

ANNEKAROENE SILVA FARIA

**LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DA LINFADENITE CASEOSA EM
REBANHOS DE OVINOS E CAPRINOS NO VALE DO JEQUINHONHA E
NORTE DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Agrárias, concentração em Agroecologia, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Agrárias.

Área de concentração: Agroecologia

Orientadora: **Prof.^a Luciana Castro Gerassev**

Montes Claros

2012

F224I
2013

Faria, Anne Karoene Silva.

Levantamento epidemiológico da linfadenite caseosa em rebanhos de ovinos e caprinos no Vale do Jequitinhonha e Norte de Minas Gerais / Anne Karoene Silva Faria. Montes Claros, MG: ICA/UFMG, 2013.

65 p.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Agroecologia) Universidade Federal de Minas Gerais, 2013.

Orientadora: Prof^a. Luciana Castro Gerassev.

Banca examinadora: Vasco Ariston Azevedo, Anna Christina de Almeida, Igor Viana Brandi, Luciana Castro Gerassev.

Inclui bibliografia: f. 51-63.

1. Ovinos – Linfadenite caseosa 2. Caprinos. 3. agroecologia. I. Gerassev, Luciana Castro. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 636.32

Elaborada pela Biblioteca Comunitária do ICA/UFMG

ANNE KAROENE SILVA FARIA

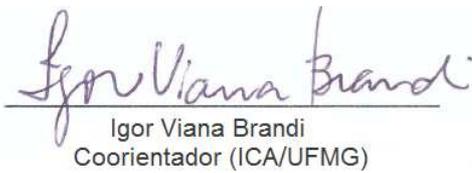
**LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DA LINFADENITE CASEOSA EM
REBANHOS DE OVINOS E CAPRINOS NO VALE DO JEQUITINHONHA E
NORTE DO ESTADO DE MINAS GERAIS**



Vasco Ariston de Carvalho Azevedo
(ICB/UFMG)



Anna Christina de Almeida
(ICA/UFMG)



Igor Viana Brandi
Coorientador (ICA/UFMG)



Luciana Castro Gerassev
Orientadora (ICA/UFMG)

Aprovada em 17 de dezembro de 2012.

Montes Claros

2012

A Deus, por me guiar, renovar diariamente minhas forças e me conceder mais esta vitória.

Dedico também aos meus pais, que sempre valorizaram a cultura como fonte de transformação do ser humano, investindo o que tinham e o que não tinham na educação dos seus filhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, fonte de sabedoria de graça, que não me permitiu desistir ou desanimar durante toda a jornada.

Aos meus pais, pelo amor incondicional e apoio durante todo o trabalho. Em especial ao meu pai, que abdicou uns dias de trabalho em função das minhas coletas e com toda a paciência e dedicação foi meu guia e motorista, mediador com os proprietários e estagiário, auxiliando na contenção dos animais.

À Pollyana, que assim como na graduação esteve sempre disposta a ajudar no que foi preciso com carinho e destreza.

Aos demais amigos e familiares que me apoiaram e me deram forças para chegar até aqui, amo vocês.

Agradeço também ao professor Igor, pela amizade, apoio, incentivo e orientação, mesmo após o remanejamento do mestrado.

À professora Anna Christina pela orientação e por auxiliar na execução das coletas.

Ao Rodrigo, pela amizade, pelos conhecimentos partilhados e que, juntamente com Iran e Fábio, se dispuseram a me auxiliar nas coletas, abdicando horas de sono, fins de semana e até feriado, além de tornarem o trabalho árduo mais alegre, divertido e prazeroso.

À cada proprietário que gentilmente me acolheu e disponibilizou seu tempo e os animais para as coletas: a colaboração de vocês foi determinante para esta pesquisa.

Ao professor Vasco Ariston, por atender prontamente às solicitações e esclarecimentos, por gentilmente abrir as portas do seu laboratório para que eu pudesse realizar as análises sorológicas e por disponibilizar pessoal treinado e qualificado para me auxiliar.

À Núbia, Dayana e a Camila pelo carinho, pelos ensinamentos passados e pela prontidão em me ajudar a realizar as análises.

Ao professor Eduardo, que, apesar de estar com tempo escasso, me auxiliou e orientou durante a análise dos dados e a escrita do trabalho.

À professora Luciana, que aceitou me orientar nesta reta final do mestrado.

À professora Roberta, pelo carinho, amizade e competência, mostrando-se exemplo de docente.

Aos demais professores, por colaborarem com meu crescimento pessoal e profissional.

À Thallyta, pela alegria que irradia, ao Marcus e Emanuella, pela agradável companhia. A Danielle e a Bruna, que mais que colegas se tornaram amigas. Obrigada pelos conselhos, pelas risadas e companheirismo. E aos demais colegas de mestrado, por compartilhar conhecimentos e pelo apoio.

À CAPES, pela bolsa concedida.

À Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e à coordenação da Pós-graduação em Ciências Agrárias.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que eu pudesse concluir mais esta etapa.

RESUMO

Objetivou-se com o presente trabalho realizar um levantamento epidemiológico da linfadenite caseosa em rebanhos mistos de ovinos e caprinos e rebanho de ovinos nas mesorregiões Norte e Vale do Jequitinhonha no estado de Minas Gerais. A amostragem foi realizada em dois níveis: propriedades e animais. Foram analisadas, de forma aleatória, 38 fazendas, 28 delas na mesorregião Norte – 14 rebanhos mistos e 14 rebanhos de ovinos – e 10 fazendas no Vale do Jequitinhonha, com rebanhos de ovinos. Em cada propriedade foi aplicado um questionário, e 10% do rebanho adulto, com o número mínimo de oito animais, foi submetido a análise clínica e coleta de sangue para o teste sorológico. A distribuição da frequência de soropositivos foi comparada com variáveis individuais por meio do teste de qui-quadrado com 0,05 de significância. O número de animais soropositivos foi maior que o número de animais clinicamente positivos. Todos os animais que apresentaram positividade no exame clínico tiveram confirmação no exame sorológico. Todas as propriedades possuíam pelo menos um animal clinicamente positivo. Não houve diferença estatística entre as mesorregiões para ambos os testes. Os rebanhos com ovinos apresentaram menor positividade (44,8%) em relação aos rebanhos mistos (56,2%) no teste sorológico e não diferiram no teste clínico. Ao analisar as espécies de pequenos ruminantes independente do rebanho, a frequência foi de 70,7% em caprinos, enquanto que para ovinos foi de 44,3%. Todas as propriedades amostradas não realizavam quarentena ao introduzir um animal, realizavam trânsito de animais entre as propriedades próximas e não vacinavam os animais contra a linfadenite. Quanto à limpeza das instalações, nenhuma propriedade apresentou limpeza excelente, e as propriedades cuja higienização foi classificada como ruim tiveram a maior incidência da doença. A incidência da linfadenite caseosa nas propriedades que adquiriam animais de outros estados foi maior do que as que compravam apenas de Minas Gerais. As propriedades que contavam com acompanhamento de um profissional tiveram menor incidência da linfadenite, além disso foi verificado também a influência do manejo correto da doença. Diante disso é possível inferir que o exame sorológico consiste na forma mais eficaz de verificação da doença, e apresentou maior ocorrência em caprinos do que ovinos. O manejo higiênico-sanitário, bem como o controle da linfadenite caseosa, pode auxiliar na redução da ocorrência dessa doença, que encontra disseminada nas mesorregiões estudadas.

Palavras-chave: Linfadenite Caseosa. Ovinos. Caprinos. Epidemiologia.

ABSTRACT

The aim of this study was to perform an epidemiological survey of Caseous Lymphadenitis in mixed herds of sheep and goats and sheep herd in the northern and Jequitinhonha Valley mesoregions in the state of Minas Gerais. The sampling was conducted at two levels, property and animals. They were analyzed 38 randomly farms, 28 in the North mesoregion, 14 mixed herds and 14 sheep herds, and 10 farms in Jequitinhonha Valley with sheep herds. In each farm was applied a questionnaire, and 10% of adult herd, with the minimum of eight animals was submitted to clinical examination and blood sampling for serological testing. The frequency distribution of seropositive was compared with individual variables by means of chi-square with 0,05 significance level. The number of seropositive animals was greater than the number of animals clinically positive. All animals that were positive on clinical examination were confirmed by serological examination. All the properties had at least one clinically positive animals. There was no statistical difference between the mesoregions for both tests. The herds with sheep showed lower positivity (44,8%) compared to mixed herds (56,2%) in serum test and did not differ in clinical testing. In analyzing the species of small independent ruminants of the herd, the frequency was 70.7% in goats, while for sheep was 44,3%. All properties sampled did not perform to enter a quarantine animal, performed movement of animals between properties near and did not vaccinate the animals against lymphadenitis. As regards the cleaning the premises, no property had excellent cleaning and properties which sanitizing were classified as poor had the highest incidence of the disease. The incidence of Caseous Lymphadenitis in the properties that acquired animals from other states was higher than those who just bought of Minas Gerais. In the properties that relied on a professional monitoring had lower incidence of lymphadenitis, furthermore it was also verified the influence of the correct management of the disease. At this it is possible to infer that the serological test is the most effective way to check the disease and occurred mostly in goats than sheep. The hygienic-sanitary management as well as the control of Caseous Lymphadenitis can help reduce in the occurrence of this disease, which is widespread in the mesoregions studied.

Index terms: Caseous Lymphadenitis. Sheep. Goats. Epidemiology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO TEÓRICA.....	12
2.1 A ovinocaprinocultura no Brasil e no mundo.....	12
2.1.1 Aspectos sanitários na criação de caprinos e ovinos.....	14
2.2 Linfadenite Caseosa (LC).....	15
2.2.1 <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	16
2.2.2 Epidemiologia.....	19
2.2.3 Transmissão.....	21
2.2.4 Patogenia e imunologia.....	22
2.2.5 Diagnóstico.....	25
2.2.6 Tratamento.....	27
2.2.7 Profilaxia.....	28
2.2.7.1 Vacinas.....	29
2.2.8 Impactos econômicos.....	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1 Campo amostral.....	33
3.2 Teste clínico para avaliação da incidência de LC	36
3.3 Teste sorológico para avaliação da incidência de LC.....	37
3.4 Aplicação de questionário.....	38
3.5 Análise estatística.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5 CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

ANEXO A – Certificado do CETEA/UFMG relativo ao projeto: “Caracterização de antígenos de <i>Corynebacterium</i> pseudotuberculosis para o diagnóstico da linfadenite caseosa subclínica em ovinos e caprinos através de um teste de pele”.....	64
ANEXO B – Questionário.....	65

1 INTRODUÇÃO

Segundo estimativas, o rebanho mundial de caprinos e ovinos é de 900 milhões de cabeças. Apesar da dimensão territorial brasileira e das condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da ovinocaprinocultura, se comparado à criação de bovinos (209,5 milhões de cabeças), o Brasil possui um rebanho ovino e caprino pequeno, cerca de 23 milhões, 37% de caprinos (17,4 milhões de cabeças) e 63% de ovinos (9,3 milhões de cabeças) (EMBRAPA CAPRINOS, 2010).

Nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil, de acordo com entidades e associações de caprinovinocultores, tem se notado um crescente aumento do número de pequenos ruminantes. No estado de Minas Gerais (MG), o número efetivo de caprinos e de ovinos, em seis anos, passou de 108.177 e 145.633 cabeças, respectivamente, para 178.426 e 226.739 cabeças (IBGE, 2006).

Em Minas Gerais, a produção de carne e pele de caprinos e de ovinos apresenta-se lucrativa, apesar dos baixos índices de produtividade do rebanho devido aos custos mínimos de investimento (AZEVEDO *et al.*, 1984; IMA, 1998). Nas outras regiões do estado, principalmente no Sul, Centro, Zona da Mata, Zona Metalúrgica e Triângulo Mineiro, a ovinocaprinocultura é direcionada para a produção de leite, adotando sistemas mais tecnificados de criação (AZEVEDO *et al.* 1984; IMA, 1998; MAGALHÃES *et al.*, 1985).

