



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

JAQUELINE QUEIROZ AMORIM

**PREVALÊNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS DA LINFADENITE
CASEOSA EM UM REBANHO DE CAPRINOS E OVINOS NO
MUNICÍPIO DE CRUZ DAS ALMAS-BA**

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

JANEIRO - 2017

JAQUELINE QUEIROZ AMORIM

**PREVALÊNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS DE LINFADENITE
CASEOSA EM UM REBANHO DE CAPRINOS E OVINOS NO
MUNICÍPIO DE CRUZ DAS ALMAS-BA**

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 a obtenção do título de Médico Veterinário.

Orientador: Prof^o. Dr. Joselito Nunes Costa

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

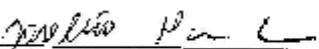
JANEIRO – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
COLEGIADO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CCA 106 - TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

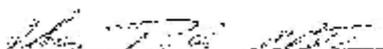
COMISSÃO EXAMINADORA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

JAQUELINE QUEIROZ AMORIM

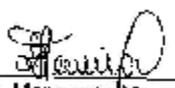
PREVALÊNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS DA LINFADENITE CASEOSA EM UM
REBANHO DE CAPRINOS E OVINOS NO MUNICÍPIO DE CRUZ DAS ALMAS-BA



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



Prof. MSc. Marcus Paulo de Matos Maturino
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



DSc. Margarath Moura Ferreira
Universidade Federal da Bahia

Cruz das Almas, 26 de janeiro de 2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por está sempre presente em minha vida, me dando saúde e força para realização de mais um objetivo.

A minha Mãe Vanda, minha amiga, heroína, sempre me apoiando e incentivando nas horas difíceis de desânimo e cansaço.

Ao meu Pai Raimundo, que apesar da distância sempre se fez presente, me apoiando e fortalecendo nas dificuldades.

Aos meus irmãos Diego e Layze, pelo apoio nas horas mais difíceis.

Ao meu amado sobrinho Gustavo, pelos momentos de alegria.

A todos os meus familiares, em especial a minha prima Gabi, e a minha tia mãe Luciete por me apoiar nos momentos que precisei e preciso.

Ao meu namorado amigo Jadson, por está sempre ao meu lado me dando força e por suas infinitas caronas à universidade.

Ao meu orientador Prof^o. Dr. Joselito Nunes Costa, pela oportunidade e apoio na elaboração deste trabalho.

Ao Prof^o. Dr. Robson Bahia Cerqueira, por permitir a realização dos testes de ELISA em seu laboratório.

Aos colegas Darlan e Gabriel, pela ajuda nas colheitas e avaliações.

Aos amigos do NEDI/LDI, por momentos de descontração e também pela ajuda para conclusão deste trabalho, em especial a Vinícius por todo esforço.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para que esta etapa da minha vida fosse concluída.

RESUMO

A Linfadenite Caseosa (LC) é uma enfermidade infectocontagiosa crônica, debilitante e de difícil controle que acomete principalmente pequenos ruminantes, podendo acometer outros animais inclusive homem. É causada pelo *Corynebacterium pseudotuberculosis*, se caracteriza pela formação de abscessos em linfonodos superficiais e profundos. Com o objetivo de avaliar os aspectos clínicos e determinar a prevalência da linfadenite caseosa, foram trabalhados 23 ovinos e 55 caprinos provenientes do Município de Cruz das Almas-BA. Dos 23 ovinos avaliados em três avaliações pelo teste de ELISA-indireto, 43,5% foram em média considerados positivos e dos 55 caprinos avaliados 46,7% apresentaram-se positivos. Os linfonodos mais acometidos nos ovinos foram parotídeos 37,5%, pré-escapulares 25%, já nos caprinos os pré-escapulares 37,4%, parotídeos 21,9% e pré-femorais com 21,9%. Dos ovinos avaliados 4 apresentaram-se positivos com lesão em linfonodos e 12 foram positivos sem lesão, enquanto nos caprinos 9 foram positivos com lesão e 22 sem lesão. A observação de animais soropositivos que não apresentam alteração clínica visível aponta para a necessidade da defesa sanitária governamental, reavaliar os métodos de triagem utilizados para exposição e comercialização de caprinos e ovinos, uma vez que estas se baseiam exclusivamente na avaliação clínica de lesões em linfonodos superficiais.

Palavras-chave: Linfadenite caseosa, caprinos e ovinos, ELISA indireto.

ABSTRACT

Lymphadenitis Caseosa (LC) is a chronic, debilitating and difficult-to-control infectious contagious disease that affects mainly small ruminants and can affect other animals, including humans. It is caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis*, characterized by the formation of abscesses in superficial and deep lymph nodes. With the objective of evaluating clinical aspects and determining the prevalence of caseous lymphadenitis, 23 sheep and 55 goats from the city of Cruz das Almas-BA were studied. Of the 23 sheep evaluated in three evaluations by the ELISA-indirect test, 43.5% were considered as positive and 55% of the 55 goats were positive. The lymph nodes most affected in the sheep were parotids 37.5%, pre-scapular 25%, and in the goats pre-scapular 37.4%, parotid 21.9% and pre-femoral 21.9%. Of the evaluated sheep 4 were positive with lesions in lymph nodes and 12 were positive without injury, whereas in goats 9 were positive with lesion and 22 without lesion. The observation of seropositive animals that do not present visible clinical alteration points to the need of the governmental sanitary defense, to re-evaluate the screening methods used for exposure and commercialization of goats and sheep, since these are based exclusively on the clinical evaluation of lesions in superficial lymph nodes .

Keywords: caseous lymphadenitis, goats and sheep, indirect ELISA.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1. Microscopia de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> em lâmina após coloração de Gram.....	16
Figura 2. Patogenia da Linfadenite Caseosa.....	21
Figura 3. Identificação (A até G) dos linfonodos superficiais.....	23
Figura 4. Animal apresentando aumento de volume em linfonodo pré cural....	24
Figura 5. Aspecto do pus na Linfadenite Caseosa.	25
Figura 6. Rebanho caprino (A). Rebanho ovino (B).....	30
Figura 7. Animal com aumento de volume em linfonodo poplíteo (C), Animal com aumento de volume em linfonodo pré-femoral (D).	31
Figura 8. Coleta de sangue (E). Tubos com amostras de soros e retração dos coágulos após centrifugação (F).	32
Figura 9. Placa de poliestireno de fundo chato, após reação.....	33

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. N° de avaliações realizadas nos caprinos, resultado do teste de ELISA indireto com números e porcentagem de animais negativos e positivos..... 36

Tabela 2. N° de avaliações realizadas nos ovinos, resultado do teste de ELISA indireto com números e porcentagem de animais negativos e positivos..... 37

Tabela 3. Distribuição dos principais linfonodos mais acometidos em caprinos e ovinos..... 38

Tabela 4. Quantidades de animais ovinos e caprinos que apresentaram positivo no ELISA indireto com lesão em linfonodo e positivo sem lesão. 38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LC – Linfadenite Caseosa

ELISA – Enzyme – Linked Immunoabsorbent

MAPA – Ministério da Agricultura pecuária e Abastecimento

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

BHI – Brain Heart Infusion

PLD – Fosfolipase D

CAAF – Citologia Aspirativa por Agulha Fina

IDGA – Imunodifusão em Gel de Agar

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

UFRB – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

PBS-T – Phosphate Buffered saline –tween

BA – Bahia

NEDI/LDI – Núcleo de Estudo em Doenças Infecciosas/ Laboratório de Doenças Infecciosas

C. pseudotuberculosis - *Corynebacterium pseudotuberculosis*

RPM - Rotação Por Minuto

LISTA DE SÍMBOLO

%.....Porcentagem

μLMicrolitros

μg Microgramas

$^{\circ}\text{C}$Graus Celsius

pH.....Potencial Hidrogênico

H_2O_2Peróxido de Hidrogênio

SUMÁRIO

	Página
1.INTRODUÇÃO.....	12
2.OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3.REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 Etiologia.....	15
3.2 Epidemiologia.....	17
3.3Transmissão.....	19
3.4 Patogenia	20
3.5 Resposta Imune	22
3.6 Sinais Clínicos.....	23
3.7 Diagnóstico.....	25
3.8 Diagnóstico Diferencial.....	27
3.9 Tratamento	28
3.10 Profilaxia.....	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1 Colheita de Sangue	31
4.2 Banco de Soros.....	32
4.3 Protocolo do Teste de ELISA Indireto	32
4.4 Cálculo do Ponto de Corte	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
6. CONCLUSÃO.....	39
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

A caprinocultura é uma atividade de grande importância social, cultural e econômica, principalmente na região Nordeste do Brasil, sendo desenvolvida, sobretudo por médios e pequenos produtores que retiram dessa atividade a sua subsistência (CARVALHO, 2011), apresentando características bem simbólicas, como a falta de adoção de tecnologias (SAMPAIO et al., 2009).

De acordo com o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), o rebanho caprino no Brasil encontra-se em ampla maioria no Nordeste, com ênfase para Bahia, Pernambuco, Piauí e Ceará. Já a criação de ovinos tem maior representatividade na região Nordeste e no Estado do Rio Grande do Sul. O rebanho caprino e ovino vem crescendo, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011), o Brasil dispõe de um efetivo de 8.851.879 caprinos e 17.614.454 de ovinos, sendo que no Nordeste, o rebanho de caprinos e ovinos é de 8.109.672 e 10.126.799, respectivamente, com um maior rebanho no estado da Bahia, constando de 2.815.438 cabeças de ovinos e 2.360.683 caprinos.

