



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
MEDICINA VETERINÁRIA

VINICIUS PEREIRA VIEIRA

Imunoreatividade do antígeno liofilizado de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em teste ELISA indireto para diagnóstico da linfadenite caseosa em caprinos

CRUZ DAS ALMAS – BA
2019

VINICIUS PEREIRA VIEIRA

Imunoreatividade do antígeno liofilizado de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em teste ELISA indireto para diagnóstico da linfadenite caseosa em caprinos

Trabalho de conclusão de curso submetido ao Colegiado de Graduação de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Médico Veterinário

Orientador: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira

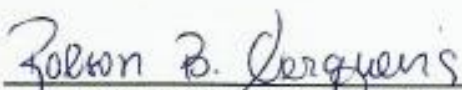
CRUZ DAS ALMAS
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
COLEGIADO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CCA106 – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

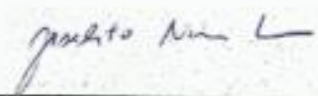
COMISSÃO EXAMINADORA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

VINICIUS PEREIRA VIEIRA

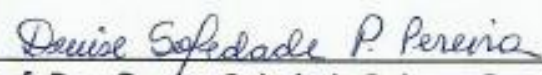
IMUNOREATIVIDADE DO ANTÍGENO LIOFILIZADO DE *Corynebacterium pseudotuberculosis* EM TESTE ELISA INDIRETO PARA DIAGNÓSTICO DA LINFADENITE CASEOSA EM CAPRINOS



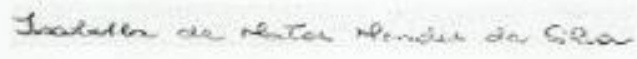
Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. Dr. Joselito Nunes Costa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. Dra. Denise Soledade Peixoto Pereira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. Dra. Isabella de Matos Mendes da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Cruz das Almas, BA, 5 de dezembro de 2019.

Seja a mudança que você quer ver no mundo.

Mahatma Gandhi

Dedico este trabalho ao **Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira**, meu orientador que muito me ensinou ao longo desses anos, principalmente a ser um ser humano melhor. Sou grato, pelo acolhimento no Laboratorio de Doenças Infecciosas do Hospital Universitário de Medicina Veterinária da UFRB. Meu crescimento se deve as oportunidade e orientações que me foram concedidas pelo senhor. Recolheço que os passos dados, só foram possíveis pela sua colaboração. Obrigado por permitir que o laboratório fosse minha segunda casa e que as minhas idéas de pesquisas fossem postas a investigação. A pesquisa se tornou meu mundo graças a sua influência!

Muito obrigado pelo apoio e amizade de sempre!

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a vida e aos caminhos que pude percorrer até a presente data. Sou grato aos meus pais pela educação e exemplo, se hoje posso defender meu trabalho de conclusão de curso e ser Médico Veterinário é graça a eles e a minha família que me mostram que trabalhar e trabalhar é o caminho para conquistar aquilo que sonhamos.

Sou grato aos mestres que marcaram a minha trajetória escolar, como a professora Evanildes, Leila, Marlene e Márcio Eloy que foram exemplos de amor e dedicação à profissão, sendo este último a minha inspiração pela docência.

Laiane Santos, o ser humano que me mostrou que a simplicidade é a essência da vida. Isabela Emília por me levar até o professor Robson B. Cerqueira e me ensinar os primeiros passos da rotina de um laboratório de pesquisa, junto com a técnica Eliene Santos. Agradeço a Bianca Pimentel, Felipe Bacelar, Lourival Junior, Marcos Maturino, Thaise Marques por me ensinarem os primeiros passos da microbiologia e imunologia no Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI).

A Juliana Lira, que topou todos os trabalhos que nos foram oferecidos, passamos tantos apertos, a pessoa que não exitou em me ajudar e topou todas as invenções laboratoriais, algumas muito fundamentadas outras nem tanto, parceria de conexão rápida. Évellin Caroline, que topa tudo a qualquer hora, sempre pronta para me ajudar, levantar meu astral, a qual enganei muito dizendo que o trabalho já estava terminado.

E chego ao meu braço esquerdo e direito, Kayck Barreto, esse que é o meu melhor amigo e irmão, sem dúvida não teria avançado tanto sem seu apoio, o ser humano que abriu mão de fazer suas atividades para me ajudar, sem pestanejar uma só vez, não me recordo de um não, sempre foi “eu te ajudo”, “nós fazemos”, “vai que dá”, pois este é o ser humano que me ensinou a caminhar sempre em frente, e assim atravessamos o Atlântico.

Aos meus amigos Camila Santos, Gilberto Lima, Isabela Couto, Áureo Torres, Alexandra Bispo, Vinicius Tauã, July Lima, Jamile Amaral, Adrielle Lustosa, Rebeca Evangelista, Poliana Almeida, Letícia Gondin, Cleuza Almeida, Rafael Novais, Lais Beli, Crizélia, Hamilton (Pereira), Adriana Conceição e Jennifer Westphal.

Aos membros do Laboratório de Doenças Infecciosas que fizeram parte dessa trajetória como Alice Freiras, Breno Sands, Deise Peixoto, Flávia Gottschall, Joadson

Reis, Lílian Porto, Luana Correia, Kissa Dandara, Sarah Carvalho, que não pouparam esforços nas propostas de trabalho, tenho admiração por quem vocês são e fico feliz por tê-los como amigos.

A Silvânia Conceição pelo exemplo de vida e a Andrine Silva exemplo de comprometimento, as quais foram amigas e parceiras de trabalho, de viagem de sorrisos e lágrimas, muito obrigado por fazerem parte do quarteto fantástico, sou grato a vida por ter vocês.

Aos mestres da graduação, sou grato por transmitirem todo seu conhecimento, agradeço em especial a professor Joselito Nunes, Ana Paula Peixoto, Sanderly Mascarenhas, Wendell Perinotto, Ana Karina, Vanessa Bastos, Ossival Lolato, Pedro Pedroso, Natalie Borges, Flávia Santin, Larissa Pires e Alexandre Pinheiro, levarei um pouquinho de cada um para o resto da minha vida.

A profa. Letícia Rezende, por todo apoio à minha formação, um exemplo de profissional competente e dedicada, que não poupou esforços na função de coordenadora para melhor o curso de Medicina Veterinária da UFRB.

A Prof. Tatiana Pacheco, a qual tenho grande admiração, obrigado pelo acolhimento no nosso Núcleo de Estudos em Higiene e Tecnologia de Produtos de Origem Animal.

A Prof. Veridiana Fernandes, um “serumaninho” de coração grandioso, que me ensinou tanto me dando a oportunidade de está ao seu lado, agradeço imensamente pelos momentos de ensino, diversão, conversas, desabafos e sorrisos, conte comigo sempre.

A Profa. Denise Soledade, que tenho profunda admiração, ser humano de luz de coração bom, enfim... multiplica senhor.

Aos técnicos Tiago Sampaio, Andressa Souza, Ana Paula, Roque, Márcia, Geremias Fiuza, Marilucia, médicos veterinários Danielle Pinheiro, Mileide Araújo, Reuber Cardoso, Adamas Bonfada e funcionários terceirizados Anderson, Camila, Elisio, Eurico, Manuela, Marizete, Luciene e Vilma que são grandes amigos do Hospital Universitario de Medicina Veterinária.

Devo ter esquecido de alguém, mas podem ter certeza que a minha gratidão está além das palavras e já adianto o meu muito obrigado!

RESUMO

A Linfadenite Caseosa é uma doença infectocontagiosa, de caráter crônico causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*, afeta diversas espécies de animais domésticos. Tem potencial zoonótico, que causa grandes prejuízos econômicos para caprinocultura, como diminuição na produção de carne, leite e desvalorização do couro. Objetivou-se avaliar a capacidade imunorreativa do antígeno liofilizado de *Corynebacterium pseudotuberculosis* para um teste ELISA indireto para diagnóstico da linfadenite caseosa em caprinos. Nesse sentido, foi produzido o antígeno liofilizado a partir da *Corynebacterium pseudotuberculosis* cepa 1002, o qual foi testado a partir da técnica ELISA indireto para avaliar a capacidade imunoreativa e a sua melhor diluição. Em seguida, determinou-se 1:400 como a diluição de escolha, a posteriori foi realizado o ensaio de ELISA indireto utilizando 45 soros caprino comprovadamente positivos e 45 negativos para linfadenite caseosa, para realização do cálculo do *Cut off* (ponto de corte) e parâmetros como cálculos os parâmetros de *Cut-off*, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, Acurácia e o índice Kappa. Os resultados demonstraram para *Cut off* (densidade óptica) valor de 0,252, já a sensibilidade do teste foi de 91,1% e especificidade de 84,4% com valor preditivo positivo de 98,5%, valor preditivo negativo de 92,8%, acurácia de 87,1% e índice *Kappa* de 0,898. O antígeno *Corynebacterium pseudotuberculosis* liofilizado apresentou capacidade imunoreativa, com reconhecimento de anticorpos anti-*Corynebacterium pseudotuberculosis* em soro caprino no teste ELISA indireto, sendo possível sua aplicação como ferramenta diagnóstica para linfadenite caseosa em caprinos.

Palavras-chaves: imunodiagnóstico, padronização, anticorpos.

ABSTRACT

Caseous lymphadenitis is a chronic infectious disease caused by the bacterium *Corynebacterium pseudotuberculosis*, affecting several species of domestic animals. It has zoonotic potential, which causes major economic losses for goat farming, such as decreased meat production, milk and leather devaluation. The aim of this study was to evaluate the immunoreactive capacity of the lyophilized antigen of *Corynebacterium pseudotuberculosis* for an indirect ELISA test to diagnose caseous lymphadenitis in goats. In this sense, the lyophilized antigen was produced from *Corynebacterium pseudotuberculosis* strain 1002, which was tested using the indirect ELISA technique to evaluate the immunoreactive capacity and its best dilution. Subsequently, 1:400 was determined as the dilution of choice, afterwards the indirect ELISA was performed using 45 samples positive and 45 negative goat lymphadenitis, for perform the Cut off and cutoff calculations. parameters such as cut-off parameters, sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, accuracy and Kappa index. The results showed cut off (optical density) value of 0.252, whereas the sensitivity of the test was 91.1% and specificity of 84.4% with positive predictive value of 98.5%, negative predictive value of 92.8%. accuracy of 87.1% and Kappa index of 0.898. The lyophilized *Corynebacterium pseudotuberculosis* antigen presented immunoreactive capacity, with recognition of anti-*Corynebacterium pseudotuberculosis* antibodies in goat serum in the indirect ELISA test, being possible its application as a diagnostic tool for caffeine caseous lymphadenitis.

Keywords: immunodiagnosis, standardization, antibodies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Presença de abscesso superficial submandibular em caprino de três meses de idade com Linfadenite Caseosa.....	26
Figura 2 - Cultivo bacteriológico de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> em caldo Brain Heart Infusion – BHI, proveniente de material caseoso de abscesso caprino..	28
Figura 3 - Esquema dos diferentes tipos de ELISA direto, indireto, sanduiche e competitivo.	32
Figura 4 - Fotomicrografia de abscesso supurativo causado por <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> agente da Linfadenite Caseosa em pequenos ruminantes.....	35
Figura 5 - Avaliação das diluições de antígeno liofilizado de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> para um ELISA indireto.	44
Figura 6 - Resultados do ELISA indireto com antígeno liofilizado de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> com amostras séricas de caprinos comprovadamente positivos e negativos.	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de validação para o ELISA indiretos utilizando antígeno de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> liofilizado para diagnóstico da Linfadenite Caseosa em caprinos.....	46
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AgNP	Nanopartículas de Prata Biogênicas
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
ATL	Antígeno Liofilizado
BHI	Brain Heart Infusion
BMD	Banho-Maria Dialisado
CD4+	Auxiliares
CD8+	Citotóxicos
CMNR	<i>Corynebacterium</i> spp., <i>Mycobacterium</i> spp., <i>Nocardia</i> ssp. e <i>Rhodococcus</i> spp
CP40	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> cepa 40
CPK	Creatinofosfoquinase
Cpp	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> 40
Cut-off	Ponto de corte
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DOp	Densidade óptica
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay</i>
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FA	Fosfatase Alcalina
Faga	Proteína Integral de Membrana
Fagb	Transportador de Enterobactina de Ferro
Fagc	ATP-Proteína de Ligação da Membrana
Fagd	Sideróforos – Proteína de Ligação de Ferro
GGT	Gama Glutamil Transferase
HUMV	Hospital Universitário de Medicina Veterinária
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN- γ	Interferon Gama
IgG	Imunoglobulina G
IgG1	Imunoglobulina G1
IgG2	Imunoglobulina G2
IL-13	Interleucina 13
IL-1 α	Interleucina 1 alfa

IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 5
LC	Linfadenite Caseosa
LDI	Laboratório de Doenças Infecciosas
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MHC II	Complexo Principal de Histocompatibilidade tipo II
mPCR	Reação em Cadeia de Polimerase multiplex
NanH	Neuraminidase H
Nem	Óxido nítrico redutase
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintetase
OPD	Ortophenylene-diamine
PBS-T 20.	Phosphate Buffer Solution, acrescido com Tween-20
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
PLD	Fosfolipase D
rRNA	RNA ribossomal
RT-qPCR	Reação em Cadeia de Polimerase quantitativo em tempo real
SodC	Superóxido Dismutase
SpaC	Proteína SpaC
T CD4+	Linfócitos T auxiliares
T CD8+	Linfócitos T citotóxicos
Th1	Linfócitos T auxiliares tipo 1
Th2	Linfócitos T auxiliares tipo 2
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TPP	Técnica de Particionamento Trifásico
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFRB	Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
μm	Micrômetro
μL	Microlitro
mM	Milimolar
mL	Mililitro
$^{\circ}\text{C}$	Grau celsius
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
kDa	Kilodalton
mg	Miligramas
nm	Nanômetro
®	Marca registrada
G	Força Gravitacional
\pm	Mais ou menos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO.....	14
2.1 Geral	14
2.2 Específico.....	14
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
3.1 Caprinocultura.....	15
3.2 Agente etiológico.....	16
3.3 Taxonomia	17
3.4 Fatores de virulência.....	18
3.5 Patogenia.....	19
3.6 Resposta imunológica.....	20
3.6.1 Resposta imune inata.....	20
3.6.2 Resposta imune adaptativa.....	21
3.7 Epidemiologia.....	22
3.8 Transmissão.....	24
3.9 Sinais Clínicos.....	25
3.10 Diagnóstico	27
3.10.1 Clínico	27
3.10.2 Microbiológico	28
3.10.3 Molecular.....	29
3.10.4 Imunológico.....	30
3.10.5 Hematológico e bioquímico	34
3.10.6 Histopatológico.....	34
3.11 Diagnóstico Diferencial.....	35
3.12 Tratamento.....	36
3.13 Controle e Profilaxia.....	37
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
4.1 Local de realização do estudo.....	40
4.2 Produção do antígeno liofilizado	40
4.3 Determinação da diluição do ATL para o ELISA indireto	40
4.4 Elisa indireto com ATL	41
4.5 Estudo Estatístico.....	42
5. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	44

6. CONCLUSÃO.....	48
REFÊRENCIAS.....	49

1. INTRODUÇÃO

O agronegócio associado a novos investimentos e tecnologias permitiu o desenvolvimento de diversos setores, diante disso a caprinocultura tem apresentado ganhos econômicos satisfatórios para produção mundial e nacional. Sendo, a região nordeste com maior número de caprinos do Brasil e a Bahia o estado com o maior efetivo. Contudo, problemas afetam a produtividade e trazem impacto negativo na economia, a exemplo das afecções de caráter infeccioso que cursam com baixa produção de leite, carne e desvalorização do couro.

Dentre estas destaca-se a Linfadenite Caseosa (LC), doença crônica, infectocontagiosa de distribuição cosmopolita causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. pseudotuberculosis*) que acomete animais domésticos, como bovinos, búfalos, camelo, caprinos, equinos, ovinos e suínos, além de silvestres e recentemente relatado em uma rã (*Lepidobatrachus laevis*).

A capacidade de adaptar-se a outras espécies está relacionada com os seus fatores de virulência, sendo a fosfolipase D (PLD) uma das mais importantes, contribuindo para sua disseminação pelos sistemas hemático e linfático, para órgãos do sistema nervoso, respiratório, digestório, urinário e reprodutivo. O alcance em diferentes sistemas deve-se também a capacidade de escapar da resposta imune, resistindo aos processos enzimáticos do fagolisossomo após fagocitose, podendo nessa fase intracelular multiplicar-se para posteriormente disseminar-se para outros locais do organismo.

Os sinais clínicos principais são a formação de abscesso em linfonodos superficiais e internos e órgãos viscerais, levando a cronicidade característica da doença com hipertermia, emagrecimento, aborto, infertilidade, entre outros. Entretanto, os animais podem cursar com a infecção de forma assintomática. A LC não apresenta predileção por idade, porém é visto maior acometimento em fêmeas do que machos, estando distribuída em praticamente todos os estados brasileiros, com incidência significativa no estado da Bahia.

A transmissão acontece por contato direto com conteúdo purulento ou pela alimentação, água e fômites contaminados. O diagnóstico clínico não confirma a doença, mas é fundamental que seja realizado em associação com algum tipo de

33 exame complementar, dentre esses podem ser realizados o bacteriológico, molecular,
34 hematológico, bioquímico, histopatológico e sorológico.

35 Os testes sorológicos mais utilizados são capazes de detectar quantidades em
36 nanograma a picogramas de anticorpos por mililitros de soro sanguíneo, possibilitando
37 identificar animais naturalmente expostos ao *C. pseudotuberculosis* ou que se
38 encontram na fase subclínica da doença, além de serem usados em avaliação de
39 resposta vacinal em pesquisa.

40 Contudo, os antígenos são fundamentais, nesse sentido tecnologias como as
41 proteínas recombinantes foram desenvolvidas, apresentando resultados satisfatórios.
42 Porém o alto investimento dessa tecnologia, aumenta o custo do exame final para o
43 produtor, sendo assim é importante a realização de pesquisas para identificar
44 antígenos com potencial antigênico e com baixo custo de produção.

45

46 **2. OBJETIVO**

47

48 **2.1 Geral**

49

50 Avaliar imunoreatividade do antígeno liofilizado de *Corynebacterium*
51 *pseudotuberculosis* em um teste ELISA indireto para diagnóstico da Linfadenite
52 Caseosa em caprinos.

53

54 **2.2 Específico**

55

56 Produzir um antígeno liofilizado de *Corynebacterium pseudotuberculosis* para
57 um teste ELISA indireto.

58 Avaliar a capacidade imunoreativa de um antígeno de *Corynebacterium*
59 *pseudotuberculosis* liofilizado em um teste ELISA indireto.

60 Determinar o *Cut off* para o ELISA indireto com antígeno *Corynebacterium*
61 *pseudotuberculosis* liofilizado.

62 Estudar o desempenho dos testes quanto à sensibilidade e especificidade.

63

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Caprinocultura

O agronegócio tem ganhado destaque mundialmente, consolidando práticas já adotadas e alcançando novas fronteiras com o auxílio das tecnologias e investimentos aplicados a cadeia produtiva dos diversos setores agropecuários, tornando-se competitivos para o mercado interno e externo dos seus respectivos países (CHEGE; WANG, 2019; GAFFNEY et al., 2019; ROCHE, 2019; SIMÕES et al., 2019).

Nesse sentido, a inserção da caprinocultura no setor pecuário tem crescido anualmente. No Brasil, foi alcançado aumento de 16,1% entre 2006 e 2017, segundo os dados do censo agropecuário realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), pode-se observar que o efetivo de cabeças de caprinos (bodes, cabras e cabritos) criados no Brasil foi de 9.592.079, em 2017 com destaque para região Nordeste que se apresenta em primeiro lugar no ranking nacional com 93,24%, ou seja, cerca de 8.944.461 milhões de cabeças, seguido da região Sul com 230.932, Norte 164.597, Sudeste 161.412 e Centro-oeste 90.677 (IBGE, 2018).

Assim, a Bahia segue expandindo a produtividade, consolidando-se com índices crescentes em 2017 com relação aos estados brasileiros, concentrando 2.960.443 milhões de cabeças de caprino, ficando à frente de Pernambuco (2.157.149) e Piauí (1.227.508), o município baiano que se destaca é Casa Nova com 468.258 caprinos, representado cerca de 4,8% do total nacional (IBGE, 2018).

A caprinocultura no território nacional está inserida em diversas regiões, as quais variam em clima, solo, vegetação e tecnologias de produção, o que influencia nos diferentes sistemas de criação e manejos adotados em cada região (RIBEIRO; ALENCAR, 2019). A variabilidade genética das raças caprinas permitiu ao homem explorar as suas múltiplas aptidões com ferramentas de melhoramento genético e estudos em manejo nutricional, sanitário, ambiental e reprodutivo (RIBEIRO et al., 2016).

As raças ao longo dos anos foram inseridas em categorias de produção para carne ou leite, e quando atuam tanto para leite quanto para carne, são considerados animais de dupla aptidão (CRUZ et al., 2019a). Para isso, raças importadas, puras e nativas ganharam espaço em diferentes locais do Brasil, conforme disponibilidade dos recursos naturais (CÂMARA et al., 2019). O Nordeste, por exemplo, apresenta-se com

98 áreas de clima tropical, semiárido e equatorial úmido, onde há locais com grandes
99 períodos de seca, como é o caso dos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Minas
100 Gerais, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe (IBGE, 2019).