Diferentes fatores sanitários são indicados como responsáveis pela redução da produtividade de caprinos e ovinos, dentre os quais se destaca a Linfadenite Caseosa (LC), uma doença infectocontagiosa crônica e recorrente de relevância econômica, causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*, que acomete pequenos ruminantes. A infecção está associada com a redução da produção de lã, carne e leite, menor eficiência reprodutiva dos animais e condenação de carcaças e couros em abatedouros (ARSENAULT *et al.*, 2003; PATON *et al.*, 1994).

Essa enfermidade é prevalente em diversos países, como Austrália, Nova Zelândia, África do Sul, Estados Unidos, Canadá, Inglaterra, França, Itália, Argentina, Chile, Uruguai e Brasil (ARSENAULT *et al.*, 2003; DORELLA *et al.*, 2006a; WILLIAMSON, 2001).

No Brasil, estima-se que a maioria dos rebanhos esteja infectada e que a prevalência clínica possa atingir 30% dos animais. Contudo, poucos são os inquéritos epidemiológicos realizados no Brasil abordando a evidência sorológica da LC (GUIMARÃES, 2006; GUIMARÃES *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 1982; TINÔCO, 1983).

Faria *et al.* (2004) observaram que a LC no estado de Minas Gerais tem sido observada com alta frequência, principalmente nos rebanhos da região norte do estado, onde 84,3% dos produtores relataram ter problemas decorrentes da patologia. Estudos mais recentes mostraram ocorrência da LC através de exames sorológicos de aproximadamente 75,8% entre ovinos (GUIMARÃES, 2009) e 78,9% entre caprinos (SEYFFERT *et al.*, 2010).

É importante que haja uma conscientização em relação ao controle e erradicação desta doença, visto o crescimento da ovinocaprinocultura. Para que isso ocorra é primordial ter um levantamento epidemiológico da doença nas fases clínica e subclínica, além da análise do manejo dos rebanhos. Diante desse cenário, objetivou-se, no presente trabalho, promover levantamento epidemiológico da Linfadenite Caseosa (LC) em rebanhos de ovinos e rebanhos mistos de ovinos e caprinos, nas mesorregiões Norte e Vale do Jequitinhonha do estado de Minas Gerais.

2 REVISÃO TEÓRICA

2.1 A ovinocaprinocultura no Brasil e no mundo

O rebanho mundial de caprinos e ovinos é de aproximadamente 900 milhões de cabeças. O Brasil possui cerca de 23 milhões, sendo 37% de caprinos e 63% de ovinos. Dos caprinos, 1,4% encontra-se na região Norte, 93% no Nordeste, 2,4% no Sudeste, 1,9% no Sul e 1% no Centro-Oeste. Com relação ao rebanho ovino, 2,8% encontra-se na Região Norte, 49% no Nordeste, 2,8% no Sudeste, 40% no Sul e 4,9% no Centro-Oeste (EMBRAPA CAPRINOS, 2005; IBGE, 2006).

O rebanho ovino brasileiro está concentrado na Região Sul, sendo efetivo do Rio Grande do Sul (RS) o maior da região, seguido da Região Nordeste, destacando-se os estados da Bahia (BA), Ceará (CE), Piauí (PI) e Pernambuco (PE). No Rio Grande do Sul, os ovinos são destinados principalmente para a produção de lã, embora essa tendência esteja mudando pela maior valorização da carne. No nordeste o rebanho ovino é constituído principalmente por animais deslanados, destinados à produção de carne e pele. O rebanho caprino nacional está concentrado (89,8%) no Nordeste, principalmente nos estados de Bahia, Piauí, Pernambuco e Ceará (EMBRAPA CAPRINOS, 2000).

Desde o último censo agropecuário realizado, de acordo com entidades e associações de caprinovinocultores, o número de pequenos ruminantes tem aumentado significativamente, principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil. O efetivo caprino e ovino de no estado de Minas Gerais, segundo o último censo agropecuário realizado, é de 108.177 e 145.633 cabeças respectivamente; entretanto, dados mais recentes elevam estes números para 178.426 e 226.739 cabeças (IBGE, 2006).

A maioria (61,3%) das propriedades de caprinos e ovinos do estado de Minas Gerais está localizada na região norte, reforçando a tradição dessa região como criadora de caprinos e ovinos. Os pequenos ruminantes têm

papel importante na subsistência da população dessa região que, de forma geral, é carente e tem na caprinovinocultura uma fonte de renda e de proteína de origem animal (GUIMARÃES, 2006).

Tal região, bem como o nordeste brasileiro, tem sido destacada durante séculos como área de vocação para a exploração de ruminantes domésticos, notadamente caprinos e ovinos, pelo potencial da vegetação natural para a manutenção e sobrevivência dos animais destas espécies. Além disso, tanto os animais machos como as fêmeas não apresentam estacionalidade reprodutiva, não sendo o fotoperíodo fator limitante para sua reprodução. Portanto, dentre as várias alternativas encontradas para a convivência com a seca, a caprinocultura e a ovinocultura têm sido apontadas como as mais viáveis (EMBRAPA CAPRINOS, 2005).

Barros *et al.* (2007) relatam que a criação brasileira é explorada com pouca tecnologia, menos especializada, destacando-se os seguintes aspectos: produção de carne, pele e esterco para subsistência das famílias envolvidas; produção de carne, pele e esterco para o mercado; formação de reserva de capital; diminuição dos riscos complementaridade entre sistemas agropecuários complexos; autoestima e prestígio do produtor.

Na região Sudeste, os rebanhos voltados à produção leiteira adotam o sistema intensivo e, em sua grande maioria, ficam restritas à proximidade das regiões metropolitanas e outros centros urbanos, diferindo no manejo alimentar por utilizar, em quase sua totalidade, ração comercial, elevando os custos da produção. Para o alcance da ampliação de mercados consumidores, faz-se essencial o perfeito controle tecnológico das produções, em todos os níveis, onde a assistência técnica aparece como fator de peso (YORINORI, 2001).

Em Minas Gerais, sob o ponto de vista econômico, a exploração de caprinos e ovinos de corte é encontrada principalmente nas regiões Norte e Nordeste. Nessas regiões são verificadas tendências semelhantes à ovinocaprinocultura nordestina, com os animais criados em pastoreio extensivo, de forma consorciada (principalmente caprinos com ovinos), para

produção de pele e carne, sistema semelhante ao que ocorre em países desenvolvidos, onde os animais são mantidos sob regime extensivo em grandes áreas de pastagens cultivadas (SANTOS *et al.*, 2009).

A produção de carne e pele de caprinos e de ovinos em Minas Gerais apresenta-se lucrativa, apesar dos baixos índices de produtividade do rebanho devido aos custos mínimos de investimento (AZEVEDO *et al.*, 1984; IMA, 1998). Nas outras regiões do estado, principalmente no Sul, Centro, Zona da Mata, Zona Metalúrgica e Triângulo Mineiro, a ovinocaprinocultura é direcionada para a produção de leite, adotando um sistema mais tecnificado de criação (AZEVEDO *et al.* 1984; IMA, 1998).

2.1.1 Aspectos sanitários na criação de caprinos e ovinos

Nos últimos anos, a criação de ovinos e caprinos vem sendo incrementada em diversas regiões do país, como alternativa nutricional de populações de baixa renda, visando o consumo da carne. A produção das carnes ovina e caprina responde por uma parcela do mercado mundial e apresentou um incremento de 2,5% (12,3 milhões de toneladas para 12,6 milhões de toneladas) (IBGE, 2003).

Além do consumo da carne, o produtor visa o leite caprino, bem como a fabricação de queijos finos, ou como substituto lácteo para pacientes com intolerância ao leite bovino (BARCELLOS *et al.*, 1987; GUIMARÃES *et al.*, 1989). Estes fatores, aliados aos supracitados, geraram expectativas de demandas quanto ao uso de tecnologias e de modelos de sistemas de produção, visando o bem-estar animal e ambiental, a saúde dos animais e a qualidade dos alimentos (ALVES, *et al.*, 2007).

A criação de ovinos e caprinos nas regiões semiáridas brasileiras é caracterizada por práticas de manejo inadequadas, com relação, principalmente aos aspectos sanitários, o que interfere na produtividade do rebanho (PINHEIRO *et al.*, 2001). Estudo realizado por Pinheiro *et al.* (2000) em rebanhos caprinos no Ceará, demonstrou alta taxa de mortalidade

principalmente entre animais jovens (22,8%), comprometendo o desenvolvimento da atividade em função do manejo sanitário inadequado. Os autores ressaltam ainda que não há maiores preocupações com a higiene e qualidade do leite mesmo em alguns rebanhos tecnificados.

Em Minas Gerais, Yorinori (2001), verificaram que somente 4,7% dos entrevistados exigem a documentação sanitária na compra de animais, enquanto a maioria (91%) não reconhece a importância desta prática na manutenção da sanidade do rebanho.

Segundo Pinheiro *et al.* (2001), o desenvolvimento da ovinocaprinoicultura no Brasil é severamente afetado por inúmeros fatores como altos índices de mortalidade e a presença de extensa gama de patologias. Pode-se citar em caprinos e ovinos a ocorrência de febre aftosa, língua azul, dermatite pustular contagiosa, micoplasmoses, linfadenite caseosa, clamidioses, toxoplasmose, doença das fronteiras, eimeriose, criptosporidiose, brucelose, leptospirose e as lentivirose de pequenos ruminantes (BROWN *et al.*, 1986; COSTA; VIEIRA, 1984; GOUVEIA, 2001; LOBATO *et al.*, 2001; MOURA- SOBRINHO *et al.*, 2000; YORINORI, 2001) .

2.2 Linfadenite Caseosa (LC)

Diferentes fatores sanitários são indicados como responsáveis pela redução da produtividade ovina e caprina, dentre os quais pode ser destacada a linfadenite caseosa – também denominada “mal do carço”, em virtude dos prejuízos provocados com a queda na produção de leite, além do comprometimento da pele e carcaça. A linfadenite caseosa (LC) é uma doença infectocontagiosa crônica, causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*, que acomete caprinos e ovinos. É caracterizada por um quadro de abscesso dos linfonodos que apresentam material seco, purulento de cor branco-esverdeada (AYERS, 1977).

A doença se manifesta pela presença de necrose nas glândulas linfáticas, apresentando-se em duas formas: a LC externa ou superficial e a LC interna ou visceral. Na LC visceral, os abscessos se desenvolvem em nódulos linfáticos em órgãos internos, como pulmões, rins, fígado e baço. Estas formas podem ocorrer simultaneamente no mesmo animal (MERCHANT; PACKER, 1967; SCOTT, 2007).

Belknap (2004) relata que, quando a infecção afeta o sistema respiratório, os sinais clínicos incluem perda de peso, dispneia, taquipneia e tosse crônica. Acredita-se ainda que o envolvimento interno contribua para as síndromes da “ovelha magra” e do “caprino definhado”, as quais se caracterizam pela perda crônica de peso, subfertilidade, queda na produção de leite e nascimento de menor número de cordeiros.

Em ovelhas, é comum a disseminação do linfonodo supramamário para o tecido mamário, acarretando uma redução na produção de leite (RADOSTITS *et al.*, 2002). As infecções também podem ser assintomáticas, o que dificulta as análises epidemiológicas sobre a prevalência da doença (ARSENAULT *et al.*, 2003).

2.2.1 *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Corynebacterium pseudotuberculosis, agente etiológico da linfadenite caseosa, é considerado um micro-organismo cosmopolita e encontrado predominantemente no solo, na pele ou mucosas dos animais (PUGH, 2004). Caracteriza-se como bacilo Gram-positivo curto e irregular, medindo 0,5 a 0,6 µm por 1 a 3 µm, podendo apresentar aspecto cocoide, mostrando-se isolado ou formando grupamentos irregulares ou em paliçada. São imóveis, anaeróbios facultativos, fermentativos e não formam esporos (BATEY, 1986; BENHAM *et al.*, 1962; COSTA, 2002; QUINN *et al.*, 1994).

Hard (1969) examinou a *C. pseudotuberculosis* através de microscopia eletrônica e observou que o micro-organismo exibia uma estrutura similar às outras espécies do gênero, na aparência de sua parede

celular, membrana plasmática, material genético, matriz citoplasmática e complexidade dos sistemas de membrana intracitoplasmática. Uma importante característica encontrada foi uma camada densa, externa à parede celular, que demonstrou ser composta por lipídeos.

