

## BANCO DE GERMOPLASMA DE MATERIAL PURULENTO E DE MICROORGANISMOS ISOLADOS DE ABCESSOS DE CAPRINOS E OVINOS

(Germoplasm bank of suppurating material and microorganisms isolated from goat and sheep abscesses)

MARIA ROSALBA M. DAS NEVES<sup>1</sup>; FRANCISCO SELMO FERNANDES ALVES<sup>2</sup>

### RESUMO

A coleção e manutenção de banco de germoplasma de material biológico e microorganismos causadores de problemas de caprinos e ovinos é essencial para estudos biomoleculares. A *Corynebacterium pseudotuberculosis* é o agente etiológico da Linfadenite Caseosa (LC) em pequenos ruminantes, enfermidade responsável por perdas econômicas graves nestas espécies no Nordeste do Brasil. O presente estudo teve como objetivo coletar material purulento em 55 animais de diferentes raças e idades. Na remoção do material purulento foi realizada abertura do abscesso e a coleta do pus. As amostras foram identificadas, acondicionadas em isopor com gelo e enviadas ao Laboratório de Bacteriologia da Embrapa Caprinos. No laboratório foram processadas para isolamento e identificação do agente, sendo mantido à -20°C. O plaqueamento foi feito em meio de cultura Agar sangue. Das 55 amostras examinadas, a *C. pseudotuberculosis* estava presente em todas, onde 46 (83,63%) eram de caprinos e nove (16,37%) de ovinos. As análises microbiológicas apresentaram cocobacilo Gram-positivo e nos testes bioquímicos, catalase e uréia positiva. Nos açúcares manose, lactose, maltose, galactose, dextrose, sacarose, trealose, sorbitol, glicose, os microrganismos isolados foram divididos em 2 grupos, no qual fermentaram 17 (36,96%) caprinos e 2 (22,22%) ovinos.

**Palavras-chave:** *Corynebacterium pseudotuberculosis*, Linfadenite Caseosa, análises microbiológicas e bioquímicas.

### ABSTRACT

The germoplasm bank collection and maintenance of biological material and microorganisms causing problems of goat and sheep is essential for biomolecular studies. The agent of Caseous lymphadenitis in small ruminants is *Corynebacterium pseudotuberculosis*, a illness that causing serious economical losses in Northeast of Brazil. The present study was to collect suppurating material from 55 different animals, breeding and age. To remove the suppurating material the abscess was opened, samples collected, identified and stored in a box with ice and sent to bacteriology laboratory at Embrapa Goat Center. The samples was processed for isolation and identification of the agent. All the suppurating material was stored and conserved -20°C. Blood agar was used to streaked the samples. All the 55 samples, *C. pseudotuberculosis* was presented and 46 (83.63%) were goat and nine (16.37%) sheep species. Microbiological analysis presented Gram-positive cocobacillus and the biochemical tests: catalase and urease positive. In sugars results from manose, lactose, maltose, galactose, dextrose, sacharose, trealose, sorbitol, glucose, the isolated microorganisms was divided in two groups, which they resulted in positive from 17 (36.96%) goat and 2 (22.22%) sheep.

**Keywords:** *Corynebacterium pseudotuberculosis*, Caseous Lymphadenitis, microbiological, biochemistry analysis

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú- (UVA)/ Bolsista do CNPq/ PIBIC. E-mail: [rosalba.moreira@hotmail.com](mailto:rosalba.moreira@hotmail.com).

<sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Caprinos. Estrada Sobral/Groaíras, km 04, Sobral -CE

## INTRODUÇÃO

A Embrapa Caprinos vem organizando um Banco de Microrganismos isolados de abscessos de caprinos e ovinos. Dentre as bactérias destacam-se a *Corynebacterium pseudotuberculosis*, uma das principais bactérias causadoras da Linfadenite Caseosa (LC) em caprinos e ovinos.

O Banco de Germoplasma é uma coleção de microrganismos de grande importância não só para a Defesa Sanitária Animal, mas também para a Saúde Pública, compreendendo bactéria e vírus patogênicos para animais de interesse econômico e/ou de experimentação, sendo que espécies saprófitas ou de patogenicidade ainda não bem definidas poderão também ser armazenadas, para estudos específicos, como, por exemplo, testes de diferenciação entre espécies e controle de qualidade (Liberal, 1996).

O presente trabalho tem como objetivo conservar material purulento de abscessos, isolar e identificar microrganismos, através da análise microbiológica e bioquímica de caprinos e ovinos. A manutenção desta coleção viabilizará estudos futuro, para diagnósticos, avaliação genômica, e protéica responsável pela resposta imune, como produção de vacinas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Todo o experimento foi realizado na Embrapa Caprinos e em algumas propriedades na região Norte do Estado do Ceará. A coleta do material purulento foi realizada em 55 animais identificados de diferentes raças e idades, com informações anotadas sobre a localização do abscesso e das propriedades. O procedimento cirúrgico seguiu recomendações e orientações de um médico veterinário. Para a remoção do material purulento, foi realizada abertura do abscesso seguida da coleta do pus em tubo Falcon e swabs. Todo o material era identificado, acondicionado em isopor com gelo e enviado ao Laboratório de Bacteriologia da Embrapa Caprinos. O material purulento foi armazenado e conservado a  $-20^{\circ}\text{C}$  e os swabs processados para isolamento e identificação do agente causal, segundo orientações de Carter (1984). O plaqueamento em meio de cultura Agar contendo 25% de sangue ovino foi destinada a incubação a  $37^{\circ}\text{C}$  por aproximadamente 72 horas.