101 Nestes estados ocorre maior adoção de raças nativas, ou seja, que exercem
102 dupla aptidão (ARAUJO et al., 2015). Entre 2006 e 2017, o número de animais
103 comercializados no Brasil aumentou de 1,15 milhões para 1,90 milhões de cabeças,
104 representando crescimento de 65% (EMBRAPA, 2018). Apesar da caprinocultura
105 estar se desenvolvendo e ser fonte de renda para alguns produtores, para outros está
106 ainda é considerada atividade de subsistência, realidade de muitos criadores do
107 semiárido nordestino (CRUZ et al., 2019b).

108 A expansão da cadeia produtiva poderia ser ainda mais representativa, se não
109 houvessem prejuízos econômicos ligados a manejos, ambientes e instalações
110 inadequadas, falta de conhecimento técnico do produtor, além de enfermidades
111 parasitárias e infecciosas, que encontram-se disseminadas por boa parte dos
112 rebanhos brasileiros (NETO; OLIVEIRA; SILVEIRA, 2019). Com isso, afecções como
113 a LC causam grandes impactos econômicos na produção com uso de medicamentos
114 terapêuticos, assistência médica veterinária, condenação de carcaça e descarte dos
115 animais (BARNABÉ et al., 2019).

116

117 **3.2 Agente etiológico**

118

119 *C. pseudotuberculosis* são micro-organismo imóveis, não esporulados com
120 dimensões entre 0,5-0,6 µm por 1-3 µm, apresentam-se normalmente como bacilos
121 curtos, contudo assumem forma pleomórfica, ou seja, variam quanto a morfologia em
122 função das condições em que são submetidos *in vivo* ou *in vitro*, logo, essas bactérias
123 podem ser encontradas em formato de bacilos ou cocobacilos, isolados, aos pares ou
124 formando grupamentos irregulares, ficando dispostas em paralelos ou em diferentes
125 ângulos, similar ao alfabeto chinês em esfregaços confeccionados em laboratórios ou
126 em exame a fresco (BURKOVSKI, 2013).

127 Por se tratarem de micro-organismos Gram-positivos, podem ser visualizados
128 pelo método de Gram, o qual usa-se cristal violeta como base a sua coloração
129 conferido cor violeta a estrutura celular (WINN et al., 2008). Outras técnicas como as
130 histológicas ou hematológicas utilizam corantes como eosina (acidófilico) e
131 hematoxilina (basofílico) para identificação da célula por meio da coloração basofílica
132 (SOOD et al., 2012).

133 A parede celular das corinebactérias possui uma matriz complexa de proteína-
134 carboidrato composta por peptídeoglicano formado pelo ácido meso-diaminopimélico,
135 *N-acetilmurâmico* e *N-acetilglucosamina* ligados covalentemente com
136 arabinogalactano, conferindo a primeira barreira externa da bactéria (DORELLA et al.,
137 2006a; BURKOVSKI, 2013). Zuber et al. (2008) demonstraram por microscopia
138 crioelétrica de seções vítreas a formação de membrana externa composta de ácido
139 micólico formado por cadeias curtas de *beta-hidróxi* e cadeia lateral de *alfa-alqui* longa
140 e a visualização de uma camada granular com zona de baixa densidade.

141 Quanto aos aspectos bioquímicos, realizam processos fermentativos de
142 carboidratos como glicose, ribose, trealose, porém sem produção de gás, sendo
143 variáveis quanto a fermentação da maltose e lactose. São micro-organismos
144 produtores da enzima catalase e urease, contudo não hidrolisam gelatina, caseína e
145 esculina, não produzem a enzima citocromo-c oxidase, logo são considerados oxidase
146 negativa (WINN et al., 2008). A presença da enzima nitrato redutases permite
147 classificar o *C. pseudotuberculosis* em dois biovars, no biovar *equi* ocorre conversão
148 do nitrato para nitrito, enquanto que no biovar *ovis* não reduz este substrato (ALMEIDA
149 et al., 2017a).

150 Devido à presença de nitrato redutase, o biovar *equi* pode sobreviver na
151 ausência de oxigênio, em contrapartida, o biovar *ovis* não possui nitrato redutase,
152 utilizando diferentes fontes de carbono para seu metabolismo basal (ALMEIDA et al.,
153 2017a). As estruturas dos pilus encontradas no biovar *ovis* podem ser responsáveis
154 pela capacidade dessas cepas de se espalharem pelos órgãos do hospedeiro para
155 viver de forma intracelular, em contraste com o biovar *equi*, que raramente ataca os
156 tecidos viscerais (SOARES et al., 2013).

157

158 **3.3 Taxonomia**

159

160 *C. pseudotuberculosis* pertence ao filo e classe Actinobacteria, estão em uma
161 diversidade de micro-organismos, distribuídos amplamente nos ecossistemas
162 terrestres e aquáticos. Presentes na ordem Actinomycetales, compartilham genótipos
163 com a subordem Corynebacterium e família Corynebacteriaceae (GROSSART et al.,
164 2004; OSKAY; USAME; CEM, 2005).

165 O gênero *Corynebacterium* em associação com *Mycobacterium* spp., *Nocardia*
166 spp. e *Rhodococcus* spp. são denominados de CMNR, que significa um complexo de

167 bactérias da mesma família, compartilhando particularidades morfológicas e
168 bioquímicas, além de apresentar na parede celular polimérico de peptidoglicano,
169 arabinogalactano e ácido micólico e alta quantidade de guanina e citosina no seu
170 genoma (DORELLA et al., 2006a).

171 Em virtude das inúmeras espécies do gênero descobertas ao longo dos anos, os
172 desafios para distinguir novas estirpes surgiram, ferramentas como a biologia
173 molecular com uso do sequenciamento gênico 16S rRNA rpoB, estão sendo usados
174 rotineiramente como adjuvante à caracterização (KHAMIS et al., 2005).

175 A espécie mais conhecida do *Corynebacterium* spp é o patógeno
176 *Corynebacterium diphtheriae*, agente etiológico da difteria humana, doença toxêmica
177 de evolução aguda. Esse micro-organismo vem sendo isolado de infecções invasivas,
178 como endocardite, sepse, osteomielite, artrite, entre outras (TORRES et al., 2013).

179

180 **3.4 Fatores de virulência**

181

182 O envoltório celular da bactéria *C. pseudotuberculosis* apresenta-se com alto
183 teor de lipídeos, o qual destaca-se os ácidos micólicos presentes na camada externa
184 (DROPPA-ALMEIDA et al., 2016). Diversos fatores endógenos ligados a virulência
185 foram descritos, tais como resistência frente as enzimas lipolíticas presentes no
186 fagolisossomo, desidratação em ambientes hostis, capacidade de formar biofilmes e
187 inibição a agentes antimicrobianos físicos e químicos, além de induzir a formação do
188 abscesso pela quimiotaxia por componentes inflamatórios e ação necrosante (ZUBER
189 et al., 2008; BASTOS et al., 2012; MORAES et al., 2014).

190 Outro constituinte importante é o glicolípido fosfatidilinositol ancorados à
191 manose, lipomanano e lipoarabinomanano, que apresenta ação semelhante ao ácido
192 micólico (MISHRA et al., 2008). Uma análise da rede de interação de proteínas
193 associadas a membrana demonstrou que 22 destas são potencialmente patogênicas
194 e quatro (ciuA, fagA, OppA4 e OppCD) estão interligadas aos transportadores ABC
195 (ABC Transporters). Tais mecanismos tem a finalidade de transportar e absorver
196 lipídeos, peptídeos e sacarídeos do meio externos, sendo fundamental para fase
197 intracelular (RAYNAL et al., 2018).

198 Demais fatores foram detectados com a mesma finalidade por Moraes et al.
199 (2014), que evidenciaram a ação dos transportadores de peptídeos na captura de
200 peptídeos extracelulares em *C. pseudotuberculosis*. Além dos fatores de virulência

201 endógenos mencionados, há também os exógenos, a exemplo da PLD que
202 desempenha atividade crucial na virulência da espécie, sendo uma das exotoxinas
203 mais estudadas (SOARES et al., 2013).

204 A PLD apresenta capacidade de hidrolisar a esfingomiéline que está presente
205 nas membranas celulares enfraquecendo-as, e favorecendo a infecção. Diversos
206 danos na patogênese da LC estão relacionados com a PLD como a indução da
207 permeabilidade vascular com alterações no eritrograma, leucograma e bioquímica do
208 sangue MAHMOOD et al. (2015a), ação dermonecrotica, redução da viabilidade de
209 macrófagos após infecção (MCKEAN; DAVIES; MOORE, 2005)

210 Sá et al. (2013a), detectaram através da Reação em Cadeia da Polimerase –
211 PCR outros genes de virulência como fagA, B, C e D isolados de cepas de *C.*
212 *pseudotuberculosis*, provenientes de abscessos de caprino e ovinos, os quais estão
213 envolvidos na absorção de ferro. Além destes, outros foram identificados por análise
214 cromossomal como *Corynebacterium pseudotuberculosis* 40 (cpp), neuraminidase H
215 (nanH), proteína SpaC (spaC), óxido nítrico redutase (nem), superóxido dismutase
216 (SodC) sendo importantes para o mecanismo de invasão, adesão e manutenção
217 intracelular (TROST et al., 2010; CASSAT; SKAAR, 2013; CORRÊA et al., 2018).

218

219 3.5 Patogenia

220

221 A patogênese da LC ocorre após invasão do *C. pseudotuberculosis* no
222 hospedeiro pelas vias de entrada, que podem ser lesões cutâneas, mucosa oral,
223 ocular, nasal, alveolar, vaginal íntegras ou lesionadas, com período de incubação que
224 varia entre três e 20 semanas Odhah et al. (2017), contudo, duas semanas pós
225 infecção experimental já foi evidenciado sinais clínicos (MAHMOOD et al., 2015a).

226 A partir do local de entrada, os micro-organismos podem ser fagocitados por
227 neutrófilos, macrófagos e ou sofrer ação de outros componentes do sistema imune,
228 seguindo dois caminhos: o primeiro ser eliminado e o segundo desenvolver
229 mecanismos de resistência intracelular, mais especificamente nos macrófagos (SÁ et
230 al., 2018a).

231 Essa habilidade permite classificá-los como micro-organismos intracelulares
232 facultativos, de modo que após a fagocitose, o fagossomo funde-se ao lisossomo
233 formando o fagolisossomo, entretanto os mecanismos de virulência impedem a ação
234 das enzimas lisossomais. A sobrevivência continuada no interior dos lisossomos,

235 garante proteção e tempo para multiplicação de novas células, ao estarem no interior
236 destas células disseminam-se pelo sistema hematógeno, e conseqüentemente
237 linfático para linfonodos e outros órgãos (MOTTA, CREMASCO, RIBEIRO et al.,
238 2011).

239 Pesquisa com células derivada de linhagem renais embrionárias de ovino, já
240 demonstra a sobrevivência do *C. pseudotuberculosis* no interior destas, portanto as
241 células não fagocíticas podem desempenhar papel de manutenção desses micro-
242 organismos. Isso levanta a hipótese de que outras células realizem função semelhante
243 (VALDIVIA et al., 2012).

244 Para que tais processos de adaptação e manutenção celular sejam efetivos,
245 mecanismos de virulência são determinantes nos estágios iniciais da infecção. Em
246 investigações relacionadas a inativação de macrófagos, podem ser vistas interações
247 da PLD com células endoteliais, induzindo a vasodilatação e aumentando a
248 permeabilidade capilar, facilitando a disseminação do agente para diversos órgão
249 (MCKEAN; DAVIES; MOORE, 2005).

250 O hospedeiro na tentativa de conter o avanço da infecção induz a formação dos
251 abscessos por meio de componentes inflamatórios como células epitelióides, que se
252 fusionam para dar origem as células gigantes multinucleadas, além de células
253 polimorfonucleares como os neutrófilos e macrófagos que distribuem-se em torno de
254 um centro laminar necrótico com aspecto de cebola, envolto por cápsula fibrosa de
255 tecido conjuntivo (FONTAINE; BAIRD, 2008).

256 Outros componentes envolvidos no processo de formação dos abscessos são
257 as citocinas, a exemplos dos interferons, interleucinas e fator de necrose tumoral
258 mediadores da resposta inflamatória. Nesse sentido, ocorre propagação devido a
259 produção da exotoxina PLD, responsável pela formação do abscesso em fígado, rins,
260 coração, medula espinhal, testículos, glândulas mamárias e via respiratória, além dos
261 linfonodos superficiais e internos (MCKEAN; DAVIES; MOORE, 2007; FONTAINE;
262 BAIRD, 2008; AL-GAABARY et al., 2009).

263

264 **3.6 Resposta imunológica**

265

266 **3.6.1 Resposta imune inata**

267

268 A primeira resposta frente a infecção primária por *C. pseudotuberculosis*, é
269 mediada por componentes do sistema imune inato, sendo considerada uma ação
270 inespecífica pelo sistema imunológico. Portanto logo após a infecção, células
271 fagocíticas como neutrófilos, macrófagos e moléculas solúveis do sistema
272 complemento, proteínas de fase aguda, citocinas e quimiocinas são recrutadas para
273 o sítio de infecção (DORELLA et al., 2006b; FALISSE-POIRRIER et al., 2006;
274 BASTOS et al., 2012). Os neutrófilos por estarem presentes no endotélio vascular,
275 atuam na produção de quimiotáticos que são liberadas afim de atrair monócitos que
276 por sua vez liberam moléculas pró-inflamatórias IL-1 α , IL-6, INF- γ e TNF- α (PAULE et
277 al., 2004).

278 Os monócitos recrutados, são ativados para desempenharem função
279 fagocítica, passando a serem considerados como macrófagos, estes por sua vez
280 liberam óxido nítrico (NO), conhecido como monóxido de nitrogênio, produzido pela
281 enzima óxido nítrico sintetase (NOS) que tem ação sob lipídios membrana, com
282 atividade citostática e citotóxica, eliminando os patógenos por meio da ligação direta
283 de cofatores enzimáticos como o ferro (STEFANSKA et al., 2010). A bactéria *C.*
284 *pseudotuberculosis*, consegue interferir na produção do NO nos macrófagos, isso
285 garante em associação com outros mecanismos a sua resistência no interior destas
286 células explicando o desenvolvimento da forma crônica da doença (MARINO et al.,
287 2015).

288 Entretanto, apesar desta poderosa ferramenta, ocorre dificuldade pelos
289 macrófagos em produzir e eliminar o NO, supõem-se que isso ocorra devido a
290 estimulação das frações de antígenos destes micro-organismos. Esta baixa produção
291 de NO após estimulação com componentes desta bactéria, pode ser um fator capaz
292 de explicar o desenvolvimento de infecções crônicas em pequenos ruminantes
293 (MACHADO, 2004).

294

295 **3.6.2 Resposta imune adaptativa**

296

297 A resposta imune humoral mediada por imunoglobulinas é fundamental para
298 impedir a disseminação de *C. pseudotuberculosis* para outros locais do organismo
299 (SOUZA et al., 2011). Após infecção, pode ocorrer o mecanismo de resistência
300 intracelular ou eliminação do micro-organismo, para isso, as células apresentadoras
301 de antígenos através do complexo principal de histocompatibilidade tipo II (MHC II)
302 desempenham função de processar e apresentar fragmentos antigênicos do patógeno

303 aos linfócitos T auxiliares (T CD4+) e T citotóxicos (T CD8+) (MEYER et al., 2002;
304 ALVES; SANTIAGO; PINHEIRO, 2007).

305 Os linfócitos T CD4+ se subdividem em T auxiliares tipo 1 (Th1) e T auxiliares
306 do tipo 2 (Th2), os quais são fundamentais para resposta imunológica contra o *C.*
307 *pseudotuberculosis*, pois estimulam a produção de anticorpos pelas células B e
308 atraem linfócitos T CD8, para o local de infecção (JENKINS et al., 2011; ZHU et al.,
309 2010; SILVA et al., 2014).

310 As células Th1, liberam citocinas pró-inflamatórias IFN- γ e IL-2 que agem por
311 quimiotáxia com T CD8+ e macrófagos, além de estimular reação de
312 hipersensibilidade tardia IV e produção de anticorpos IgG2, que tem por finalidade
313 destruição do agente patogênico (TODA; YOSHINO, 2016). Contudo, as células Th2
314 tem função de estimular os linfócitos B, que conseqüentemente produziram anticorpos
315 IgG1, por ação das citocinas IL-4, IL-5 e IL-13. Saliencia-se que as células Th1 podem
316 inibir ou aumentar a expressão da resposta Th2 e vice-versa (JÚNIOR et al., 2010).

317 A produção IFN- γ pelas células Th1, mostrou-se capaz de reduzir a formação
318 dos abscessos quando encontrado em altas concentrações, sendo considerado uma
319 molécula de atividade antifibrótico (WYNN, 2004).

320

321 **3.7 Epidemiologia**

322

323 A LC apresenta-se com distribuição mundial, sendo relatada em alguns países
324 nas Américas do Sul (FARIAS et al., 2019) e do Norte (GUERRERO et al., 2018),
325 Europa (COSTA et al., 2019), África (NABIH et al., 2018), Ásia (KONG et al., 2019), e
326 Oceania (POINTON; HAMILTON; KIERMEIER, 2019). Com ocorrência em animais
327 domésticos como bovinos (SOARES et al., 2017), búfalos (VIANA et al., 2017), camelo
328 (ABDEL-RAHMAN et al., 2018), caprinos (ALVES et al., 2018), equinos (LOACHE et
329 al., 2016), ovinos (SILVA et al., 2019) e suínos (OLIVEIRA et al., 2014), além de
330 silvestres (MORALES et al., 2017) e recentemente foi relatado em uma rã
331 (*Lepidobatrachus laevis*) (DIREN SIGIRCI et al., 2019).

332 No Brasil, a ocorrência da LC estende-se por praticamente todos os estados, contudo
333 a região nordeste apresenta maior prevalência, isso pode ser explicado pela região
334 apresentar cerca de 93,24%, ou seja, 8.944.461 milhões de cabeças de caprinos em
335 todo território nacional (ANDRADE et al., 2012; IBGE, 2018).

336 Nesse sentido, foi observado ocorrência da LC ao longo dos anos em todos os
337 estados do nordeste brasileiro. Barnabé et al. (2019), utilizando exame bacteriológico
338 confirmou presença do agente *C. pseudotuberculosis* em 21,38% dos animais em
339 patos na Paraíba, já Farias et al. (2019) em avaliações sorológicas detectaram
340 prevalências de 30,3% nos animais avaliados nos estados do Ceará, Piauí, Rio
341 Grande do Norte, Paraíba e Sergipe.

342 Santos et al. (2018) em aplicação de questionário, registraram que em 92,3%
343 das fazendas avaliadas em Pernambuco, os produtores afirmaram ter observado
344 alguma vez presença do abscesso característico da LC, dentro dos seus respectivos
345 rebanhos. No estado da Bahia, Meyer (2003), detectou por meio de avaliação
346 sorológica prevalência de 46,6% para LC em caprinos.

347 Em avaliação de caprinos em cinco municípios do semiárido baiano foi
348 observado a presença de abscesso superficiais em 3,6% (59/1.639) dos animais,
349 destes sendo 71,4% (40/59) e 73,2% (41/59) foram confirmados para *C.*
350 *pseudotuberculosis* pelo exame bacteriológico e PCR multiplex (mPCR),
351 respectivamente, corroborando com a sorologia que identificou 71,2% dos 59 caprinos
352 como abscessos superficiais (FEHLBERG, 2010).

353 Já na região do recôncavo da Bahia, município de Cruz das Almas, Amorim
354 (2017) detectou anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis* em 46,7% de 55 caprinos
355 avaliados, por meio do ELISA indireto. A situação da LC é preocupante, visto que
356 apresentam impactos econômicos negativo, que envolve desde assistência médico
357 veterinária, até custo de tratamento e descarte dos animais (FACCIOLI-MARTINS et
358 al., 2014). Segundo Andrade et al. (2012) e Ribeiro et al. (2013), a LC pode acometer
359 indivíduos de qualquer idade, no entanto, apresenta-se mais frequente em animais
360 com idades entre um a dois anos.

361 Em relação a ocorrência entre machos e fêmeas de caprinos mais afetados
362 para LC, Al-Gaabary et al. (2009) observam que fêmeas são mais afetadas, segundo
363 o autor, as fêmeas permanecerem no rebanho por maior período do que os machos
364 que são abatidos mais cedo, justificando a incidência.

365 Quanto ao sistema de criação, foi verificado que para pequenos ruminantes no
366 estado do Distrito Federal, o tipo extensivo foi o mais adotado, representando cerca
367 de 48,4% das propriedades analisadas (CARMO et al., 2012). Contudo, Teixeira et al.
368 (2015) avaliando o manejo zoonosológico nas mesorregiões Centro, Leste e Norte do

369 Estado do Maranhão, observaram predomínio do tipo semi-extensivo para caprinos e
370 ovinos.

371

372 **3.8 Transmissão**

373

374 A veiculação da bactéria *C. pseudotuberculosis* em caprinos é um tanto
375 complexa, a doença apresenta-se de forma sintomática ou assintomática em caráter
376 crônico, estando associada a diferentes fatores que podem ser sinérgicos
377 potencializando a transmissibilidade nos sistemas de criação e nos variáveis tipos de
378 manejo ambiental, alimentar, sanitário e reprodutivo (RODRIGUES et al., 2016;
379 BARROS et al., 2018).

