

# Avaliação da presença de anticorpos anti-*Corynebacterium pseudotuberculosis* em ovinos do Município de Dormentes, PE

Avaliation of antibody anti-*Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep in Dormentes region in State of Pernambuco, Brazil

---

*Raiane de Jesus Martins*<sup>1</sup>; *Josir Laine A. Veschi*<sup>2</sup>; *Alaide Maria de Souza Landim*<sup>1</sup>; *Filipe Borges do Carmo*<sup>3</sup>; *Vasco Azevedo*<sup>3</sup>; *Anderson Miyoshi*<sup>3</sup>; *Roberto Meyer*<sup>4</sup>; *Ricardo Portela*<sup>4</sup>; *Luiz Francisco Zafalon*<sup>5</sup>; *Aurora M. G. Gouveia*<sup>3</sup>

## Resumo

A linfadenite caseosa é uma doença infecto-contagiosa, de ocorrência mundial, causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*, que acomete principalmente caprinos e ovinos. É uma enfermidade crônica, debilitante e de difícil controle que se caracteriza pela formação de abscessos em linfonodos superficiais e profundos. Visando avaliar a presença de anticorpos contra esta bactéria, foram utilizados 311 ovinos, independente de raça, grau de sangue, idade ou sexo, provenientes do Município de Dormentes, PE, que foram enviados para o abate no Matadouro Municipal de Petrolina, PE. As amostras de sangue foram coletadas por punção da veia jugular e

---

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC CNPq/Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

<sup>2</sup>Médica-Veterinária, D. Sc. em Sanidade Animal, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, [josi.veschi@cpatsa.embrapa.br](mailto:josi.veschi@cpatsa.embrapa.br).

<sup>3</sup>Médico-Veterinário, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

<sup>4</sup>Médico-Veterinário, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA.

<sup>5</sup>Médico-Veterinário, D.Sc. em Medicina Veterinária Preventiva, pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

o soro sanguíneo obtido permaneceu a -20 °C até a utilização no teste sorológico. Dos 311 ovinos avaliados pelo teste de ELISA-Indireto, 171, ou seja, 54,98% apresentaram anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis*, sendo considerados positivos e 140, portanto, 45,02% dos animais avaliados não apresentaram anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis*. Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que existe uma alta prevalência de ovinos com anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis* do Município de Dormentes, PE, quando avaliados pelo teste de ELISA-I.

**Palavras-chave:** linfadenite caseosa, ELISA indireto, diagnóstico sorológico, epidemiologia.

## Introdução

O Nordeste possui o maior rebanho brasileiro de caprinos e ovinos. Aproximadamente 60% destes animais estão localizados em pequenas propriedades. Dentro desse contexto, na região de Dormentes, Estado de Pernambuco, ovinocultores de produção familiar se uniram em associações de produtores e garantiram uma importante fonte de renda na comercialização dos seus animais no momento do abate.

A ovinocultura familiar é tradicional na Região Nordeste do Brasil, que detém 56,90% do total de ovinos do País (IBGE, 2009). O aumento da demanda por carne ovina com qualidade está transformando o cenário produtivo do Brasil, entretanto, pouca ênfase é dada ao controle das enfermidades infecto contagiosas (PINHEIRO et al., 2000).

Algumas doenças se destacam por causa da sua importância dentro do sistema produtivo da caprinovinocultura e uma delas é a linfadenite caseosa (LC), que nos ovinos e caprinos é causada pelo *Corynebacterium pseudotuberculosis* e popularmente conhecida como mal-do-carço (VESCHI, 2005). O agente etiológico da LC é uma bactéria Gram-positiva, intracelular facultativa não esporulada e imóvel, capaz de sobreviver por longos períodos no ambiente tornando-a responsável por importantes problemas sanitários nas criações de ovinos e caprinos (DORELLA et al., 2006).

A principal fonte de disseminação da doença são os animais infectados, que podem ou não estar apresentando os sinais clínicos da LC, mas que contaminam o solo, as pastagens, a água, os alimentos e as instalações com as fezes e conteúdo de abscessos que podem supurar espontaneamente. As secreções respiratórias

dos animais infectados também são uma importante fonte de contaminação para os animais sadios (O'REILLY et al., 2008).

A transmissão da LC pode ocorrer por contato direto ou indireto, mas também pela pele intacta, ou por meio de ferimentos em contato com o pus de abscessos dos animais portadores da forma clínica da doença. Atividades de rotina, tais como descorna, castração, corte do cordão umbilical, colocação de brincos realizadas com material contaminado, também podem transmitir o microrganismo (ALVES et al., 2007).

Para Fontaine e Baird (2008), as perdas econômicas decorrentes do mal-do-carroço incluem diminuição na produção leiteira, desordens reprodutivas, condenação parcial ou total de carcaças e depreciação na qualidade do couro. Diante das características crônicas e geralmente subclínicas da infecção pelo *C. pseudotuberculosis*, o estabelecimento das medidas de controle torna-se difícil, fazendo com que a prevalência da doença nos rebanhos permaneça alta (GUIMARÃES et al., 2011). Portanto, para Paule (2003), o controle efetivo da LC deve ser realizado com a adoção de medidas preventivas adequadas.