O gênero *Corynebacterium* pertence aos actinomicetos aeróbios, baseando-se no conteúdo lipídico da parede celular. Diante disso, esse grupo também contempla bactérias do gênero *Corynebacterium* que são agrupadas com bactérias do gênero *Mycobacterium*, *Nocardia* e *Rhodococcus*, formando o complexo CMNR (BAIRD *et al.*, 2004; BELCHIOR *et al.*, 2006; CLARRIDGE; SPIELL, 1995). Contudo o micro-organismo em questão não apresenta álcool-ácido resistência, que é característica nas microbactérias (BAIRD, 2003; BAIRD; FONTAINE, 2007; BATEY, 1986; JOHNSON *et al.*, 1993).

Os representantes deste grupo possuem a parede celular rica em componentes lipídicos similares, sendo o ácido micólico, o mais caracterizado dentre eles. A composição da parede celular dos actinomicetos confere a este grupo de patógenos a capacidade de resistência ambiental por longos períodos, mesmo sob situações adversas de exposição à luz solar direta ou dessecação (BAIRD, 2003).

Os lipídeos associados à parede celular de *C. pseudotuberculosis* correspondem a 11,3% do peso seco da célula bacteriana (JOLLY, 1966; IONEDA; SILVA, 1979) e exercem um importante papel na virulência do micro-organismo (JOLLY, 1966), pois dificulta o processo de fagocitose, impedindo a hidrólise enzimática dos lisossomos e potencializa os efeitos citotóxicos nos hospedeiros (SMITH *et al.*, 1997; WILLIANSO, 2001). Assim como outras corinebactérias, *C. pseudotuberculosis* é capaz de produzir uma potente exotoxina, primeiramente descrita por Carne (1940).

A enzima Fosfolipase D é encontrada nas linhagens de *C. pseudotuberculosis* (SONGER *et al.*, 1988) e possui ação de exotoxina glicoprotéica (BAIRD, 2003; PEPIN *et al.*, 1989). Essa atua ativando íons cálcio e magnésio e possui citotoxicidade direta quando inoculada em

roedores de laboratório (WINTER, 1997). Ademais, promove a lise de eritrócitos ovinos e bovinos nos meios de cultura (SMITH, 2003). Aparentemente, *C. pseudotuberculosis* não sintetiza outra citolisina com efeito hemolítico (BAIRD, 2006).

Em relação às provas bioquímicas, *C. pseudotuberculosis* é caracterizado por ser catalase positiva, urease positiva, fermentar carboidratos sem produção de gás, como maltose, manose, glicose, galactose. Além disso, esta bactéria não fermenta lactose, não possui atividade proteolítica, portanto são incapazes de hidrolisar gelatina ou digerir caseína e é β -hemolítica (SONGER *et al.*, 1988; QUINN *et al.*, 1994).

Carne (1940) relatou variação na fermentação de carboidratos entre 50 cepas de *C. pseudotuberculosis*. Em relação à redução do nitrato, confirmou a existência de duas biovariedades de *C. pseudotuberculosis*, após realização de um estudo, no qual foram avaliadas 94 amostras do micro-organismo, obtidas a partir de ovinos, caprinos, equinos e bovinos, e realizadas provas bioquímicas e análises de DNA. Não foram observadas diferenças significativas em relação à fermentação de carboidratos, produção de urease, catalase e fosfolipase D entre as amostras. Entretanto, as amostras obtidas a partir de equinos foram capazes de reduzir o nitrato, ao contrário das amostras obtidas a partir de ovinos e caprinos. Os bovinos, segundo esses autores, são infectados tanto por cepas nitrato positivas quanto por cepas nitrato negativas. Além disso, os autores sugerem que o biótipo que infecta equinos seja denominado *equi*, e que o biótipo que infecta caprinos e ovinos, seja denominado *ovis*.

Em condições aeróbicas e anaeróbicas, observa-se o crescimento da *C. pseudotuberculosis* na faixa de temperatura entre 14°C e 40°C, porém seu crescimento ótimo se dá em uma temperatura de 37°C e em pH de 7,0 a 7,8. Alguns autores relacionam um crescimento melhor do micro-organismo em uma atmosfera de 5% de CO₂ (BENHAM *et al.*, 1962). Batey (1986), através da adição de Tween 80, obteve uma taxa ótima de crescimento em pH de 7,0 a 7,5.

C. pseudotuberculosis cresce bem em meios enriquecidos como ágar sangue, ágar BHI (infusão de coração e cérebro) ou caldo BHI, ou enriquecidos com soro animal ou proteínas vegetais. Através da adição de extrato de levedura, triptona ou lactoalbumina, consegue-se uma melhora em seu crescimento. No ágar sangue é isolado caracteristicamente a partir de 48 horas de incubação, apresentando colônias pequenas, de coloração branco-acinzentada, opacas e friáveis, rodeadas por delicado halo de beta-hemólise (COSTA, 2002; PUGH, 2004). Após alguns dias de incubação, as colônias podem alcançar 3 mm de diâmetro e possuem coloração creme (QUINN *et al.*, 1994).

Costa (2002) descreveu um meio quimicamente definido para cultivo da *C. pseudotuberculosis*, composto por 72% de fosfato dibásico, 4% de vitaminas e 1% de aminoácidos. Este meio foi usado para a produção de complexo antigênico secretado por *C. pseudotuberculosis*, que se mostrou capaz de induzir a produção de Interferon-gamma (IFN-gamma) por células do sangue periférico de caprinos com sinais clínicos da linfadenite caseosa.

Livre de macromoléculas na sua composição, o meio quimicamente definido permitiu a obtenção de complexos antigênicos compostos apenas por proteínas da bactéria e abriu novas perspectivas para o estudo das proteínas secretadas (COSTA, 2002).

Muitos estudos vêm sendo realizados com o intuito de identificar e caracterizar outros antígenos relacionados à *C. pseudotuberculosis*, que podem estar associados à célula bacteriana (antígenos somáticos), como no caso da fosfolipase D, ou aparecerem no sobrenadante (antígenos secretados), apesar dos resultados destes estudos terem mostrado alguma discrepância em relação ao número de antígenos identificados (BROGDEN *et al.*, 1996; BROWN *et al.*, 1986; MEYER *et al.*, 2002).

2.2.2 Epidemiologia

A linfadenite caseosa é uma enfermidade de importância mundial muito difundida e pouco relatada devido sua prevalência em pequenos ruminantes ser subestimada por falta de notificação em vários países (CETINKAYA *et al.*, 2002). A frequência da enfermidade em cada região do país depende da densidade animal, do sistema de exploração e do manejo sanitário adotado (CUBERO *et al.*, 2002).

A prevalência e a incidência da linfadenite caseosa em rebanhos caprinos e ovinos estão relacionadas às condições inadequadas do ambiente, por diminuição das defesas orgânicas dos animais e pela falta de um programa sanitário integrado de prevenção e controle. Tal doença é descrita em todos os países que possuem significativa população de caprinos e ovinos, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, como Austrália, Nova Zelândia, África do Sul, Estados Unidos, Canadá, Inglaterra, França, Itália, Argentina, Chile, Uruguai e Brasil (ARSENAULT *et al.*, 2003; DORELLA *et al.*, 2006a; WILLIAMSON, 2001).

A linfadenite caseosa é endêmica no Brasil, possuindo uma prevalência clínica média de aproximadamente 30% dos animais (VESCHI, 2005, RIBEIRO *et al.*, 2001). Segundo Meyer *et al.* (2002), ocorre em todas as raças, sexos e estações do ano, sendo os animais adultos os mais comumente acometidos. Ribeiro *et al.* (2001) relatam que estados da Região Nordeste são os mais afetados, em razão de possuírem a maior concentração de rebanhos caprinos do país.

No estado de Minas Gerais (Região Sudeste), que ainda possui um rebanho reduzido, mas que apresenta crescimento nas atividades de ovinos e caprinocultura, a LC tem sido observada com alta frequência, principalmente nos rebanhos da região norte do estado, onde 84,3% dos produtores relataram ter problemas decorrentes da patologia (FARIA *et al.*, 2004). Estudos epidemiológicos realizados indicaram que a prevalência da LC é de aproximadamente 75,8% entre ovinos (GUIMARÃES *et al.*, 2009) e 78,9%

entre caprinos (SEYFFERT *et al.*, 2010).

A prevalência da doença apresenta variações quando se analisa o fator hospedeiro, sendo maior em ovinos do que em caprinos. Contudo, nas duas espécies, a patologia é mais observada em animais adultos, o que reflete uma maior exposição aos fatores de risco (AL-RAWASHDEH *et al.*, 2000; RADOSTITS *et al.*, 2002).

Em ovinos, a raça Merinos e seus mestiços são as mais propensas a desenvolverem a doença, o que se deve a presença de uma pele mais fina apresentando dobras, o que propicia maiores lesões por ocasião da tosquia (RADOSTITS *et al.*, 2002).

C. pseudotuberculosis é um patógeno que pode infectar diferentes espécies, incluindo equinos e bovinos (causando linfangite ulcerativa), camelos, lhamas, búfalos e humanos (SELIM, 2001; WILLIAMSON, 2001; YERUHAM *et al.*, 2004).

A infecção humana causada por *C. pseudotuberculosis* é um evento raro, mas demonstra o potencial zoonótico desta bactéria. A maioria dos casos relatados em seres humanos envolveu o contato direto com animais doentes ou a exposição a produtos animais contaminados, sendo a doença geralmente associada a atividades profissionais (LIU *et al.*, 2005).

Já foram relatados aproximadamente 25 casos de infecção em humanos com este micro-organismo, sendo que a sintomatologia envolve a presença de linfadenite e de abscessos nos nódulos linfáticos (MILLS *et al.*, 1997; LIU *et al.*, 2005; PEEL *et al.*, 1997). O tratamento apenas com antibióticos sistêmicos geralmente é ineficaz, de modo que a maioria dos casos também requer a excisão cirúrgica do linfonodo afetado (BAIRD; FONTAINE, 2007).

2.2.3 Transmissão

De acordo com Pekelder (2000) e Sobrinho (2001), a linfadenite caseosa é uma doença de fácil transmissão, basta introduzir animais infectados em um rebanho sadio. O micro-organismo penetra na pele intacta ou escarificada, no subcutâneo ou na mucosa (WILLIAMSON, 2001).

A transmissão da LC ocorre através do contato direto entre os animais durante o confinamento ou indiretamente através de materiais contaminados com secreções infectantes (SCOTT, 2007). Pode-se citar como exemplo equipamentos de tosquia, instalações, fômites e líquidos de banhos de imersão contaminados com o agente (ANDERSON *et al.*, 2005; RADOSTITIS *et al.*, 2002; SOBRINHO, 2001).

Tanto o tratamento do cordão umbilical e agulhas contaminadas quanto fatores naturais, como arbustos pontiagudos e espinhos, podem ser formas de transmissão da doença (ALVES; PINHEIRO, 1997). Radostits *et al.* (2002) relatam que outras fontes de infecção podem ser as secreções dos linfonodos superficiais, que se abscedam e se rompem, e nas secreções nasal e bucal dos animais com abscessos pulmonares, que drenam para a árvore brônquica.

A transmissão e a disseminação de *C. pseudotuberculosis* estão relacionadas com as condições ambientais encontradas nas criações dos animais (YERUHAM *et al.*, 2004). Essa bactéria é resistente em temperaturas baixas e locais úmidos, podendo sobreviver por oito meses no solo, por quatro meses em galpões de tosquia e por dois meses em feno e materiais contaminados (RADOSTITS *et al.*, 2002).

Os principais fatores de risco incluem a falta de higiene das instalações, o contato direto entre animais infectados, a poeira, os banhos e a tosquia (RADOSTITS *et al.*, 2002). Na ovinocaprinocultura brasileira, um importante fator de risco é a vegetação muitas vezes caracterizada pela presença de espinhos que podem provocar lesões na pele dos animais (ALVES; PINHEIRO, 1997).

2.2.4 Patogenia e imunologia

C. pseudotuberculosis possui dois fatores de virulência que estão diretamente relacionados com a patogenia da linfadenite caseosa: a parede celular lipídica, por atuar como fator piogênico e a exotoxina, por promover a disseminação da bactéria no organismo (JOLLY, 1966).