380 Dentre os principais sistemas de criação adotados no Brasil estão o extensivo,
381 semi-extensivo e intensivo, havendo predomínio dos dois primeiros, que podem variar
382 quanto a espécie trabalhada, tendo criação apenas de caprinos ou consorciada com
383 outras espécies como ovino, bovino, equino, possibilitando disseminação interespecie
384 da bactéria *C. pseudotuberculosis* e dos seus diferentes biovars. Estirpes presentes
385 em outras espécies podem carrear no genoma novos fatores de virulência e genes de
386 resistência, sendo um fator de risco (BARBOSA et al., 2018; MAIA et al., 2019).

387 A forma extensiva e semi-extensiva é adotada na maior parte do território
388 nacional, principalmente na região semiárida do nordeste, norte do Espírito Santo e
389 Minas Gerais, onde o bioma da caatinga está presente com temperaturas altas,
390 umidade do ar baixa e vegetação com espécies de cactáceas, arbustivas e espinhosa
391 (KAVAMURA et al., 2013). Segundo Gomide et al. (2018), há cerca de 258 genes que
392 possivelmente codificam proteínas que garantem a sobrevivência da bactéria em
393 condição de estresse térmico, o que contribui para manutenção do *C.*
394 *pseudotuberculosis* nesse bioma.

395 Os animais que apresentem o abscesso externo ficam propensos a laceração
396 por ação mecânica de plantas espinhosas, arbustos, dentre outros materiais da
397 natureza que sejam capazes de perfurar o tecido ou por supuração natural em
398 decorrência da fragilidade do tecido cutâneo (DUNO et al., 2016; AMORIM, 2017).
399 Esse conteúdo ao ser exteriorizado contamina a vegetação, que acaba sendo utilizada
400 como alimentação para outros animais, além de bebedouros, solo, instalações,
401 equipamentos e objetos, ou seja, tudo que entra em contato com o material purulento
402 torna-se uma fonte de infecção (SÁ et al., 2013b).

403 Os abscessos podem ser incisionados com instrumentos perfuro-cortantes dos
404 tratadores, que utilizam destes para outras finalidades pessoais, configurando um
405 risco a sua saúde (ALI et al., 2013). O descarte incorreto do material purulento é
406 determinante para manutenção do agente etiológico, visto que podem permanecer por
407 semanas a meses no ambiente (SPIER et al., 2014). Com isso o manejo alimentar
408 realizado com pastos ou forragens contaminadas de aspecto grosseiro podem
409 contribuir para o surgimento da infecção (CETINKAYA et al., 2002; CARVALHO et al.,
410 2018).

411 Outros fatores predisponentes, são ferimentos gerados por procedimentos de
412 castração, tosquia, brincagem e falta ou inadequação do tratamento do cordão
413 umbilical (WINDSOR, 2011). Já a inalação de secreção purulenta, proveniente de
414 abscessos, levam a ocorrência de abscessos pulmonares e linfonodos adjacentes
415 (SINGH et al., 2018). Nesse sentido, tonsilas e linfonodos retrofaríngeos quando
416 acometidos, podem ser responsáveis pela infecção aerógena de outros animais que
417 estão em contato (OREIBY, 2015).

418 A aquisição de novos animais sem o período de quarentena e ausência de
419 exames diagnósticos, representa um risco para o rebanho que não apresenta
420 casuística de LC. A presença de animais em feiras agropecuárias também se
421 apresenta como espaço de risco pelo contato próximo entre os animais (ALVES et al.,
422 2018).

423

424 **3.9 Sinais Clínicos**

425

426 A infecção por *C. pseudotuberculosis* cursa em geral de forma crônica com
427 apresentação de sinais clínicos ou sem presença evidente destes. A forma clássica
428 da LC, ocorre pela formação de abscesso em linfonodos superficiais e internos, além
429 de órgãos viscerais (SOOD et al., 2012; JUNG et al., 2015). As manifestações clínicas
430 surgem logo após infecção, os linfonodos sofrem aumento devido ao processo
431 inflamatório, que induz a formação de uma camada fibrosa espessa delimitando a
432 lesão e o tecido adjacente sofre remodelamento em função do crescimento do
433 abscesso. Quando acomete linfonodos superficiais a pele tende a ser esticada, ao
434 ponto em que ocorre perda dos pelos e o abscesso apresenta-se com consistência
435 fluida, como visto na Figura 1 (AMORIM, 2017).

436

437 **Figura 1** - Presença de abscesso superficial submandibular em caprino de três
438 meses de idade com Linfadenite Caseosa.



439 Fonte: Vinicius Pereira Vieira, 2019.

439
440
441

442 Com tais características, as lesões de LC tornam-se fragilizadas e podem
443 supurar com exposição do conteúdo piogênico de coloração branco amarelado ou
444 amarelo esverdeado para o ambiente. Já abscessos internos e órgãos viscerais
445 desenvolvem-se com aspectos semelhante, podendo ainda sofrer calcificação. Dentre
446 os linfonodos periféricos acometidos estão os parotídeos, submandibulares,
447 retrofaríngeos, pré-escapulares, inguinais, poplíteos e mamários, (JUNG et al., 2015;
448 VESCH; RAMOS, ZAFALON, 2015;) embora possam ocorrer em linfonodos internos
449 como os mesentéricos (SILVA et al., 2018b).

450 A infecção em órgãos viscerais pode comprometer a integridade do parênquima
451 dos órgãos afetando-os de maneira parcial ou total, podendo levar a perda da função
452 e conseqüentemente o óbito do animal (GUIMARÃES et al., 2011). Mahmood et al.
453 (2015b), observaram após infecção experimental por *C. pseudotuberculosis* em
454 cabras, alterações patológicas com presença de conteúdo purulento em linfonodos,
455 coração, pulmão, fígado, baço e rins.

456 Santarosa et al. (2014), descreveram um caso de LC com acometimento do
457 sistema nervoso central de uma cabra (*Anglo nubiana*) com sinais de tremores,
458 anorexia, dificuldade de locomoção, decúbito lateral, opistótono, movimentos de
459 pedalagem e nistagmo bilateral, sendo verificado no exame *post-mortem*
460 meningoencefalite supurativa e nódulos no dorso esquerdo e articulações.

461 O isolamento de *C. pseudotuberculosis* também foi possível em amostras de
462 leite provenientes de cabras leiteiras com mastite supurativa ou abscessos

463 encapsulados crônicos no úbere, que apresentavam sinais de diminuição na produção
464 de leite (NABIH et al., 2018).

465 Lesões no sistema reprodutivo de machos e fêmeas também podem ser
466 encontrados. Em relato de caso, Camargo et al. (2010) detectaram *C.*
467 *pseudotuberculosis* em um carneiro na inserção do escroto, próximo ao plexo
468 pampiniforme esquerdo, com sinais de rubor, dor à palpação e espessamento do
469 cordão espermático.

470 Já em estudo experimental a fim de avaliar o efeito crônico no sistema
471 reprodutor de cabras após a infecção Latif et al. (2016), concluíram que o *C.*
472 *pseudotuberculosis* pode ultrapassar a barreira física e causar lesões teciduais a
473 vagina, colo do útero, útero, cornos uterinos, ovários e linfonodos ilíacos com sinais
474 de inflamação, demonstrando que lesões após três meses são mais graves, podendo
475 predispondo à infertilidade e aborto.

476 Em avaliação de um caprino reprodutor, Rizzo et al. (2014) verificaram
477 presença de paralisia de membros pélvicos, causada por abscesso sob vértebras
478 torácicas (T12 a T13). Outros sinais clínicos podem ser detectados ao exame físico
479 como hipertermia, diminuição do apetite, perda progressiva de peso, alteração das
480 frequências respiratória e cardíaca (RADOSTITS et al., 2007).

481

482 **3.10 Diagnóstico**

483

484 **3.10.1 Clínico**

485

486 O diagnóstico clínico para LC apenas é possível quando ocorre o aparecimento
487 de sinais clínicos como a presença de abscessos superficiais, emagrecimento
488 progressivo, baixa eficiência reprodutiva, entre outros (RIET-CORREA et al., 2007
489 ALVES; SANTIAGO; PINHEIRO, 2007). A avaliação é iniciada na anamnese, por meio
490 de informações gerais sobre o paciente, obtidas diretamente com quem maneja os
491 animais afetados como raça, idade, sexo, local ou região de origem, aspecto geral do
492 rebanho, sistema de criação, histórico de doenças da propriedade, manejo alimentar,
493 sanitário e reprodutivo (FEITOSA, 2014).

494 Após anamnese, deve ser realizado exames físico geral e específico dos
495 animais, sendo este último direcionado às áreas afetadas. O exame físico constitui-se
496 pela inspeção visual do animal, rebanho e ambiente, além de métodos exploratórios

497 como palpação, afim de avaliar alterações em órgãos internos e externos, mudança
498 na textura, sensibilidade e consistência de linfonodos, além da presença de cicatrizes
499 ou lesões na pele, característico da doença (LUCAS et al., 2009; HASSAN et al., 2011;
500 FEITOSA, 2014).

501 A associação das informações do exame físico e anamnese podem subsidiar o
502 diagnóstico presuntivo para LC, contudo não é possível confirmar a doença, visto que
503 os sinais clínicos são inespecíficos, podendo estar presentes em outras enfermidades
504 (RADOSTITS et al., 2007; CHIKHAOUI; KHOUDJA, 2013). Portanto, faz-se
505 necessário o auxílio de exames complementares, como os exames microbiológicos,
506 imunológicos, moleculares, hemograma, bioquímico e histopatológico para diagnóstico
507 confirmatório (AL-GAABARY et al., 2009; OREIBY, 2014; SILVA et al., 2018b).

508

509 **3.10.2 Microbiológico**

510

511 O crescimento do *C. pseudotuberculosis* ocorre em condições aeróbicas ou
512 anaeróbicas em atmosfera com 5% de CO₂, contudo são considerados microaerófilos
513 por alguns autores, crescem em uma ampla variedade de temperatura (14 a 40°C),
514 sendo 37°C considerada ideal. Em relação ao potencial Hidrogeniônico (pH) são
515 neutrofílicas, ou seja, apresentam ótimas taxas de crescimento entre pH 7,0 a 7,8
516 (CHIRINO-ZÁRRAGA; SCARAMELLI; REY-VALEIRÓN, 2006; MATTOS et al., 2018).

517 A recuperação celular a partir do material purulento *in vitro* é realizado
518 primariamente em meios de cultura complexos como o caldo ou ágar Brain Heart
519 Infusion (BHI), que apresentam nutrientes extraídos de cérebro e coração bovino,
520 além de peptona e dextrose, podendo ainda adicionar-se ou não 0,1% de Tween 80
521 (BHI-T80), outros componentes como soro animal, lactoalbumina, extrato de levedura
522 e peptona de caseína, também podem ser utilizados para enriquecimento do meio de
523 cultura (BARNABÉ et al., 2019).

524 Em meio líquido apresentam crescimento característico com formação de
525 película na superfície, como observado na Figura 2, que sob agitação se desfaz em
526 flocos, depositando-se ao fundo do tubo, esse aspecto é conferido pelos ácidos
527 corinomicólicos presente na parede celular da bactéria (MOURA-COSTA, 2002).

528

529 **Figura 2** - Cultivo bacteriológico de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caldo
530 Brain Heart Infusion – BHI, proveniente de material caseoso de abscesso caprino..



Fonte: Vinicius Pereira Vieira, 2019.

531
532
533

534 Outro meio utilizado é o ágar sangue acrescido de 5% a 10% de sangue ovino
535 desfibrinado, em que as colônias são visualizadas entre 24 a 72 horas após incubação
536 com coloração que varia de branco-acinzentado a amarelo com aspecto opaco, secas
537 e não aderidas ao meio (DORELLA et al., 2006a; RIBEIRO et al., 2011; OREIBY,
538 2015; SÁ et al., 2018b).

539 Embora seja considerado agentes beta-hemolíticos, a formação da hemólise é
540 variável, podendo não ser detectada satisfatoriamente no período de 48 à 72h no
541 angar sangue (DOMENIS et al., 2018). A utilização do Tween 80, estimula a atividade
542 hemolítica das cepas, bem como a inoculação em paralelo com *Rhodococcus equi*, o
543 que estimula a formação de grandes zonas de hemólise (ILHAN, 2013).

544

545 **3.10.3 Molecular**

546

547 Diferentes técnicas moleculares são aplicadas para o diagnóstico da LC
548 (ODHAH et al., 2019; DORNELES et al., 2014) e caracterização genotípica das cepas
549 de *C. pseudotuberculosis* (GAO et al., 2018). A PCR convencional, é um método
550 utilizado no diagnóstico da LC, tem como princípio a detecção do material genético do
551 *C. pseudotuberculosis*, entretanto pode apresentar reação cruzada com
552 *Corynebacterium ulcerans*, devido à amplificação de apenas um gene por reação
553 (COSTA et al., 2019).

554 Já o mPCR, permite a detecção de vários genes em uma só reação,
555 minimizando a possibilidade de reação cruzada. Em pesquisa Pacheco et al. (2007),
556 desenvolveram uma mPCR, utilizando três genes o 16S rRNA (RNA ribossomal), rpoB
557 e pld para identificar a bactéria *C. pseudotuberculosis* em material purulento de

558 caprinos e ovinos naturalmente infectados, alcançando boa especificidade e
559 sensibilidade.

560 O ensaio de PCR quadruplex, por meio da utilização dos genes 16S, rpoB e pld
561 e do redutase narG, permite a detecção simultânea e tipagem do biovar de *C.*
562 *pseudotuberculosis* (ALMEIDA et al., 2017b). Outras técnicas como a PCR em tempo
563 real (RT-qPCR) foi desenvolvida com objetivo de acelerar o tempo de reação e
564 quantificação do DNA presente na amostra com possibilidade ainda de detectar
565 fragmentos de menor peso molecular (PFAFFL et al., 2013; CARVALHO et al., 2014).

566

567 **3.10.4 Imunológico**

568

569 Os métodos sorológicos são os mais utilizados, juntamente com o isolamento
570 bacteriológico para o diagnóstico para LC, visto que são capazes de detectar
571 quantidades de anticorpos e outros constituintes do sistema imunológico em
572 nanograma a picogramas por mililitros de soro sanguíneo, possibilitando identificar
573 animais naturalmente expostos ao *C. pseudotuberculosis* ou que se encontram na
574 fase subclínica da doença (BERSHTEYN et al., 2012; VASHIST; LUONG, 2018).
575 Nesse sentido, foram desenvolvidos ensaios de imunoabsorção enzimática (Enzyme-
576 Linked Immunosorbent Assay – ELISA) com diferentes antígenos e formas de captura
577 de anticorpos (LIU et al., 2016).

578 O ELISA tem como princípio a interação entre antígeno e anticorpo, podendo
579 ser qualitativo ou quantitativo. O teste utiliza marcadores enzimáticos como a
580 peroxidase e fosfatase alcalina que reagem com substratos cromogênicos gerando
581 fluorescência (MADRUGA et al., 2001). Tais ensaios, são realizados em suportes
582 sólidos como microplacas de poliestireno de 96 poços ou membranas de nitrocelulose
583 que servem de base para ligação de antígenos ou anticorpos (HORNBECK, 2015;
584 AUAD et al., 2018).

585 Os suportes sólidos são inicialmente revestidos com antígenos que no caso da
586 LC podem ser somáticos, secretados ou recombinante ou anticorpos (mono ou
587 policlonais) (STING et al., 2012; GUIMARÃES et al., 2011), diluídos em soluções
588 tampão alcalinas, constituindo a etapa de sensibilização. Em seguida, realiza-se a
589 fase de bloqueio em que proteínas heterólogas não reativa são utilizadas para
590 ocuparem espaços onde não houveram ligação dos anticorpos ou antígenos (JUNG
591 et al., 2015).

592 Após etapa de sensibilização e bloqueio as amostras de soro sanguíneo
593 (anticorpo primário) ou outros fluidos corporais são submetidas ao contato, afim de
594 que ocorra reconhecimento dos epítopos e posterior ligação dos marcadores
595 enzimáticos que são anti-anticorpos (anticorpo secundário) conjugados com enzima
596 que reagem com substratos cromogênicos em reações enzimáticas produzindo cor
597 visível que podem ser qualificados em positivo e negativo ou quantificados em títulos
598 por espectrofotometria (CARMINATI, 2005).

599 Dentre os diferentes tipos de ELISA tem-se o direto, indireto, sanduiche e
600 competitivo como demonstrado na Figura 3. O ELISA direto, detecta o antígeno na
601 amostra de interesse por meio da adição do anticorpo primário acoplado a enzima
602 com posterior catalisação enzimática produzida pela ação do substrato cromogênico
603 (POWERS et al., 2012).

604 Já o ELISA indireto, faz o uso de dois anticorpos sendo o primário proveniente
605 da amostra testes que se liga ao antígeno alvo, adsorvido previamente ao suporte
606 sólido. A seguir, o anticorpo secundário que está marcado com a enzima liga-se ao
607 anticorpo primário e a coloração é inversamente proporcional à quantidade de
608 anticorpo presentes naquela amostra (SOLANET et al., 2011; REBOUÇAS et al.,
609 2013).

610 No entanto o ELISA sanduíche, apresenta-se em outro formato de detecção, o
611 antígeno fica entre dois anticorpos, o anticorpo primário nesse caso chamado de
612 captura e o secundário denominado de detecção (LV et al., 2019). Nesse ensaio, os¹
613 anticorpos de captura são previamente adsorvidos ao suporte sólido, em seguida é
614 adicionada a amostra de interesse e caso tenha a presença de antígeno, este liga-se
615 aos anticorpos de captura (TRIPATHI et al., 2016). Posteriormente, é adicionado
616 anticorpos primários que se ligam ao antígeno, formando uma espécie de sanduíche.
617 Seguidamente os anticorpos de detecção associados a enzima, são adicionados e
618 estes ligam-se ao anticorpo primário. Logo a seguir, realiza-se adição da substância
619 cromógena ocorrendo a reação enzimática (SHU et al., 2017).

620 Contudo no ELISA de competição o antígeno é ligado à enzima ao em vez do
621 anticorpo, sendo assim o antígeno marcado compete pelos sítios de ligação do
622 anticorpo primário em associação com o antígeno da amostra (SOGAWA et al., 2019).

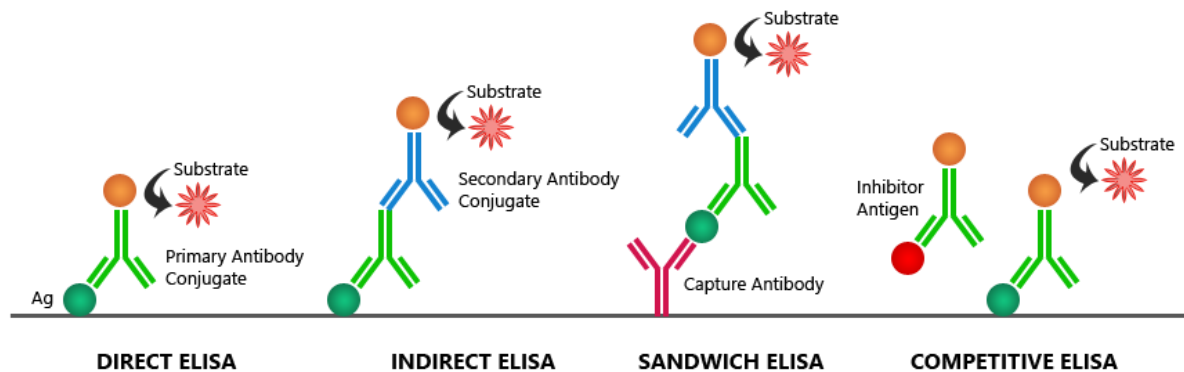
¹ Disponível em:

<https://www.researchgate.net/post/what_the_differences_between_direct_and_in_direct_ELISA>
Acesso em: 25 nov. 2019.

623 Quanto mais antígeno na amostra tiver, maior ser o coeficiente de ligação com o
 624 anticorpo e menor ser a intensidade de cor (HUÁNUCO; GUTIÉRREZ; MULLER,
 625 2017; BRENNER et al., 2019).

626

627 **Figura 3 -** Esquema dos diferentes tipos de ELISA direto, indireto, sanduiche e
 628 competitivo.



629

630

631

Fonte: Researchgate, 2019¹.

632 Apesar dos diferentes testes ELISA, o mais empregado é o ELISA indireto
 633 usado para o diagnóstico de animais naturalmente ou experimentalmente infectados
 634 e acompanhamento da resposta vacinal, dentre outras finalidades (ALVES et al.,
 635 2018; AUAD et al., 2018). Contudo, existem poucos testes ELISA comerciais
 636 disponíveis para o diagnóstico da LC, o kit ELISA indireto (Cusabio®) com antígeno
 637 recombinante da PLD de *C. pseudotuberculosis* é um dos poucos fabricados (OYHAN
 638 et al., 2014). Para isso são utilizados antígenos que variam quanto a tecnologia de
 639 produção, extração, purificação e capacidade imunorreativa (STING et al., 2014).

640 Os antígenos recombinantes são produzidos pela inserção de genes de
 641 interesse em vetores biológicos, assim as proteínas são expressadas, purificadas e
 642 testadas quanto a sua imunoreatividade (VALE et al., 2003). Em estudo Barral et al.
 643 (2019), testaram cinco tipos de proteínas recombinante, dentre estas a PLD, CP40,
 644 PknG, DtxR e Grx, para detecção de anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis* por meio
 645 do ELISA indireto para soro caprino, obtendo excelentes resultados com a PLD e
 646 CP40 com sensibilidade de 96,9% e especificidade de 98,4%.