Porém, a desorganização da cadeia produtiva, ausência de conhecimento sobre manejo alimentar e sanitário, a falta ou pouca assistência veterinária, além do sistema de criação extensivo predominante na região Nordeste resulta em baixos índices zootécnicos dos rebanhos e menor lucro para os produtores, fazendo com que a caprinovinocultura não progrida qualitativamente na proporção da sua importância (PINHEIRO et al., 2009).

Dentre as enfermidades que ameaçam o desenvolvimento do agronegócio, destaca-se a Linfadenite Caseosa (LC), enfermidade de ocorrência mundial e com alto poder de disseminação. Acomete principalmente os pequenos ruminantes, sendo estes considerados fonte de infecção para outros animais (BLACKLAWS, 2012).

A LC é responsável por grandes perdas econômicas como condenação da carcaça, desvalorização da pele por cicatrizes deixadas pelos abscessos, baixa produção de carne e leite, gastos com tratamentos e ocasionalmente morte dos animais acometidos (RADOSTITS et al., 2007).

Considerada uma doença bacteriana sistêmica de caráter crônico, a linfadenite caseosa é causada pelo microrganismo *Corynebacterium pseudotuberculosis*, originando lesões inflamatórias do sistema linfático particularmente de ovinos e caprinos (WINDSOR, 2014).

Animais acometidos com a enfermidade podem apresentar sintomas clínicos envolvendo alterações tanto nos linfonodos superficiais ou tecidos cutâneos como nos órgãos internos, podendo os dois quadros da doença ocorrer concomitantemente (O' REILLY et al.,2008).

Alguns animais podem apresentar-se doentes e não manifestar sinais clínicos aparentes, devido a isto, vários testes sorodiagnóstico têm sido desenvolvidos para identificação da linfadenite caseosa em pequenos ruminantes, com resultados variáveis (SEYFFERT et al., 2009). Dentre os inúmeros testes sorológicos o ELISA indireto tem sido uma das ferramentas mais utilizada como método de diagnóstico (ZÁRRAGA et al.,2009).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desse trabalho foi determinar a prevalência da Linfadenite Caseosa em um rebanho de caprinos e ovinos no município de Cruz das Almas, correlacionando e caracterizando com os aspectos clínicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar clinicamente as lesões da linfadenite caseosa em rebanhos de caprinos e ovinos;
- Determinar a soroprevalência da linfadenite caseosa por meio de teste de ELISA.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Etiologia

A linfadenite caseosa, é uma das enfermidades que apresenta grande importância, devido os consideráveis prejuízos econômicos causados e por exibir uma característica subclínica, possibilitando assim a disseminação do microrganismo no rebanho (WILLIAMSON, 2001) caracterizada como uma enfermidade infecciosa crônica, com aparecimento de lesões caseosas ou necróticas encapsuladas nos linfonodos superficiais de pequenos ruminantes, assim como nos órgãos internos. (RIBEIRO et al., 2001). Apresenta como agente etiológico o *Corynebacterium pseudotuberculosis* (REBOUÇAS et al., 2013) microrganismo capaz de resistir à fagocitose, ao óxido nítrico produzido pelos macrófagos e a diferentes condições de estresse (STEFANSKA et al. , 2010).

O *C.pseudotuberculosis* foi isolado pela primeira vez pelo microbiologista e Médico Veterinário francês Edmound Nocard em 1888 em um caso de linfagite em bovinos. Hugo Von Preisz em 1891 isolou um agente semelhante de um abscesso renal ovino. Sendo assim, o patógeno foi denominado de bacilo "Preisz-Nocard". Em 1948, foi adotada a terminologia atual *Corynebacterium ovis* sendo utilizada como sinônimo (MOORE et al., 2010).

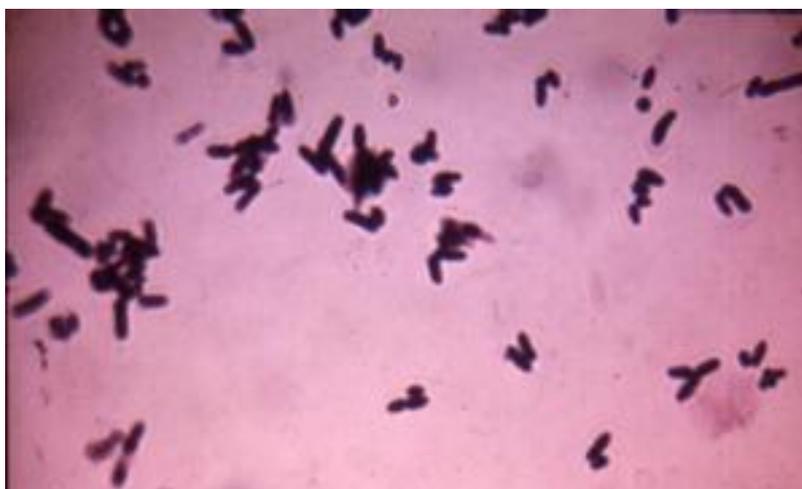
Morfologicamente distingue-se como uma bactéria Gram-positiva, anaeróbica intracelular facultativo (GORMAN et al., 2010) que exibe forma pleomórfica, variando desde cocóide a filamentosa, podendo medir em torno de 0,5 a 0,6 µm por 1 a 3 µm, imóvel, não formadora de esporos, possuindo crescimento ótimo em torno de 37°C e pH 7,0 (PROFT e BAKER, 2009).

Microrganismo pertencente ao grupo CMNR das Actinobactérias, o qual envolve os gêneros *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* e *Rhodococcus*, apresentam uma camada lipídica complexa presente na estrutura da parede celular, além da capacidade de multiplicar-se dentro dos macrófagos (MOTTA et al., 2010). Agentes incluídos neste grupo possuem características semelhantes em relação à parede celular, como, espessura, presença de ácidos micólicos, ácidos graxos saturados e insaturados (BELCHIOR et al., 2006).

De acordo com as características bioquímicas, o microrganismo apresenta uma grande capacidade fermentativa com produção de ácidos, porém sem produção de gás, a partir de fontes de carboidratos como glicose, frutose, monose, maltose e sacarose (MOURA-COSTA, 2002).

Catalase-positiva e oxidase-negativa precisam de meios enriquecidos nutricionalmente com soro animal ou proteína vegetal para um bom crescimento, bem como ágar-sangue seletivo ou caldo de BHI (“Brain Heart Infusion”) exibindo rendimento aumentado quando, a este último, acrescenta-se extrato de levedura, triptona ou lactoalbumina. Em ágar-sangue organiza-se em colônias pequenas esbranquiçadas, que após alguns horas exibem coloração creme, secas e friáveis. São conhecidos dois biótipos de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, com redução de nitrato em nitrito variável; as linhagens de equino e bovino que são capazes de reduzir nitratos e as linhagens de caprinos e ovinos que não possuem atividade de redução de nitrato (QUINN et al., 2005).

Figura 1. Microscopia de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em lâmina após coloração de Gram.



Fonte: BacMap – Genome Atlas (2015).

Vários fatores de virulência estão envolvidos na patogenia do *C. pseudotuberculosis*, entre eles os ácidos micólicos, os glicolipídios da parede celular, assim como as exotoxinas fosfolipase D e a esfingomielinase, responsáveis pela sobrevivência e multiplicação dentro do hospedeiro. A exotoxina fosfolipase D

(PLD) e os ácidos micólicos compreendem como os principais fatores de virulência, atribuindo ao microrganismo características patogênicas. (BAIRD e FONTAINE, 2007).

3.2 Epidemiologia

A Linfadenite Caseosa está presente em todo o mundo constituindo uma doença contagiosa de caráter crônico responsável por grandes perdas econômicas (NASSAR et al., 2014). Presente em países como Nova Zelândia, Espanha, França, Austrália, Suíça e Holanda, onde a ovinocaprinocultura é intensa (BECLHIOR et al., 2006). A prevalência clínica da doença no Brasil varia de 5% a 50%, sendo considerada endêmica, acometendo com maior frequência os pequenos ruminantes (SOUZA et al., 2011).

No Brasil, a LC é altamente prevalente no Nordeste, levando a uma diminuição de peso no animal, causando assim, prejuízos consideráveis (BROWN et al., 1987) com a redução da produção de lã, baixa fertilidade, desvalorização do couro além de condenação da carcaça (KHOUDJA e CHIKHAOUI 2013). Na Austrália, Paton et al. (1994) analisando a consequência da infecção por *C. pseudotuberculosis* na produção e qualidade da lã de ovelhas, constatou um dano na produção da lã limpa de 4,1% para 6,6%, ocasionando uma perda de US\$ 17 milhões para as indústrias de lã australianas.

A elevada prevalência da enfermidade no Nordeste pode estar relacionada à elevada concentração de pequenos ruminantes nesta região, assim como a presença de vegetação espinhosa (PINHEIRO, 2007). Em relação ao tipo de criação, Carmo et al. (2012) em um trabalho realizado no Distrito Federal, constatou uma maior predominância (48,4%) no sistema extensivo.