Ao invadir o hospedeiro, *C. pseudotuberculosis* é capturado localmente por células fagocíticas. Contudo, o processo de fagocitose é ineficiente, pois a bactéria resiste ao compartimento fagolisossoma dos macrófagos e continua a se multiplicar, causando a morte destes, e a consequente infecção de outros macrófagos. Essa incapacidade de eliminação da bactéria pode ser devido à presença da camada lipídica bacteriana, e a resistência da bactéria ao óxido nítrico produzido pelos macrófagos, o qual é um potente efetor na eliminação de patógenos intracelulares (BOGDAN *et al.*, 1997; SONGER, 2005).

Com a morte das células do sistema imunológico, ocorre a liberação do micro-organismo no linfonodo drenante local, ocasionando a formação de lesões necróticas (JONES *et al.*, 2000). Então, as bactérias iniciam um novo ciclo de replicação, conseguindo colonizar os linfonodos regionais e podendo atingir diversos órgãos e células. Essa disseminação envolve a ação de outro determinante de virulência, a exotoxina fosfolipase D (SONGER, 2005).

Na tentativa de conter e eliminar o micro-organismo ocorre a formação de granulomas. Microscopicamente, a lesão se inicia pelo aparecimento de células epitelióides que, posteriormente, são substituídas por necrose caseosa, sendo esta a característica predominante desta patologia (JONES *et al.*, 2000).

A massa caseosa fica circundada por células epiteliais, linfócitos e por uma camada de tecido conjuntivo fibroso e, à medida que a lesão progride, estas camadas celulares e fibróticas sofrem necrose. Esse processo é crônico e se repete sucessivamente sobre a camada fibrosa, resultando no

aspecto macroscópico desta patologia, o qual é caracterizada por uma massa esférica laminada, semelhante às camadas de uma cebola (JONES *et al.*, 2000).

As lesões se desenvolvem lentamente, de modo crônico, e frequentemente ao longo de toda a vida do animal, sendo que bactérias viáveis podem ser encontradas em abscessos anos após a infecção inicial. Também podem ocorrer reativações da doença, com o desenvolvimento de lesões em novos locais após um considerável período de aparente quiescência (BAIRD; FONTAINE, 2007).

A formação de granulomas é um processo dependente da imunidade adaptativa que, nesse caso, é complexa e envolve tanto uma resposta imune humoral como mediada por linfócitos T (EL-ENBAAWY *et al.*, 2005; PAULE, 2003). Pepin *et al.* (1994) observaram que há mais linfócitos T CD8 em granulomas no sítio de inoculação em comparação com aqueles presentes em linfonodos drenantes. Esta subpopulação de linfócitos está relacionada com a atividade efetora e citotóxica, podendo atuar como um mecanismo de proteção antibacteriana para conter a disseminação de macrófagos infectados.

Diversas citocinas são expressas durante a infecção experimental, entre as quais se destacam a produção de IL-2 e IL-4 em linfonodos drenantes e de TNF- α e IFN- γ no sítio de inoculação. Estas citocinas desempenham um papel importante no desenvolvimento da resposta imune celular, sendo que o IFN- γ possui grande importância na ativação de macrófagos, os quais são os responsáveis pela eliminação de patógenos intracelulares (PEPIN *et al.*, 1997).

De acordo com Jolly (1965), a resolução da infecção por *C. pseudotuberculosis* está relacionada com a presença de macrófagos ativado dentro da lesão. O papel da resposta imune humoral na proteção contra *C. pseudotuberculosis* foi demonstrado em ensaios de imunização passiva, nos quais a administração de soros antitoxina e antibactéria protegeram camundongos desafiados com a bactéria (PAULE, 2003).

Contudo, Irwin e Knight (1975) relataram que a proteção contra *C. pseudotuberculosis* é dependente de linfócitos T e está associada com a diminuição da resposta humoral, ressaltando-se a importância da imunidade mediada por células.

2.2.5 Diagnóstico

É primordial a identificação dos animais infectados e sua remoção do rebanho. Essa identificação pode ser realizada, inicialmente, através do diagnóstico clínico, no qual se visualiza a presença de abscessos nos linfonodos superficiais do animal (SMITH *et al.*, 1997).

O diagnóstico definitivo da LC superficial é baseado na cultura bacteriológica seguida por identificação bioquímica de isolados. O teste definitivo considerado como padrão-ouro, atualmente é realizado a partir do isolamento da bactéria diretamente do conteúdo caseoso dos linfonodos acometidos e cultivo bacteriológico, seguido por testes bioquímicos (RIBEIRO *et al.*, 2001; WILLIAMSON, 2001).

A amplificação de múltiplos *loci* em uma mesma reação de PCR tem sido uma estratégia amplamente utilizada para a detecção de patógenos, por permitir a identificação altamente específica do micro-organismo de interesse com grande economia de tempo e de reagentes. Assim, Pacheco *et al.* (2007) desenvolveram uma nova metodologia, baseada em uma reação de PCR multiplex (mPCR), para amplificar, simultaneamente, sequências de três genes específicos de *C. pseudotuberculosis*: *16S rDNA* (RNA ribossômico 16S), que é o gene de escolha na maioria dos estudos de taxonomia bacteriana; *rpoB* (subunidade beta da RNA polimerase), um gene que vem sendo amplamente utilizado em análises filogenéticas de micro-organismos dos gêneros *Mycobacterium* e *Corynebacterium*; e *pld* (fosfolipase D), que codifica uma exotoxina associada com a virulência de *C. pseudotuberculosis*, *C. ulcerans* e *Arcanobacterium haemolyticum*.

Por meio da utilização deste teste de mPCR associado a um método de extração de DNA bacteriano diretamente do material purulento, foi possível detectar *C. pseudotuberculosis* mais rapidamente e de modo tão específico quanto a cultura bacteriológica seguida por identificação bioquímica dos isolados, que é considerado pelo Centro Nacional de Referência em *Corynebacterioses*, localizado no Instituto Pasteur, o padrão-ouro para o diagnóstico da LC. Contudo, este método não é capaz de identificar o micro-organismo em amostras sorológicas (PACHECO *et al.*, 2007).

Nos últimos anos, diversos testes sorológicos foram desenvolvidos na tentativa de superar o problema do diagnóstico subclínico da LC, incluindo o teste de soroprecipitação, a imunodifusão em gel (BURREL, 1981; NAIN *et al.*, 1984), a hemaglutinação indireta (SHIGIDI, 1978), a fixação do complemento (SHIGIDI, 1978), a inibição da hemólise (BURREL, 1981) e diferentes ensaios de ELISA, como ELISAs indiretos utilizando várias preparações da célula bacteriana, proteínas secretadas e a toxina de *C. pseudotuberculosis* (BINNS *et al.*, 2007; DERCKSEN *et al.*, 2000), ELISA sanduíche com PLD (DERCKSEN *et al.*, 2000; TER LAAK *et al.*, 1992) e ELISA para detectar interferon gama (IFN- γ) como um marcador de imunidade mediada por células contra *C. pseudotuberculosis*.

Diagnóstico sorológico é de grande importância porque os animais infectados subclínicamente são uma fonte potencial de infecção. Muitos ensaios imunológicos foram desenvolvidos para detectar a infecção, a maioria dos quais detectam o anticorpo humoral resposta à infecção, com diferentes graus de sucesso (BINNS *et al.*, 2007; CARMINATI *et al.*, 2003; DERCKEN *et al.*, 2000; SEYFFERT *et al.*, 2010).

Sensibilidade e especificidade são fatores importantes para ser considerados ao fazer a escolha de diagnóstico ensaio de um programa de rastreio. Um teste com uma menor especificidade pode conduzir a falsos positivos, enquanto que uma sensibilidade reduzida pode levar a resultados falso-negativos (REBOUÇAS *et al.*, 2011).

A sensibilidade e a especificidade são parâmetros fundamentais para a definição de um teste diagnóstico. A sensibilidade pode ser definida como a probabilidade do teste ser positivo, caso o animal esteja doente, enquanto especificidade seria a probabilidade de o teste ser negativo no animal não doente (XU *et al.*, 1997).

Segundo Carminati *et al.* (2003), utilizando como antígeno o secretado de uma cultura de *Corynebacterium pseudotuberculosis* após 48 horas de crescimento em caldo BHI para um teste ELISA indireto desenvolvido e padronizado para o diagnóstico da linfadenite caseosa em caprinos, obtiveram sensibilidade de 93,5% e 100% de especificidade, o que segundo os autores permite inferir que é o teste é capaz distinguir animais que se mostrem falso positivo.

Dercksen *et al.* (2000), trabalhando com soros caprinos para um teste ELISA indireto do tipo “sanduíche”, no qual utilizou como antígeno a exotoxina da bactéria, obtiveram sensibilidade de 94+3% e especificidade de 98+1%.

Problemas com sensibilidade e especificidade em ensaios de imunodiagnóstico podem ser causados por muitos fatores, especialmente em animais com uma baixa ou indetectável resposta humoral contra *C. pseudotuberculosis*, bem como com uma reatividade cruzada com outros micro-organismos relacionados (DORELLA *et al.*, 2006; WILLIANSO, 2001).

Um entrave para a utilização da maioria destes testes é que não permite a diferenciação entre os animais infectados e os vacinados (MENZIES *et al.*, 2004; PRESCOTT *et al.*, 2002).

2.2.6 Tratamento

O tratamento da doença pode ser realizado através do uso de antibióticos. Contudo, esta não é considerada uma estratégia viável, pois possui um custo elevado e, apesar de a bactéria ser sensível a vários tipos de antibióticos *in vitro*, como penicilina, ampicilina, cloranfenicol, eritromicina,

gentamicina e tetraciclina, sua utilização para o tratamento *in vivo* da infecção pela *C. pseudotuberculosis* não é eficaz por diversas razões, como o nível baixo do antibiótico no abscesso devido à cápsula fibrosa ou a presença de pus e a localização intracelular do micro-organismo nas células fagocíticas, que impede o contato com quantidades substanciais de antibiótico (DORELLA *et al.*, 2005; OLSON *et al.*, 2002).

Como alternativa, tem-se a drenagem e a extirpação dos linfonodos superficiais acometidos, que consiste na drenagem e cauterização química dos abscessos, utilizando-se solução de iodo a 10%. Contudo não deve ser retirado no local onde o rebanho permanece, ou seja, os animais devem ser isolados para serem tratados. Os abscessos já rompidos devem ser lavados com solução antisséptica (iodo 3% ou clorexidina 2%), protegendo-o com gaze embebida em solução antisséptica (ALVES *et al.*, 1997).

Cuidados especiais devem ser tomados para evitar a contaminação ambiental prevenindo a disseminação do agente. Todo material purulento, bem como luvas, gaze e algodão utilizados para o tratamento dos abscessos devem ser queimados e enterrados, e o material cirúrgico utilizado deve ser esterilizado. Os animais só devem retornar ao rebanho após estarem totalmente sãos, com as feridas cicatrizadas (ALVES; PINHEIRO, 1997).

Um entrave para este tratamento é que, além de não eliminar 100% das bactérias, não é viável quando linfonodos e órgãos internos estão acometidos. Além disso, estes métodos podem acarretar a contaminação do ambiente com o patógeno, sendo que a quantidade de bactérias liberada por um único abscesso é capaz de contaminar todo o rebanho. Portanto, a melhor estratégia para combater a doença é a profilaxia (ALVES; PINHEIRO, 1997).

2.2.7 Profilaxia

A primeira medida de controle se baseia em procedimentos de manejo, cujo objetivo é evitar a disseminação da bactéria. Todos os instrumentos de uso comunitário devem ser mergulhados em um desinfetante potente após contato com cada animal. Galpões, troncos de tosquia e baias de contenção devem ser bem higienizados e desinfetados (ALVES; PINHEIRO, 1997).

A tosquia deve ser iniciada pelos animais mais jovens, evitando contato entre eles e os demais. Os animais que possuem lesões palpáveis devem ser manipulados por último, as feridas na pele devem ser desinfetadas e agentes bactericidas devem ser adicionados à água utilizada no banho. Na aquisição dos animais, deve-se levar em consideração o histórico livre da patologia, e deve-se realizar a quarentena dos mesmos (RADOSTITS *et al.*, 2002; SCOTT, 2007).