647 Outro ensaio de ELISA indireto com proteínas recombinantes CP0126a,
 648 CP0369 e CP1957, demonstrou capacidade imunorreativa em soro de ovinos
 649 naturalmente infectados com *C. pseudotuberculosis*, apresentando especificidade de

650 77,5%, 92,5% e 92,5% e sensibilidade de 95%, 90% e 85% respectivamente
651 (REZENDE et al., 2016).

652 Apesar dos resultados satisfatórios, demonstrados em pesquisas, o alto valor
653 empregando na produção de proteínas recombinantes tem sido um dos entraves para
654 utilização destes antígenos na rotina diagnóstica (SILVA et al., 2013). Todavia
655 Carminati et al. (2003), desenvolveu um ELISA indireto, utilizando como antígeno o
656 secretado de cultura de *C. pseudotuberculosis* em caldo BHI com boa capacidade em
657 discriminar animais positivos e negativos com resultados de sensibilidade de 93,5% e
658 especificidade de 100%, tendo sido aplicado em diversos outros trabalhos.

659 Assim, Ribeiro et al. (2013) utilizando o teste ELISA indireto com antígeno BHI
660 para o diagnóstico de LC em ovinos assintomáticos, notaram que cerca de 71% dos
661 animais apresentaram-se positivos no ELISA e que destes 85% foram assintomáticos,
662 mostrando-se eficiente na detecção destes animais. Já em inquérito
663 soropidemiológico para LC com caprinos naturalmente infectados, foi observado
664 positividade de 78,9% dos animais, seguindo a mesma metodologia citada
665 (SEYFFERT et al., 2010).

666 Seguindo a produção de antígeno a partir do sobrenadante da cultura de *C.*
667 *pseudotuberculosis* em caldo BHI, Paule et al. (2004), aplicaram a técnica
668 particionamento trifásico – TPP, utilizado sulfato de amônio pH 4,0 a 30% e verificou
669 excelente resultados de imunoreatividade humoral e celular frente antígeno. Nesse
670 contexto, Carminati et al. (2005), afim de avaliar a eficiência do antígeno TPP, testou-
671 o dois diferentes ensaios de ELISA, um indireto e outro sanduíche e observou
672 sensibilidade e especificidade de 100% para o ELISA indireto e sensibilidade de 74%
673 e especificidade de 72% para o ELISA sanduíche.

674 Nesse sentido, Cerqueira et al. (2006) utilizou o antígeno TPP, MQD e BHI,
675 além de frações Q5 e Q6 extraídos do sobrenadante da *C. pseudotuberculosis* em
676 cinco ensaios de ELISA indireto e notou-se que a fração Q5, apresentou sensibilidade
677 de 97,8% e especificidade de 95,6% e a Q6 sensibilidade de 91,1% e especificidade
678 de 95,6%.

679 Zerbinati et al. (2007), produziu dois antígenos um com massa celular de *C.*
680 *pseudotuberculosis* por processamento de diálise, denominado de Banho-Maria
681 Dialisado – BMD (antígeno BMD) e outro antígeno BHI com base no protocolo descrito
682 por Carminati et al. (2003). Ambos foram submetidos a um teste ELISA indireto para
683 o diagnóstico da LC em soros caprinos naturalmente infectados e não infectados, com

684 resultados de sensibilidade de 99,8% e especificidade de 98,0% para o antígeno BMD
685 e sensibilidade e especificidade de 98,0% utilizando o antígeno BHI.

686

687 **3.10.5 Hematológico e bioquímico**

688

689 Em avaliação de caprinos experimentalmente infectados com *C.*
690 *pseudotuberculosis* (1×10^9 UFC/mL) e inoculação de extrato de ácido micólico por via
691 intradérmica Odhah et al. (2017), observaram alterações hematológicas com
692 diminuição dos glóbulos vermelhos, hemoglobina e hematócrito, além de microcítose
693 (volume corpuscular médio) e hipocrômia (concentração de hemoglobina corpuscular
694 média). Contudo Bispo, (2018), avaliando caprinos sorologicamente positivos para LC,
695 não observou alterações significativas para os parâmetros hematimétricos.

696 Quanto aos glóbulos brancos, podem ser encontrados leucocitose que cursam
697 em geral com neutrofilia, monocitose e linfopenia (OSMAN et al., 2012; MAHMOOD
698 et al., 2015a). No estudo experimental de Othman et al. (2014), por meio da exposição
699 do *C. pseudotuberculosis* (10^7 CFU/mL) em três vias de infecção (oral, intranasal e
700 intradérmico), verificou leucocitose em ambas vias, com leve acréscimo dos
701 neutrófilos nos grupos intranasal e intradérmico, e pequeno aumento na contagem de
702 monócitos apenas no grupo intranasal. Entretanto, foi notado redução significativa na
703 contagem linfocítica para o grupo inoculado intranasalmente.

704 Em relação aos parâmetros bioquímicos são observados elevação da uréia e
705 creatinina, utilizados como marcadores renais, além de aumento nos parâmetros de
706 avaliação hepática como Aspartato Aminotransferase (AST), Creatinofosfoquinase
707 (CPK), Gama Glutamil Transferase (GGT) e diminuição dos parâmetros de Alanina
708 Aminotransferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA) e Albumina (OTHMAN et al., 2014;
709 MAHMOOD et al., 2015b). As alterações notadas com maior frequência ocorrem em
710 função do caráter inflamatório, como a hiperfibrinogenemia, considerada como
711 marcador de fase aguda, hiperproteinemia pela hiperimunoglobulinemia
712 principalmente IgG e interferon-gama (BISPO, 2018).

713

714 **3.10.6 Histopatológico**

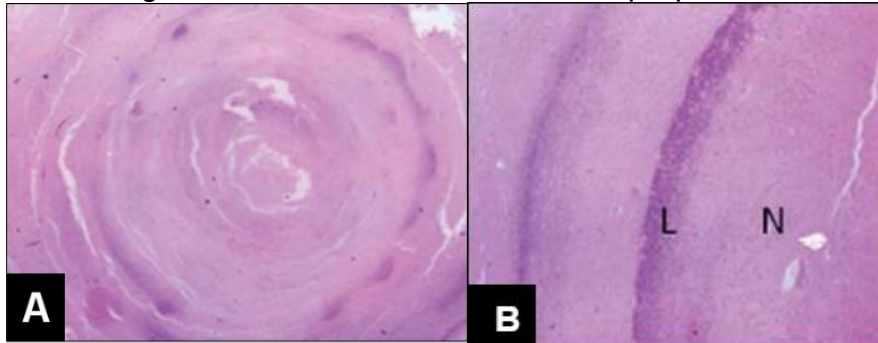
715

716 No exame histopatológico de caprinos e ovinos são observados conteúdo
717 piogênico necrosante na forma de zonas concêntricas em padrão típico da LC. Estas

718 zonas são formadas por camada de parênquima necrosado, linfócitos, macrófagos e
 719 células polimorfonucleares principalmente neutrófilos, conforme Figura 4. Em alguns
 720 casos, são observados calcificação total dos nódulos ou em pontos específicos (AL-
 721 GAABARY et al., 2010; KONG et al., 2019).

722

723 **Figura 4** - Fotomicrografia de abscesso supurativo causado por *Corynebacterium*
 724 *pseudotuberculosis* agente da Linfadenite Caseosa em pequenos ruminantes.



725

726

A. Camadas concêntricas de parênquima e células necrosadas.

727

B. Área de necrose tecidual (N), cercada de linfócitos, macrófagos e granulócitos
 728 polimorfonucleares (L). Coloração (A e B): Hematoxilina e eosina, 100x.

729

Fonte: Al-Gaabary et al. 2010.

730

731

732

733

734

735

736

737

738

739

Em *Alpine chamois* (*Rupicapra r. rupicapra*) conhecida como cabra-montesa, considerados como caprinos selvagens, ocorre a presença de abscessos semelhantes aos encontrados nas espécies de caprinos e ovinos utilizados para produção, contudo não são observadas camadas de necrose coagulativa frequentemente visualizadas nas espécies citadas (DOMENIS et al., 2018). Em relato de caso, Sood et al. (2012) observaram a ocorrência da LC em linfonodos mesentéricos de um bezerro com conteúdo purulento, calcificação distrófica rodeado por uma zona inflamatória e encapsulamento por tecido fibroso.

740

3.11 Diagnóstico Diferencial

741

742

743

744

745

746

747

748

Diversas enfermidades cursam com sinais clínicos inespecíficos e semelhantes aos da LC, logo é importante realizar o diagnóstico diferencial (ALENCAR et al., 2010; GUEDES et al., 2017; JÚNIOR et al., 2019). Silva et al. (2017), avaliaram por exame microbiológico abscessos superficiais e internos de pequenos ruminantes abatidos e observaram a presença de *C. pseudotuberculosis* e outros micro-organismos como *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Trueperella pyogenes*, *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus aureus*.

749 Diversos órgãos são acometidos pela bactéria *C. pseudotuberculosis* e as
750 lesões pulmonares são de grande preocupação, pois a formação do abscesso da LC
751 apresenta estrutura similar ao da tuberculose e paratuberculose, doenças de alto
752 impacto para saúde pública e animal (GUIMARÃES et al., 2011; SINGH et al., 2018;
753 INFANTES-LORENZO et al., 2019). Já a ocorrência da LC no sistema nervoso central,
754 pode apresentar sinais clínicos semelhantes ao da raiva, listeriose, trauma,
755 polioencefalomalacia, ataxia e meningite (GUEDES et al., 2007, SANTAROSA et al.,
756 2014).

757 A mastite em cabras, representa um dos principais impactos econômicos
758 negativos para produção leiteira, uma vez que apresenta-se sob a forma clínica e
759 subclínica, com diversos agentes como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*
760 *intermedius*, *Trueperella pyogenes* *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus* spp.,
761 *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Nocardia* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia*
762 spp (JÚNIOR et al., 2019), contudo apesar de pouco frequente, Nabih et al. (2018)
763 isolaram *C. pseudotuberculosis* do úbere de cabras com mastite supurativa.

764 Quanto as lesões no sistema reprodutivo de machos e fêmeas, pode-se
765 perceber a disseminação da bactéria pelas estruturas, como Camargo et al. (2010)
766 que isolaram *C. pseudotuberculosis* da inserção do escroto de um carneiro que
767 apresentava sinais clínicos semelhantes ao da Brucelose relatados por Bombonato,
768 2017). Quanto as fêmeas Latif et al. (2016), observaram lesões distribuídas em todos
769 os tecidos reprodutivos e linfonodos adjacentes, com sinais de inflamação o que
770 predispõe à infertilidade e aborto, que também pode ser causado por outros agentes
771 como *Brucella ovis e abortus* (GIVENS; MARLEY, 2008), *Listeria* sp. (FERREIRA
772 JÚNIOR; NASCIMENTO; MIGUEL, 2015), *Leptospira* sp. (MARTINS et al., 2012),
773 *Streptococcus* spp. e *Escherichia coli* (PEREIRA et al., 2013).

774

775 **3.12 Tratamento**

776

777 Em virtude da LC cursar com abscesso externos e internos, este último é pouco
778 diagnosticado de forma precoce, sendo notado em geral apenas no abate (SILVA et
779 al., 2018b). Contudo, as lesões superficiais são tratadas rotineiramente por meio da
780 extirpação cirúrgica com princípios básicos de assepsia, com posterior drenagem do
781 conteúdo purulento e aplicação de solução de iodo a 10% para cauterização química
782 (FARIAS et al., 2018). Além desse método, associa-se também a antibioticoterapia

783 sistêmica, contudo, o seu uso indiscriminado tem sido causa do surgimento de
784 bactérias multirresistentes, o que além de outros fatores, leva ao insucesso do
785 tratamento (RHODES et al., 2015; DUNO et al., 2016).

786 Em paralelo a isso, a dificuldade de contato das drogas com o patógeno, devido
787 a cápsula fibrosa espessa ao redor das lesões e a natureza intracelular do *C.*
788 *pseudotuberculosis*, dificulta a ação dos antibióticos (BAIRD E FONTAINE, 2007;
789 SANTIAGO et al., 2013). Frente a essa problemática, estão sendo propostas novas
790 alternativas como o uso de substâncias fitoterápicas e tecnológicas como a
791 nanotecnologia, tendo está última resultados promissores em medicina humana e
792 veterinária (RUDRAMURTHY et al., 2016).

793 O uso de substâncias fitoterápicas com funções bactericidas vem sendo
794 investigada ao logo dos anos. O extrato foliar da *Moringa oleífera*, testada contra
795 bactérias piogênicas, incluído o *C. pseudotuberculosis*, tem apresentado resultados
796 satisfatórios *in vitro*, podendo ser um caminho para novas fórmulas terapêuticas
797 (FOUAD; ELNAGA; KANDIL, 2019).

798 Outras possibilidades promissoras são pomadas contendo nanopartículas de
799 prata biogênicas (AgNP), pois apresentam boa atividade antimicrobiana, sendo seu
800 mecanismo de ação voltado para os aspectos físicos da membrana, portanto, com
801 menor probabilidade para induzir resistência. Os animais tratados com AgNP
802 demonstram cicatrização mais rápida com menor área incisão cirúrgica (NARAGINTI
803 et al., 2016; EL-BATAL et al., 2016; HALBUS et al., 2017).

804 Em estudo, Stanisic et al. (2018) avaliaram o efeito do AgNP *in vitro* e *in vivo*
805 contra *C. pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos e observaram aceleração da
806 cicatrização de feridas cirúrgicas realizadas para extirpação do conteúdo purulento,
807 que ocorreram duas a três vezes mais rápido, em comparação com o tratamento com
808 iodo 10%. O tratamento com pomada à base de AgNP também impediu o
809 reaparecimento do LC e não causou efeitos colaterais nos animais.

810

811 **3.13 Controle e Profilaxia**

812

813 O controle da LC deve ser realizado em associação com diversos fatores que
814 permeiam desde o manejo nutricional, reprodutivo, sanitário e ambiental até a
815 utilização de equipamentos e instrumentos comum entre os animais. Além destes
816 métodos, outros como a vacinação devem ser implementados em paralelo. Assim,

817 deve-se compreender que os pontos descritos, não devem ser vistos como fatores
818 isolados e sim complementares, pois falhas em qualquer um destes podem permitir a
819 disseminação por todo o rebanho (ALENCAR et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2011;
820 RIBEIRO et al., 2013; MIRA et al., 2014).

821 A alimentação fornecida aos animais deve ser segura e de boa qualidade,
822 cactáceas, palma forrageira e outras plantas que apresentem estruturas agressoras
823 como espinhos, devem passar por processos de picagem, a fim de evitar agressões
824 mecânicas a mucosa oral dos animais (CARVALHO et al., 2018). A qualidade da água
825 é fundamental, pois como observado por Dantas et al. (2015), o agente pode
826 sobreviver por até quatro dias em água na ausência de luz e dois dias expostos à luz,
827 por isso é importante manter água fresca, recipientes limpos e livres de sujeira do
828 ambiente.

829 A criação de caprinos consorciada, não é aconselhável, principalmente quando
830 se trata de animais destinados a reprodução, visto que aumenta o risco de infecção
831 interespecie (SÁ GUIMARÃES et al., 2011; RIZZO et al., 2014). Os animais destinados
832 a tal prática devem ser rigorosamente avaliados quanto ao estado de saúde geral,
833 seguindo os programas vacinais estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária
834 e Abastecimento (MAPA), bem como a utilização de testes diagnósticos para detecção
835 precoce deste e outras enfermidades sob acompanhamento de médico veterinário
836 (VESCH; RAMOS; ZAFALON, 2015).

837 O controle sanitário baseia-se na identificação dos animais doentes para
838 isolamento e tratamento (DORELLA et al., 2006b). O ideal é que animais positivos
839 para LC sejam encaminhados ao abate sanitário, entretanto Alves; Santiago, Pinheiro,
840 (2007), recomendaram retorno destes animais após total cicatrização dos abscessos,
841 sendo aplicação de testes sorológicos para identificação de animais assintomáticos
842 de suma importância.

843 A drenagem dos abscessos deve ser realizada em ambientes isolados, com
844 instrumentação asséptica, seguindo orientação médica profissional, o material deve
845 ser coletado em recipientes, seringas ou embalagens plásticas e seguidamente
846 incinerado (RIZZO et al., 2017). A desinfecção das feridas cirúrgicas pela extirpação
847 do abscesso, feridas acidentais e cura do umbigo de animais recém-nascidos, devem
848 ser realizadas com solução de iodo a 10% (SANTIAGO et al., 2013).

849 Contudo, Sá et al. (2013) avaliando a efetividade dos desinfetantes, constatou
850 maior atividade microbicida para formaldeído e clorexidina e menor efetividade do

851 iodo, comparado a amônia quaternária em isolados de *C. pseudotuberculosis*
852 formadores de biofilme.

853 O cuidado com o ambiente é fundamental para o controle, considerado por
854 muitos autores como uma das fontes de manutenção e contaminação do *C.*
855 *pseudotuberculosis* (FACCIOLI-MARTINS; ALVES; PINHEIRO, 2014). A desinfecção
856 das instalações e equipamentos devem ser rigorosamente executados, com produtos
857 químicos ou vassoura de fogo, pois formação de biofilmes já é demonstrada em
858 pesquisas, sendo um mecanismo de resistência as condições adversas e a
859 desinfetantes (VESCH; RAMOS; ZAFALON, 2015).

860 Os fômites são importantes veículos de transmissão, logo, todos os materiais
861 compartilhados devem ser desinfetados, como tatuadores, tosquiadeiras, tesouras e
862 demais instrumentos, vale ressaltar que a reutilização de agulhas e seringas é proibida
863 e devem ser descartadas (ANDRADE et al., 2012).

864 As vacinas são métodos profiláticos para controle da LC, devendo ser
865 instituídos sob orientação de um médico veterinário (ROSLINDAWANI et al., 2016). O
866 Brasil dispõe de três marcas comerciais de vacina para pequenos ruminantes, a
867 vacina 1002® Viva Atenuada, Glanvac-6® Inativada com outros toxóides e Linfovac®
868 Viva Atenuada (MAPA, 2019).

869 As vacinas podem ser classificadas como de primeira geração, onde utiliza-se
870 células vivas atenuadas e mortas de *C. pseudotuberculosis* por elevação de
871 temperatura, e agentes químicos, segunda geração com toxóides, proteínas e
872 polissacarídeos purificados e terceira geração, vacinas recombinantes e gênicas
873 (vacina de DNA – ácido desoxirribonucleico) (SANTOS et al., 2016; SANTANA-
874 JORGE et al., 2016; SILVA et al., 2018a).

875

876 4. MATERIAL E MÉTODOS

877

878 4.1 Local de realização do estudo

879

880 O trabalho foi realizado em duas etapas, a primeira constituiu-se da produção
881 do Antígeno Liofilizado (ATL). E a segunda, realizada para escolher a diluição ideal
882 para realização posteriormente do ELISA indireto no Laboratório de Doenças
883 Infecciosas (LDI) do Hospital Universitário de Medicina Veterinária (HUMV) da
884 Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

885

886 4.2 Produção do antígeno liofilizado

887

888 Para a produção do ATL, foi utilizado a bactéria *C. pseudotuberculosis* cepa
889 1002, cultivada em tubos de ensaio contendo cinco mL de caldo BHI à 37°C por 48
890 horas. Posteriormente, as culturas foram inoculadas em Ágar Tryptose® e incubada a
891 37°C por 48 horas, ao fim desse período cinco colônias foram transferidas para tubos
892 de cinco mL de caldo Tryptose® acrescido com tween 80 e incubados em estufa a
893 37°C por 48 horas.

894 Em seguida, centrifugou-se a 1.000 g por 10 minutos, obtendo-se duas frações
895 o sobrenadante o qual foi desprezado e a massa bacteriana ao fundo do tubo, que
896 será utilizada como antígeno. A pureza do antígeno foi atestada pela técnica de
897 bacterioscopia utilizando o método de Gram e inoculação em ágar sangue de carneiro
898 a 5%. Para o processo de liofilização foi adicionado 0,1 grama de leite em pó molico®
899 como estabilizante, para cada um grama de massa bacteriana, após liofilização
900 obteve-se o antígeno, armazenado 5°C até o momento do uso.

901

902 4.3 Determinação da diluição do ATL para o ELISA indireto

903

904 A segunda etapa, foi realizada no Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI) do
905 Hospital Universitário de Medicina Veterinária (HUMV), afim de determinar a melhor
906 diluição do ATL, para o ELISA indireto, um grama do antígeno foi ressuspendido em
907 um mL de tampão fosfato-salino 0,85% estéril, seguidamente foi agitado por 30
908 minutos em agitador vortéx (Labnet®) velocidade máxima. Em seguida foi levado a -
909 20°C por ±24 horas, após esse período foi novamente submetido ao agitador vórtex

910 (Labnet®) em velocidade máxima por igual período, facilitando assim a dissociação
911 dos antígenos.

912 Em seguida, foram preparadas quatro diluições do ATL 1:400, 1:200, 1:100 e
913 1:50 utilizando tampão carbonato-bicarbonato pH 9,6. Para realização da etapa de
914 sensibilização, utilizou-se microplacas de fundo chato de poliestireno de 96 poços
915 (Costar®), onde adicionou-se 100 µL do ATL diluído, em seguida as microplacas
916 foram incubadas em câmara úmida na temperatura de 4°C por 18 horas.

917 Após esse período, as microplacas foram lavadas duas vezes com tampão
918 fosfato salino (Phosphate Buffer Solution – PBS,) acrescido com Tween-20 a 0,05%
919 (PBS-T 0,05%). Em seguida, para realização do bloqueio foi adicionado 200 µL de
920 solução de PBS-T com leite desnatado (Molico®) a 5% e a microplaca foi incubada a
921 37°C por duas horas. Após esse período, foi realizado um pool com quatro soros de
922 caprino positivo e quatro soros de caprino negativos para LC, para isso 25 µL de cada
923 soro foram alíquotadas para perfazer um volume final de 100 µL de cada pool. Na
924 sequência, cada pool controle foi homogeneizado e diluído em 1:1000 de solução de
925 PBS-T com leite desnatado a 1%.