Microrganismo cosmopolita o *Corynebacterium pseudotuberculosis* pode ser encontrado predominantemente no solo, pele ou mucosa de animais infectados (PATON et al., 2003) sendo capaz de sobreviver de 6 a 12 meses (BINNS et al., 2002). A LC pode eventualmente ser encontrada em bovinos e equinos originando a linfagite ulcerativa, entretanto, nos caprinos e ovinos a infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* é altamente prevalente, de grande importância sanitária,

caracterizada pelo desenvolvimento de abscessos em um ou mais nódulos linfáticos (PATON, 2010).

O homem também pode ser acometido pelo *C. pseudotuberculosis*, através do contato com material purulento presente nos abscessos principalmente os criadores e profissionais ligados à criação, sendo considerada uma zoonose ocupacional (RIBEIRO, et al 2001) causando linfadenite subaguda crônica (YERUHAM et al., 2004).

Os animais que apresentam abscessos nos linfonodos superficiais são considerados clinicamente contaminados, porém, alguns animais podem apresentar a forma visceral ou interna e não exibir sintomas clínicos (RIBEIRO et al.,2013) podendo eliminar a bactéria pela via respiratória, infectando assim o meio ambiente em que vive (O'REILLY et al., 2008).

Andrade et al. (2012) realizando um trabalho no semiárido da Paraíba, examinou 640 animais entre caprinos e ovinos dos quais 7,7% (49/640) apresentavam sinais clínicos de linfadenite caseosa, onde alguns exibiam apenas cicatrizes e/ou abscessos. Outro estudo realizado também na Paraíba por Souza et al. (2011) ao avaliar ovinos abatidos em frigoríficos, constatou que 15,9% apresentaram lesões macroscópicas semelhantes a linfadenite caseosa.

No Estado de Minas Gerais aplicação de questionários aos produtores e teste sorológicos foram realizados por Dorella et al. (2009), onde encontraram uma elevada soroprevalência de 70,9% em rebanhos ovinos . Já Seyffert et al. (2010) realizaram o mesmo estudo na mesma região e obtiveram uma soroprevalência de 78,9% e 75,8% em caprinos e ovinos respectivamente.

A doença pode acometer machos e fêmeas em qualquer idade, entretanto, é comum observar animais doentes após um ou dois anos de vida (MEYER et al., 2002). Jung et al. (2015), em um estudo realizado com cabras coreanas nativas, observaram que dentre as 466 cabras avaliadas 267 (57,3%) foram soropositivos para *C.pseudotuberculosis*. No mesmo estudo, analisando a ocorrência de linfadenite caseosa de acordo com a idade, a prevalência de animais adultos é maior (62,0%) em comparação com animais jovens (49,3%), a frequência dos abscessos aumenta com o desenvolver da idade.

Em relação ao sexo, Al-Gaabary et al. (2009) pesquisando os aspectos epidemiológicos e clínicos da LC, constataram que fêmeas são mais amplamente acometidas (19,67%) em relação aos machos (12,42%) caprinos e ovinos. A elevada prevalência em fêmeas conforme Magdy et al. (2009) pode estar relacionada ao maior período em que estas são mantidas no rebanho em relação aos machos que são abatidos jovens, e devido à característica crônica da doença.

Segundo Kumar et al. (2012), a infecção apresenta uma baixa prevalência quando as condições climáticas apresentam-se com temperatura mais elevada, restringindo assim a sobrevivência da bactéria no ambiente externo e no solo. De acordo com Radostits et al. (2007), as lesões podem ser observadas com maior frequência nos linfonodos pré-escapulares, retrofaríngeos, parotídeos, submandibulares e pré-curais possivelmente por ser áreas que ficam mais sujeitadas a sofrerem escoriações e outros tipos de lesões traumáticas que facilitam a penetração do organismo.

3.3 Transmissão

A principal forma de transmissão da doença é por meio do contato direto entre os animais sadios com animais contaminados durante o confinamento, sendo estes considerados fonte de infecção para o rebanho, pois, eliminam o microrganismo através de descargas oronasais, secreção purulenta de linfonodos abscedados rompidos e ocasionalmente, pelo leite (PUGH et al., 2005). Segundo Baird & Fontaine (2007), os animais, principalmente os de produção podem se contaminar através da ingestão de alimentos. Animais que não são clinicamente diagnosticados, mas apresentam lesões pulmonares, podem ser responsáveis por transmitir a doença através de aerossóis (PATON et al., 1995).

Sendo a pele a principal porta de entrada, procedimentos rotineiros de manejo que levam a lesões como marcações, tosquia, corte de caudas e umbigo, castrações, assim como bebedouros e comedouros, contribuem para disseminação da doença (WINDSOR, 2011).

Com relação à viabilidade no ambiente, a bactéria consegue resistir oito meses no solo, quatro meses em depósitos de tosquia, dois meses em feno e materiais

contaminados, sendo que a falta de higiene das instalações contribui consideravelmente para disseminação (RADOSTITS et al., 2002). Segundo Alves; Pinheiro; Pires. (1997) a vegetação espinhosa presente no Nordeste brasileiro constitui um grande fator de risco para disseminação do agente, por provocar lesões de pele nos ovinos e caprinos.

3.4 Patogenia

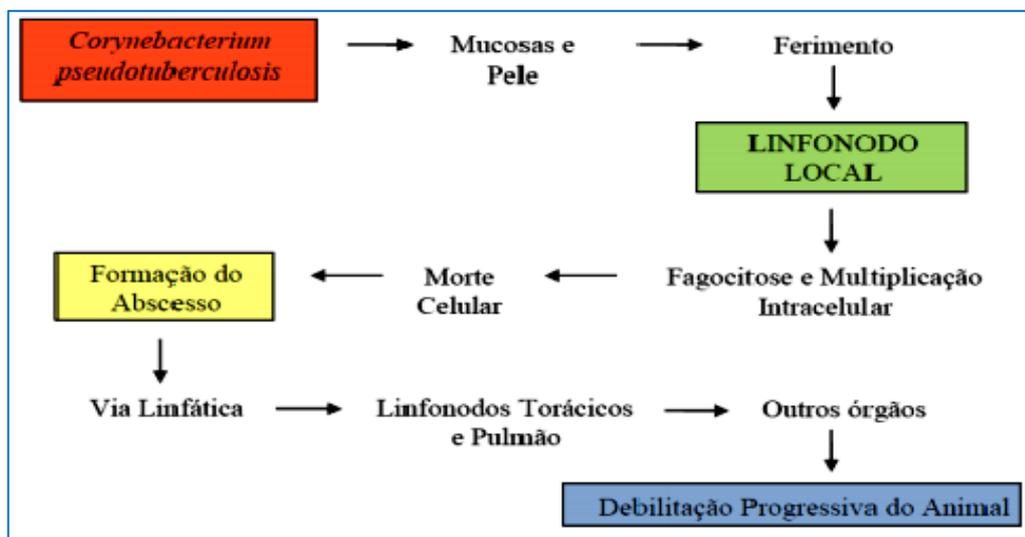
O microrganismo entra em contato com o hospedeiro através de lesões de pele e por meio das mucosas (SPIER e WHITCOMB 2007) podendo penetrar através da pele íntegra (WILLIAMSON 2001).

Logo após a contaminação, o agente é fagocitado pelos macrófagos no local da infecção, entretanto, essa resposta inicial do hospedeiro acaba sendo ineficiente, pois a bactéria consegue resistir à digestão das enzimas celulares devido à composição da sua parede celular, persistindo como um parasita intracelular facultativo de macrófagos (COLLETT et al., 1994).

O patógeno multiplica-se no interior dos macrófagos ocasionando a lise destes (BOGDAN *et al.*, 1997) sendo capaz de sobreviver por mais de 48 horas no interior dos fagócitos (BASTO et al., 2012).

A liberação da exotoxina fosfolipase D (PLD) e dos lipídeos de superfície (ácidos micólicos) causa necrose dérmica com inflamação, aumento da permeabilidade vascular (WINDSOR, 2014) e formação de microabscessos nos linfonodos superficiais, desenvolvendo assim a LC superficial ou externa. Uma vez que o microrganismo migra através da circulação linfática ou sanguínea, vai haver o desenvolvimento das lesões em órgãos internos como nos linfonodos mediastínicos ou nos pulmões, porém qualquer órgão pode ser acometido; desta forma a LC é conhecida como visceral (BAIRD & FONTAINE, 2007) sendo a principal forma de transmissão à via respiratória (FONTAINE et al., 2006).

Figura 2. Patogenia da Linfadenite Caseosa.



Fonte: Alves; Pinheiro; Pires. (1997), adaptado de Batey (1986)

A infecção causada pela LC pode ser dividida em fase inicial (1-4 dias pós-infecção) caracterizada pelo recrutamento de neutrófilos para o local da inoculação e linfonodos de drenagem; fase de amplificação (5-10 dias pós-infecção) caracterizada pelo desenvolvimento de piogranuloma, e uma fase de estabilização, caracterizada pela maturação e persistência do piogranuloma (PEPIN et al., 1997).

Os granulomas formados na infecção por *C. pseudotuberculosis* são compostos por um centro necrótico contendo pus de cor verde claro a amarelo, circundado por camadas concêntricas de células do sistema imune (macrófagos, neutrófilos e principalmente linfócitos), delimitadas por uma cápsula de tecido conjuntivo. No início da formação do granuloma, o pus apresenta consistência líquida a pastosa, evoluindo para caseosa nas lesões antigas (PEPIN et al.1994).