O controle da LC deve ser baseado em medidas que impeçam a entrada e a disseminação do micro-organismo nos rebanhos, sendo que a melhor estratégia consiste na vacinação dos animais saudáveis, juntamente com a identificação e eliminação dos animais infectados. Para isso, é necessário o desenvolvimento de vacinas e testes diagnósticos eficazes, já que ainda não existe uma imunoprofilaxia ideal para o combate a esta doença (DORELLA *et al.*, 2006a; PATON *et al.*, 2003).

2.2.7.1 Vacinas

Como o tratamento da LC é de alto custo e ineficaz, a medida que apresenta melhor custo-benefício contra a doença é a imunização, porém ainda não existe uma vacina eficiente e protetora contra *C. pseudotuberculosis*. Assim, a busca por uma vacina ideal contra a LC, que forneça uma proteção de longa duração, sem provocar reações adversas e que permita a diferenciação entre animais vacinados e infectados tem sido amplamente estudada (DORELLA *et al.*, 2009).

Para isso, diferentes estratégias vacinais tem sido testadas, como o uso de bactérias atenuadas e mortas (BROGDEN *et al.*, 1990; LeaMaster *et al.*, 1987; SIMMONS *et al.*, 1998; SIMMONS *et al.*, 1997), frações contendo antígenos da parede bacteriana (BRAGA, 2007), sobrenadantes da cultura bacteriana (EGGLETON *et al.*, 1991; ELLIS *et al.*, 1991), proteínas recombinantes (FONTAINE *et al.*, 2006; MOORE *et al.*, 2000; TACHEDJIAN *et al.*, 1995), vacinas de DNA (CHAPLIN *et al.*, 1999) e uma mistura de componentes celulares e sobrenadantes (EL-ENBAAWY *et al.*, 2005; BRAGA, 2007). Essas preparações ofereceram certo grau de proteção contra infecções experimentais, e até mesmo naturais; contudo, os níveis de proteção e a severidade das lesões são variáveis.

Muitos estudos vêm sendo realizados para obtenção de vacinas que induzam alto nível de proteção aos animais, contra a linfadenite caseosa. Estas vacinas podem ser constituídas por células bacterianas mortas (bacterinas), células bacterianas vivas, pela toxina inativada (toxóide) de *C. pseudotuberculosis* ou pela associação destes componentes, utilizando ou não algum tipo de adjuvante. Além dessas, recentemente vêm sendo desenvolvidas vacinas a partir de modificações no material genético do micro-organismo, com intuito de obter avanços quanto à proteção imune, por elas oferecida (BROWN *et al.*, 1986; EGGLETON *et al.*, 1991; MEYER *et al.*, 2002).

Para realizar uma devida avaliação das vacinas, a eficácia, potência, segurança, viabilidade, entre outros aspectos, devem ser levados em consideração para uma boa análise. Eggleton *et al.* (1991) realizaram um experimento comparando a eficácia de vacinas preparadas a partir de toxóides com a presença e ausência de células bacterianas mortas pela formalina, de *C. pseudotuberculosis*. A partir dos resultados obtidos, concluíram que o potencial de proteção vacinal não foi alterado devido à inclusão de células bacterianas mortas.

Outro estudo realizado por Paton *et al.* (1991) verificou a eficácia de uma vacina que continha uma associação de bacterina e toxóide da *C.*

pseudotuberculosis e ainda, toxoide de *C. perfringens* tipo D e de *C. tetani* (.Caseous D-T.). Foi observada uma média de $1,2 \pm 2$ no número de abscessos externos no grupo de animais vacinados, contra uma média de $26,8 \pm 23,8$ no grupo de animais controle. Em relação aos abscessos internos, foi obtida uma média de $0,1 \pm 0,3$ no grupo de animais vacinados, contra uma média de $6,8 \pm 5,9$ no grupo de animais controle. Os autores afirmam que a eficácia de uma vacina contendo tanto a bacterina quanto o toxoide de *C. pseudotuberculosis* tende a ser maior do que vacinas que contenham apenas células bacterianas mortas.

A partir dos resultados deste experimento, supõem ainda que os anticorpos produzidos contra as células bacterianas mortas ajudam a eliminar *C. pseudotuberculosis* do local inicial da infecção; e anticorpos produzidos contra a exotoxina inativada ajudam a prevenir a disseminação da infecção a partir de seu sítio original. Vale ressaltar que não é recomendada a utilização desta vacina em caprinos, em razão de seus sérios efeitos colaterais, como febre, letargia e queda na alimentação e na produção de leite (BERRIER, 2002).

Fontaine *et al.* (2006) avaliaram a eficácia de vacinas contendo um derivado recombinante da fosfolipase D, células bacterianas mortas pela formalina e uma outra contendo a associação desses dois componentes. Foi observado que as vacinas que continham separadamente a fosfolipase D e células bacterianas mortas conferiram proteção significativa contra a infecção. Mais importante que isso, a vacina que continha a combinação dos dois componentes promoveu proteção absoluta contra a infecção.

Neste mesmo experimento, foi avaliada a eficácia de uma vacina não licenciada disponível comercialmente na União Europeia. Observou-se uma proteção significativa contra a infecção, embora a disseminação da infecção através do sítio de inoculação não tenha sido restrita, como nas outras vacinas testadas. Entretanto, nenhum animal imunizado por esta vacina apresentou abscessos pulmonares, eliminando, então, uma importante via de disseminação do micro-organismo no rebanho.

Segundo Brogden *et al.* (1996), pelo fato de a linfadenite caseosa ser uma enfermidade crônica, o sucesso da utilização da vacina não pode ser avaliado somente durante um ano, mas em extensos períodos de tempo de utilização. É importante ressaltar a necessidade de avaliação desta vacina em ambiente controlado, utilizando a mesma quantidade de bactérias no desafio, com acompanhamento dos animais por um período mais prolongado, e que o mesmo experimento seja realizado em meio real, sem o desafio.

2.2.8 Impactos econômicos

O agronegócio de caprinos e ovinos no Brasil está criando novas possibilidades comerciais e industriais, promovendo, assim, o desenvolvimento do País. Esses animais constituem a principal fonte de alimentação e de renda para a população rural do Semiárido (IBGE, 2003).

A LC é uma enfermidade crônica responsável por grandes perdas econômicas na caprinocultura e na ovinocultura (ALVES *et al.*, 2007). A infecção está associada com a redução da produção de lã, carne e leite, menor eficiência reprodutiva dos animais e condenação de carcaças e couros em abatedouros (ARSENAULT *et al.*, 2003).

Além disso, por se tratar de uma doença debilitante, a LC acarreta perda de peso, redução da lactação e da eficiência reprodutiva dos animais infectados, e perda do valor comercial das peles. Assim, os prejuízos gerados por esta enfermidade são de considerável extensão, pois, além de afetar uma cultura de subsistência básica para o pequeno produtor nordestino, traz grandes prejuízos para as indústrias de derivados da ovinocaprinocultura, em virtude da redução na produção de lã, carne e leite, e também a condenação das carcaças e peles dos animais infectados nos abatedouros (DORELLA *et al.*, 2009; SONGER, 2005; WILLIAMSON, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Campo amostral

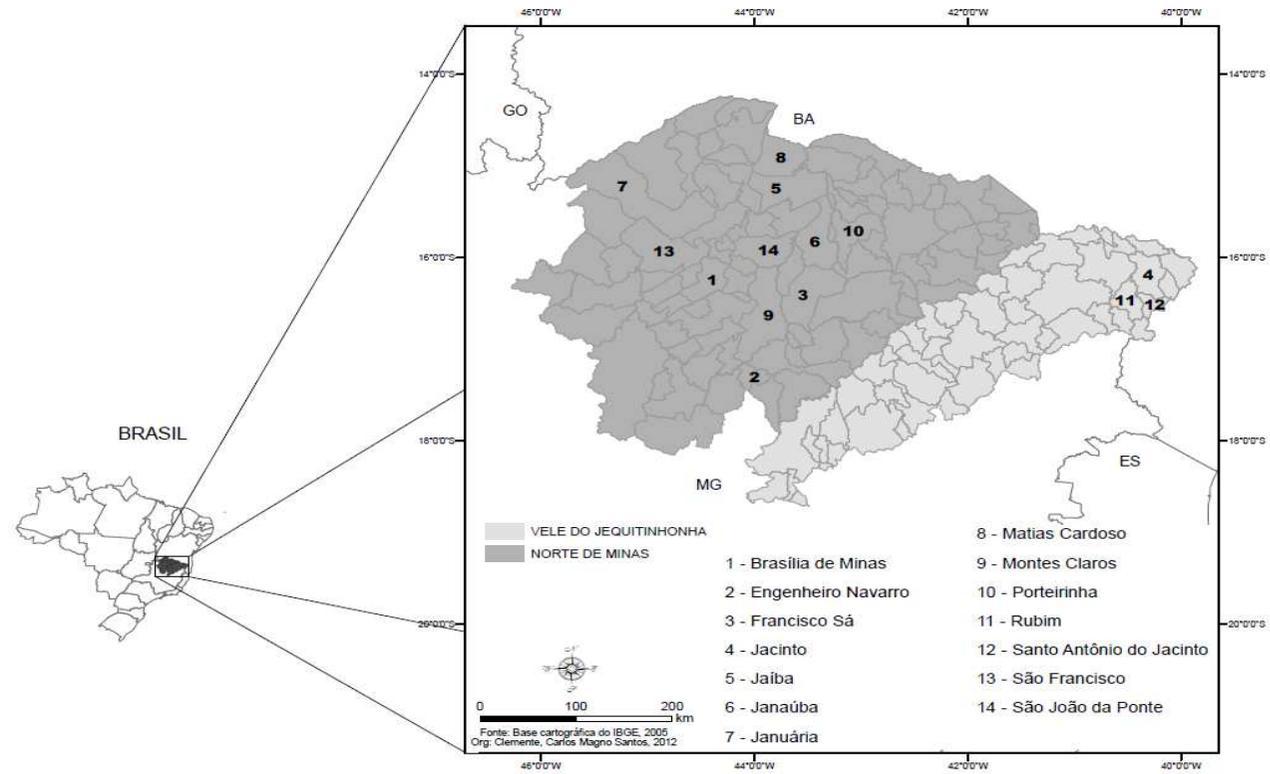
A amostragem foi realizada em dois níveis: propriedades e animais. Para a determinação do número de rebanhos a serem estudados foi utilizada uma amostragem simples embasando-se na lista de propriedades da Associação dos Criadores de Caprinos e Ovinos de Minas Gerais (Caprileite/ACCOMIG) e da Associação dos Criadores de Caprinos e Ovinos de Montes Claros (ACCOMONTES).

Foram definidas 28 fazendas na mesorregião do Norte de Minas Gerais, sendo 14 rebanhos de ovinos e 14 rebanhos mistos de ovinos e caprinos. No Vale do Jequitinhonha, foram definidas 10 propriedades, todas com rebanhos de ovinos. As coletas foram realizadas entre dezembro de 2011 e março de 2012.

Na mesorregião do Norte de Minas Gerais as propriedades encontram-se em 11 municípios e, no Vale do Jequitinhonha, em três (FIGURA 1). A relação das cidades com as propriedades amostradas encontra-se discriminada nas tabelas 1 e 2.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, com protocolo 160/2007 (Anexo A).

FIGURA 1 - Mapa das cidades amostradas no Norte e no Vale do Jequitinhonha no estado de Minas Gérias.



Fonte: Da autora.

TABELA 1

Classificação das fazendas amostradas quanto à cidade, e o tipo de rebanho.

Propriedade	Cidade	Tipo de rebanho
1	Janaúba	Ovinos
2	Janaúba	Ovinos
3	Janaúba	Ovinos
4	Janaúba	Misto
5	Montes Claros	Ovinos
6	Montes Claros	Ovinos
7	Montes Claros	Ovinos
8	Montes Claros	Ovinos
9	Francisco Sá	Ovinos
10	São João da Ponte	Ovinos
11	Janaúba	Misto
12	Janaúba	Ovinos
13	Engenheiro Navarro	Ovinos
14	Francisco Sá	Misto
15	Januária	Misto
16	Januária	Misto
17	São Francisco	Misto
18	Brasília de Minas	Misto
19	Brasília de Minas	Ovinos
20	Porteirinha	Misto
21	Porteirinha	Misto
22	Janaúba	Ovinos
23	Januária	Misto
24	Januária	Ovinos
25	Januária	Misto
26	Matias Cardoso	Misto
27	Matias Cardoso	Misto
28	Jaíba	Misto

Fonte: Da autora.