926 Após o período de bloqueio, as microplacas foram submetidas a duas lavagens
927 com PBS-T 0,05% e foram aplicados 50 µL em cada poço da solução de leite
928 desnatado a 1% (controle branco) e 50 µL de cada pool controle positivo e negativo
929 em duplicata, sendo novamente incubada por 45 minutos a 37°C. Passado esse
930 tempo, a microplaca foi lavada cinco vezes com PBS-T 0,05% e foram adicionados 50
931 µL do conjugado IgG goat (Sigma-Aldrich®) diluídos em PBS-T 0,05% na proporção
932 de 1:10.000, a microplaca foi incubada mais uma vez por 45 minutos.

933 Ao fim desse período, foram realizadas cinco lavagens e seguidamente foi
934 adicionado 50 µL da solução reveladora, composta por 4 mg de ortophenylene-
935 diamine (OPD), diluído em cinco mL de tampão citrato pH 5,1 e 4 µL de peróxido de
936 hidrogênio, após adição nos poços, as placas foram mantidas em câmara com
937 ausência de luz por 15 minutos. Em seguida, a reação foi interrompida, adicionando-
938 se 25 µL de ácido sulfúrico e a microplaca foi encaminhada para o leitor de
939 microplacas de ELISA (Asys Expert Plus Microplate Reader®) com filtro de 490 nm.

940

941 **4.4 Elisa indireto com ATL**

942

943 A diluição escolhida foi a 1:400, seguindo critério estabelecido por Carminati et
944 al., (2003). Para o ensaio ELISA indireto para ATL, inicialmente foi realizado a diluição
945 do ATL em 1:400 em tampão carbonato-bicarbonato pH 9,6. Para etapa de
946 sensibilização, foram utilizadas duas microplacas de ELISA, fundo chato de
947 poliestireno de 96 poços (Costar®). Após diluição de antígeno, 100 µL de cada
948 diluição foi adicionada por poço, as microplacas foram então incubadas em câmara
949 úmida a 4°C por 18 horas.

950 Passado o período de incubação, a etapa de bloqueio foi realizada com 200 µL
951 da solução de leite desnatado a 5% e a microplaca foi incubada por duas horas a
952 37°C. Passado esse tempo, foram realizadas duas lavagens com PBST-0,05% e
953 procedeu-se a etapa do soro.

954 Nesse sentido, 45 soros caprino comprovadamente positivo e 45 soros caprino
955 comprovadamente negativo (considerados soros testes), disponibilizados da soroteca
956 constituída com soros do projeto aprovado pela CEUA (Comissão de Ética no Uso de
957 Animais) da UFRB e está registrado sob o número 23007016893/2013-73. Logo,
958 procedeu-se a diluição dos soros controle positivo e negativo, confeccionado pelo pool
959 dos soros caprinos, descritos acima e dos soros testes em solução PBS-T com leite
960 desnatado 1% na proporção de 1:1000.

961 Ao final do período de incubação da etapa de bloqueio, as microplacas foram
962 lavadas duas vezes com PBS-T 0,05%, na sequência foram adicionados 50 µL da
963 solução de leite (controle branco), e das diluições dos soros controles e testes em
964 cada poço, seguindo para incubação a 37°C por 45 minutos.

965 As etapas seguintes, seguem os passos descritos anteriormente, com exceção
966 apenas da etapa do soro, em que foram aplicados os soros testes.

967

968 **4.5 Análise Estatística**

969

970 O “*cut-off*” foi calculado por meio da média da densidade óptica dos animais
971 não reagentes + 3 desvio padrão (FREY et al., 1998).

972 A determinação da sensibilidade e especificidade, seguiu a fórmula utilizada
973 foi no estudo de Mathias et al. (1998), conforme representação abaixo:

974 Sensibilidade = Total de doentes testados/ Doentes detectados pelo teste x 100

975 Especificidade = Total de sãos testados / Sãos negativos ao teste x 100

976 O coeficiente de concordância de *Kappa*, foi calculado com base em estudo de
977 Cohen, (1960).
978

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

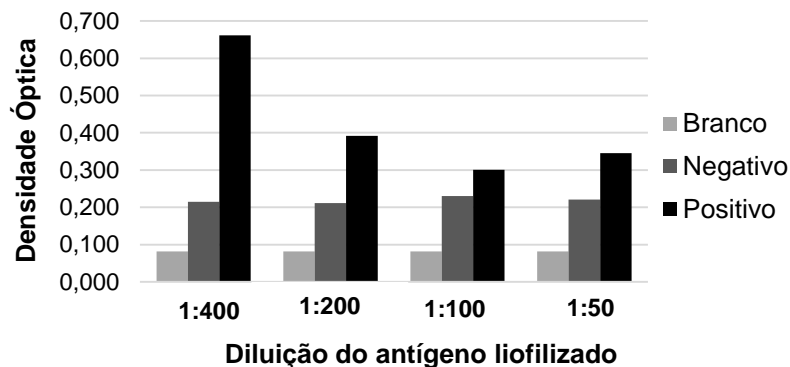
979
980

981 De acordo com os valores obtidos da densidade óptica (DOP) do ELISA indireto
982 para LC em caprino, utilizando como teste o ATL, pode-se perceber que o antígeno
983 apresentou capacidade imunorreativa, pois conseguiu discriminar o pool de soros
984 caprinos controle positivo e negativo, utilizando como *Cut-off* 0,248 de Carminati et al.
985 (2003), portanto neste ensaio foi possível detectar para o pool de soro caprino
986 negativo valor médio de 0,219 e de positivos 0,425.

987 Em avaliação da melhor diluição para ser trabalhada no ELISA indireto,
988 observou-se que a 1:400, apresentou detecção superior de anticorpos anti-*C.*
989 *pseudotuberculosis* em relação as outras diluições, conforme Figura 5, corroborando
990 com a média da DOP dos soros positivos e negativos, utilizados para realização do
991 pool controle, testado previamente no ELISA indireto com antígeno BHI que foi de
992 0,698 para o positivo e 0,189 para o negativo. Nesse sentido, foram observadas DOP
993 semelhante, obtendo-se valores de 0,662 e 0,215 para positivo e negativo,
994 respectivamente.

995

996 **Figura 5** - Avaliação das diluições de antígeno liofilizado de *Corynebacterium*
997 *pseudotuberculosis* para um ELISA indireto.



998

999

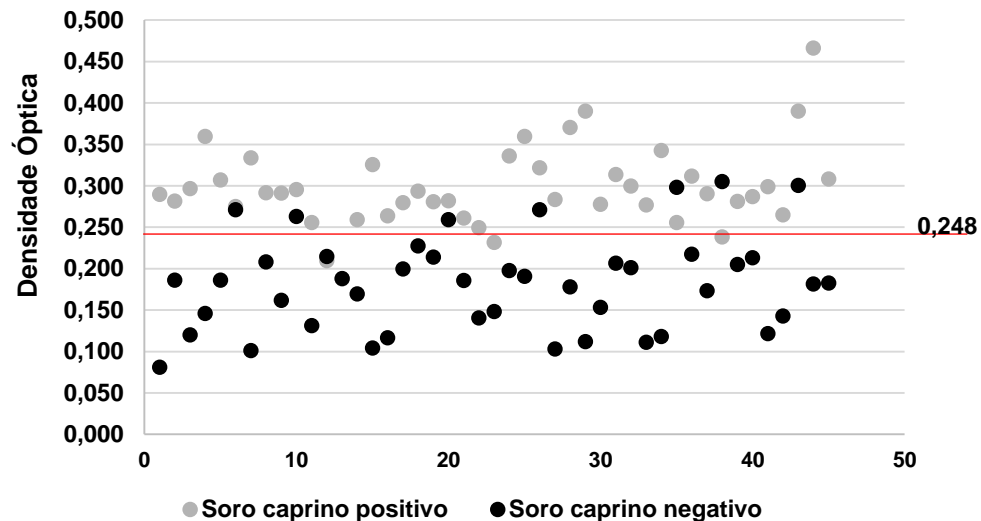
Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

1000

1001 Após a diluição ser determinada, a técnica do ELISA indireto foi realizada e os
1002 valores de DOP para os soros positivos podem ser visualizados na Figura 2, pode-se
1003 observar que a DOP dos 45 soros caprinos comprovadamente positivos para *C.*
1004 *pseudotuberculosis* quatro não reagiram ao teste, sendo considerados falso
1005 negativos. Já para os soros comprovadamente negativos, sete apresentaram

1006 reatividade acima do *cut off*, sendo considerados falsos positivos, observados na
1007 Tabela 1.

1008 **Figura 6** - Resultados do ELISA indireto com antígeno liofilizado de
1009 *Corynebacterium pseudotuberculosis* com amostras séricas de caprinos
1010 comprovadamente positivos e negativos.



1011

1012

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

1013

1014 A partir dos dados obtidos no ELISA indireto, foram cálculos os parâmetros de
1015 Cut-off, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo,
1016 Acurácia e o índice *Kappa*, com base na descrição do estudo estatístico. O *Cut off*
1017 obtido nesse ensaio foi de 0,252, isso significa dizer que abaixo desse valor os soros
1018 testados, são considerados negativos, contudo igual ou superior são considerados
1019 positivos.

1020

1021

1022

1023

1024

Quanto a sensibilidade e especificidade, foram apresentados valores de 91,1 e 84,4%, respectivamente. A sensibilidade de um teste está ligada a capacidade deste em detectar a doença. Já a especificidade, é a probabilidade de um teste dar negativo na ausência da doença. Sendo importantes parâmetros para escolha de um teste diagnóstico (OLIVEIRA et al., 2010).

1025

1026

1027

1028

Nesse contexto, o valor preditivo positivo encontrado nesse teste foi de 98,8% e negativo de 92,8%, com acurácia de 87,1%. O índice *Kappa*, expressar a confiabilidade de um teste, sendo encontrado neste estudo valor de 0,898 para este teste, quanto mais próximo de 1 melhor.

1029 **Tabela 1** - Parâmetros de validação para o ELISA indiretos utilizando antígeno de
 1030 *Corynebacterium pseudotuberculosis* liofilizado para diagnóstico da Linfadenite
 1031 Caseosa em caprinos.

Parâmetros	Valores
Controle positivo	45
Controle negativo	45
Falsos positivos	7
Falsos negativos	4
Cut-off (densidade óptica)	0,252
Sensibilidade (%)	91,1
Especificidade (%)	84,4
Valor preditivo positivo (%)	98,5
Valor preditivo negativo (%)	92,8
Acurácia	87,1
<i>Kappa</i>	0,898

1032 Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

1033 No estudo de Carminati et al. (2003), foi determinado sensibilidade de 93,5% e
 1034 especificidade de 100% para um ELISA indireto com antígeno secretado de cultura de
 1035 *C. pseudotuberculosis* em caldo BHI, já nesse trabalho foi encontrado correlação para
 1036 sensibilidade, sendo está de 91,1%, porém a especificidade mostrou-se diferente com
 1037 valor de 84%. Já o valor preditivo deste mesmo trabalho foi de 100% para o positivo
 1038 e 91,1% para o negativo.

1039 Os valores preditivos são influenciados em função da prevalência da doença
 1040 na população. Logo, em doenças que apresentem maior prevalência, o valor preditivo
 1041 positivo tenderá a ser maior, ocorrendo o inverso com o valor preditivo negativo. Já
 1042 no trabalho de Paule et al. (2004), utilizando o antígeno TPP em dois diferentes
 1043 ensaios de ELISA, um indireto e outro sanduíche, encontrou sensibilidade e
 1044 especificidade de 100% para o ELISA indireto e sensibilidade de 74% e especificidade
 1045 de 72% para o ELISA sanduíche. Segundo Lopes, 2000, quanto maior a
 1046 especificidade de um teste, maior a capacidade do teste positivo indicar presença da
 1047 doença, diminuindo a probabilidade de falso positivo.

1048 Zerbinati et al. (2007), avaliando o desempenho de um antígeno BHI e outro
 1049 com a massa celular de *C. pseudotuberculosis* (antígeno BMD) em um ELISA indireto
 1050 para o diagnóstico da LC em soros caprinos, obteve resultados de sensibilidade de
 1051 99,8% e especificidade de 98,0% para o antígeno BMD e sensibilidade e
 1052 especificidade de 98,0% utilizando o antígeno BHI. O antígeno BMD produzido com a
 1053 massa bacteriana, assim como este estudo demonstrou a capacidade destes

1054 antígenos somáticos apresentarem moléculas antigênicas importantes para o
1055 diagnóstico sorológico.

1056 Ao avaliar a imunoreatividade de cinco tipos de proteínas recombinante (Grx,
1057 PLD, CP40, PknG, DtxR) Barral et al. (2019), para o diagnóstico da LC por meio do
1058 ELISA indireto, observou que a CP40 apresentou melhores resultados com
1059 sensibilidade de 96,9%, diferindo em cerca de 5% do resultado encontrado neste
1060 trabalho e especificidade de 98,4%, em relação a sensibilidade encontrada neste
1061 estudo foi de 84%.

1062 Contudo, Gonçalves (2017), ao utilizar a proteína recombinante XA1 de *C.*
1063 *pseudotuberculosis* como antígeno para um teste ELISA indireto para LC em ovinos e
1064 caprinos, obteve valores de sensibilidade de 90,9% e especificidade de 72,2%, apesar
1065 da sensibilidade apresentar-se similar ao presente estudo.

1066

1067

1068

1069

1070

1071

1072
1073

6. CONCLUSÃO

1074 A partir da cepa de *Corynebacterium pseudotuberculosis* foi possível realizar a
1075 produção do antígeno liofilizado, sendo demonstrado a capacidade antigênica das
1076 moléculas presentes nesse antígeno, para detectar anticorpos anti-*Corynebacterium*
1077 *pseudotuberculosis* em soro caprino.

1078 Foi possível verificar imunoreatividade satisfatória frente aos soros de caprinos
1079 testados, sendo possível discriminar animais positivos e negativos para Linfadenite
1080 Caseosa por meio da utilização do antígeno de *Corynebacterium pseudotuberculosis*
1081 liofilizado no teste ELISA indireto.

1082 O *Cut off* calculado para este ensaio foi de 0,252, sendo este o valor de
1083 referência para testes realizado com base nesta metodologia posteriormente.

1084 Os valores de sensibilidade e especificidade encontrados no presente estudo
1085 permitem inferir que o teste de Elisa indireto com antígeno liofilizado proposto pode
1086 ser aplicado como diagnóstico de LC, sobretudo em animais assintomáticos.

1087

1088

1089

1090 **REFÊRENCIAS**

1091

1092 ALENCAR, S. P.; MOTA, R. A.; COELHO, M. C. O. C.; NASCIMENTO, S. A.;
 1093 ABREU, S. R. O.; CASTRO, R. S. Perfil sanitário dos rebanhos caprinos e ovinos no
 1094 sertão de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**. v. 11, n. 1, p. 131-140, 2010.

1095

1096 ABDEL-RAHMAN, E. H.; EL-JAKEE, J. K.; HATEM, M. E.; ATA, N. S.; FOUAD, E. A.
 1097 Preparation of goat and rabbit anti-camel immunoglobulin G whole molecule labeled
 1098 with horseradish peroxidase. **Veterinary World**, v. 10, n. 1, p. 92-100, 2017.

1099

1100 AL-GAABARY, Magdy H.; OSMAN Salama A.; OREIBY Atef F. Caseous
 1101 lymphadenitis in sheep and goats: Clinical, epidemiological and preventives studies.
 1102 **Small Rumin. Research**. v. 87, p. 116-121, 2009.

1103

1104 AL-GAABARY, M. H.; OSMAN, S. A.; AHMED, M. S.; OREIBY, A. F. Abattoir survey
 1105 on caseous lymphadenitis in sheep and goats in Tanta, Egypt. **Small Ruminant**
 1106 **Research**, v. 94, n. 13, p. 117-124, 2010.

1107

1108 ALI, A.; SOARES, S. C.; BARBOSA, E.; SANTOS, A. R.; BARH, D.; BAKHTIAR, S.
 1109 M.; HASSAN, S. S.; USSERY, D. W.; SILVA, A.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V.
 1110 Microbial comparative genomics: an overview of tools and insights into the genus
 1111 *Corynebacterium*. **Journal of Bacteriology and Parasitology**, v. 4, n. 3, 2013.

1112

1113 ALMEIDA, S.; SOUSA, C.; ABREU, V.; DINIZ, C.; DORNELES, E.; LAGE, A. P.;
 1114 BARH, D.; AZEVEDO, V. Exploration of nitrate Reductase metabolic pathway in
 1115 *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **International Journal of Genomics**, v. 1, p.
 1116 1-12, 2017a.

1117

1118 ALMEIDA, S.; DORNELES, E. M. S.; DINIZ, C.; ABREU, V.; SOUSA, C.; ALVES, J.;
 1119 CARNEIRO, A.; BAGANO, P.; SPIER, S.; BARH, D.; LAGE, A. P.; FIGUEIREDO, H.;
 1120 AZEVEDO, V. Quadruplex PCR assay for identification of *Corynebacterium*
 1121 *pseudotuberculosis* differentiating biovar *Ovis* and *Equi*. **BMC Veterinary Research**,
 1122 v. 13, n. 290, p. 1-8, 2017b.

1123

1124 ALVES, Francisco Selmo Fernandes; SANTIAGO, Luana Borges; PINHEIRO,
 1125 Raymundo Reinaldo. Linfadenite caseosa: o estado da arte. Sobral: **Embrapa**
 1126 **Caprinos**, p. 1-60, 2007.

1127

1128 ALVES, J. R. A.; FARIAS, A. E. M.; LIMA, G. D. S.; LIMEIRA, C. H.; ALVES, F. S. F.;
 1129 PINHEIRO, R. R.; FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; AZEVEDO, S. S. ALVES, C. J.
 1130 Seroprevalence of caseous lymphadenitis in goats sold in an animal fair in the
 1131 northeastern semi-arid region of Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 3, p.
 1132 1067-1076, 2018.

1133

1134 AMORIM, Jaqueline Queiroz. **Prevalência e aspectos clínicos da linfadenite**
 1135 **caseosa em um rebanho de caprinos e ovinos no município de Cruz das**
 1136 **Almas-BA**. 2017. 47f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina
 1137 Veterinária) – Centro de Ciências, Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade
 1138 Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas, Bahia, 2017.