A formação do piogranuloma no processo infeccioso restringe a disseminação bacteriana sistêmica, sendo considerado um mecanismo de defesa (PEKELDER, 2000).

3.5 Resposta Imune

Infecções causadas por bactéria intracelular como *C. pseudotuberculosis*, apresenta uma complexa interação entre parasito e hospedeiro. Fatores como, carga infectante e resposta do hospedeiro influenciam o resultado final da interação, que pode ser uma resposta imune ou a própria doença (AYELE et al.,2004).

A resposta imune gerada pelo hospedeiro na tentativa de eliminar o microrganismo *C. pseudotuberculosis* envolve tanto o mecanismo de resposta imune inata quanto adaptativa (LAN, 1999; PEKELDER, 2000). A imunidade inata é considerada a primeira resposta de defesa contra o patógeno, desencadeando uma resposta rápida. Já a resposta adaptativa que corresponde à imunidade humoral mediada por anticorpos e células T, pode levar geralmente horas ou dias para iniciar (PLUDDMANN et al.,2006).

Por se tratar de um microrganismo intracelular facultativo, estes sobrevivem aos mecanismos de defesa proliferando-se dentro dos fagócitos e de outras células do hospedeiro, o que os tornam impenetráveis aos anticorpos circulantes. Entretanto, a resposta mediada por célula, constitui a principal arma do hospedeiro para combater a infecção através da fagocitose ou lisando às células infectadas (BURMESTER e PEZZUTO, 2003) compostas por células fagocíticas macrófagos e neutrófilos e células dendríticas (PENG et al.,2007).

Por meio dos receptores de membrana ocorre à interação dos macrófagos com os antígenos. Após a ligação os antígenos são processados e apresentados aos linfócitos T e B, desencadeando assim uma resposta imune, onde os linfócitos produzem anticorpos específicos para os antígenos apresentados pelos macrófagos (GORDON, 2007; FELDMAN et al., 2000).

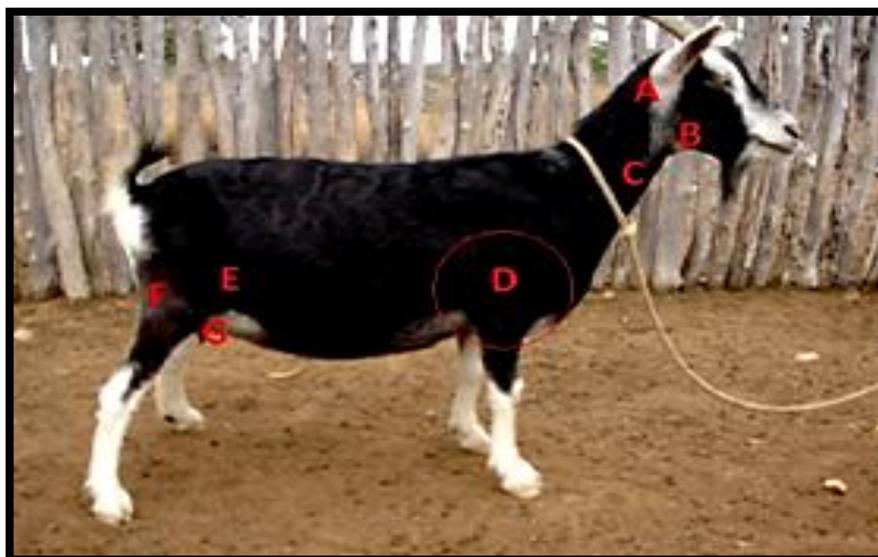
Macrófagos e neutrófilos são ativados e atraídos para o local da infecção por meio de citocinas denominadas de pró-inflamatórias, dentre essas citocinas destaca-se o TNF- α , que permite a passagem de células recrutadas da resposta imune inata através do aumento da permeabilidade vascular, além da ativação dessas células. O INF- γ ativa macrófagos e a expressão de moléculas apresentadoras de antígenos, MHC de classe I e II que participam da ativação das células da resposta imune adaptativa (DIAS et al., 2011).

3.6 Sinais Clínicos

Os sinais clínicos da linfadenite caseosa, podem ser observados através da realização de exames clínicos, onde nota-se um aumento de volume nos linfonodos superficiais. Por ser uma doença subclínica que não apresenta sinais precisos, alguns animais podem mostrar-se saudáveis, mas desenvolver internamente o abscesso, principalmente se existir animais com lesões aparentes no rebanho. A doença em animais subclínicos só é descoberta por meio de necropsia e testes laboratoriais (PATON, 2010).

Os linfonodos superficiais mais acometidos são parotídeos(A), submandibulares(B), retrofaríngeos(C), pré-escapulares(D), inguinais(E), poplíteos(F) e mamários(G) (Figura 3). Nota-se um aumento de volume devido à formação de abscesso caseoso, desta forma, a doença é classificada como superficial. Internamente acomete principalmente os órgãos como pulmão, fígado e rins, caracterizando a doença como visceral ou profunda (VESCH; RAMOS, ZAFALON, 2015).

Figura 3. Identificação (A até G) dos linfonodos superficiais.



Fonte: Vesch; Ramos; Zafalon (2015).

Tanto a forma superficial como a visceral, pode está presente ou não em um mesmo animal, podendo levar de dois a seis meses para que os sinais clínicos surjam, o que torna a doença menos detectável clinicamente em animais jovens (PEKELDER, 2000).

Além dos sinais clínicos característicos, os animais podem apresentar problemas respiratórios, timpanismo ruminal crônico recorrente, redução de peso progressiva, sendo uma forma de expressão das lesões viscerais por LC (Al-GAABARY e El-SHEIKH, 2002; RADOSTITS et al. 2002) conhecida como “síndrome da ovelha magra” e do “caprino definhado”. Dispnéia, taquipnéia e tosse crônica, podem ser um dos sinais apresentados quando se tem comprometimento respiratório (BELKNAP, 2004). Segundo Latif et al. (2015) a infecção pode causar lesões nos órgãos reprodutores de fêmeas caprinas acometidas, podendo influenciar na eficiência reprodutiva.

Figura 4. Animal apresentando aumento de volume em linfonodo pré cural.



Fonte: Arquivo pessoal (2015).

O abscesso presente nos linfonodos acometidos expõe conteúdo purulento, de coloração esverdeada ou amarelo claro, inodoro, apresentando inicialmente uma consistência pastosa que por fim torna-se dura e seca em forma de lâminas concêntricas, rodeado por cápsula fibrosa (PEKELDER, 2000).

Figura 5. Aspecto do pus na linfadenite caseosa.



Fonte: Nóbrega (2010).

3.7 Diagnóstico

Sendo o *C. pseudotuberculosis* um microrganismo capaz de resistir no interior do hospedeiro por até dois anos sem manifestar sinais clínicos, o diagnóstico da doença é de grande importância para manter o animal livre da doença ou com baixos níveis de transmissão (PATON et al.,1994).

O diagnóstico presuntivo da LC é baseado no histórico do animal e principalmente na identificação macroscópica dos abscessos nos linfonodos superficiais, além de exames laboratoriais, isolamento e identificação da bactéria a partir do material caseoso drenado dos abscessos, e dos órgãos, sendo este considerado padrão ouro (BAIRD e FONTAINE, 2007). O diagnóstico bacteriológico permite diferenciar o agente patogênico de outras bactérias que levam a formação de abscessos como o *Streptococcus pyogenes*, *Pasteurella multocida*, sendo

considerado um dos procedimentos mais fidedignos de diagnóstico *in vivo* (DERCKSEN et al.,2000; DORELLA et al.,2006).

Algumas técnicas têm sido utilizadas para diagnosticar a LC, como a citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) realizada por Ribeiro et al. (2011) para investigação do *C. pseudotuberculosis* nos linfonodos de ovinos com lesões características. Segundo os autores a citologia aspirativa pode ser empregada como método de triagem no diagnóstico da linfadenite caseosa ovina.

Testes sorológicos estão sendo empregados para diagnóstico da linfadenite caseosa em ovinos e caprinos, como soroneutralização, IDGA, hemoaglutinação indireta e diferentes ensaios de ELISA (MOTTA; CREMASCO; RIBEIRO, 2010) constituindo importantes métodos para detectar lesões inaparentes já que animais sem sintomas clínicos são considerados grande fonte de disseminação da infecção no rebanho (KABA et al., 2001). Estes testes mensuram a concentração de anticorpos contra a toxina do *Corynebacterium pseudotuberculosis* (LOFSTED, 2002).

Dentre os métodos sorológicos, o teste de ELISA vem sendo empregado com ampla frequência, devido a sua capacidade de detectar infecções subclínica de LC, sobretudo por apresentar elevados níveis de sensibilidade e especificidade (GUIMARÃES et al. 2009).

Segundo Carminatti et al. (2003), o teste de ELISA indireto apresentou sensibilidade de 93,5% e especificidade de 100% no diagnóstico de LC em caprinos, mediante qualquer prevalência, permitindo assim sua utilização em programas de controle.