TABELA 2

Classificação das fazendas amostradas no Vale do Jequitinhonha quanto à cidade e o tipo de rebanho

Propriedade	Cidade	Tipo de rebanho
1	Jacinto	Ovinos
2	Jacinto	Ovinos
3	Jacinto	Ovinos
4	Jacinto	Ovinos
5	Santo Antônio do Jacinto	Ovinos
6	Santo Antônio do Jacinto	Ovinos
7	Santo Antônio do Jacinto	Ovinos
8	Jacinto	Ovinos
9	Rubim	Ovinos
10	Santo Antônio do Jacinto	Ovinos

Fonte: Da autora.

3.2 Teste clínico para avaliação da incidência de LC

Para realizar a avaliação da ocorrência de Linfadenite Caseosa na fase clínica foram amostrados 10% do rebanho adulto, com um número mínimo de oito animais em cada propriedade. Os rebanhos variaram de 30 a 760 animais.

Foi realizado o exame por meio de palpação dos linfonodos, observando-se que os primeiros sinais clínicos são o aumento do volume dos linfonodos acometidos, apresentando-se doloridos e firmes a palpação, tornando-se flutuantes à medida que a doença evolui (ALVES; PINHEIRO, 1997).

Foram amostrados 604 animais, sendo 517 na mesorregião Norte e 87 no Vale do Jequitinhonha, 488 ovinos e 116 caprinos. A maioria dos animais amostrados foram fêmeas adultas, uma vez que diversos trabalhos relatam que não há diferença significativa entre sexo e a doença acometeu principalmente animais adultos (SILVA *et al.*, 1982; GUIMARÃES *et al.*, 2009, SEYFFERT *et al.*, 2010).

3.3 Teste sorológico para avaliação da incidência de LC

Foi realizado o levantamento sorológico com a coleta de sangue, com os mesmo animais submetidos à avaliação clínica. Tal procedimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, com protocolo 160/2007.

O sangue coletado foi acondicionado em caixa térmica até chegar ao laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), *campus* Montes Claros, onde o soro foi aliqotado e conservado em *freezer* a -20°C , para posterior análise sorológica.

Para a averiguação da ocorrência da linfadenite subclínica foi realizado o ELISA indireto no Laboratório de Genética Celular e Molecular (LGCM) do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG, *campus* Pampulha, Belo Horizonte. Foi seguido o protocolo de Carminatti *et al.* (2003) e Seyffert *et al.* (2010) adaptado.

Inicialmente foi realizado a diluição do antígeno em Carbonato Bicarbonato (*Coating Buffer* 0,5M e $\text{pH}=9$), na concentração 1:100 e 100 μL antígeno diluído foi adicionado em cada poço para a sensibilização na placa de ELISA e acondicionado em câmara úmida no *freezer* a -4°C *over night* (12-20 horas). Decorrido este processo a solução de sensibilização foi descartada, a placa foi lavada com 200 μL /poço de tampão de lavagem (PBST: PBS-0,05% de *Tween* 20). O descarte da solução, bem como a lavagem, foram realizadas após cada etapa do ELISA indireto.

A fim de se evitar reação inespecífica foi realizado o bloqueio da placa adicionando 200 μL /poço de solução de leite em pó desnatado 5% em PBST, durante duas horas a 37°C . Os soros coletados previamente diluídos (1:100 em PBST adicionado 1 % leite em pó desnatado) foram adicionados à placa de ELISA, 50 μL /poço em duplicata, por uma hora a 37°C .

A quarta etapa foi a adição de 50 μL /poço do conjugado anti-IgG marcado com peroxidase diluído em PBST adicionado 1% leite em pó desnatado por 45 minutos a 37°C . É importante ressaltar que o conjugado é

espécie-específico.

Posteriormente foi adicionado 50 µL/poço da solução reveladora (25 mL de tampão citrato-fosfato com pH=5,1 adicionado de 10 mg de ortofenilenodiamina (OPD) e 10µL de H₂O₂ 30%), durante 15 minutos ao abrigo da luz, na temperatura ambiente. A reação foi interrompida com 25 µL/poço de solução H₂SO₄ 4N. Decorrido esta etapa foi realizada a leitura da absorbância das placas em leitor de ELISA com filtro de 490 nm de comprimento de luz.

A definição do ponto de corte foi feita por meio de curva ROC (Curva Operacional Relativa) segundo a metodologia utilizada por Seyffert *et al.* (2010). Foram utilizadas 34 amostras negativas de soro de ovino e 25 de caprino da soroteca do LGCM, submetidas ao ELISA indireto.

O cálculo foi realizado separadamente para cada espécie empregando-se a fórmula: $PC = Média + 3 * Desvpad$ [Onde PC é o ponto de corte, Média: a média das leituras de absorbância, e Desvpad é o desvio padrão.] O valor da densidade óptica (DO) utilizada para o ponto de corte no presente estudo foi de 0,313 para caprinos e 0,251 para ovino.

3.4. Aplicação de questionário

Foi aplicado em cada rebanho um questionário, para a obtenção de dados da propriedade como higienização das instalações, presença de área de quarentena e o manejo da linfadenite caseosa (Anexo B).

3.5. Análise estatística

A distribuição da frequência de animais soropositivos foi associada a variáveis individuais como a frequência de animais clinicamente positivos, tipo de rebanho (ovino e misto – ovino e caprino), espécie (ovino e caprino), a mesorregião amostrada (Norte e Vale do Jequitinhonha) e características das propriedades, utilizando-se o teste qui-quadrado com 5% de significância, com o pacote SAEG, versão 9.1 (2007).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme demonstrado na Tabela 3, o número de animais soropositivos foi maior que o número de animais clinicamente positivos ($p < 0,001$). No resultado clínico a frequência foi igual a 21,9% e no sorológico 49,3%.

TABELA 3

Comparação da ocorrência da linfadenite caseosa através do exame em ovinos e caprinos em duas mesorregiões de Minas Gerais através de avaliação clínica e sorológica

Tipo de exame	Ocorrência		Total
	Positiva	Negativa	
Clínico	132 (21,9%) ^b	472 (78,1%) ^a	604
Sorológico	298 (49,3%) ^a	306 (50,7%) ^b	604

*Média seguida de mesma letra na coluna não difere estatisticamente pelo teste qui-quadrado com $p < 0,05$.

Fonte: Da autora.

Esses resultados corroboram o estudo de Seyffert *et al.* (2010) em caprinos no estado de Minas Gerais, no qual apenas 17,5% das cabras apresentaram sinais clínicos de LC, e a doença era considerada um problema em apenas 31,4% dos rebanhos; contudo, no teste sorológico, a ocorrência foi 72,6%, valor superior ao observado no presente trabalho.

Em uma pesquisa realizada com ovinos em Minas Gerais, 15,3% dos animais apresentaram sinais clínicos e 43,7% eram soropositivos, o que indica que a maioria parte dos animais infectados não tinham sinais clínicos de LC (GUIMARÃES *et al.*, 2011).

Todos os animais que apresentaram positividade no exame clínico tiveram confirmação no exame sorológico (TAB 3). Tais resultados sugerem que a especificidade do ELISA empregado são altas (CARMINATTI *et al.*, 2003).

Testes ELISA baseados em antígenos de *C. pseudotuberculosis* são altamente eficaz na identificação precoce de ovelhas e caprinos infectados para programas de erradicação da LC (BAIRD *et al.*, 2004; DERCKSEN *et*

al., 2000). Esse teste pode detectar a infecção em animais em estágios iniciais da doença, antes que os abscessos fiquem evidentes, evitando que muitos animais infectados sem sinais clínicos não fossem diagnosticados (GUIMARÃES *et al.*, 2009).

O período de incubação da LC é longo, podendo chegar a 180 dias, bem como a ocorrência da forma visceral, detectada somente por testes sorológicos, no exame *post-mortem* ou no abate, contribuem para a menor percepção da doença no rebanho, com conseqüente maior disseminação do agente (GUIMARÃES *et al.*, 2009).

Vale ressaltar que todas as propriedades tiveram pelo menos um animal clinicamente positivo e, conseqüentemente, soropositivo. Podendo inferir que todas as propriedades amostradas possuem animais infectados por *C. pseudotuberculosis*.

Resultado semelhante foi encontrado por Guimarães *et al.* (2011), avaliando ovinos em Minas Gerais, onde 100% das propriedades amostradas apresentaram pelo menos um animal soropositivo. Dois anos antes, no mesmo estado, Guimarães *et al.* (2009) relataram que 95,9% das propriedades amostradas apresentaram soropositividade e dos 94 municípios amostrados, 90 (95,7 %) apresentaram pelo menos uma propriedade positiva.

Carmo *et al.* (2012) avaliando a ocorrência da LC em ovinos do Distrito Federal observaram que 82 % das propriedades apresentaram animais positivos. Seyffert *et al.* (2010) avaliaram a ocorrência da LC caprinos em Minas Gerais e encontraram 98 % dos rebanhos com pelo menos um animal soropositivo.

Resultado inferior ao dos trabalhos supracitados foi relatado por Martins *et al.* (2010) em rebanhos de caprinos leiteiros na Bahia, onde 56% das propriedades apresentaram animais soropositivos. Tinôco (1983) em três municípios da Bahia relata 36,5% de propriedades positivas em resposta a questionário aplicado aos ovinocultores. Andrade (2007) em rebanhos de caprinos e ovinos nas microrregiões de Piancó e Itaporanga no estado da Paraíba relata que 31,3% das propriedades apresentaram positividade para

LC.

Esses dados indicam a alta ocorrência da linfadenite caseosa em diversas regiões do país e, portanto, a necessidade de aprimoramento de seu controle.

Não houve diferença na frequência da linfadenite nas mesorregiões estudadas, tanto no diagnóstico clínico, quanto no sorológico (TAB. 4). A LC foi encontrada em todas as propriedades, independentemente da mesorregião, o que pode indicar que o agente está disseminado uniformemente por todo o estado.

TABELA 4

Comparação da ocorrência da linfadenite caseosa nas mesorregiões Norte e Vale do Jequitinhonha do estado de Minas Gerais em através de diagnóstico clínico e sorológico em pequenos ruminantes.

Localidade	Clínico		Total	Sorológico		Total
	Positivo	Negativo		Positivo	Negativo	
Norte	111 (21,5%)a	406 (78,5%)a	517	258 (49,9%)a	259 (50,1%)a	517
Vale do Jequitinhonha	21 (24,1%)a	66 (75,9%)a	87	40 (46%)a	47 (54%)a	87

*Média seguida de mesma letra na coluna não difere estatisticamente pelo teste qui-quadrado com $p < 0,05$.

Fonte: Da autora.

Com relação à ocorrência da LC em função do tipo de rebanho (TAB. 5), não houve diferença no diagnóstico clínico. Contudo, no exame sorológico ($p=0,006$), os rebanhos de ovinos apresentaram menor positividade (44,8 %) em relação aos rebanhos mistos, com criação concomitante de ovinos e caprinos (56,2%). Não foram encontrados relatos na literatura consultada de trabalhos de soroprevalência da linfadenite caseosa em rebanhos mistos.

TABELA 5

Comparação da ocorrência da linfadenite caseosa em animais de rebanhos de ovinos e animais de rebanhos mistos (ovinos e caprinos) duas mesorregiões de Minas Gerais através do diagnóstico clínico e sorológico

Rebanho	Clínico		Total	Sorológico		Total
	Positivo	Negativo		Positivo	Negativo	
Ovino	77 (21,3%)a	285 (78,7)a	362	162 (44,8%)b	200 (55,2%)a	362
Misto	55 (29,4%)a	187 (70,6)a	242	136 (56,2%)a	106 (43,8%)b	242

*Média seguida de mesma letra na coluna não difere estatisticamente pelo teste qui-quadro com $p < 0,05$.