- 1139
1140 ANDRADE, J. S. L.; AZEVEDO, S. S.; TELES, J. A. A.; HIGINO, S. S. S. AZEVEDO,
1141 E. O. Ocorrência e fatores de risco associados à infecção por *Corynebacterium*
1142 *pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos do semiárido paraibano. **Pesquisa**
1143 **Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 116-120, 2012.
- 1144
1145 ARAÚJO, A. A.; SALLES, M. G. F.; SOUZA, P. T.; ROCHA, D. R.; ARAÚJO, E.
1146 Raças caprinas e cruzamentos para o nordeste do Brasil. **Ciência Animal**, v. 25, n.
1147 1, p. 167-172, 2015.
- 1148
1149 AUAD, J.; CERUTTI, J.; COOPER, L. G.; CAMUSSONE, C. M.; LOZANO, N. A.;
1150 CRESPO, F. M.; LOZANO, A. Resposta imune humoral de cabras prenhes a duas
1151 formulações de bacterina de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Revista Austral**
1152 **de Ciências Veterinárias**, v. 50, n. 2, p. 1-105, 2018.
- 1153
1154 BAIRD, GRAHAM J.; FONTAINE, MICHAEL. C. *Corynebacterium*
1155 *pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. **Journal of**
1156 **Comparative Pathology**, v. 137, p. 179-210, 2007.
- 1157
1158 BARBOSA, F. P.; ALMEIDA, V. M.; ALBUQUERQUE, R. F.; ROCHA, B. P.;
1159 SOARES, P. C.; SILVA FILHO, G. B.; MENDONÇA, F. S. Phosphorus deficiency in
1160 goats in the semiarid region of Pernambuco, Brazil. **Pesquisa Veterinária**
1161 **Brasileira**, v. 38, n. 6, p. 1117-1124, 2018.
- 1162
1163 BARNABÉ, N. N. C.; DA SILVA, J. D.; VIANA, M. P.; BARRETO, N. P.; ANDRADE,
1164 É. L. G.; DE FARIA, P. J. Á.; GOMES, A. A. B.; ALVES, C. J. Characterization of
1165 caseous lymphadenitis in caprine animals slaughtered in a semi-arid region of Brazil.
1166 **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 5, p. 1867-1878, 2019.
- 1167
1168 BARRAL, T. D.; MARIUTTI, R. B.; ARNI, R. K.; SANTOS, A. J.; LOUREIRO, D.;
1169 SOKOLONSKI, A. R., PORTELA, R. D. A panel of recombinant proteins for the
1170 serodiagnosis of caseous lymphadenitis in goats and sheeps. **Microbial**
1171 **Biotechnology**, v. 12, n. 6, p. 1313-1323, 2019.
- 1172
1173 BARROS, J. R. L.; CRUZ, G. R. B.; MELO, D. A.; DOS SANTOS, D. G.
1174 Caracterização do manejo alimentar de caprinos e ovinos na microrregião do Cariri
1175 ocidental do estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 13, n. 4, p.
1176 1-8, 2018.
- 1177
1178 BASTOS, B. L.; PORTELA, R. D.; DORELLA, F. A.; RIBEIRO, D.; SEYFFERT, N.;
1179 CASTRO, T. L. D. P.; MIYOSHI, A.; OLIVEIRA, S. C.; MEYER, R.; AZEVEDO, V.
1180 *Corynebacterium pseudotuberculosis*: Immunological Responses in
1181 Animal Models and Zoonotic Potential. **Journal of Clinical and Cellular**
1182 **Immunology**, v. 4, p. 1-15, 2012.
- 1183
1184 BERSHTEYN, A.; HANSON, M. C.; CRESPO, M. P.; LUA, J. J.; LI, A. V.; SUH, H.;
1185 IRVINE, D. J. Robust IgG responses to nanograms of antigen using a biomimetic
1186 lipid-coated particle vaccine. **Journal of Release Controlado**, v. 157, n. 3, p. 354-
1187 365, 2012.
- 1188

- 1189 BISPO, Fúlvia Karine Santana Santos. **Aspectos hematológicos e bioquímicos de**
1190 **caprinos naturalmente infectados com *Corynebacterium pseudotuberculosis*.**
1191 2018. 72f. Dissertação (Mestrado em Defesa Agropecuária) – Centro de Ciências,
1192 Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.
1193 Cruz das Almas, Bahia, 2018.
1194
- 1195 BOMBONATO, Nadia Grandi. **Investigação de brucelose em pequenos**
1196 **ruminantes.** 2017. 92f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de
1197 Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, 2017.
1198
- 1199 BRENNER, N.; BUTT, J.; BOMFIM, I. L.; TABATABAI, J.; PAWLITA, M.;
1200 SCHNITZLER, P.; WATERBOER, T. Validation of monoplex assays detecting
1201 antibodies against *Corynebacterium diphtheriae* and *Clostridium tetani* toxins, rubella
1202 virus and parvovirus B19 for incorporation into Multiplex Serology. **Methods**, v. 158,
1203 p. 44-53, 2019.
1204
- 1205 BURKOVSKI, Andreas. Cell Envelope of Corynebacteria: Structure and Influence on
1206 Pathogenicity. **International Scholarly Research Notices: Microbiology**, v. 13, p.
1207 1-11, 2013.
1208
- 1209 CHIRINO-ZÁRRAGA, Carmen; SCARAMELLI, Aura; REY-VALEIRÓN, Catalina.
1210 Bacteriological characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in
1211 Venezuelan goat flocks. **Small Ruminant Research**, v. 65, p. 170–175, 2006.
1212
- 1213 CÂMARA, T. S.; SOUSA JÚNIOR, A.; BARÇANTE, F. P. S.; SILVA, J. H. L.;
1214 SOUSA, M. S.; MACHADO, A. A. C.; NUNES, J. F. Comparação da qualidade
1215 seminal de caprinos das raças Canindé e Alpina Britânica no Nordeste brasileiro.
1216 **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 4, p. 1260-1268,
1217 2019.
1218
- 1219 CARMO, F. B.; GUIMARAES, A.; PAULETTI, R. B.; LAGE, A. P.; GONÇALVES, V. S.
1220 P.; MEYER, R.; PORTELA, R. W. D.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, A.; GOUVEIA, A.M.G.;
1221 HEINEMANN, M. B. Prevalência de anticorpos contra a linfadenite caseosa em
1222 criações comerciais de ovinos no Distrito Federal, Brasil. **Arquivo do Instituto**
1223 **Biológico**, v. 79, p. 293-298, 2012.
1224
- 1225 CAMARGO, E. V.; BARBOZA, C. S.; KREWER, C.; VARGAS, A. P. C.; CECIM, M.;
1226 LEAL, M. L. R. Isolamento de *Corynebacterium pseudotuberculosis* no sêmen de um
1227 carneiro na região central do Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**,
1228 v. 77, p. 139-142, 2010.
1229
- 1230 CARMINATI, R.; BAHIA, R.; COSTA, L. F. D. M.; PAULE, B. J. A.; VALE, V. L.; REGIS,
1231 L.; FREIRE, S. M.; NASCIMENTO, I.; SCHAEER, R.; MEYER, R. Determinação da
1232 sensibilidade e da especificidade de um teste de ELISA indireto para o diagnóstico de
1233 linfadenite caseosa em caprinos. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas** v. 2, n.
1234 1, p. 88-93. 2003.
1235
- 1236 CARMINATI, Renato. **Estudo da sensibilidade e especificidade de quarto testes**
1237 **Elisa e utilização da técnica de PCR para o diagnóstico de linfadenite caseosa**

- 1238 **em caprinos**. 2005. 80f. Dissertação (Mestrado em Imunologia) – Instituto de
1239 Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. Salvador, Bahia, 2005.
1240
- 1241 CARVALHO, C. B. M.; EDVAN, R. L.; CARVALHO, M. L. A. M.; REIS, A. L. A.;
1242 NASCIMENTO, R. R. Uso de cactáceas na alimentação animal e seu
1243 armazenamento após colheita. **Archivos de Zootecnia**, v. 67, n. 259, p. 440-446,
1244 2018.
1245
- 1246 CARVALHO, D. M.; SÁ, P. H.; CASTRO, T. L. P.; CARVALHO, R. D.; PINTO, A.;
1247 GIL, D. J. P.; BAGANO, P.; BASTOS, B.; COSTA, L. F. M.; MEYER, R.; SILVA, A.;
1248 AZEVEDO, V.; RAMOS, R. T. J.; PACHECO, L. G. C. Reference genes for RT-qPCR
1249 studies in *Corynebacterium pseudotuberculosis* identified through analysis of RNA-
1250 seq data. **Antonie Van Leeuwenhoekv**, v. 106, n. 4, p 605-614, 2014.
1251
- 1252 CASSAT, James E.; SKAAR, Eric P. Iron in infection and immunity. **Cell Host**
1253 **Microbe**, v. 15, p. 509-519, 2013.
1254
- 1255 CERQUEIRA, Robson Bahia. **Avaliação da resposta humoral de caprinos**
1256 **infectados com duas linhagens de *Corynebacterium pseudotuberculosis***
1257 **através de diferentes testes ELISA indiretos**. 2006. 85 f. Dissertação (Mestrado
1258 em Imunologia) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia.
1259 Salvador, Bahia, 2006.
1260
- 1261 CETINKAYA, B.; KARAHAN, M.; ATIL, E.; KALIN, R.; DE, B. T.; VANEECHOUTTE,
1262 M. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and
1263 goats by PCR. **Veterinary Microbiology**, v. 88, n. 1, p. 75-83, 2002.
1264
- 1265 CHEGE, Samwel Macharia; WANG, Daoping. The impact of technology transfer on
1266 agribusiness performance in Kenya. **Technology Analysis & Strategic**
1267 **Management**, p. 1-17, 2019.
1268
- 1269 CHIKHAOUI, Mira; KHOUDJA, Fatima Benchaib. Clinicopathological investigation on
1270 caseous lymphadenitis in local breed sheep in Algeria. **Tropical animal health and**
1271 **production**, v. 45, n. 7, p. 1641-1643, 2013.
1272
- 1273 CORRÊA, J. I.; STOCKER, A.; TRINDADE, S. C.; VALE, V.; BASTOS, B.; RAYNAL,
1274 J. T.; ALCÂNTARA, M. E.; ALCANTARA, A. C.; FREIRE, S. M.; COSTA, L. M.;
1275 MEYER, R. Expressão de seis possíveis fatores de virulência de *C.*
1276 *pseudotuberculosis* em macrófagos murinos. **PUBVET**, v. 12, n. 12, 2018.
1277
- 1278 COSTA, L.; MALDONADO, A.; HUERTA, B.; ALMEIDA, A. Optimization of a
1279 conventional PCR assay for identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis*
1280 from pyogenic lesions. **Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry**, v.
1281 7, n. 2, p. 1-12, 2019.
1282
- 1283 CRUZ, G. R. B. D.; SANTOS, D. G. D.; BELTRÃO FILHO, E. M.; JUSTINO, E. D. S.;
1284 LIMA, A. M. D.; DANTAS JÚNIOR, P. R. Estimativas de parâmetros genéticos e de
1285 ambiente para medidas repetidas de produção leiteira em caprinos. **Ciência Animal**
1286 **Brasileira**, v. 20, p. 1-13, 2019a.
1287

- 1288 CRUZ, G. R. B.; BARROS, J. R. L.; SANTOS, D. G.; LIMA, A. M.; SILVA, A. C. R.
 1289 Aspectos sanitários na produção de caprinos e ovinos de produtores familiares no
 1290 semiárido paraibano. **Revista Conexão UEPG**, v. 15, n. 2, p. 129-134, 2019b.
 1291
- 1292 CRUVINEL, W. D. M., MESQUITA JÚNIOR, D., ARAÚJO, J. A. P., CATELAN, T. T.
 1293 T., SOUZA, A. W. S. D., SILVA, N. P. D., & ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário:
 1294 Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares
 1295 e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**. v. 50, n.
 1296 4, 2010
 1297
- 1298 DANTAS, M. R.; DANTAS JUNIOR, E. D. M.; ZAFALON, L.; VESCHI, J. L. A.
 1299 Avaliação do tempo de sobrevivência de cepa de *Corynebacterium*
 1300 *pseudotuberculosis* em amostras de água. In: Jornada de Iniciação Científica da
 1301 Embrapa Semiárido, 10., 2015, Petrolina. **Anais...** Petrolina: Embrapa Semiárido,
 1302 2015.
 1303
- 1304 DOMENIS, L.; SPEDICATO, R.; PEPE, E.; ORUSA, R.; ROBETTO, S. Caseous
 1305 lymphadenitis caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* in alpine chamois
 1306 (*Rupicapra r. rupicapra*): a review of 98 cases. **Journal of Comparative Pathology**,
 1307 v. 161, p. 11-19, 2018.
 1308
- 1309 DORELLA, F. A.; FACHIN M. S.; BILLAULT A.; DIAS NETO E.; SORAVITO C.;
 1310 OLIVEIRA S. C.; MEYER R.; MIYOSHI A.; AZEVEDO V. Construction and partial
 1311 characterization of a *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacterial artificial
 1312 chromosome library through genomic survey sequencing. **Genetics and Molecular**
 1313 **Research**. v. 5, n. 4, p. 653-663, 2006a.
 1314
- 1315 DORELLA, F. A.; ESTEVAM, E. M.; CARDOSO, P. G.; SAVASSI, B. M.; OLIVEIRA,
 1316 S. C.; AZEVEDO, V.; MIYOSHI, A. An improved protocol for electrotransformation of
 1317 *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Veterinary Microbiology**, v. 114, p. 298-303,
 1318 2006b.
 1319
- 1320 DORNELES, E. M.; SANTANA, J. A.; RIBEIRO, D.; DORELLA, F. A.; GUIMARÃES,
 1321 A. S.; MOAWAD, M. S.; SELIM, S. A.; GARALDI, A. L. M.; MIYOSHI, A.; RIBEIRO,
 1322 M. G.; GOUVEIA, A. M.; G; AZEVEDO, V.; HEINEMANN, M. B.; LAGE, A. P.
 1323 Evaluation of ERIC-PCR as genotyping method for *Corynebacterium*
 1324 *pseudotuberculosis* isolates. **PLoS One**, v. 9, n. 6, p. 1-10, 2014.
 1325
- 1326 DROPPA-ALMEIDA, D.; VIVAS, W. L. P.; SILVA, K. K. O.; REZENDE, A. F. S.;
 1327 SIMIONATTO, S.; MEYER, R.; PADILHA, F. F. Recombinant CP40 from
 1328 *Corynebacterium pseudotuberculosis* confers protection in mice after challenge with
 1329 a virulent strain. **Vaccine**, v. 34, n. 8, p. 1091-1096, 2016.
 1330
- 1331 DUNO, A. D.; ZÁRRAGA, J.; ZÁRRAGA, C. I. C.; PORTILLO, L. L. C.
 1332 Caracterización epidemiológica de la linfadenitis caseosa en rebaños caprinos de la
 1333 península de Paraguaná, Venezuela. **Revista de Medicina Veterinaria**, v. 31, p. 35-
 1334 45, 2016.
 1335
- 1336 EL-BATAL, A. I.; GHARIB, F. A. E.; GHAZI, S. M.; HEGAZI, A. Z.; EL-HAFZ, A. G. M.
 1337 A. Physiological responses of two varieties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

- 1338 to foliar application of silver nanoparticles. **Nanomaterials and Nanotechnology**, v.
1339 6, p. 1-13, 2016.
1340
- 1341 FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. Linfadenite Caseosa:
1342 perspectivas no diagnóstico, tratamento e controle, **Documentos on line** 113,
1343 Embrapa Caprinos e Ovinos, 2014.
1344
- 1345 FALISSE-POIRRIER, N.; RUELLE, V.; ELMOUALIJ, B.; ZORZI, D.; PIERARD, O.;
1346 HEINEN, E. ZORZI, W. Advances in immunoproteomics for serological
1347 characterization of microbial antigens. **Journal of Microbiological Methods**, v. 67,
1348 v. 3, p. 593-596, 2006.
1349
- 1350 FARIAS, A. E. M.; ALVES, J. R. A.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; FACCIOLI-
1351 MARTINS, P. Y.; LIMA, A. M. C.; AZEVEDO, S. S. Seroepidemiological
1352 characterization and risk factors associated with seroconversion to *Corynebacterium*
1353 *pseudotuberculosis* in goats from Northeastern Brazil. **Tropical Animal Health and**
1354 **Production**, v. 51, n. 4, p. 745-752, 2018.
1355
- 1356 FEITOSA, Francisco Leydso. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 3. ed.
1357 São Paulo: Roca, 2014.
1358
- 1359 FEHLBERG, Italaney. **Estudo da ocorrência de infecção por *Corynebacterium***
1360 ***pseudotuberculosis* elou *Mycobacterium* spp. em caprinos com suspeita clínica**
1361 **de linfadenite caseosa**. 2010. 82f. Dissertação (Mestrado em Imunologia) – Instituto
1362 de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. Salvador, Bahia, 2010.
1363
- 1364 FERREIRA JÚNIOR, Jair Alves; NASCIMENTO, Karla Alvarenga; MIGUEL, Marina
1365 Pacheco. Aborto e morte neonatal por listeriose em ruminantes, **Revista de**
1366 **investigação, Medina Veterinária**, v. 4, n. 2, p. 85-89, 2015.
1367
- 1368 FREY, A.; DI CANZIO, J.; ZURAKOWSKI, D. A. Statistically defined endpoint titer
1369 determination method for immunoassays. **Journal of Immunology**
1370 **Methods**, v. 221, n. 1-2, p. 35-41, 1998.
1371
- 1372 FOUAD, Ehab Ali; ELNAGA, Azza S. M. Abu; KANDIL, Mai M. Antibacterial efficacy
1373 of *Moringa oleifera* leaf extract against pyogenic bacteria isolated from a dromedary
1374 camel (*Camelus dromedarius*) abscesso. **Veterinary World**, v. 12, p. 802-808, 2019.
1375
- 1376 FONTAINE, Michael. C.; BAIRD, Graham. J. Caseous lymphadenitis. **Small**
1377 **Ruminant Research**, v. 76, n. 1-2, p. 42-48, 2008.
1378
- 1379 GAFFNEY, J.; CHALLENGER, M.; CALIFF, K.; HARDEN, K. Building bridges
1380 between agribusiness innovation and smallholder farmers: A review. **Global food**
1381 **security**, v. 20, p. 60-65, 2019.
1382
- 1383 GAO, H.; M. A., Y.; SHAO, Q.; HONG, Q.; ZHENG, G.; LI, Z. Genome Sequence of
1384 *Corynebacterium pseudotuberculosis* Strain KM01, Isolated from the Abscess of a
1385 Goat in Kunming, China. **Genome Announc**, v. 6, p. 1-2, 2018.
1386

- 1387 GIVENS, Daniel M., & MARLEY, Mylissa. Shonda. D. Infectious causes of embryonic
1388 and fetal mortality. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 270-285, 2008.
- 1389
1390 GOMIDE, A. C. P.; SA, P. G.; CAVALCANTE, A. L. Q.; DE JESUS SOUSA, T.;
1391 GOMES, L. G. R.; RAMOS, R. T. J.; VASCO, A.; SILVA, A.; FOLADOR, A. R. C.
1392 Heat shock stress: Profile of differential expression in *Corynebacterium*
1393 *pseudotuberculosis* biovar *Equi*. **Gene**, v. 645, p. 124-130, 2018.
- 1394
1395 GONÇALVES, Aline Najara Domingos. **Desenvolvimento de um ensaio**
1396 **imunoenzimático (ELISA) para diagnóstico de linfadenite caseosa em ovinos e**
1397 **caprinos**. 2017. 65f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal
1398 de Mato Grosso do Sul. Campo Grande, Mato grosso do Sul, 2017.
- 1399
1400 GROSSART, H. P.; SCHLINGLOFF, A.; BERNHARD, M.; SIMON, M.; BRINKHOFF,
1401 T. Antagonistic activity of bacteria isolated from organic aggregates of the German
1402 Wadden Sea. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 47, n. 3, p. 387-396, 2004.
- 1403
1404 GUEDES, K. M. R.; RIET-CORREA, F.; DANTAS, A. F. M.; SIMÕES, S. V. D.;
1405 NETO, E. G. M.; NOBRE, V. M. T.; MEDEIROS, R. M. T. Doenças do sistema
1406 nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido. **Pesquisa Veterinária**
1407 **Brasileira**, v. 27, p. 29-38, 2007.
- 1408
1409 GUIMARÃES, A. S.; CARMO, F. B.; PAULETTI, R. B.; SEYFFERT, N.; RIBEIRO, D.;
1410 LAGE, A. P.; HEINEMANN, M. B.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V.; GOUVEIA, M. G.
1411 Caseous lymphadenitis: epidemiology, diagnosis, and control. **The IIOAB Journal**, v.
1412 2, n. 2, p. 33-43, 2011.
- 1413
1414 GUERRERO, J. A. V.; JIMÉNEZ, R. M. O; DIBARRAT, J. A.; LEÓN, F. H.;
1415 MORALES-ERASTO, V.; SALAZAR, H. G. M. First report of isolation and molecular
1416 characterization of the pathogenic *Corynebacterium pseudotuberculosis* from of
1417 sheep and goats in Mexico. **Microbial Pathogenesis**. p. 1-15. 2018
- 1418
1419 HALBUS, Ahmed F.; HOROZOV, Tommy. S.; PAUNOV, Vasselin. N. Colloid particle
1420 formulations for antimicrobial applications. **Journal of Colloid and Interface**
1421 **Science**, v. 249, p. 134-148, 2017.
- 1422
1423 HASSAN, N. A.; AL-HUMIANY, A. A.; BAHOBAIL, A. S.; MANSOUR, A. M. A.
1424 Bacteriological and pathological studies on caseous lymphadenitis in sheep in Saudi
1425 Arabia. **International Journal of Microbiology Research**, v. 2, p. 28-37, 2011.
- 1426
1427 HORNBECK, Peter V. Enzyme-linked immunosorbent assays. **Current protocols in**
1428 **immunology**, v. 110, n. 1, p. 1-23, 2015.
- 1429
1430 HUÁNUCO, Lucía; GUTIÉRREZ, Raymundo; MÜLLER, Giovanna. Estandarización
1431 de un protocolo para la cuantificación de ácido abscísico mediante la técnica de
1432 Elisa Competitivo. **Ecología Aplicada**, v. 16, n. 1, p. 9-13, 2017.
- 1433
1434 ILHAN, Zi. Detection of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from sheep lymph
1435 nodes by PCR. **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 164, n. 2, p. 60-66, 2013.
- 1436

- 1437 INFANTES-LORENZO, J. A.; MORENO, I.; ROY, A.; RISALDE, M. A.; BALSEIRO,
1438 A.; DE JUAN, L.; TESSEMA, G. T. Specificity of serological test for detection of
1439 tuberculosis in cattle, goats, sheep and pigs under different epidemiological
1440 situations. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 70, p. 1-8, 2019.
1441
- 1442 JENKINS, S. J.; RUCKERL, D.; COOK, P. C.; JONES, L. H.; FINKELMAN, F. D.;
1443 VAN ROOIJEN, N.; ALLEN, J. E. Local macrophage proliferation, rather than
1444 recruitment from the blood, is a signature of TH2 inflammation. **Science**, v. 332, n.
1445 6035, p. 1284-1288, 2011.
1446
- 1447 JUNG, B. Y.; LEE, S. H.; KIM, H. Y.; BYUN, J. W.; SHIN, D. H.; KIM, D.; KWAK, D.
1448 Serology and clinical relevance of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in native
1449 Korean goats (*Capra hircus coreanae*). **Tropical Animal Health and Production**, v.
1450 47, n. 4, p. 657-661, 2015.
1451
- 1452 JÚNIOR, S.; DE ALENCAR, D.; MATOS, R. A. T.; MELO, D. B. D.; GARINO
1453 JÚNIOR, F.; SIMÕES, S. V. D.; NETO, M. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana in
1454 vitro de bactérias isoladas de cabras com mastite no sertão e cariri paraibano.
1455 **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, p. 1-11, 2019.
1456
- 1457 KAVAMURA, V. N.; TAKETANI, R. G.; LANÇONI, M. D.; ANDREOTE, D.; MENDES,
1458 R.; MELO I. S. Water regime influences bulk soil and rhizosphere of *Cereus*
1459 *jamacaru* bacterial communities in the Brazilian Caatinga biome. **PlosOne**. v. 8, p.
1460 1-10, 2013.
1461
- 1462 KONG, J. Y.; LEE, K.; JUNG, J. Y.; KIM, J. W.; YOON, N. S.; SO, B.; CHOI, E. J.
1463 Clinical case of internal caseous lymphadenitis in a native Korean goat (*Capra hircus*
1464 *coreanae*). **Journal of Preventive Veterinary Medicine**, v. 43, n. 2, p. 58-61, 2019.
1465
- 1466 KHAMIS, Atieh; RAOULT, Didier; LA SCOLA, Bernard. Comparison between rpoB and
1467 16S rRNA gene sequencing for molecular identification of 168 clinical isolates of
1468 *Corynebacterium* **Journal of Clinical Microbiology**. v. 43, p. 1934-1936, 2005.
1469
- 1470 LATIF, N. A. A.; ABBA, Y.; JESSE, F. F. A.; CHUNG, E. L. T.; ZAMRI-SAAD, M.;
1471 SAHAREE, A. A.; HARON, A. W.; MOHD-LILA, M. A. Histopathological assessment
1472 of chronic *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in the reproductive tract
1473 and iliac lymph node of Katjang does. **Comparative Clinical Pathology**, v. 26, n. 1,
1474 p. 147-154, 2016.
1475
- 1476 LIU, C.; SKALDIN, M.; W. U, C.; LU, Y.; ZAVIALOV, A. V. Application of ADA1 as a
1477 new marker enzyme in sandwich ELISA to study the effect of adenosine on activated
1478 monocytes. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-9, 2016.
1479
- 1480 LOACHE, P.; WHELCHER, D.; BEETZ, R.; CARTER, J.; EICHELBERGER, A.;
1481 PUSTERLA, N. Guttural pouch empyema caused by *Corynebacterium*
1482 *pseudotuberculosis* in a pregnant mare. **Equine Veterinary Education**, v. 30, n. 2, p.
1483 76-79, 2018.
1484