Em decorrência do elevado custo das técnicas de diagnósticos sorológicos e também das dificuldades inerentes à produção de antígeno do *C. pseudotuberculosis*, existem poucos estudos soroepidemiológicos relativos à LC em ovinos no Brasil. Entretanto, trabalhos desta natureza são de extrema importância para o estabelecimento de medidas de prevenção e controle desta doença em ovinos. Diante disso, delineou-se o presente trabalho com o objetivo de avaliar a presença de anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis* em ovinos do município de Dormentes, PE.

## Material e Métodos

Foram utilizados 311 ovinos, independentes de raça, sexo, grau de sangue e idade, provenientes de propriedades rurais da região de Dormentes, PE e encaminhados para o abate no Matadouro Municipal e Petrolina, PE durante o período de novembro de 2010 a abril de 2011.

Após a devida contenção do animal, antissepsia do local com solução de álcool iodado, as amostras de sangue foram coletas por punção da veia jugular, utilizando agulhas descartáveis, estéreis, uma para cada

animal em tubos a vacuo. Após a realização das coletas, os tubos com as amostras de sangue dos ovinos foram encaminhados para o Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE. Os tubos com as amostras de sangue foram mantidos à temperatura ambiente até a completa retração do coágulo e em seguida foram centrifugados. As amostras do soro sanguíneo foram separadas, colocadas em microtubos previamente identificados e mantidas a -20 °C para serem posteriormente utilizadas nos testes sorológicos.

As amostras de soro foram submetidas individualmente e em duplicata à técnica de ELISA Indireto para a detecção de anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis*.

Para a realização dos testes de ELISA-I, utilizou-se a metodologia descrita por Carminati et al. (2003). Cada microplaca de poliestireno com 96 poços foi sensibilizada com antígeno de *C. pseudotuberculosis*, diluído em tampão carbonato/bicarbonato 0,05M pH 9,6, incubada a 4 °C/12 horas. Após sequência de lavagens com PBS-T, a microplaca foi bloqueada com PBS-T adicionado com 5% de leite desnatado. Em seguida, foi incubada com os soros teste, previamente diluídos em PBS-T, contendo 1% de leite desnatado. Após sequência de lavagens em PBS-T, adicionou-se imunoglobulina de coelho anti-imunoglobulina de ovino, conjugada a peroxidase, diluída em PBS-T, retornando a microplaca à incubadora. Em seguida, foi realizada nova sequência de lavagens em PBS-T e incubação com solução reveladora (OPD), por 15 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A reação foi interrompida acrescentando-se H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N e a leitura da reação foi feita em leitor de ELISA usando-se filtro de 450 nm.

O número mínimo de amostras foi calculado, considerando-se uma prevalência esperada de 20%, baseada na média de prevalências obtidas em outros estados brasileiros, com erro amostral de 10% e grau de confiança de 95% (ASTUDILLO, 1979).

## Resultados e Discussão

As amostras de soro dos ovinos foram avaliadas pelo teste de ELISA-I para verificar a presença de anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis*. Das 311 amostras testadas, 140 não apresentaram anticorpos detectáveis pelo teste de ELISA-I, ou seja, 45,02% (140/311) dos animais avaliados apresentaram resultado negativo ao teste. Entretanto, 171, ou seja, 54,98% (171/311) dos animais avaliados apresentaram anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis* com resultado considerado positivo.

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados obtidos no teste de ELISA-I com as amostras de soro dos ovinos provenientes do Município de Dormentes, PE. É possível observar que em todas as datas de coleta de amostras foram detectados animais sorologicamente positivos. Considerando que os animais que compuseram o lote amostral em cada data de coleta foram oriundos de diferentes propriedades rurais do Município de Dormentes, PE, pode-se concluir que em cinco das seis datas de coleta existiu uma alta porcentagem de animais com anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis* nos rebanhos de ovinos criados naquela localidade.

Carmo et al. (2009) avaliaram 457 amostras de soros de ovinos jovens criados em sistema intensivo no Estado de São Paulo e concluíram que 6,1% dos animais apresentaram anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis*, discordando dos resultados obtidos no presente estudo em que 54,98% dos animais avaliados apresentaram anticorpos contra a mesma bactéria. Essa discrepância nos resultados pode ser explicada pelo fato da idade dos animais avaliados ser muito diferente. No estudo aqui apresentado, foram avaliados animais mais velhos, característica que é importante no desenvolvimento dos anticorpos pelo sistema imune dos animais.