As colônias desenvolvidas foram identificadas através de análises microbiológicas, coloração de Gram e bioquímicas como, catalase, uréia, e açúcares, como a manose, lactose, maltose, galactose, dextrose, sacarose, trealose, sorbitol e glicose. As cepas identificadas foram conservadas em freezer  $-20^{\circ}\text{C}$ , no meio caldo infusão cérebro coração (BHI) e glicerol (1:1).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A *Corynebacterium pseudotuberculosis*, caracteriza-se como um bacilo Gram-positivo, curto e irregular ( $0,5$  a  $0,6 \mu\text{m}$  por  $1$  a  $3 \mu\text{m}$ ), podendo apresentar aspecto cocóide, formando agrupamentos irregulares. São bacilos imóveis, anaeróbicos facultativos, fermentativos e não formam esporos (Batey, 1986b; Merchant & Packer, 1975; Quinn et al., 1994). Possui mecanismos de adaptação e agregação devido à abundância de lipídios em sua parede celular, causando abscessos nos linfonodos superficiais, internos e órgãos como, pulmão, fígado, baço, rins, cérebro em caprinos e ovinos.

No presente estudo, a presença da bactéria foi detectada em 55 animais, sendo que 46 (83,63%) deles eram caprinos e nove (16,37%) ovinos. As análises microbiológicas apresentaram cocobacilo Gram-positivo e os testes bioquímicos, catalase e uréia positivas. Nos açúcares manose, lactose, maltose, galactose, dextrose, sacarose, trealose, sorbitol, glicose, os microrganismos isolados foram divididos em 2 grupos, fermentaram onde 17 (36,96%) caprinos e dois (22,22) ovinos.

Segundo os autores (Merchant & Packer, 1975; Muckle & Gyles, 1982; Sutherland; Hart; Buller, 1996; Costa; Spier; Hirsh, 1998; Quinn et al., 1994; Songer et al., 1988), a *Corynebacterium pseudotuberculosis* apresenta características morfológicas, identificado por provas bioquímicas, tais como, produção de catalase, produção de nitrito a nitrito e fermentação de carboidratos, sem produção de gás, como: maltose, manose, glicose, galactose; não fermenta lactose não tem atividade proteolítica, não hidrolisa a gelatina nem digere a caseína. As diferenças entre os resultados de algumas provas bioquímicas, principalmente fermentação de carboidratos, podem ocorrer, em virtude dos diferentes métodos usados por diferentes autores, e sugerem, ainda, que estas diferenças possam ser atribuídas à existência de biodiversidade entre as cepas estudadas.

Os resultados encontrados neste trabalho são condizentes com os achados na literatura, sugerindo que em nossa região as cepas são diferenciadas quanto a análises bioquímicas.

Os microorganismos procedentes de abscessos de animais nem sempre são diagnosticados através da análise laboratorial, o que faz suscitar questionamentos sobre quais microorganismos estão envolvidos. No semi-árido nordestino, onde está localizada a Embrapa Caprinos, merece atenção, uma vez que outros agentes etiológicos poderão participar do processo infeccioso.

**Tabela 1. Resultado dos carboidratos dos isolados *Corynebacterium pseudotuberculosis* na Embrapa Caprinos, 2005/2006.**

	<b>Açúcares Caprinos (17/46)</b>	<b>Ovinos(2/9)</b>
Manose	Neg	neg
Lactose	Neg	neg
Maltose	Variável	variável
Galactose	Pos	pos
Dextrose	Pos	pos
Sacarose	Variável	neg.
Trealose	Neg	neg
Sorbitol	Neg	neg
Glicose	Pos	pos

## CONCLUSÃO

A criação do Banco de Germoplasma contribui para o estudo de cepas da região que podem apresentar diferentes habilidades genômica e bioquímicas em relação a outras amostras. A não disponibilização de banco de microorganismos isolados de enfermidades de caprinos e ovinos dificulta as informações na realização de estudos epidemiológicos e de desenvolvimento de testes eficazes e de baixo custo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATEY, R.G. Factors affecting the yield of viable cells of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in a liquid medium. **Vet. Microbiol.**, v.11, n.1-2, p.145-152, 1986a.

BATEY, R.G. Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. **Aust. Vet. J.**, n. 63, p.269-272, 1986b.

CARNE, H.R. A bacteriological study of 134 strains of *Corynebacterium ovis* **J. Pathol. Bacteriol.**, n. 49, p.313-328, 1939.

JOLLY, R.D. Some observations on surface lipids of virulent and attenuated strains *Corynebacterium ovis*. **J. Appl. Bact.**, v.29, n.1, p.189-196, 1966.

SONGER, J. G. et al. Biochemical and genetic characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Am. J. Vet. Res.**, v.49, n.2, p.223-226, 1988.