- 1485 LUCAS, R. P.; SCARAMUCCI, C. P.; PEREIRA, L.; AVANZA, M. F. B. Linfadenite
1486 caseosa em ovinos – Revisão de literatura, **Revista Científica Eletrônica de**
1487 **Medicina Veterinária**, n. 12, p. 1-7, 2009.
- 1488
1489 LV, R.; CHEN, Y.; XIA, N.; LIANG, Y.; HE, Q.; LI, M.; QI, Z.; LU, Y.; ZHAO, S.
1490 Development of a double-antibody sandwich ELISA for rapid detection to C-peptide
1491 in human urine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 162, p.
1492 179-184, 2019.
- 1493
1494 MADRUGA, Claudio Roberto; ARAÚJO, Fabio Ribeiro; SOARES, Cleber Oliveira.
1495 **Imunodiagnóstico em medicina veterinária**. Embrapa Gado de Corte, ed.2.
1496 Campo Grande, Mato Grosso, 2001.
- 1497
1498 MAHMOOD, Z. K. H.; JESSE, F. F.; SAHAREE, A. A.; JASNI, S.; YUSOFF, R.;
1499 WAHID. H. Clinio-pathological changes in goats challenged with *Corynebacterium*
1500 *pseudotuberculosis* and its exotoxin (PLD). **American Journal of Animal and**
1501 **Veterinary Sciences**, v. 10, p. 112-132, 2015a.
- 1502
1503 MAHMOOD, Z.; JESSE, F.; SAHAREE, A.; JASNI, S.; YUSOFF, R.; WAHID H.
1504 Assessment of blood changes post-challenge with *Corynebacterium*
1505 *pseudotuberculosis* and its exotoxin (phospholipase D): A comprehensive study in
1506 goat. **Veterinary World**, v. 8, n. 9, p. 1105-1117, 2015b.
- 1507
1508 MAIA, Á. K. A.; SALLES, M. G. F.; MIRANDA PINTO, C.; RODRIGUES, I. C. S.;
1509 NETO, A. M. V. A implantação da caprinocultura leiteira no assentamento nova
1510 assunção, Aracoiaba-CE. **Centro Científico Conhecer**, v. 6, n.11; p. 1-14, 2019.
- 1511
1512 MARINO, S.; CILFONE, N. A.; MATTILA, J. T.; LINDERMAN, J. J.; FLYNN, J. L.;
1513 KIRSCHNER, D. E. Macrophage polarization drives granuloma outcome during
1514 *Mycobacterium tuberculosis* infection. **Infection and Immunity**, v. 83, n. 1, p. 324-
1515 338, 2015.
- 1516
1517 MARTINS, G.; BRANDÃO, F. Z.; HAMOND, C.; MEDEIROS, M.; LILENBAUM, W.
1518 Diagnosis and control of an outbreak of leptospirosis in goats with reproductive
1519 failure. **The Veterinary Journal**, v. 193, n. 2, p. 600-6001, 2012.
- 1520
1521 MATHIAS, L. A.; CHAVES, L. F. GIRIO, R. J. S.; FAVA, C. D. Avaliação de um teste
1522 imunoenzimático competitivo na diferenciação de anticorpos induzidos pela vacina
1523 B19, no diagnóstico sorológico da brucelose bovina. **Pesquisa Veterinária**
1524 **Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 19-23, 1994.
- 1525
1526 MATTOS, M. M.; SANTOS, L. M.; PORTELA, R. W.; DE ARAÚJO, R. P. C.
1527 Sensibilidade *in vitro* a antimicrobianos de *Corynebacterium pseudotuberculosis*
1528 isolados de pequenos ruminantes da região Centro-Norte do Estado da Bahia.
1529 **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 17, n. 3, p. 330-336, 2018.
- 1530
1531 MCKEAN, Sandra C.; DAVIES; John K.; MOORE, Robert J. Expression of
1532 phospholipase D, the major virulence factor of *Corynebacterium pseudotuberculosis*,
1533 is regulated by multiple environmental factors and plays a role in macrophage death.
1534 **Microbiology**, v. 153, p. 72203-72211, 2007.

- 1535
1536 MCKEAN, Sandra C.; DAVIES, John C. K; MOORE, Robert J. Identification of
1537 macrophage induced genes of *Corynebacterium pseudotuberculosis* by differential
1538 fluorescence induction. **Microbes and Infection**, v. 7, n. 13, p. 1352-1363, 2005.
1539
- 1540 MEYER, R. J. N.; CARMINATI, R.; CERQUEIRA, R. B.; VALE, V.; VIEGAS, S. A. A.;
1541 MARTINEZ, T.; RIBEIRO, M. Avaliação da resposta imune humoral em caprinos
1542 inoculados com uma vacina viva atenuada liofilizada contra *Corynebacterium*
1543 *pseudotuberculosis*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 1, p. 42-48,
1544 2002.
1545
- 1546 MEYER, Roberto. ***Corynebacterium pseudotuberculosis* e seu hospedeiro**
1547 **caprino: Aspectos da prevalência, do diagnóstico e da vacinação**. 2003.
1548 86f. Tese (Doutorado em Imunologia) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade
1549 Federal da Bahia, Salvador, Bahia 2003.
1550
- 1551 MISHRA, A. K.; KLEIN, C.; GURCHA, S. S.; ALDERWICK, L. J.; BABU, P.;
1552 HITCHEN, P. G.; MORRIS, H. R.; DELL, A.; BESRA, G. S.; EGGELING, L. Structural
1553 characterization and functional properties of a novel lipomannan variant isolated from
1554 a *Corynebacterium glutamicum* pimB' mutant. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 94, p.
1555 277-287, 2008.
1556
- 1557 MIRA B.K.F.; FADHELA S.; KADA K.; YACINE T. Epidemiological and
1558 histopathological studies on caseous lymphadenitis in slaughtered goats in algeria.
1559 **Global Vet.** v. 13, n. 6, p. 1065-1068, 2014.
1560
- 1561 MORAES, P. M. R. O.; SEYFFERT, N.; SILVA, W. M.; CASTRO, T. L. P.; SILVA, R.
1562 F.; LIMA, D. D.; HIRATA JR, R.; SILVA, A.; MIYOSHI, A. AZEVEDO, V.
1563 Characterization of the Opp peptide transporter of *Corynebacterium*
1564 *pseudotuberculosis* and its role in virulence and pathogenicity. **BioMed Research**
1565 **International**, v. 1, p. 1–7, 2014.
1566
- 1567 MORALES, N.; ALDRIDGE, D.; BAHAMONDE, A.; CERDA, J.; ARAYA, C.; MUÑOZ,
1568 R.; SALDÍAS, M. E.; LECOCQ, C.; FRESNO, M.; ABALOS, P.; RETAMAL, P.
1569 *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in Patagonian Huemul (*Hippocamelus*
1570 *bisulcus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 53, n. 3, p. 621-624, 2017.
1571
- 1572 MOTTA, Rodrigo Garcia; CREMASCO, Arita de Cássia Marella; RIBEIRO, Márcio
1573 Garcia. Infecções por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em animais de
1574 produção. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 2, p. 200-213, 2010.
1575
- 1576 MOURA COSTA, LÍLIA. FERREIRA. DE. *Corynebacterium pseudotuberculosis*, o
1577 agente etiológico da linfadenite caseosa em caprinos. **Revista de Ciências Médicas**
1578 **e Biológicas**. v. 1, n. 1, p. 105-115, 2002.
1579
- 1580 NABIH, A. M.; HUSSEIN, H. A.; EL-WAKEEL, S. A.; ABD EL-RAZIK, K. A.; GOMAA,
1581 A. M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* mastitis in Egyptian dairy goats,
1582 **Veterinary World**, v. 11, n. 11, p. 1574-1580, 2018.
1583

- 1584 NARAGINTI, S.; KUMARI, P. L.; SIVAKUMAR, R. K.; DAS, C. A.; PATIL, S. H. D.;
 1585 ANDHALKAR, V. V. Amelioration of excision wounds by tropical application of green
 1586 synthesized, formulated silver and gold nanoparticles in albino Wistar rats. **Materials**
 1587 **Science and Engineering**, v. 62, p. 293–300, 2016.
- 1588
 1589 NETO, José Geraldo Pimentel; OLIVEIRA, Heitor Salvador; SILVEIRA, Keilha
 1590 Correia. Desenvolvimento local-regional no nordeste brasileiro: um estudo
 1591 situacional do arranjo produtivo local de caprinovinocultura de Pernambuco. **Revista**
 1592 **Contexto Geográfico**, v. 3, n. 6, p. 36-46, 2019.
- 1593
 1594 ODHAH, M. N.; ABDULLAH, F. F. J.; HARON, A. W.; LILA, M. A. M.; ZAMRI-SAAD,
 1595 M.; KHUDER, Z.; HAMBALI, I. U.; UMAR, M.; SALEH, W. M. Hemogram responses
 1596 in goats toward challenged with *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its
 1597 immunogen mycolic acids. **Veterinary World**, v. 10 n. 6, p. 655-661, 2017.
- 1598
 1599 ODHAH, M. N.; ABDULLAH, J. F. F.; TEIK, C. E. L.; MAHMOOD, Z.; HARON, A. W.;
 1600 MOHD, L. M. A.; ZAMRI-SAAD, M. Clinico-pathological responses and PCR
 1601 detection of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its immunogenic mycolic acid
 1602 extract in the vital organs of goats. **Microbial Pathogenesis**, v. 135, p. 1-11, 2019.
- 1603
 1604 OLIVEIRA, M.; BARROCO, C.; MOTTOLA, C.; SANTOS, R.; LEMSADDEK, A.;
 1605 TAVARES, L.; SEMEDO-LEMSADDEK, T. First report of *Corynebacterium*
 1606 *pseudotuberculosis* from caseous lymphadenitis lesions in Black Alentejano pig (*Sus*
 1607 *scrofa domesticus*). **BMC veterinary research**, p. 10, n. 1, p. 1-5, 2014.
- 1608
 1609 OLIVEIRA, G. M. D.; CAMARGO, F. T.; GONÇALVES, E. C.; DUARTE, C. V. N.;
 1610 GUIMARÃES, C. A. Revisão sistemática da acurácia dos testes diagnósticos: uma
 1611 revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 37, n. 2, p. 153-
 1612 156, 2010.
- 1613
 1614 OSKAY, Mustafa; USAME, Tamer; CEM, Azeri. Antibacterial activity of some
 1615 actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. **African Journal of**
 1616 **Biotechnology**. v. 3, n. 9, p. 441-446, 2005.
- 1617
 1618 OREIBY, Atef. F. Diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goat. **Small**
 1619 **Ruminant Research**, v. 123, p. 160-166, 2015.
- 1620
 1621 OSMAN, A. Y.; ABDULLAH, F. F. J.; SAHAREE, A.A.; HARON, A.W.; SABRI, I.;
 1622 ABDULLAH, R. Haematological and biochemical alterations in mice following
 1623 experimental infection with whole cell and exotoxin (PLD) extracted from *C.*
 1624 *pseudotuberculosis*. **Journal of Animal Veterinary Advances**, v. 11, n. 24, p. 4660-
 1625 4667, 2012.
- 1626
 1627 OTHMAN, A. M.; ABDULLAH, F. F. J.; NORDI, M.; RINA, N. A.; ILYASU, Y.; ZAMRI-
 1628 SAAD, M.; MOHD-AZMI, M. L. Haematological, biochemical and serum electrolyte
 1629 changes in non-pregnant boer does inoculated with *Corynebacterium*
 1630 *pseudotuberculosis* via various routes. **Journal of Agriculture and Veterinary**
 1631 **Science**, v. 7, n. 10, p. 5-8, 2014.
- 1632

- 1633 PAULE, B. J. A.; MEYER, R.; MOURA-COSTA, L. F.; CERQUEIRA, R. B.;
 1634 CARMINATI, R.; REGIS, L. F.; AZEVEDO, V. Three-phase partitioning as an
 1635 eficiente method for extraction/concentration of immunoreactive excreted-secreted
 1636 proteins of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Protein Expression and**
 1637 **Purification**, v. 34, n. 2, p. 311-316, 2004.
 1638
- 1639 PACHECO, L. G.; PENA, R. R.; CASTRO, T. L.; DORELLA, F. A.; BAHIA, R. C.;
 1640 CARMINATI, R.; FROTA, M. N. L.; OLIVEIRA, S. C.; MEYER, R.; ALVES, F. S. F.;
 1641 MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. Multiplex PCR assay for identification of *Corynebacterium*
 1642 *pseudotuberculosis* from pure cultures and for rapid detection of this pathogen in
 1643 clinical samples. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 480-486, 2007.
 1644
- 1645 PAULE, B. J. A.; MEYER, R.; MOURA-COSTA, L. F.; BAHIA, R. C.; CARMINATI, R.;
 1646 REGIS, L. F.; VALE, V. L. C.; FREIRE, S. M.; NASCIMENTO, I.; SCHAEER, R.;
 1647 AZEVEDO, V. Three-phase partitioning as an efficient method for
 1648 extraction/concentration of immunoreactive excreted–secreted proteins of
 1649 *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Protein Expression and Purification**, v. 34,
 1650 n. 2, p. 311-316, 2004.
 1651
- 1652 PEREIRA, M. F.; MOTA, R. A.; PEIXOTO, R. M.; PIATTI, R. M. Estudo de casos de
 1653 aborto em caprinos e ovinos no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Veterinária**
 1654 **nos Trópicos**, v. 16, n. 3, p. 18-30, 2013.
 1655
- 1656 PFAFFL, M. P.; NOLAN, T.; HUGGETT, J. SANCHEZ, E. **Good Practice Guide for**
 1657 **the Application of Quantitative PCR (qPCR)**. 1. ed. LGC, Teddington, 2013.
 1658
- 1659 POWERS, J. L.; RIPPE, K. D.; IMARHIA, K.; SWIFT, A.; SCHOLTEN, M.; ISLAM, N.
 1660 A direct, competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as a quantitative
 1661 technique for small molecules. **Journal of Chemical Education**, v. 89, n. 12, p.
 1662 1587-1590, 2012.
 1663
- 1664 POINTON, Andrew; HAMILTON, David; KIERMEIER, Andreas. Comparison of
 1665 postmortem inspection procedures for detecting caseous lymphadenitis of Australian
 1666 sheep and goats. **Veterinary Record**, v. 1, p. 1-8, 2019.
 1667
- 1668 RADOSTITS, Otto M.; BLOOD, Douglas Charles, GAY, Clive C. **Veterinary**
 1669 **medicine: a textbook of the diseases of catlee, sheep, pigs, goats and horses**. 9th
 1670 ed. Philadelphia: Bailliere. Tindall, p. 830-839, 2007.
 1671
- 1672 RHODES, D. M.; MAGDESIAN, K. G.; BYRNE, B. A.; KASS, P. H.; EDMAN, J.; SPIER,
 1673 S. J. Minimum Inhibitory Concentrations of equine *Corynebacterium*
 1674 *pseudotuberculosis* isolates (1996–2012). **Journal of Veterinary Internal Medicine**,
 1675 v. 29, n. 1, p. 327-332, 2015.
 1676
- 1677 RAYNAL, J. T.; BASTOS, B. L.; VILAS-BOAS, P. C. B.; SOUSA, T. J.; COSTA-
 1678 SILVA, M.; SÁ, M. D. C. A. PORTELA, R. W.; MOURA-COSTA, L. F.; MEYER, R.
 1679 Identification of membrane-associated proteins with pathogenic potential expressed
 1680 by *Corynebacterium pseudotuberculosis* grown in animal serum. **BMC Research**
 1681 **Notes**, v. 11, n. 1, p. 1-6, 2018.

- 1682
1683 REBOUÇAS, M. F.; LOUREIRO, D.; BASTOS, B. L.; MOURA-COSTA, L. F.;
1684 HANNA, S. A., AZEVEDO, V.; MEYER, R.; PORTELA, R. W. Development of na
1685 indirect ELISA to detect *Corynebacterium pseudotuberculosis* specific antibodies in
1686 sheep employing T1 strain culture supernatant as antigen. **Brazilian Journal of**
1687 **Veterinary Research and Animal**, 33, p. 1296-1302, 2013.
- 1688
1689 RIBEIRO, D.; DORELLA, F. A.; PACHECO, L. G. C.; SEYFFERT, N.; RIBEIRO, D.;
1690 DORELLA, F. A.; PACHECO, L. G.; SEYFFERT, N.; CASTRO, T. L.; PORTELA, R.
1691 W.; MEYER, R.; MIYOSHI, A.; LUVIZOTTO, M. C. R.; AZEVEDO, A. Subclinical
1692 diagnosis of caseous lymphadenitis based on ELISA in sheep from Brazil. **Journal**
1693 **Bacteriol Parasitol**, v. 4, n.3, p. 1-4, 2013.
- 1694
1695 RIBEIRO, Kleber Avila; ALENCAR, Cristina Maria Macêdo. Desenvolvimento
1696 Territorial e a Cadeia Produtiva da Caprinovinocultura no Semiárido Baiano: o caso
1697 do município de Juazeiro-BA. **Revista Desenvolvimento Social**, v. 23, n. 1, p. 151-
1698 180, 2019.
- 1699
1700 RIBEIRO, M. G.; BELOTTA, A. F.; FERNANDES, M. C.; GUENA, R.; NARDI
1701 JÚNIOR, G. D.; LARA, G. H.; GIUFFRIDA, R.; ZAMPROGNA, T. D. O. Citologia
1702 aspirativa no diagnóstico da linfadenite em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**,
1703 v. 31, n. 10, p. 839-843, 2011.
- 1704
1705 RIBEIRO, M. N.; ARANDAS, J. K. G.; NASCIMENTO, R. B.; RIBEIRO, N. L.;
1706 COSTA, R. G.; FILHO, E. P. Recursos genéticos de caprinos de raças locais do
1707 Brasil. **Biodiversidad Caprina Ibero-americana**, p. 189-200, 2016.
- 1708
1709 RIET-CORREA, F.; SCHILD A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES J. R. **Doenças de**
1710 **Ruminantes e Equídeos**. 3. ed. Pallotti, Santa Maria. 2007.
- 1711
1712 RIZZO, H.; CARVALHO, J. S.; FRAGA, G. J. M.; LAURIA, M. J. S.; LANGUIDEY, P.
1713 H. Paralisia de membros pélvicos em reprodutor caprino causada por Linfadenite
1714 Caseosa no Estado de Sergipe. **PUBVET**, v. 8, n. 22, p. 1-15, 2014.
- 1715
1716 RIZZO, H.; CARVALHO, J. S.; SANTOS JÚNIOR, N. S.; JESUS, T. K. S.; M. V.;
1717 FARIAS, C. E.; COELHO, R. A.; SILVA, T. R. Avaliação clínica de linfonodos
1718 superficiais de pequenos ruminantes criados no estado de Sergipe, Brasil. **Medicina**
1719 **Veterinária**, v.11, n.1, p.18-28, 2017.
- 1720
1721 ROCHE, Julian. **Agronegócio: Uma Perspectiva Internacional**. 1. ed. Routledge,
1722 2019.
- 1723
1724 RODRIGUES, A. S.; LIMA, A. M.; OLIVEIRA, C. E. L.; MELO, F. H. A. R. A. In vivo
1725 evaluation of antiseptics and disinfectants on control of caseous lymphadenitis:
1726 clinical, haematological, serological and microbiological monitoring. **Arquivo do**
1727 **Instituto Biológico**, v. 80, n. 3, p. 273-280, 2013.
- 1728
1729 RODRIGUES, Benedito Ribeiro; COELHO, Maria Cláudia Soares Cruz; SOUZA,
1730 Coelho Marcelo Iran. Aspectos sanitários e de manejo em criações de caprinos