No Ceará, o primeiro estudo soropidemiológico por meio do teste imunoenzimático (ELISA-indireto), foi realizado por Carmo et al. (2010) em rebanhos caprinos de 127 propriedades, no qual obtiveram uma soroprevalência para linfadenite caseosa de 26,2%. Seyffert et al. (2010) utilizou o teste de ELISA indireto para detecção de imunoglobulinas específicas totais para antígenos secretados de *C. pseudotuberculosis* e alcançaram 93,5% de sensibilidade e 98,5% de especificidade.

É importante salientar que os animais só podem ser testados sorologicamente após os seis meses de vida, pois os testes sorológicos podem apresentar falso-positivos ou falso-negativos, visto que os anticorpos maternos podem fornecer resultados falso-positivos (WILLIAMSON, 2001).

Com o objetivo de identificar isolados de *C. pseudotuberculosis*, Cetinkaya et al.(2002) realizaram um teste de diagnóstico baseado no PCR, onde observaram que o método pode ser utilizado com sucesso no diagnóstico da linfadenite caseosa em caprinos e ovinos. Kumar et al.(2012) verificaram ser um método específico e rápido, podendo ser utilizado como uma técnica alternativa de diagnósticos para os testes convencionais.

De acordo com Al-Gaabary et al.(2010), o diagnóstico da doença também pode ser realizado através de exames histológicos principalmente quando a doença apresenta-se na forma visceral.

3.8 Diagnóstico Diferencial

Linfadenite caseosa é uma doença infecciosa crônica que leva a inflamação dos linfonodos, principalmente nos pequenos ruminantes (ROBLES, 2007) gerando perdas econômicas consideráveis, como condenação da carcaça, perda de fertilidade e emagrecimento progressivo (CONNER et al., 2000).

Devido à existência de diferentes doenças que acometem caprinos e ovinos apresentar como manifestação clínica formação de abscessos, é necessária a realização de diagnóstico diferencial para que o tratamento adequado seja aplicado (SHARPE et al.,2010).

É importante diferenciar a LC de doenças como Tuberculose, Paratuberculose e Actinobacilose que levam a perda de peso e formação de abscesso (LOFSTEDT, 2002) e de infecções causadas por *Actinomyces pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e linfosarcoma (ALVES; PINHEIRO; PIRES, 1997).

3.9 Tratamento

Referente ao tratamento da linfadenite caseosa, determinados procedimentos podem ser realizados, como a drenagem do conteúdo caseoso, ou extirpação cirúrgica dos linfonodos visíveis acometidos e o uso de antibioticoterapia, como ampicilina, clorofenicol, tetraciclina, lincomicina, gentamicina (ABREU et al, 2008). Entretanto, mesmo o microrganismo *C. pseudotuberculosis* possuindo sensibilidade a esses tipos de medicamentos, os mesmos não conseguem ultrapassar a cápsula fibrosa dos granulomas, tornando a terapia ineficaz e de custo elevado (OLSON et al., 2002).

O tratamento cirúrgico baseia-se na abertura do linfonodo acometido, retirada do conteúdo caseoso, seguido da utilização de iodo a 10% para a cauterização, visando prevenir o meio ambiente de possíveis contaminações e aumento na disseminação da bactéria (RADOSTITS et al. 2007). Entretanto, o conteúdo caseoso tem um risco de infecção elevada, principalmente se houver falha no processo, além do elevado custo e procedimento demorado, não sendo conveniente para o produtor por ser uma doença de curso recorrente (SMITH et al.,2006).

Segundo Radostits et al. (2002), quando os linfonodos profundos são acometidos, o prognóstico é considerado ruim, e os animais são encaminhados para o abate não sendo recomendado a utilização dessa carne para o consumo humano, acarretando perdas econômicas.

3.10 Profilaxia

A melhor forma para impedir que a doença se instale no rebanho é a profilaxia (PIONTKOWSKI e SHIVVERS, 1998). O controle da linfadenite caseosa segundo Prescott et al (2002), deve ser realizado através da identificação dos animais infectados e posterior isolamento e descarte dos mesmos, sendo um dos métodos mais eficiente para eliminação da doença no rebanho (DORELLA et al 2006). Algumas medidas importantes devem ser adotadas, como o cuidado na seleção ao adquirir animais novos para o plantel, realização de quarentena (BINNS et al 2007). Para Windsor, (2011), a utilização de vacinas nos rebanhos constitui um método de controle da enfermidade, assim como empregos eficientes de práticas diagnósticos.

De acordo com Paton et al. (2003), um programa de vacinação adequado contra LC poderia levar a uma redução significativa na prevalência da doença, podendo chegar até 70% de proteção junto com planos de educativos de manejo para os produtores.

Grande parte das vacinas comercialmente disponíveis tem como base sobrenadante de cultura celular inativado combinado com antígenos de outros patógenos como bactérias do gênero *Clostridium* e apresentam como principal componente exotoxina fosfolipase D inativada, constituindo uma vacina toxóide, apresentando uma baixa eficácia contra *C. pseudotuberculosis* (WILLIAMSON, 2001).

O cuidado com o manejo diário é muito importante, pois evita a disseminação do patógeno. Todos os equipamentos utilizados devem ser higienizados em desinfetantes, bem como galpões, troncos de tosquia e baias de contenção (ALVES; SANTIAGO; PINHEIRO, 2007). Animais que apresentam abscessos palpáveis externamente devem ser manejados por último, sendo a tosquia iniciada por animais jovens, evitando contato destes com animais que exponham lesões (SCOTT, 2007).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Município de Cruz das Almas-BA em rebanho caprino e ovino pertencente à Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Foram utilizados com autorização da CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais) 78 animais no total, constituindo 55 caprinos e 23 ovinos. Todos os animais foram submetidos a exame clínico cuidadoso através de palpação nos linfonodos superficiais (parotídeos, submandibulares, retrofaríngeo, pré-escapular, pré-femoral, retromamário e poplíteo) de acordo com Rosenberger et al. (1993) e Pugh, (2005) para identificação dos linfonodos com lesões sugestivas de linfadenite caseosa e identificação de características que possam estar relacionadas com a soroprevalência.

Figura 6. Rebanho caprino (A). Rebanho ovino (B).



Foto: Arquivo pessoal (2016).

Figura 7. Animal com aumento de volume em linfonodo poplíteo (C). Animal com aumento de volume em linfonodo pré-femoral (D).



Foto: Arquivo pessoal (2016).

4.1 Colheita de Sangue

Para realização de teste sorológico, amostras de sangue após assepsia foram coletadas em três períodos com intervalo de três meses, por punção em veia jugular, utilizando-se agulhas descartáveis estéreis, uma para cada animal em tubos a vácuo. Após as coletas, os tubos com amostras de sangue dos ovinos e caprinos foram encaminhadas para o Laboratório Multifuncional do Hospital Universitário de Medicina Veterinária da UFRB e em seguida foram centrifugadas por cerca de 10 minutos por 3 RPM (Rotação Por Minuto). As amostras do soro sanguíneo foram separadas, depositadas em microtubos previamente identificados e mantidas a -20°C para realização do teste de ELISA-indireto.

Figura 8. Coleta de sangue (E). Tubos com amostras de soros e retração dos coágulos após centrifugação (F).



Foto: Arquivo pessoal (2016).

4.2 Banco de Soros

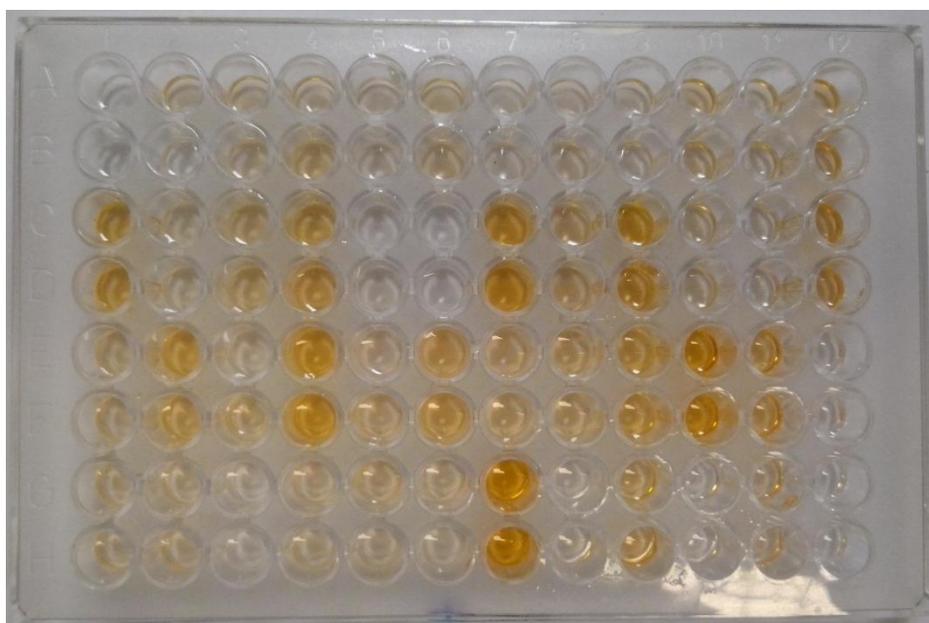
Os soros controle utilizados para o teste, foram amostras de animais comprovadamente testados como positivos e negativos para *C. pseudotuberculosis*, provenientes do Banco de Soros do Laboratório de Doenças Infecciosas LDI da UFRB.

