin, foram efetivadas (CAMERON et al., 1972), porém, não houve imunoproteção contra a doença clínica. Bacterin misturada à toxina de Clostrídios, permitiu proteção em ovelhas, avaliadas pela redução de abscessos nas carcaças. LEAMASTER et al. (1987) e BROGDEN & AUDIBERT (1994), utilizaram bacterina do *C. pseudotuberculosis* e muramyl dipeptide como adjuvante em ovinos infectados experimentalmente, que conferiu proteção contra a bactéria sem reações adversas.

O desenvolvimento de uma vacina viva atenuada elaborada através de uma amostra de *C. pseudotuberculosis*, mostrou resultados significativos em caprinos. Através de exames anatomopatológicos, verificou-se que utilizada sem adjuvante, houve imunoproteção de 83,3% (RIBEIRO et al., 1991). Na infecção natural, é provável que o número de bactérias seja menor e menos severo o desafio.

Pela dificuldade no controle da LC, têm-se pesquisado mecanismos de proteção que poderiam auxiliar no desenvolvimento de uma vacina eficaz. ZAKI (1976), sugeriu que a exotoxina fosse a responsável pela expansão da infecção *in vivo*, visto que, seria prevenido com uma antitoxina. A natureza da imunidade de proteção foi postulada por JOLLY (1965), na qual seria do tipo celular associada com o começo da resistência adquirida. CAMERON et al. (1969), concluíram que o agente imunizador era uma

proteína da parede bacteriana. O papel da imunidade celular foi examinado por HARD (1970) e a transferência de células-imune foi efetivada em camundongos. ZAKI (1976), concluiu que a antitoxina não interfere na multiplicação do organismo, mas impede a expansão sistêmica. BROWN (1985), cita que as imunidades humoral e celular, figuram proteção contra a doença, a resposta humoral sendo a antitoxina e a celular uma restrição à proliferação.

A antitoxina tem provado ajudar no controle da doença. MINTY et al. (1991), cita que nos anos 60, utilizaram cultura filtrada (toxina) de *C. pseudotuberculosis* formolizada em adjuvante de Al em um esquema de vacinação onde houve redução de 60% da infecção. JOLLY (1965), observaram níveis significativos de proteção em ovinos quando usou-se vacina toxóide. NAIRN et al. (1977), utilizaram uma vacina toxóide que permitiu alguma defesa contra a infecção inicial em ovinos, porém houve reação local. Resultados preliminares com toxóide, indicam que não houve imunoproteção, quando aplicado em caprinos (NAIRN et al., 1982). ANDERSON & NAIRN (1984a), vacinaram 20 caprinos com um toxóide e dentre estes três apresentaram abscessos, enquanto que, todos do controle (10) tinham abscessos à necropsia. Cabras prenhes vacinadas proporcionaram alguma proteção contra o desafio para as crias durante as primeiras semanas de vida (ANDERSON & NAIRN, 1984b). BROWN (1985) demonstrou proteção-prevenção de caprinos contra a doença, sendo agressão local em 4 de 5 e disseminação sistêmica em 8 de 10 caprinos vacinados com uma exotoxina inativada por formol. Esta vacina desenvolvida por BROWN (1985) pode servir de caminho para o controle da LC. ALVES & OLANDER (1999) testaram, em caprinos, uma vacina toxóide a 3%, a partir da exotoxina da bactéria e verificaram a redução da disseminação da bactéria do local da inoculação a outras partes do corpo do animal. HODGSON et al. (1999) testaram a eficácia de uma vacina toxóide contra a LC em ovinos utilizando a inativação genética e concluíram que, embora este método possa ser

um meio conveniente para o desenvolvimento de uma nova vacina toxóide, seu uso não agrega benefício à formulação convencional. SIMONS et al. (1998) desenvolveram mutantes *core q* da *C. pseudotuberculosis* e observaram redução da extensão da doença em caprinos imunizados.