Fonte: Da autora.

Conforme discriminado na tabela 6, ao analisar as espécies independentes do rebanho, também não houve diferença no diagnóstico clínico, entretanto a soropositividade em caprinos apresentou diferença discrepante em relação a ovinos ($p < 0,05$).

TABELA 6

Comparação da ocorrência da linfadenite caseosa em ovinos e caprinos no diagnóstico clínico e sorológico.

Espécie	Clínico		Total	Sorológico		Total
	Positivo	Negativo		Positivo	Negativo	
Ovino	102 (20,9%)a	386 (79,1%)a	488	216 (44,3%)b	272 (55,7%)a	488
Caprino	30 (25,9%)a	86 (74,1%)a	116	82 (70,7%)a	34 (29,3%)b	116

*Média seguida de mesma letra na coluna não difere estatisticamente pelo teste qui-quadro com $p < 0,05$.

Fonte: Da autora.

Nos últimos estudos publicados em rebanhos de ovinos em Minas Gerais, percebeu-se que a ocorrência da linfadenite caseosa reduziu. Em 2009 foi relatado soroprevalência de 70,9% e em 2011 43,7% (GUIMARÃES *et al.*, 2009; 2011).

Em um trabalho realizado por Seyffert *et al.* (2010) em caprinos no estado de Minas Gerais, a ocorrência LC foi 72,6%. Pinheiro *et al.* (2000), no estado do Ceará, observaram soroprevalência de 66,9% em caprinos. Tais resultados são semelhantes aos encontrados no presente trabalho. Ao comparar os resultados encontrados nos trabalhos supracitados, percebe-se que assim como neste trabalho, se teve maior ocorrência da LC em caprinos (70,7%) do que em ovinos (44,3%) (TAB. 6).

Corroborando tais dados, Andrade (2007) relata frequência da linfadenite caseosa na fase clínica maior em caprinos (4,5%) do que ovinos (3,1%). Nfi e Ndi (1994) também verificaram que a LC é mais comum em caprinos do que em ovinos, afetando principalmente animais adultos.

Dados inferiores ao encontrado no presente trabalho foram relatados por Zerbinatti *et al.* (2007) no estado da Bahia, onde que 54,9% dos caprinos avaliados apresentaram soropositividade para a linfadenite caseosa. Martins *et al.* (2010) observaram soroprevalência de 27,54% dos caprinos leiteiros no território do Sisal no estado da Bahia. No Distrito Federal, Carmo *et al.* (2012) verificaram soroprevalência de 42,1% em rebanhos de ovinos.

Diferenças entre as espécies ovina e caprina são relatadas na literatura. Um fator que pode influenciar é que forma visceral ocorre predominantemente em caprinos e a superficial em ovinos (BROWN; OLANDER, 1987).

É possível que a localização desses abscessos seja influenciada pelo manejo na propriedade, por exemplo. Caprinos criados confinados e alimentados em canzais tendem a ter pequenas lesões na região da cabeça e pescoço, além do maior contato direto durante a alimentação, favorecendo a transmissão de *C. pseudotuberculosis* e formação de abscessos nessas regiões (GUIMARÃES *et al.*, 2011).

O mesmo pode acontecer com ovinos criados em sistemas intensivos de produção, principalmente em confinamentos para terminação de cordeiros. Além disso, existe a influência do tipo de atividade. Criatórios com exploração semiextensiva voltada para corte, os tratadores promovem menos inspeção periódica dos animais e quando o rebanho é constituído por ovinos

lanados, a inspeção e detecção dos abscessos são ainda mais difíceis (GUIMARÃES, 2006).

Todas as propriedades amostradas neste estudo não realizavam quarentena ao introduzir um animal, realizavam trânsito de animais entre as propriedades próximas e não vacinavam os animais contra a linfadenite. Esses fatores podem ser potenciais de risco para a doença.

Guimarães *et al.* (2009) relatam em seu trabalho no estado de Minas Gerais com ovinos, que adequações no manejo podem ajudar no controle da doença. A área de quarentena serve com estratégia para evitar a introdução de novas doenças, mantendo os novos animais em observação antes de introduzi-los no rebanho, para que venham apresentar qualquer sinal de doença que possam ser eliminados antes de contaminar todos os outros animais da propriedade. Para tal, é preciso que a área de quarentena seja afastada do resto dos animais e que todo material que entre em contato com os animais em quarentena não entre em contato com os animais do rebanho (SILVA *et al.*, 2010).

Conforme demonstrado na Tabela 7, a limpeza do local influenciou na ocorrência da linfadenite caseosa. Nenhuma propriedade foi classificada como excelente, não houve diferença significativa entre as propriedades classificadas como boa e regular e as propriedades cuja higienização foi classificada como ruim tiveram a maior frequência da LC, 51,35 %.

TABELA 7

Comparação dos aspectos gerais dos rebanhos amostrados com à frequência de linfadenite caseosa em nas mesorregiões avaliadas no Minas Gerais, Brasil.

Variável	Característica	Ocorrência de LC	
		Positivo	Negativo
Limpeza	Boa	13 (46,432%) ^b	15 (53,57%) ^a
	Regular	95 (46,12%) ^b	111 (53,88%) ^a
	Ruim	190 (51,35%) ^a	180 (48,64%) ^b
Aquisição fora do estado	Sim	123 (52,12%) ^a	113 (47,66%) ^b
	Não	175 (47,55%) ^b	193 (52,44%) ^a
Acompanhamento de profissional	Sim	148 (45,12%) ^b	180 (54,88%) ^a
	Não	150 (54,35%) ^a	126 (45,65%) ^b
Conhece a doença	Sim	202 (50,25%) ^a	200 (49,75%) ^b
	Não	95 (47,26%) ^b	106 (52,74%) ^a
Separa os animais doentes	Sim	45 (40,90%) ^b	65 (59,10%) ^a
	Não	253 (51,21%) ^a	241 (48,79%) ^b
Incinera material	Sim	79 (58,96%) ^a	55 (41,04%) ^b
	Não	217 (47,48%) ^b	240 (52,52%) ^a

*Média seguida de mesma letra na coluna não difere estatisticamente pelo teste qui-quadro com $p < 0,05$ na variável analisada.

Fonte: Da autora.

Guimarães *et al.* (2011) observou que poucas instalações passaram por desinfecção de rotina. A desinfecção das instalações é muito importante porque alguns agentes patogênicos, incluindo *C. pseudotuberculosis*, podem sobreviver por longos períodos no solo.

Em uma pesquisa com a contaminação experimental de instalações, verificou-se que *C. pseudotuberculosis* pode sobreviver oito meses. Além disso, a bactéria já foi isolada após cinco meses em locais onde houve

contaminação com pus do abscesso da LC (BROWN; OLANDER, 1987). Conseqüentemente, a contaminação do meio ambiente devido ao rompimento do abscesso é um risco real, portanto, a desinfecção regular das instalações é uma medida importante para controlar LC.

Quanto à aquisição dos animais, observou-se maior incidência da LC nas propriedades que compravam fora do estado de Minas Gerais (TAB. 7). Todas as fazendas avaliadas neste estudo adquiriram animais também de cidades do estado.

Guimarães *et al.* (2009) alertam que a participação em exposições e leilões é sempre risco para a introdução da LC na propriedade. Paton (2000) relatou que o transporte de animais e comercialização podem favorecer a introdução de *C. pseudotuberculosis* em áreas livres da LC.

Deve-se levar em consideração também que a produção comercial de ovinos vem aumentando em Minas Gerais desde 1999, resultando em considerável trânsito de animais dentro do estado, com a aquisição de animais de diferentes regiões do Brasil onde LC é frequente (ARCO, 2009).

O estado de Minas Gerais tem longa fronteira com uma região reconhecida como endêmica para LC, o estado da Bahia (MEYER, 2004). O intenso comércio de pequenos ruminantes entre estes dois estados aumenta a possibilidade de infecção por *C. pseudotuberculosis* (GUIMARÃES *et al.*, 2009).

Outro fator que pode influenciar na incidência da LC é o acompanhamento de um profissional (TAB. 7). Nas propriedades em que não havia acompanhamento de um profissional observou-se maior incidência da LC (54,35%).

O acompanhamento veterinário é um determinante importante para o sucesso da criação de ovelhas e cabras e é vital para educar trabalhadores agrícolas e estabelecer e manter programas de controle sanitário (GUIMARÃES *et al.*, 2011).

A ocorrência da LC entre as fazendas cujos donos que conheciam a doença foi maior (50,25 %) do que nas propriedades onde não se conhecia a doença (TAB. 7): o reflexo do fato que muitas vezes o produtor conhece a

doença, mas não realiza o manejo corretamente.

Nas propriedades onde os animais doentes eram separados dos animais sadios observou-se menor incidência (40,90%). Entretanto, as propriedades onde os produtores relataram realizar a incineração do material purulento drenado apresentam maior incidência da LC (58,96%). Uma hipótese para explicar tais dados é que muitas vezes o produtor mascara os dados ao responder a entrevista, relatando assim algo que não realiza.

Andrade (2007) relata que a ocorrência da linfadenite caseosa está associada às práticas de manejo adotadas nas propriedades. Proprietários que deixaram abscessos romperem naturalmente tiveram maior ocorrência da doença no rebanho, devido ao contato direto de animais sadios com doentes (abscessos rompidos), favorecendo a contaminação da pastagem, instalações e disseminação da doença. Outro fator importante é que muitos animais são adquiridos de rebanhos infectados sem critério de avaliação por parte de profissionais, levando posteriormente, ao surgimento de abscessos característico da doença em rebanhos indenes.

A falta de controle da doença constitui uma das maiores barreiras sanitárias para o desenvolvimento da criação de ovelhas (GUIMARÃES *et al.*, 2011). A introdução de práticas específicas de controle da linfadenite caseosa pode reduzir a incidência da doença. Para isto, é necessário a atuação do técnico no estabelecimento e monitoramento do programa de controle da LC para cada propriedade, bem como no treinamento e educação sanitária dos recursos humanos envolvidos (GUIMARÃES *et al.*, 2009).

Tais ações são de suma importância, visto que a transmissão da LC em ovinos inicia-se com abscessos superficiais, seguida por um aumento das frequências de abscessos nos pulmões, mediastino e brônquica linfonodos (abscessos respiratórios), podendo se tornar endêmica no rebanho (O'REILLY *et al.*, 2008).

Guimarães *et al.* (2011) relatam que poucos criadores notaram os ovinos com sinais clínicos de LC. A maioria deixa o abscesso romper por si ou ao abri-lo, não trata corretamente nem drena o ferimento e, em seguida, volta o animal para o rebanho. Evidentemente, esse procedimento não

controla, mas sim acelera a taxa de disseminação do agente, visto que o material caseoso é uma fonte de contaminação de instalações.

Nenhuma propriedade amostrada vacinava contra a LC. Guimarães *et al.* (2009) relatam resultado semelhante e Guimarães *et al.* (2011) reportam que apenas 11,7% dos criadores vacinavam seus rebanhos sistematicamente contra LC, o que permite supor que um programa de controle da doença baseado na vacinação de animais possa ser de grande valia para a redução de infecção por *C. pseudotuberculosis* no Brasil.

O manejo incorreto da LC e a não vacinação permite a transmissão deste agente infeccioso ao longo da rede de produção. Por conseguinte, a LC é amplamente disseminada nos rebanhos de ovinos e caprinos em Minas Gerais e é negligenciada pela maioria dos criadores, o que resulta em perdas econômicas (GUIMARÃES *et al.*, 2011).

Além disso, a maior parte dos proprietários não está consciente do impacto econômico gerado pela LC e não costuma realizar testes para identificar animais infectados subclínicamente. Esses dados comprovam que a doença é negligenciada nesses rebanhos ou que há falta de informação para os criadores (MUCKLE; MENZIES, 1993).

5 CONCLUSÃO

Verificou-se a eficiência do teste sorológico utilizado, em que todos os animais com sinais clínicos também eram soropositivos. Além disso, a soroprevalência da LC foi de 49,3%.

As mesorregiões estudadas não diferiram estatisticamente entre si, o que sugere que a patologia estudada encontra-se disseminada uniformemente nas mesorregiões estudadas. A ocorrência da LC foi maior em caprinos do que em ovinos.