- 1731 leiteiros produzidos na comunidade de Caroá, Distrito de Rajada, Petrolina-PE.
 1732 **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 6, n. 2, p. 1-10, 2016.
 1733
- 1734 ROSLINDAWANI, M. N.; SYAFIQA, A. S.; JESSE, F. F. A.; EFFENDY, A. W.;
 1735 ZAMRI-SAAD, M. Recombinant Caseous Lymphadenitis Vaccine with Palm Oil as
 1736 Adjuvant Enhances the Humoral and Cell-Mediated Immune Responses in Rat Model.
 1737 **Journal of Animal Health and Production**, v. 4, n. 1, p. 22-25, 2016.
 1738
- 1739 RHODES D. M.; MAGDESIAN K. G.; BYRNE B. A.; KASS P. H.; EDMAN J.; SPIER
 1740 S.J. Minimum inhibitory concentrations of equine *Corynebacterium*
 1741 *pseudotuberculosis* isolates (1996-2012). **Journal of Veterinary Internal Medicine**,
 1742 v. 29, n. 1, p. 327-332, 2015
 1743
- 1744 RUDRAMURTHY, G. R.; SWAMY, M. K.; SINNIHA, U. R.; GHASEMZADEH, A.
 1745 Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. **Molecules**,
 1746 v. 21, n. 7, p. 1-30, 2016.
 1747
- 1748 SÁ GUIMARÃES, A.; CARMO, F.B.; PAULETTI, R.B.; SEYFFERT, N.; RIBEIRO, D.;
 1749 LAGE, A.P.; HEINEMANN, M.B.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V.; GOUVEIA, A.M.G.
 1750 Caseous lymphadenitis: epidemiology, diagnosis, and control. **The IIOAB Journal**, v.
 1751 2, n. 2, p. 33-43, 2011.
 1752
- 1753 SÁ, M. D. C. A. D.; GOUVEIA, G. V.; KREWER, C. D. C.; VESCHI, J. L. A.; MATTOS-
 1754 GUARALDI, A. L. D.; COSTA, M. M. D. Distribution of PLD and FagA, B, C and D
 1755 genes in *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats with
 1756 caseous lymphadenitis. **Genetics and Molecular Biology**, v. 36, n. 2, p. 265-268,
 1757 2013a.
- 1758 SÁ, M. D. C.; VESCHI, J. L.; SANTOS, G. B.; AMANSO, E. S.; OLIVEIRA, S. A.;
 1759 MOTA, R. A.; VENERONI-GOUVEIA, G.; COSTA, M. M. Activity of disinfectants and
 1760 biofilm production of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Pesquisa Veterinária**
 1761 **Brasileira**, v. 33, n. 11, p. 1319-1324, 2013b.
- 1762 SANTOS, E. M. S.; SANTOS, H. O.; CANGUSSU, A. R.; COSTA, K. S.; DIAS, I. S.
 1763 Antigens of *Corynebacterium pseudotuberculosis* with promising potential for
 1764 caseous lymphadenitis vaccine development: a literature review. **Caderno de**
 1765 **Ciências Agrárias**, n. 8. v. 2, p. 90-99, 2016.
 1766
- 1767 SÁ, M. C.; OLIVEIRA, S. A.; DANTAS JR, E. M.; GOUVEIA, G. V.; GOUVEIA, J. J.;
 1768 VESCHI, J. L.; COSTA, M. M. Resistance of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in
 1769 the Brazilian semiarid environment. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 6, p.
 1770 1091-1096, 2018a.
 1771
- 1772 SÁ, M. D. C. A.; ROCHA FILHO, J. T. R.; ROSA, D. S.; SÁ OLIVEIRA, S. A.;
 1773 FREIRE, D. P.; ALCANTARA, M. E.; COSTA, M. M.; MEYER, R. Linfadenite caseosa
 1774 em caprinos e ovinos: Revisão. **PUBVET**, v.12, n,11, p.1-13, 2018b.
 1775
- 1776 SANTANA, Karina Talita de Oliveira. **Caracterização in silico, clonagem e**
 1777 **expressão heteróloga em *Escherichia coli* de cinco proteínas de**
 1778 ***Corynebacterium pseudotuberculosis* possivelmente implicadas na virulência**

- 1779 **deste microrganismo**. 2014. 154f. Dissertação (Mestrado em Genética) –
 1780 Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade
 1781 Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2014.
- 1782
 1783 SANTAROSA, B. P.; DANTAS, G. N.; AMORIM, R. L.; CHIACCHIO, S. B.; OLIVEIRA
 1784 FILHO, J. P. D.; AMORIM, R. M.; RIBEIRO, M. G.; GONÇALVES, R. C.
 1785 Meningoencefalite supurativa por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em cabra
 1786 com linfadenite caseosa: Relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, v. 21, n. 4, p.
 1787 537-542, 2014.
- 1788
 1789 SANTANA-JORGE, K. T. O.; SANTOS, T. M.; TARTAGLIA, N. R.; AGUIAR, E. L.;
 1790 SOUZA, R. F. S.; MARIUTTI, R. J. E.; ARNI, R. K.; PORTELA, R. W.; MEYER, R.;
 1791 AZEVEDO, V. Putative virulence factors of *Corynebacterium pseudotuberculosis*
 1792 FRC41: vaccine potential and protein expression. **Microbial Cell Factories**, v. 15, n.
 1793 1, p. 1-13, 2016.
- 1794
 1795 SANTIAGO, L. B.; PINHEIRO, R. R.; ALVES, F. S. F.; DOS SANTOS, V. W. S.;
 1796 RODRIGUES, A. D. S.; LIMA, A. M. C.; OLIVEIRA, E. L.; MELO, F. H.;
 1797 ALBUQUERQUE, A. R. In vivo evaluation of antiseptics and disinfectants on control
 1798 of Caseous Lymphadenitis: clinical, haematological, serological and microbiological
 1799 monitoring. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, p. 273-280, 2013.
- 1800
 1801 SANTOS, L.M.; STANISIC, D.; MENEZES, U.J.; MENDONÇA, M.A.; BARRAL, T.D.;
 1802 SEYFFERT, N.; AZEVEDO, V.; DURÁN, N.; MEYER, R.; TÁSIC, L.; PORTELA, R.
 1803 W. Biogenic Silver Nanoparticles as a Post-surgical Treatment for *Corynebacterium*
 1804 *pseudotuberculosis* Infection in Small Ruminants. **Frontiers in Microbiology**, v. 10,
 1805 n. 824, p. 1-11, 2019.
- 1806
 1807 SHU, Y.; LIU, X. B.; MA, X. H.; GAO, J.; HE, W.; CAO, X. Y.; CHEN, J. Immune
 1808 response mechanism of mouse monocytes/macrophages treated with κ-carrageenan
 1809 polysaccharide. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 53, p. 191-198,
 1810 2017.
- 1811
 1812 SEYFFERT, N.; GUIMARÃES, A. S.; PACHECO, L. G. C.; PORTELA, R. W.;
 1813 BASTOS, B. L.; DORELLA, F. A.; HEINEMANN, M. B.; LAGE, A. P.; GOUVEIA, A.
 1814 M. G.; MEYER, R.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. High seroprevalence of caseous
 1815 lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by *Corynebacterium*
 1816 *pseudotuberculosis* secreted proteins-based ELISA. **Research in Veterinary**
 1817 **Science**, v. 88, n. 1, p. 50-55, 2010.
- 1818
 1819 SIGIRCI, B. D.; ALABAS, B.; HALAC, B.; YUKSEL, H. T.; IKIZ, S. An abscess
 1820 caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* in a Budgett's frog (*Lepidobatrachus*
 1821 *laevis*): a case report. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 31, p. 57-60, 2019.
- 1822
 1823 SILVA, M. T. D. O.; BEZERRA, F. S. B.; PINHO, R. B.; SANTANA FERREIRA, C.;
 1824 VIVAS, W. L.; PORTELA, R. W. D.; BORSUK, S. The combination of
 1825 *Corynebacterium pseudotuberculosis* recombinant proteins rPLD, rCP01850 and
 1826 rCP09720 for improved detection of caseous lymphadenitis in sheep by ELISA.
 1827 **Journal of Medical Microbiology**, p. 1-12, 2019.

- 1828
 1829 SILVA, W. M.; DORELLA, F. A.; SOARES, S. C.; SOUZA, G. H.; CASTRO, T. L.;
 1830 SEYFFERT, N.; FIGUEIREDO, H.; MIYOSHI, A.; LOIR, Y.L.; SILVA, A.; AZEVEDO,
 1831 V. A shift in the virulence potential of *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar
 1832 ovis after passage in a murine host demonstrated through comparative proteomics.
 1833 **BMC microbiology**, v. 17, n. 1, p. 1-14, 2017.
- 1834
 1835 SILVA, J. W.; DROPPA-ALMEIDA, D.; VASCO AZEVEDO, S. B.; PORTELA, R. W.;
 1836 MIYOSHI, A.; ROCHA, F. S.; DORELLA, F. A.; VIVAS, W. L.; PADILHA, F. F.;
 1837 HERNÁNDEZ-MACEDO, M. L.; LIMA-VERDE, I. B. *Corynebacterium*
 1838 *pseudotuberculosis* cp09 mutant and cp40 recombinant protein partially protect mice
 1839 against caseous lymphadenitis. **BMC Veterinary Research**, v. 10, n. 1, p. 965, 2014.
- 1840
 1841 SILVA, M. T. O.; BEZERRA, F. S. B.; PINHO, R. B.; BEGNINI, K. R.; SEIXAS, F. K.;
 1842 COLLARES, T.; PORTELA, R. D.; AZEVEDO, V.; DELLAGOSTIN, O.; BORSUK, S.
 1843 Association of *Corynebacterium pseudotuberculosis* recombinant proteins rCP09720
 1844 or rCP01850 with rPLD as immunogens in caseous lymphadenitis
 1845 immunoprophylaxis. **Vaccine**, v. 36, n. 1, p. 74-83, 2018a.
- 1846
 1847 SILVA, R. M.; CERQUEIRA, R. B.; VIEIRA, V. P.; RIBAS, J. R.; NASCIMENTO, K.
 1848 A.; PIMENTEL, L. A.; PEDROSO, P. M.; MACÊDO, J. Nem todo abscesso em
 1849 pequenos ruminantes é causado por *Corynebacterium pseudotuberculosis*.
 1850 **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 10, p.1902-1908, 2018b.
- 1851
 1852 SILVA, W. M.; SEYFFERT, N.; SANTOS, A. V., CASTRO, T. L. P., PACHECO, L. G.
 1853 C., SANTOS, A. R.; BARH, D. Identification of 11 new exoproteins in
 1854 *Corynebacterium pseudotuberculosis* by comparative analysis of the exoproteome.
 1855 **Microbial Pathogenesis**, v. 61, p. 37-42, 2013.
- 1856
 1857 SIMÕES, A. R. P.; NICHOLSON, C. F.; NOVAKOVIC, A. M.; PROTIL, R. M. Dynamic
 1858 impacts of farm-level technology adoption on the Brazilian dairy supply chain.
 1859 International. **Food and Agribusiness Management Review**, p. 1-14, 2019.
- 1860
 1861 SINGH, R., SINGH, R., KAMDI, B., KAMARI, S., SINGH, S., SINGH, S., CHAUHA,
 1862 P. KUMAR, S. Pathology of Caseous Lymphadenitis in Slaughtered Goats
 1863 Associated Infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Journal of Animal**
 1864 **Research**, v. 8, n. 3, p. 497-500, 2018.
- 1865
 1866 SOARES, G. S. L.; SILVA, L. C. A.; BATISTA, J. A.; MAIA, L. A.; SIMÕES, S. V. D.;
 1867 MIRANDA NETO, E. G. Dermatite piogranulomatosa ulcerativa em bovino por
 1868 *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária**
 1869 **e Zootecnia**, v. 69, n. 4, p. 860-864, 2017.
- 1870
 1871 SOARES, S. C.; SILVA, A.; TROST, E.; BLOM, J.; RAMOS, R.; CARNEIRO, A.; ALI,
 1872 A.; SANTOS, A. R.; PINTO, A. C.; DINIZ, C.; BARBOSA, E. G.; DORINDA, F. A.;
 1873 DORELLA, F. A.; ABURJAILE, F.; ROCHA, F. S.; NASCIMENTO, K. K.;
 1874 GUIMARÃES, L. C.; ALMEIDA, S.; HASSAN, S. S.; BAKHTIAR, S. M.; PEREIRA, U.
 1875 P.; ABREU, V. A.; SCHNEIDER, M. P.; MIYOSHI, A.; TAUCH, U.; AZEVEDO, V. The
 1876 pan-genome of the animal pathogen *Corynebacterium pseudotuberculosis* reveals

- 1877 differences in genome plasticity between the biovar ovis and equi strains. **PLoS**
 1878 **ONE**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2013
- 1879
- 1880 SOGAWA, R.; SAITA, T.; YAMAMOTO, Y.; KIMURA, S.; NARISAWA, Y.; KIMURA,
 1881 S.; SHIN, M. Development of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for
 1882 therapeutic drug monitoring of afatinib. **Journal of Pharmaceutical Analysis**. v. 9,
 1883 n. 1, p. 49-54, 2019.
- 1884
- 1885 SOLANET, J. J.; MALENA, R.; ESTEIN, S. M.; ESTEVAO, S. B.; PAOLICCHI, F. A.
 1886 Development of an ELISA test to detect antibodies in vaccinated sheep or infected
 1887 *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 43,
 1888 p. 9-17, 2011.
- 1889
- 1890 SOOD, N. K.; SANDHU, B. S.; GUPTA, K.; NARANG, D.; VASUDEVA, K.; SINGH,
 1891 N. D. Mesenteric caseous lymphadenitis in a cow calf caused by *Corynebacterium*
 1892 *pseudotuberculosis*: a case report. **Veterinarni Medicina**, v. 57 n. 7, p. 371-375,
 1893 2012.
- 1894
- 1895 SOUZA, M. F.; CARVALHO, A. Q.; GARINO JÚNIOR, F.; RIET-CORREA, F.
 1896 Linfadenite caseosa em ovinos deslanados abatidos em um frigorífico da Paraíba.
 1897 **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 224-230, 2011.
- 1898
- 1899 SPIER, S. J.; TOTH, B.; EDMAN, J.; QUAVE, A.; HABASHA, F.; GARRICK, M.
 1900 BYRNE B. A. Survival of *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *equi* in soil.
 1901 **Veterinary Record**, v. 170, n. 7, p. 7-8, 2014.
- 1902
- 1903 STANISIC, D.; FREGONESI, N. L.; BARROS, C. H. N.; PONTES, J. G. M.; FULAZ,
 1904 S.; MENEZES, U. J.; NICOLETI, JORGE L.; CASTRO, T. L. P.; SEYFFERT, N.;
 1905 AZEVEDO, V. DURÁN, N.; PORTELA, R. W. TASIC, L. NMR insights on Nano silver
 1906 post-surgical treatment of superficial caseous lymphadenitis in small ruminants. **RSC**
 1907 **Advances**, v. 8, p. 40778–40786, 2018.
- 1908
- 1909 STEFANSKA, I., GIERYNSKA, M., RZEWUSKA, M., & BINEK, M. Survival of
 1910 *Corynebacterium pseudotuberculosis* within macrophages and induction of
 1911 phagocytes death. **Pol J Vet Sci**, v. 13, n. 1, p. 143-149, 2010.
- 1912
- 1913 STING, R.; WAGNER, B.; SARI-TURAN, A.; STERMANN, M.; REULE, M.;
 1914 EICHNER, M.; BEYER, W. Serological studies on *Corynebacterium*
 1915 *pseudotuberculosis* infections in goats in Baden–Wuerttemberg (Germany) and
 1916 seroreactions on antigens used for newly developed enzyme-linked immunosorbent
 1917 assays (ELISA). **Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift**, v. 125, p.
 1918 67-75, 2012.
- 1919
- 1920 TEIXEIRA, W. C.; SANTOS, H. P.; SILVA, J. C. R.; RIZZO, H.; MARVULO, M. F. V.;
 1921 CASTRO, R. S. Perfil zoonosológico dos rebanhos caprinos e ovinos em três
 1922 mesorregiões do estado do Maranhão, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n. 1,
 1923 p. 34-42, 2015.
- 1924
- 1925 TORRES, L. D. F. C., RIBEIRO, D., HIRATA JR, R., PACHECO, L. G. C., SOUZA,
 1926 M. C., SANTOS, L. S. D., SANTOS, C. S. D.; SALAH, M.; COSTA, M. M. D.;

- 1927 RIBEIRO, M. G.; SELIM, S. A.; AZEVEDO, V. A. D. C.; MATTOS-GUARALDI, A. L.
 1928 Multiplex polymerase chain reaction to identify and determine the toxigenicity of
 1929 *Corynebacterium* spp with zoonotic potential and an overview of human and animal
 1930 infections. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 3, p. 272-279, 2013.
 1931
- 1932 TRIPATHI, B. N., KUMAR, J., SONAWANE, G. G., KUMAR, R., & DIXIT, S. K.
 1933 Microbiological and Molecular Investigation of Clinically Suspected Caseous
 1934 Lymphadenitis Cases in Goats. **Agricultural research**, v. 5, n. 4, p. 413-419, 2016.
 1935
- 1936 TROST, E.; OTT, L.; SCHNEIDER, J.; SCHRÖDER, J.; JAENICKE, S.;
 1937 GOESMANN, A.; HUSEMANN, P.; STOYE, J.; DORELLA, F. A.; ROCHA, F. S.;
 1938 SOARES, S. C.; D'AFONSECA, V.; MIYOSHI, A.; RUIZ, J.; SILVA, A.; AZEVEDO,
 1939 V.; BURKOVSKI, A.; GUIISO, N.; JOIN-LAMBERT, O. F.; KAYAL, S.; TAUCH, A. The
 1940 complete genome sequence of *Corynebacterium pseudotuberculosis* FRC41 isolated
 1941 from a 12-year-old girl with necrotizing lymphadenitis reveals insights into gene-
 1942 regulatory networks contributing to virulence. **BMC genomics**, v. 11, n. 1, p. 728,
 1943 2010.
 1944
- 1945 VALDIVIA, J.; REAL, F.; ACOSTA, F.; ACOSTA, B.; DENIZ, S.; RAMOS-VIVAS, J.;
 1946 ELAAMRI, J.; PADILLA, D. Interaction of *Corynebacterium pseudotuberculosis* with
 1947 ovine cells in vitro. **Veterinary pathology**, v. 50, n. 2, p. 318-323, 2013.
 1948
- 1949 VALE, V. L.; FREIRE, S. M.; RIBEIRO, M.; REGIS, L.; BAHIA, R. C.; CARMINATI,
 1950 R.; PAULE, B. J.; NASCIMENTO, I.; MEYER, R. Reconhecimento de antígenos por
 1951 caprinos naturalmente infectados ou imunizados contra *Corynebacterium*
 1952 *pseudotuberculosis*, **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 2, n. 2, p. 192-
 1953 200, 2003.
 1954
- 1955 VASHIST, Sandeep K.; LUONG, John H. T. Enzyme-Linked Immunoassays.
 1956 **Handbook of Immunoassay Technologies**, v. 5, p. 97-127, 2018.
 1957
- 1958 VESCH, Josir Laine Aparecida; RAMOS, Edson Mandagaran; ZAFALON, Luiz
 1959 Francisco. Linfadenite caseosa: sinais clínicos, localização dos principais linfonodos
 1960 acometidos, recomendação para prevenção e controle. **Instruções Técnicas da**
 1961 **Embrapa Semiárido**. Petrolina, Dezembro, 2015.
 1962
- 1963 VIANA, M. V. C.; FIGUEIREDO, H.; RAMOS, R.; GUIMARAES, L. C.; PEREIRA, F.
 1964 L.; DORELLA, F. A.; SELIM, S. A. K.; SALAHDELDEAN, M.; SILVA, A.; WATTAM, A.
 1965 R.; AZEVEDO, V. Comparative genomic analysis between *Corynebacterium*
 1966 *pseudotuberculosis* strains isolated from buffalo. **PLoS one**, v. 12, n. 4, p. 1-24, 2017.
 1967
- 1968 WINDSOR, Peter. A. Control of Caseous Lymphadenitis. **Veterinary Clinics of**
 1969 **North America: Food Animal Practice**, v. 27, p. 193-202, 2011.
 1970
- 1971 WINN, W.; ALLEN S.; JANDA, W.; KONEMAN, E.; PROCOP, G.;
 1972 SCHRECKENBERGER. P. **Diagnóstico microbiológico**: texto e atlas colorido. *In*:
 1973 Bacilos Gram-positivos aeróbicos e facultativos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,
 1974 2008.
 1975

- 1976 ZERBINATI, J.; GREVE, I. C.; LEAL, R. F.; AMORIN, L. M. P. V.; SILVA, D. L.;
1977 AQUINO VIEGAS, S. R. A.; PEIXOTO, A. P. C.; CARMINATI, R.; CERQUEIRA, R.
1978 B. Produção e padronização de um antígeno para um teste ELISA indireto no
1979 diagnóstico da linfadenite caseosa em soros caprinos. **Revista Acadêmica Ciência**
1980 **Animal**, v. 5, n. 3, p. 285-293, 2007.
- 1981
1982 ZUBER, B.; CHAMI, M.; HOUSSIN, C.; DUBOCHET, J.; GRIFFITHS, G.; DAFFÉ, M.
1983 Direct visualization of the outer membrane of mycobacteria and corynebacteria in
1984 their native state. **Journal of Bacteriology**, v. 190, n. 16, p. 5672-5680, 2008.
- 1985
1986

1987