O Laboratório de Bacteriologia-Imunologia do Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos (CNPc) está dando continuidade ao trabalho iniciado por Brown na Embrapa Caprinos em 1984, através de um teste a campo em caprinos, para se determinar a eficácia de uma vacina toxóide e das vacinas produzidas pela EBDA e Laboratório Fort Dogde (Biodectin), lançada em 1999, contra a LC em ovinos. Na Austrália, um produto (GLANVAC) vem sendo utilizado há 16 anos em ovinos. Este produto consiste de uma vacina toxóide em adjuvante de Al produzida desde os anos 80 pelo CSL Veterinary Division/University of Murdoch. Sua eficácia é relacionada diretamente com o programa de vacinação exigido naquele país. As pesquisas locais indicam que o programa é eficiente, observado na incidência da enfermidade, abaixo de 3% nas propriedades.

A Embrapa Caprinos tem estudado a padronização de testes imunológicos para a análise da resposta da vacina toxóide em soros de animais suspeitos, compreensão da relação hospedeiro-parasita, além da busca da imunização usando a vacina toxóide a 3% deste microrganismo.

NECESSIDADES DE PESQUISA

A cinética da resposta imune em caprinos com esta doença, como também a avaliação do tipo de vacina eficaz se faz necessário para verificar as medidas adequadas à sua profilaxia: estudar as condições do programa de vacinação desenvolvido na Austrália realizando visita *in loco*, bem como viabilizar parceria técnico-científica; avaliar a eficácia das vacinas (EBDA e GLANVAC) em um regime de vacinação sob condições naturais de exposições à doença; caracterizar bioquímica e geneticamente a cepa atenuada (1002) e selvagem utilizadas nos estudos; identificar os

principais antígenos da *C. pseudotuberculosis* reconhecidos pelos anticorpos presentes nos soros de caprinos e ovinos infectados ou imunizados contra a LC; estudar a relação entre o padrão de reconhecimento de antígenos de *C. pseudotuberculosis* nas diferentes fases evolutivas da doença (ou de imunização), tentando esclarecer a possível correlação com a raça; testar em camundongos, uma vacina viva, geneticamente modificada, contra a LC; interagir com grupos estrangeiros; realizar testes para identificar a presença de anticorpos contra *C. pseudotuberculosis* é necessário para o controle da doença, bem como o estudo da patogenia e do desenvolvimento de agentes imunizantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, F. S. F. & OLANDER, H. 1999. Uso de vacina toxóide no controle da Linfadenite Caseosa em caprinos. *Vet. Not.*, 5: 69-75.
- ANDERSON, V. M. & NAIRN, M. E. 1984a. Control of caseous lymphadenitis in goats by vaccination. In: *XXVIII Colloque International sur les Maladies de la Chèvre*, Niort, p.605-9.
- ANDERSON, V. M. & NAIRN, M. E. 1984b. Role of maternal immunity on the prevention of caseous lymphadenitis in goats by vaccination. In: *XXVIII Colloque International sur les Maladies de la Chèvre*, Niort, p.605-4.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL/ INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 1998. *Censo Agropecuário*, 1995-1996. Rio de Janeiro, IBGE, nº1.
- AUGUSTINE, J. L. & RENSHAW, H. W. 1992. Concentration of *Corynebacterium pseudotuberculosis* obtained from lesion of sheep and goats with caseous lymphadenitis. In: *Proceedings of the 3rd Int Conf. Goat Prod. Dis.*, Tucson, 1982, p.525.
- BERNHEIMER, A. W., LINDER, R. & AVIDAS, L. S. 1980. stepwise degradation of membrane sphingomyelin by corynebacterial phospholipases. *Infec. Immunol.*, 1: 123-131.
- BRODGEN, K. A. & AUDIBERT, F. 1994. Development of vaccines containing muramyl dipeptide for the prevention of caseous lymphadenitis and pneumonic pasteurellosis in sheep. *Proc. Unit. Stat. Anim. Heal. Assoc.*, 98: 476-483.