4.3 Protocolo do Teste de ELISA Indireto

O teste de ELISA-indireto foi realizado segundo o protocolo descrito por Carminati et al. (2003). As placas de poliestireno de fundo chato (marca COSTAR) foram sensibilizadas com 100 μ l da diluição da cultura de *C. pseudotuberculosis* diluído a 1:100, em tampão carbonato bicarbonato a 0,05M, pH 9,6, incubadas a 37°C por 18 horas em câmara úmida. Após duas lavagens com PBS com 0,1% de Tween 20, as placas foram bloqueadas 200 μ l/poço de PBS-T20 e 5% de leite desnatado (MOLICO®), incubadas por 2 horas a 37°C em câmara úmida. A seguir, foram incubadas com 50 μ l/poço em duplicada dos soros teste diluídos a 1:100 em PBS-T20 contendo 1% de leite desnatado (MOLICO®) durante 1 hora a 37°C em câmara úmida. Após cinco lavagens em PBS-T20, adicionaram-se às placas 50

μl /poço o conjugado e incubadas a 37°C por 1 hora. Em seguida foram novamente lavadas cinco vezes com PBS-T20 e adicionadas $50 \mu\text{l}$ /poço da solução reveladora (10mL de tampão cítrico + $400 \mu\text{g}$ de ortofenilenodiamina + $30 \mu\text{l}$ de H_2O_2 a 3%). As placas foram incubadas por 15 minutos em temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Por fim, a reação foi interrompida acrescentando-se $25 \mu\text{l}$ de $\text{H}_2\text{SO}_44\text{N}$. A leitura foi realizada em leitor de ELISA (Microplate Reader BIO-RAD Model 550) utilizando-se filtro de 490 nm de comprimento de luz.

Figura 9. Placa de poliestireno de fundo chato, após reação.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

4.4 Cálculo do Ponto de Corte

Os valores positivos e negativos foram calculados utilizando o ponto de corte de 248 segundo Carminati et al.(2003) usando-se os resultados do teste de ELISA-i obtidos a partir dos soros de animais testados, aonde animais que apresentaram resultados no teste de ELISA-i maior ou igual a 248 eram considerados positivos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de soro de cada período de caprinos e ovinos foram avaliadas em duplicata pelo teste de ELISA indireto para verificar a presença de anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis*. No presente trabalho, das amostras de soro de caprinos testadas, em média 46,7% apresentaram anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis* no teste de ELISA-I, sendo considerado positivo e em média 47,4% dos animais avaliados não apresentaram anticorpo anti-*C. pseudotuberculosis*, com resultado considerado negativo.

Em relação aos ovinos, das amostras avaliadas, em média 43,5% dos animais apresentaram anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis*, considerando-se positivo, e em média 56,2% apresentaram resultado negativo. Na Tabela 1 e Tabela 2 estão apresentados os resultados obtidos no teste de ELISA indireto de caprinos e ovinos respectivamente com o número de avaliações realizadas.

É possível notar nas duas tabelas que em todos os momentos foram detectados animais sorologicamente positivos, possivelmente devido à dificuldade de separar animais que apresentam sinais clínicos da doença e os submetidos a processos de drenagem do rebanho, fazendo com que a doença se propague com mais facilidade. Isto possivelmente pode estar de acordo com o tempo de sobrevivência do *C. pseudotuberculosis* em material contaminado no ambiente e fezes que pode durar semanas ou até mesmo um ano (WINDSOR, 2011). Seyffert et al. (2010), testando cabras em Minas Gerais, obtiveram 78,9% de animais positivos no ELISA indireto, assim como Zárraga et al. (2009), avaliando cabras na Venezuela pela técnica de ELISA, confirmaram uma prevalência de 72,73%. Carmo et al. (2009) avaliando amostras de soros de ovinos jovens criados em sistema intensivo no Estado de São Paulo, concluíram que 6,1% dos animais apresentaram anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis*, valores bem inferiores aos obtidos no presente estudo, em que 43,5% dos animais avaliados apresentaram anticorpos contra a mesma bactéria. Isso provavelmente se deve ao fato da idade dos animais, uma vez que a infecção por *C. pseudotuberculosis* é mais intensa em animais adultos, após um ou dois anos de vida e que se expuseram mais tempo às fontes de infecção (MEYER et al., 2002; JUNG et al., 2015). Nascimento, (2012) em estudo realizado utilizando a técnica de

ELISA-I para diagnóstico de *C. pseudotuberculosis* em rebanho ovino do Estado da Bahia, obteve uma prevalência de 22,1% dos animais acometidos, sendo uma prevalência menor do que a encontrada no presente estudo.

No presente trabalho a média dos animais soropositivos no teste de ELISA-I foi ligeiramente maior em caprinos (46,7%) do que nos ovinos (43,5%). Resultados semelhantes foram obtidos por Ural et al. (2008) em que os caprinos apresentaram uma maior prevalência em relação aos ovinos, porém, Al-Gaabary et al.(2009) encontraram uma prevalência maior em ovinos em relação a caprinos.

Tabela 1. Nº de avaliações realizadas nos caprinos, resultado do teste de ELISA indireto com números e porcentagem de animais negativos e positivos.

Nº de avaliações realizadas*	Resultado de ELISA indireto			
	Positivo	%	Negativo	%
1	(30/55)	55%	(15/55)	27,3%
2	(29/53)	54,7%	(24/53)	45,3%
3	(14/46)	30,4%	(32/46)	69,6%
Média		46,7%		47,4%

Fonte: Elaboração do autor. * Entre Janeiro e Julho (2015).

Tabela 2. Nº de avaliações realizadas nos ovinos, resultado do teste de ELISA indireto com números e porcentagem de animais negativos e positivos.

Nº de avaliações realizadas*	Resultado de ELISA indireto			
	Positivo	%	Negativo	%
1	(14/23)	61%	(9/23)	39,1%
2	(7/19)	36,4%	12/19)	63,1%
3	(6/18)	33,3%	(12/18)	66,6%
Média		43,5%		56,2%

Fonte: Elaboração do autor. * Entre Janeiro e Julho (2015).

As principais alterações clínicas observadas nos caprinos relacionadas à LC estavam localizadas nos linfonodos pré-escapulares 37,4% (12/32), no parotídeos 21,9% (7/32) e pré-femoral 21,9% (7/32). Nos ovinos, as principais alterações clínicas observadas estavam localizadas nos linfonodos parotídeos 37,5% (3/8) e pré-escapulares 25% (2/8). Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 3

Estudos realizados por Aquino de Sá. (2012), avaliando a incidência da linfadenite caseosa em caprinos e ovinos na região do Vale do São Francisco notou que as principais lesões observadas estavam em linfonodos pré-escapulares (54,10%) similares aos ressaltados no presente estudo. Souza et al. (2011), observaram que dos 1.466 ovinos abatidos na Paraíba, 15,9%, exibiram lesões macroscópicas antes e após o abate semelhantes à linfadenite caseosa, sendo sua maior prevalência nos linfonodos pré-escapulares, parotídeos e pré-femoral. A maior ocorrência dessas lesões nos presentes linfonodos, deve-se ao fato destes estarem localizados mais superficialmente e ser mais susceptível a lesões, escoriações ou traumatismo no momento do pastoreio ou durante o consumo de folhas de árvores e arbustos facilitando a penetração do agente (SMITH & SHERMAN, 1994).

Tabela 3. Distribuição dos principais linfonodos mais acometidos em caprinos e ovinos.

	Pré- escapular	Pré- Parotídeo	Pré- femoral	Retrofaríngeo	Retromamário	Popliteo	Submandibular	Total
Caprino	12(37,4%)	7(21,9%)	7(21,9%)	2(6,3)	2(6,3)	1(3,1%)	1(3,1%)	32(100%)
Ovino	2(25%)	3(37,5%)	1(12,5%)	0(0%)	1(12,5%)	0(0%)	1(12,5%)	8(100%)

Fonte: Elaboração do autor.

De acordo com Fontaine & Bird (2008) a disseminação hematológica do patógeno pode gerar abscessos em órgãos internos, podendo o animal não apresentar sinais clínicos da doença e ser positivo em testes de diagnósticos ou apresentar lesões características e não ser positivo, como pode ser visto na Tabela 4, no qual caprinos e ovinos avaliados no presente trabalho que apresentaram resultado positivo no ELISA indireto e possuíam lesão macroscópica semelhante a LC e positivos no ELISA indireto sem apresentar lesões macroscópicas em linfonodos. De acordo com Ribeiro et al. (2013), alguns animais podem não apresentar lesões característica da LC externamente mas podem apresentar lesões em órgãos interno.

Tabela 4. Quantidades de animais ovinos e caprinos que apresentaram positivo no ELISA indireto com lesão em linfonodo e positivo sem lesão.

	Positivo com abscesso	Positivo sem abscesso
Ovinos	4	12
Caprinos	9	22

Fonte: Elaboração do autor.

6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, pode-se concluir que a linfadenite caseosa é uma enfermidade presente no rebanho estudado, com maior predominância das lesões em linfonodos superficiais nos caprinos que em ovinos.

A prevalência observada no presente rebanho aponta que é necessário uma melhoria nas práticas de manejo e no sistema de criação, sendo estas importantes ferramentas para controle e combate desta enfermidade.