**Tabela 1.** Número de coletas realizadas, quantidade de animais amostrados em cada coleta, resultado do teste de ELISA-I com números e porcentagem de animais negativos e positivos.

| Número de coletas realizadas* | Quantidade de animais amostrados | Resultado do teste de ELISA Indireto |       |          |       |
|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|-------|----------|-------|
|                               |                                  | Negativo                             |       | Positivo |       |
|                               |                                  | Número                               | %     | Número   | %     |
| 01                            | 77                               | 30                                   | 38,96 | 47       | 61,04 |
| 02                            | 80                               | 40                                   | 50    | 40       | 50    |
| 03                            | 42                               | 12                                   | 28,57 | 30       | 71,43 |
| 04                            | 28                               | 22                                   | 78,57 | 6        | 21,43 |
| 05                            | 44                               | 8                                    | 18,18 | 36       | 81,82 |
| 06                            | 40                               | 28                                   | 70    | 12       | 30    |
| Total                         | 311                              | 140                                  | 45,02 | 171      | 54,98 |

\* Número de coletas realizadas no período de novembro 2010 a abril de 2011.

Em avaliação de soroprevalência de anticorpos contra a LC realizada em ovinos no Distrito Federal, 42,1% dos animais testados foram positivos ao teste de ELISA-I (CARMO et al., 2009), resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo.

## Conclusão

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que existe alta prevalência de ovinos que apresentam anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis* no Município de Dormentes, PE, quando avaliados pelo teste de ELISA-I.

## Agradecimentos

Ao CNPq, pelo incentivo financeiro, à Embrapa Semiárido, pelo apoio às atividades de pesquisa, à Dra. Maria do Carmo Freitas (ADAGRO – Petrolina, PE) e ao Dr. João de Ataíde (Matadouro Municipal de Petrolina, PE) por terem viabilizado as coletas de amostras de sangue dos animais.

## Referências

- ALVES, F. S. F.; SANTIAGO, L. B.; PINHEIRO, R. R. **Linfadenite caseosa**: o estado da arte. Sobral: Embrapa Caprinos, 2007. 60 p. il. (Embrapa Caprinos. Documentos, 74).
- ASTUDILLO, V. M. **Encuestas por muestro para estudios apidemiológicos em poblaciones animales**. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de Fiebre Aftosa, 1979. 60 p.
- CARMINATI, R.; BAHIA, R.; COSTA, L. F.; PAULE, B. J. A.; VALE, V. L.; REGIS, L.; FREIRE, S. M.; NASCIMENTO, I.; SHAER, R. Determinação da sensibilidade e da especificidade de um teste de ELISA Indireto para diagnóstico da Linfadenite caseosa em caprinos. **Revista Ciência Médica e Biologia**, Salvador, v. 2, n. 1, p. 88-93, 2003.
- CARMO, F. B.; GOUVEIA, A. M. G.; GUIMARÃES, A. S.; PAULETTI, R. B.; LAGE, A. P.; RAGOZO, A. M. A.; PORTELA, R. W. D.; GONÇAVES, V. S. P.; AZEVEDO, V. A. C.; HEINEMANN, M. B. Soroprevalência da linfadenite caseosa em criações comerciais de ovinos no Distrito Federal e no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 25., 2009, Porto de Galinhas. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2009. Disponível em: <<http://sbmicrobiologia.org.br/pdf/cdsbm/resumos/R2103-2.html>>. Acesso em: 22 mar. 2011.
- 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**, Les Ulis, v. 37, p. 201-218, 2006.

FONTAINE, M. C.; BAIRD, G. J. Caseous lymphadenitis. **Small Ruminant Research**, Philadelphia, v. 76, p. 42-46, 2008.

GUIMARÃES, A. de S.; CARMO, F. B. do; PAULETTI, R. B.; SEYFFERT, N.; RIBEIRO, D.; LAGE, A. P.; HEINEMANN, M. B.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V.; GOUVEIA, A. M. G. Caseous lymphadenitis: epidemiology, diagnosis, and control. **The IIOAB Journal**, West Bengal, v. 2, n. 2, p. 33-43, 2011.

IBGE. **Censo Agropecuário 2006**. Rio de Janeiro, 2009.

O'REILLY, K. M.; GREEN, L. E.; MALONE, F. E.; MEDLLEY, G. F. Parameter estimation and simulations of a mathematical model of *Corynebacterium pseudotuberculosis* transmission in sheep. **Preventive Veterinary Medicine**, [Philadelphia], v. 83, p. 242-259, 2008.

PAULE, B. J. A. **Estudo de antígenos de *Corynebacterium pseudotuberculosis* e de suas interações com o hospedeiro caprino**. 2003. 138 f. Tese (Doutorado em Imunologia) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 5, p. 534-543, 2000.

VESCHI, J. L. A. Linfadenite caseosa. In: ENCONTRO DE CAPRINOCULTORES DO SUL DE MINAS E MÉDIA MOGIANA, 7., 2005, Espírito Santo do Pinhal. **Anais...** Espírito Santo do Pinhal: Capritec, 2005. Disponível em: <<http://www.capritec.com.br-anais>>. Acesso em: 28 jul. 2006.