- BROWN, C. C. 1985. *Caseous lymphadenitis of goats*. Davis. University of California Library, 83p. (Tese de Doutorado).
- BURREL, D. H. 1981. Vaccination against caseous lymphadenitis in goats. *Aust. Vet. J.*, 57: 105-110.
- CAMERON, C. M., MINAAR, J. L., ENGELBRECHT, M. M. & PURDON, M. R. 1972. Immune response of merino sheep to inactivated *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccine. *Onder. J. Vet. Res.*, 39: 11-24.
- CAMERON, C. M., MINAAR, J. L. & PURDON, M. R. 1969. Immunizing properties of *Corynebacterium pseudotuberculosis* cell wals. *Onder. J. Vet. Res.*, 36: 211-216.
- CARNE, H. R. 1940. The toxin of *Corynebacterium ovis*. *J. Path.*, 51: 199-212.
- GUSS, S. B. 1977. *Management and diseases of dairy goat*. Dairy Goat Journal Publishing, Scottsdale, p.223.
- FIGUEIREDO, E. A. P., SHELTON, M. & PANT, K.P. 1982. Goat skins. In: *Proceedings of the III International Conference Goat Production Disease*, p. 488-490.
- HARD, G. C. 1970. Adaptive transfer of immunity in experimental *Corynebacterium* infection. *J. Comp. Pathol.*, 80: 329-334.
- HODGSON, A. L. M., CARTER, K., TACHEDJIAN, M., KRYWULT, J., CORNER, L. A., McCOLL, M. & CAMERON, A. 1999. Efficacy of an ovine caseous lymphadenitis vaccine formulated using a genetically inactive form of the *Corynebacterium pseudotuberculosis* phospholipase D. *Vaccine*, 17: 802-808.
- JOLLY, R. D. 1965. Experimental infestation of convalescent mice with *Corynebacterium ovis*. *New Zealand Vet. J.*, 12: 148-53.
- KNIGHT, H.D. 1978. A serological method for detection of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in horses. *Corn. Vet.*, 68: 220-237.
- LEAMASTER, B. R., SHEN, D. T., GORHAM, J. R., LEATHERS, C. W. & WELLS, H. D. 1987. Efficacy of *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacterin for the immunologic protection of sheep against development of caseous lymphadenitis. *Am. J. Vet. Res.*, 48: 869-872.
- MADDY, K. T. 1953. Caseous lymphadenitis of sheep. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 122: 257-259.
- NAGY, G. 1976. Caseous lymphadenitis in sheep - methods of infection. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 47: 197-199.
- NAIRN, M. E., ROBERTSON, J. P. & MCQUADE, N. C. 1977. The control of caseous lymphadenitis in sheep by vaccination. In: *Proc. Ann. Conf. Aust. Vet. Assoc.*, 45: 159-161.
- NAIRN, M. E., ROBERTSON, J. P. & MIDDLETON, H. D. 1982. The possibility of control of caseous lymphadenitis in goats by vaccination. In: *Proc 3rd Int. Conf. Goat Prod. Dis.*
- RENCHAW, H. W., GRAFF, V. P. & GATES, N. L. 1979. Visceral caseous lymphadenitis in thin ewe syndrome: isolation of *Corynebacterium*, *Staphylococcus* and *Moraxella* spp. From internal abscesses ewes. *Am. J. Vet.*, 40: 1110-1114.
- RIBEIRO, O. C., DA SILVA, J. A. H., OLIVEIRA, S. C., MEYER, R. & FERNANDES, G.B. 1991. Dados preliminares sobre uma vacina viva contra a linfadenite caseosa. *Pesq. Agrop. Bras.*, 26: 461-465.
- SILVA, M.U.D. & SILVA, A. E. D. F. 1982. Linfadenite Caseosa em caprinos: Observações de dois anos. In: *Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, p.49.
- SIMMONS, C.P., DUNSTAN, S.J., TACHEDJIAN, M., KRYWULT, J., HODGSON, A.L.M., STRUGNELL, R.A. 1998. Vaccine potential of attenuated mutants of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep. *Infec. Immun.* 474-479.
- UNANIAM D., SILVA, M. 1983. Abscessos e Linfadenite Caseosa em caprinos na região semi-árida do Nordeste. In: *Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Belém, 1983, p.261.
- ZAKI, M.M. 1976. Relation between the toxigenicity and pyogenicity of *Corynebacterium ovis* in experimentally infected mice. *Res. Sci.*, 20: 197-200.