A observação de animais soropositivos que não apresentam alteração clínica visível aponta para a necessidade da defesa sanitária governamental, reavaliar os métodos de triagem utilizados para exposição e comercialização de caprinos e ovinos, uma vez que estas se baseiam exclusivamente na avaliação clínica de lesões em linfonodos superficiais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, R. S.de O., et al. Comparação genotípica de isolados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* de caprinos e ovinos do sertão de Pernambuco. **Pesq. Vet. Bras.** 28(10):481-487, outubro 2008.
- ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; PIRES, P. C. **Linfadenite caseosa**: patogenia, diagnóstico, controle. Sobral: EMBRAPA-CNPC, 1997. 16 p. (EMBRAPA-CNPC. Documentos, 27).
- ALVES F.S.F.; SANTIAGO, B.L.; PINHEIRO, R.R. Linfadenite caseosa: o estado da arte. Documentos, **Embrapa Caprinos, Sobral**. 60p. 2007.
- AL-GAABARY, M.H., EI-SHEIKH, W.M.A. Epidemiological, clinical and preventive studies on caseous lymphadenitis in sheep and goats at Gharbia governorate. In: 10th **Sci. Cong. Fac. Vet. Med. Assiut University**, Egypt, pp. 402–417. 2002
- AL-GAABARY. M.H, OSMAN. S. A, OREIBY.A.F. Caseous lymphadenitis in sheep and goats: Clinical, epidemiological and preventive studies. **Small Ruminant Research** 87: 116–121, 2009.
- AL-GAABARY, M.H., et al. Abattoir survey on caseous lymphadenitis in sheep and goats in Tanta, Egypt. **Small Ruminant Research** 94. 117–124.2010.
- ANDRADE, J. S. L. et al. Ocorrência e fatores de risco associados á infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos do semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 116-120. 2012.
- AQUINO de SÁ. Incidência de linfadenite caseosa em caprinos e ovinos vivos e abatidos no Vale do São Francisco. **Tese de mestrado**. Petrolina – PE 2012.
- AYELE, W. Y. et al. Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**. v. 8, n. 8, p. 924–937, 2004.
- BAIRD, G.J; FONTAINE, M.C. ***Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis**. J. Comp. Pathol. 137, 179– 210. 2007.
- BASTOS, C.R., et al. Viabilidade celular, fagocitose e espraiamento de fagócitos mononucleares, e liberação de peróxido de hidrogênio por leucócitos de glândulas mamárias sadias e infectadas. **Pesq. Vet. Bras.** 32 p. 850-854, 2012.
- BATEY, R. G. Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. **Australian Veterinary Journal**. n. 63, p. 269-272, 1986.
- BELCHIOR, E.S., et al. Actualización Sobre Linfadenitis Caseosa: El Agente Etiológico y la Enfermedad. **Veterinaria Argentina**, 23(224):258-278.2006.
- BELKNAP, E.B. Enfermidades do Sistema Respiratório. In: PUGH, D.G. **Clinica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: ROCA, p. 141, 2004.

BINNS S. H., GREEN L. E., BAILEY M. Development and validation of an ELISA to detect antibodies to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in ovine sera. **Vet. Microbiol.**, v. 123, p. 169–179, 2007.

BINNS, S.H; BAILEY,M;GRRRN,L.E. Postal Survey of ovine caseous Lymphadenitis in the United Kengdom Between 1990 and1999. **Veterinary Record**,v.150,p.263-268,2002.

BLACKLAWS, B.A. Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.** v.35, p.259-306 269, 2012.

BOGDAN, J.; NEWLANDS-MONTEITH, C.; ELLIS, J. Nitric oxide production following in vitro stimulation of ovine pulmonary alveolar macrophages. **Vet Immunol Immunopathol.**, v. 56, p. 299-310, 1997.

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

BURMESTER, G. R.; PEZZUTO, A. **Color atlas of immunology**. Stuttgart: Thieme, 322 p., 2003.

CARMINATI,R., et al. **Estudo da sensibilidade e especificidade de quatro teste de Elisa e utilização da técnica de PCR para o diagnóstico de linfadenite caseosa em caprinos**. 2005. 80f. Dissertação de mestrado em ciência da saúde. UFBA, 2005.

CARMO, F.B., et al. Soroprevalência da linfadenite caseosa em criações comerciais de ovinos no Distrito Federal e no Estado de São Paulo. **25º Congresso Brasileiro de Microbiologia** - Novembro de 2009 – Porto de Galinhas – PE.

CARMO,F.B. **Peril soroepidemiológico da linfadenite caseosa em caprinos no ceará, Brasil**. UFMG-EV, Belo Horizonte, 2010.

CARMO, F.B., et al. Prevalência de anticorpos contra linfadenite caseosa em criações comerciais de caprinos no Distrito Federal, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.79, n.2, p.293-296, abr./jun., 2012.

CARVALHO, R.B. 2011. **Potencialidades dos Mercados para os produtos derivados de caprinos e ovinos**. Disponível em <<http://www.capritec.com.br/art040521.htm>> Acesso em Setembro de 2016.

CETINKAYA, B.,et al. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. **Veterinary Microbiology**. 88:75-83, 2002.

KHOUDJA, F.B; CHIKHAOUI, M. Clinicopathological investigation on caseous lymphadenitis in local breed sheep in Algeria. **Trop Anim Health Prod** (2013) 45:1641–1643.

COLLETT M. G, BATH G.F, CAMERON C.M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. in: infections diseases of livestock with special reference to southern africa. **Oxford University Press** 2: pp. 1387-95. 1994.

CONNER, K.H., et al. Characterization of United Kingdom isolates of *Corynebacterium pseudotuberculosis* using pulsed field gel electrophoresis. **J. Clin. Microbiol.** 38,2633–2637. 2000

DE SÁ, M.C.A. **Incidência de linfadenite caseosa em caprinos e ovinos vivos e abatidos no Vale do São Francisco** Petrolina – PE, 2012.

DERCKSEN, D.P., et al. A comparison of four serological tests for the diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goats **Veterinary Microbiology** 75 (2000) 167±175.

DIAS, A.S.S. O., et al. Straindependent arthritogenic potential of the zoonotic pathogen *Corynebacterium ucerans*. **Vet.Microbiol**, 153, 323-331, 2011.

DORELLA, F.A., et al. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Vet Rec** 37: 201–218. 2006.

DORELLA, F. A., et al. Antigens of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and prospects for vaccine development. **Expert Rev. Vaccines** 8(2), 205–213, 2009.

FONTAINE, M. C. BAIRD, G., et al. Vaccination confers significant protection of sheep against infection with a virulent United Kingdom strain of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Vaccine**, v. 24, p. 5986-5996, 2006.

FONTAINE, M. C, BAIRD, G. J, Caseous lymphadenitis. **Small Ruminant**, v. 76, p. 42-48, 2008.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J. G.; JAIN,N.C. **Schalm' Veterinary Hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins,2000.p.1344.

GORDAN, S. The macrophage: past, present and the future. **European Journal of Immunology**,v.37,p.59-17,2007.

GORMAN, J. K. Pilot Immunization of Mice Infected With an Equine Strain of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Veterinary Therapeutics** • Vol. 11, No. 1, Spring, 2010.

GUMARÃES, A.S., et al. Linfadenite Caseosa em Rebanho de Ovinos no Estado de Minas Gerais, Brasil: Prevalência e Informação de Manejo. **Ciência Animal Brasileira**, 2009.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária 2011**. Rebanho caprino e ovino. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: Julho de 2015.

JUNG, B.Y., et al. Serology and clinical relevance of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in native Korean goats (*Capra hircus coreanae*). **Trop Anim Health Prod** DOI 10.1007/s11250-015-0773-z. Springer **Science+Business Media** Dordrecht 2015.

KABA, J.; KUTSCHKE, L.; GELLACH, G-F. Development of an ELISA for the diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in goats. **Vet. Microbiol.**, n.78, p.155-163, 2001.

KUMAR. J., et al. Epidemiological, bacteriological and molecular studies on caseous lymphadenitis in Sirohi goats of Rajasthan, India. **Trop Anim Health Prod** (2012) 44:1319–1322.

LAN, D. T. B., et al. Complement receptor type 3 plays an important role in development of protective immunity to primary and secondary *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in mice. **Microbiol. Immunol.**, v. 43, p. 1103-1106, 1999.

LATIF, N.A.A., et al. Isolation and detection of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in the reproductive organs and associated lymph nodes of non-pregnant does experimentally inoculated through intradermal route in chronic form. **Veterinary World**, EISSN: 2231-0916

LOFSTED, J. Distúrbios dos Sistemas Orgânicos. In: SMITH, B. P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. 3 ed. Barueri: Manole, 2002. p. 583-584.

MAGDY, H., et al. Caseous lymphadenitis in sheep and goats: Clinical, epidemiological and preventive studies. **Small Ruminant Research** 87 (2009) 116–121.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos-e-ovinos>. Acesso em: 20 de maio de 2016.

MEYER. R., et al. Avaliação da resposta imune humoral em caprinos inoculados com uma vacina viva atenuada liofilizada contra *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **R. Ci. Méd. Biol.**, Salvador, v. 1, n. 1, p. 42-48, nov. 2002.

MOTTA R.G.; CREMASCO A.C.M.; RIBEIRO M.G. 2010. Infecções por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em animais de produção. **Vet. Zootec.** 17:200-213.

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

MOORE, R., et al. *Corynebacterium* and *Arcanobacterium*. In: Pathogenesis of bacterial infections in animals, 4th edition, Gyles, C.L., Prescott, J.F., Songer, J.G., Thoen, C.O. (editors), **Blackwell Publishing, Iowa**, p. 133-147, 2010.

NASCIMENTO, D.L. Soroepidemiologia da Linfadenite Caseosa, Doença da Língua Azul e Doença de Maedi-Visna em Ovinos de Raça Definida no Estado da Bahia, e Correlações Com Aspectos Zootécnicos. **Tese de Mestrado**. Salvador – Bahia 2012.

NOBREGA, K.F. Linfadenite Caseosa: Revisão e consideração sobre utilização de vacinas no Brasil. UFCG- Campus de Patos-PB. **Monografia**. Dezembro de 2010.

NASSAR, A.F.C. et al. Standardization of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibodies anti-*Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep. **Small Ruminant Research** 116: 229–232, 2014.

OLIVEIRA, D. M. et al. Paratuberculose em ovinos e caprinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 67-72. 2010.

OLSON, M.E., et al. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. **Can. J. Vet. Res.**, v. 66, p. 86–92, 2002.

O'REILLY, K. M., et al. Parameter estimation and simulations of a mathematical model of *Corynebacterium pseudotuberculosis* transmission in sheep. **Prev. Vet. Med.** v. 83, p. 242–259, 2008.

PATON, M.W., et al. New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production. **Australian Veterinary Journal** Vol. 71, No. 2, February 1994.

PATON, M.W., et al. Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. **Aust. Vet. J.** 81, 1995.

PATON, M.W., et al. Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. **Aust Vet J.** 81: 91-5. 2003.

PATON, M.W., et al. **The Epidemiology and Control of Caseous Lymphadenitis in Australian Sheep Flocks**. Tese apresentada para o grau de Doutor em Filosofia da Universidade Murdoch. Escola de Ciências Veterinárias e Biomédicas. Janeiro de 2010.

PENG, Y.; HAN, G.; SHAO, H.; WANG, Y.; KAPLAN, H. J.; SUN, D. Characterization of IL-17+ interphotoreceptor retinoid-binding protein-specific T cells in experimental autoimmune uveitis. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v. 48, n. 9, p. 4153-4161, 2007.

PEPIN, M. et al. Cellular composition of *Corynebacterium pseudotuberculosis* pyogranulomas in sheep. **Journal of Leukocyte Biology**. v. 56, p. 666-670, 1994.

PEPIN, M.; SEOW, H.F.; CORNER, L.; et al. Cytokine gene expression in sheep following experimental infection with various strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis* differing in virulence. **Veterinary Research**, 28(2): 149-163, 1997.

PEKELDER, J. J. **Caseous lymphadenitis**. In: MARTIN, W. B.; AITEKEN, I. D. Diseases of Sheep. 3 ed. Iowa: Blackwell Publishing. p. 270-274. 2000.

PINHEIRO, S. R. et al. Surto de tuberculose em caprinos (*Capra hircus*): relato de caso. **Anais...** XIII Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, de 14 a 19/07/2007, p. 34, 2007.

PINHEIRO, R.R., et al. **Lentivírus de pequenos ruminantes: diagnóstico, prevenção e vacinas**. Cap.10, 2009.

- PIONTKOWSKI, M.D.; SHIVVERS, D.W. Evaluation of a commercially available vaccine against *Corynebacterium pseudotuberculosis* for use in sheep. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v. 212, p. 1765–1768, 1998.
- PLUDEMANN, A.; MUKHOPADHY, S.; GORDON, S. The interaction of macrophages receptors with bacterial ligands. **Expert Reviews in Molecular Medicine.** V.8,n.28,p.1-25,2006.
- PRESCOTT, J. F.; MENZIES, P. I.; HWANG, Y. T. An interferon-gamma assay for diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection um adult sheep from a research flock. **Veterinary Microbiology.** v.88, p. 287-297, 2002.
- PROFT, T & BAKER E.N. Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria-structure, assembly and their role in disease. *Cell Mol. Life Sci.* 66(4):613-635, 2009.
- PUGH, D.G. **Clínica de Ovinos e Caprinos.** São Paulo: Roca, p. 228-229, 2005.
- QUINN, P.J; et al. Capítulo 10. Gênero *corynebacterium* In: **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas.** 1. Ed. Artemed Editora S.A: Porto Alegre, 2005. P. 67-70.
- RADOSTITS, O.M., et al. *Veterinary medicine: A treatise on diseases of cattle, sheep, swine, goats and horses.* Ed. **Guanabara, Koogan,** 9ª ed. 2002.
- RADOSTITS O.M, BLOOD D.C, GAY C.C. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of catlee, sheep, pigs, goats and horses.** 9ª ed. Philadelphia: Bailliere Tindall, p. 830-839, 2007.
- REBOUÇAS, F.M., et al. Development of an indirect ELISA to detect *Corynebacterium pseudotuberculosis* specific antibodies in sheep employing T1 strain culture supernatant as antigen. **Pesq. Vet. Bras.** 33(11):1296-1302, novembro, 2013
- RIBEIRO, M.G., et al. Punção Aspirativa com Agulha Fina no Diagnóstico do *Corynebacterium pseudotuberculosis* na Linfadenite Caseosa Caprina. **Arq. Inst. Biol.,** São Paulo, v.68, n.1, p.23-28, jan./jun., 2011.
- RIBEIRO, D., et al. Subclinical Diagnosis of Caseous Lymphadenitis Based on ELISA in Sheep from Brazil. **J. Bacteriol Parasitol,** v. 4:3, 2013.
- RIET-CORRÊA, F., et al. *Doenças de Ruminantes e Equídeos.* 3ª ed. Santa Maria. **Pallotti.** 2007.
- ROBLES, C.A., **South America: Patagonia.** In: *Diseases of Sheep.* Blackwell Publishing Ltd., Oxford, pp. 524–534. 2007.
- ROSENBERGER, G. *Exame Clínico dos Bovinos.* Guanabara Koogan Ed., Rio de Janeiro, 3 ed., 1993, 419 p.
- SAMPAIO, B. et al. A Economia da Caprinocultura em Pernambuco: Problemas e Perspectivas, **Revista de Economia,** v. 35, n. 2, p. 137-159, Editora UFPR, 2009.

SCOTT, P.R. **Sheep Medicine**. London: Mason Pub., p. 246-248. 2007.

SEYFFERT, N., et al. High seroprevalence of caseous lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted proteins-based ELISA. **Research in Veterinary Science**. doi:10.1016/j.rvsc.07.002. 2009.

SEYFFERT, N. et al. High seroprevalence of caseous lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted proteins-based ELISA. **Research in Veterinary Science**. v. 88, n. 1, p. 50-5, 2010.

SHARPE, A.E., et al. Concurrent outbreak of tuberculosis and caseous lymphadenitis in a goat herd. May 8, 2010. **Veterinary Record**.

SMITH, M.C. & SHERMAN D.M. **Goat Medicine**. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, 1994. p.46-49.

SMITH, B. P. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. 3ª Ed. Barueri-SP: Manole, p.583-584, 2006.

SOUZA, F.M., et al. Linfadenite caseosa em ovinos deslançados abatidos em um frigorífico da Paraíba. **Pesq. Vet. Bras**. 31(3): 224-230, Março 2011.

SPIER S.J; WHITCOMB M.B. Equine Infectious Diseases. **Elsevier Saunders**, St Louis, p.263-269, 2007.

STEFANSKA, I., et al. Survival of *Corynebacterium pseudotuberculosis* within macrophages and induction of phagocytes death. **Pol.J.Vet.Sci**. v.13, p. 143–149, 2010.

STOTHARD P., et al. **BacMap**: um atlas de imagem interativo de genomas bacterianos anotados. *Nucleic Acids Res*. 33 (edição de banco de dados): D317-20. doi : 10.1093 / nar / gki075 .PMC 540.029. PMID 15608206 (2005).

URAL, K., et al. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in Saanen×Kilis crossbred white goats in Ankara, Turkey and effective kanamycin treatment a prospective randomized double blinded placebo controlled clinical trial. **Small Rumin. Res**. 77, 84–88.2008.

VESCH, J.L.A; RAMOS, E.M; ZAFALON, L.F. Linfadenite Caseosa: sinais clínicos, localização dos principais linfonodos acometidos, recomendação para prevenção e controle. **Instruções Técnicas da Embrapa Semiárido**. Petrolina, Dezembro, 2015. ISSN 1809-001.

WILLIAMSON, L. H. **Caseous lymphadenitis in small ruminants**. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Philadelphia, v. 17, p. 359–371, 2001.

WINDSOR, P.A. Control of Caseous Lymphadenitis. **Vet Clin Food Anim** 27. 193–202. 2011.

WINDSOR, P.A. Managing control programs for ovine caseous lymphadenitis and paratuberculosis in Australia and the need for persistent vaccination. **Vet. Med.** Res. Rep. 5, 1–12. 2014.

YERUHAM, I., et al. A herd level analysis of a *Corynebacterium pseudotuberculosis* outbreak in a dairy cattle herd. **Vet. Dermatol.**, v. 15, p. 315–320, 2004.

ZÁGARRA, C.C., et al. Diagnosis of caseous lymphadenitis by ELISA in naturally infected goats from Venezuela. *Small Ruminant Research* 87. 92–95. 2009. **Elsevier B.V. All rights reserved.**