As práticas de manejo podem estar relacionadas com os dados obtidos no trabalho. Dentre eles ressalta-se a limpeza do ambiente, o acompanhamento de um técnico ou veterinário e o manejo com relação a doença. Locais onde estes itens foram deficientes apresentaram maior incidência de LC.

REFERÊNCIAS

- AL-RAWASHDEH, O.F.; AL-QUDAH, K.M. Effect of shearing on the incidence of caseous lymphadenitis in Awassi sheep in Jordan. **Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v. 47, p. 287–293. 2000.
- ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. Linfadenite caseosa – Recomendações e medidas profiláticas. p. 1-4, 1997. (Embrapa – Comunicado Técnico, 33)
- ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; PIRES, P. C. Linfadenite caseosa: patogenia, diagnóstico, controle. p. 16. 1997. (Documentos, 27. EMBRAPA-CNPC)
- ALVES, F. S. F.; SANTIAGO, L. B.; PINHEIRO, R. R. Linfadenite Caseosa: Estado da Arte. 2007. (Documentos, 27. EMBRAPA-CNPC)
- ANDERSON, D. E.; RINGS, D. M.; PUGH, D. G. Enfermidades do Sistema Tegumentar. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. v. 3, p. 232-233. 2005.
- ANDRADE, J. S. L. **Linfadenite caseosa em ovinos e caprinos criados nas micro-regiões de Piancó e Itaporanga – PB: Inquérito e fatores de risco associados à doença**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Patos. 2007.
- ARCO: Arquivo da Associação Brasileira de Criadores de Ovinos. 2009. Disponível em: < <http://www.arcoovinos.com.br/>>. Acesso em: 25 de ago. de 2012.
- ARSENAULT, J.O.; GIRARD, C. ; DUBREUIL, P.; DAIGNAULT, D. O.; GALARNEAU, J.-R.; BOISCLAIR, J., SIMARD, C.; BELANGER, D. Prevalence of and carcass condemnation from maedi-visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 59, p. 67–81, 2003.
- AYERS, J. L. Caseous lymphadenitis in goat and sheep: review of diagnosis, pathogenesis, and immunity. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n.171, p. 1251 – 1254, 1977.
- AZEVEDO, A.G.; MOUCHREK FILHO, E.E.; MOURTHÉ, H.; MARQUES, J.B.; SANCHES, L.N.; SILVA, M.T.; MACHADO, T.M.M. **Programa de**

Desenvolvimento da Caprinocultura em Minas Gerais. Belo Horizonte: Secretaria da Agricultura, p.45, 1984.

BAIRD, G. J. Current perspectives on caseous lymphadenitis. **Journal of Postgraduate Clinical Study.** v.25, p. 62-68. 2003.

BAIRD, G. J. Treatment of ovine caseous lymphadenitis. **Veterinary Recorde,** p.159:500. 2006.

BAIRD, G. J.; FONTAINE, M. C. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. **Journal of Comparative Pathology,** v.137, p.179-210, 2007.

BAIRD, G. J.; SYNGE, B.; DERCKSEN, D. Survery of caseous lymphdenitis seroprevalence in British terminal sire sheep breeds. **Veterinary Recorde,** p.154-505, 2004.

BARCELLOS, T.F.S.; SILVA, N.; MARQUES JÚNIOR, A.P. Mamite caprina em rebanhos próximos à Belo Horizonte- Minas Gerais. I-Etiologia e sensibilidade a antibióticos. II-Métodos de diagnóstico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v. 39, p.307-315, 1987.

BARROS, N. N.; DIAS, R. P.; RIBEIRO, V. Q.; VASCONCELOS, V. R. **Produção intensiva de borregos para abate no Nordeste do Brasil.** Sobral: Embrapa Caprinos, p.12, 2007.

BATEY, R. G. Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. **Australian Veterinary Journal,** v. 63, n. 9, p. 269-272, 1986.

BELCHIOR, S. E.; GALLARDO, A.; ABALOS, A.; JORDOR, N.; JENSEN, O. Actualizacion sobre linfadenitis caseosa: El agente etiológico y La enfermedad. **Revista Veterinária Argentina.** v. 23, p. 258-278. 2006.

BELKNAP, E.B. Enfermidades do Sistema Respiratório. In: PUGH, D.G. **Clínica de Ovinos e Caprinos.** Sao Paulo: ROCA, p. 141. 2004.

BENHAM, C. L.; SEAMAN, A.; WOODBINE, M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in diseases of animals. **Commonwealth Bureau of Animal Health,** v. 32, p. 645-657. 1962.

BERRIER, R. J. CLA in goats. **Veterinarias Corner,** v. 2, n. 10, Dec. 2002. Disponível em: < <http://www.colorado-serum.com/vets.html>>. Acesso em: 16 abr. de 2011.

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

BINNS, S. H.; GREEN, L. E.; BAILEY, M. Development and validation of an ELISA to detect antibodies to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in ovine sera. **Veterinary Microbiology**, v. 23, p.169–179. 2007.

BOGDAN, J. R.; NEWLANDS-MONTEITH, C.F.; ELLIS, J.A. Nitric oxide production following *in vitro* stimulation of ovine pulmonary alveolar macrophages. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v. 56, p. 299-310. 1997.

BRAGA, W. U. Protection in alpacas against *Corynebacterium pseudotuberculosis* using different bacterial components. **Veterinary Microbiology**, v. 119, p. 297-303. 2007.

BROGDEN, K. A.; GLENN, J.S.; EAST, N.; AUDIBERT, F. A *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacterin with muramyl dipeptide induces antibody titers, increases the time of onset, and decreases naturally occurring external abscesses in sheep and goat. **Small Ruminant Research**, v. 19, n. 2, p. 161-168. 1996.

BROGDEN, K.A.; CHEDID, L.; CUTLIP, R.C.; LEHMKUHL, H.D.; SACKS, J. Effect of muramyl dipeptide on immunogenicity of *Corynebacterium pseudotuberculosis* wholecell vaccines in mice and lambs. **American Journal Veterinary Research**, v. 51, p. 200-202. 1990.

BROWN, C. C.; OLANDER H. J. ; BIBERSTEIN E. L. ; MORSE S. M. Use of a toxoid vaccine to protect goats against intradermal challenge exposure to *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **American Journal Veterinary Research**, v. 47, n. 5, p. 1116.1119, 1986.

BROWN, C. C.; OLANDER, H. J. Caseous lymphadenitis of goats and sheep: a review. **Vet Bull**, v.57, p.1-11, 1987.

BURRELL, D. H. Caseous lymphadenitis in goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 57, n. 3, p. 105-110. 1981.

CAMERON, C. M.; MINNAR, J. L. Immunization of mice against *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 36, n. 2, p. 207-210. 1969.

CARMINATI, R., BAHIA, R., COSTA, L. F. M, PAULE, B. J. A., VALE, V. L., REGIS, L., FREIRE, S. M., NASCIMENTO, I., SCHAER, R., MEYER, R.. Determinação da sensibilidade e da especificidade de um teste de ELISA indireto para o diagnóstico de linfadenite caseosa em caprinos. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 2, n. 1, p. 88-93, 2003.

CARMO, F. B.; GUIMARÃES, A. S.; PAULETTI, R. B.; LAGE, A. P.; GONÇALVES, V. S. P.; MEYER, R.; PORTELA, R. W. D.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V.; GOUVEIA, A. M. G.; HEINEMANN, M. B. Linfadenite caseosa em criações comerciais de ovinos no Distrito Federal, Brasil. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v.79, n.2, p.293-298. 2012.

CARNE, H. R. The toxin of *Corynebacterium ovis*. **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 51, n. 2, p. 199-212, 1940.

CETINKAYA, B.; KARAHAN, M.; ATIL, E.; KALIN, R.; BAERE, T.; VENECHOUTTE, M. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. **Veterinary Microbiology**. v. 88, p.75-83. 2002.

CHAPLIN, P. J.; DE ROSE, R.; BOYLE, J. S.; McWATERS, P.; KELL, J.; TENNENT, J. M.; LEW, A. M.; SCHEERLINCK, J.-P. Y. Targeting improves the efficacy of a DNA vaccine against *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep. **Infection and Immunity**, v. 67, n. 12, p. 6434-6438. 1999.

CLARRIDGE, J. E.; SPIEGEL, C. A. *Corynebacterium* and related organisms. In: Barron EJ, editor: **Manual of clinical microbiology**. 6° ed. Washington: American Society for Microbiology; p. 357-370. 1995

COSTA, C. A. F.; VIEIRA, L. S. Ectoparasitos permanentes de caprinos e ovinos em Sobral -CE. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 5, p. 639-646. 1984.

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

CUBERO, P. M. J.; REAL, V. F.; GONZÁLEZ, C. M.; LEÓNVISCAÍNO, L. Epidemiología de la pseudotuberculosis. **Revista Ovis**. v. 3, 2002.

DERCKSEN, D. P.; BRINKHOF, J. M. A.; DEKKER-NOOREN, T. A comparison of four serological tests for the diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. **Veterinary Microbiology**, v. 75, 2000.

DERCKSEN, D. P.; BRINKHOF, J. M.; DEKKER-NOOREN, T. A comparison of four serological tests for the diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. **Veterinary Microbiology**, v. 75, p.167–175. 2000.

DORELLA, F. A.; PACHECO, L. G.C.; OLIVEIRA, S. C.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Veterinary Research**, v. 37, p. 201-218. 2005.

DORELLA, F. A.; PACHECO, L.G . C.; OLIVEIRA, S. C. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Veterinary Research**, v. 37, p.201–218. 2006

DORELLA, F.A.; PACHECO, L.G.C.; OLIVEIRA, S.C; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Veterinary Research**, v. 37, p. 201–218, 2006a.

DORELLA, F.A.; PACHECO, L.G.C.; SEYFFERT, N.; PORTELA, R. W.; MEYER, R.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. Antigenes of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and prospects for vaccine development. **Expert Reviews**, v. 8, p. 205-213. 2009.

EGGLETON, D. G.; MIDDLETON, H. D.; DOIDGE, C. V.; MINTY, D. W. Immunization against ovine caseous lymphadenitis: comparison of *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccines with and without bacterial cells. **Australian Veterinary Journal**, v. 68, n. 10, p. 317-319. 1991.

EL-ENBAAWY, M.I.; SAAD, M.M.; SELIM, S.A. Humoral and cellular immune responses of a murine model against *Corynebacterium pseudotuberculosis* antigens. **Egypt**, v. 12, p. 13-20. 2005.

ELLIS, J.A.; HAWK, D.A.; MILLS, K.W.; PRATT, D.L. Antigen specificity and activity of ovine antibodies induced by immunization with *Corynebacterium pseudotuberculosis* culture filtrate. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v. 28, p. 303-316. 1991.

EMBRAPA CAPRINOS - **A evolução da caprino - ovinocultura brasileira**. Sobral: Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos, 2010. Disponível em: << <http://www.fmvz.unesp.br/fmvz/Informativos/ovinos/utilid11.htm>>>. Acesso em: 04 de nov. de 2012.

EMBRAPA CAPRINOS - **Plano Diretor**. Sobral: Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos, 2000.

EMBRAPA CAPRINOS – **Sistema de produção de caprinos e ovinos de corte no nordeste brasileiro**. Sobral: Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos, Sistemas de Produção, v. 1, Versão Eletrônica, 2005. Disponível em:

<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/CaprinoseOvinosdeCorte/CaprinosOvinosCorteNEBrasil/aspectosecologicos.htm>>>. Acesso em: 14 de nov. de 2012.

FARIA, G.A.; MORAIS, O.R.; GUIMARAES, P.H.S. Análise da ovinocaprinocultura no Norte e Nordeste de Minas Gerais. **SEBRAE. Relatório Técnico**. 2004. Disponível em:<www.sebraemg.com.br/arquivos/Coopere_para_crescer/geor/diagnostico/ovino/caprinocultura.pdf>. Acesso em: 03 de set. de 2012.

FONTAINE, M. C.; BAIRD, G.; CONNOR, K. M.; RUDGE, K.; SALES, J.; DONACHIE, W. Vaccination confers significant protection of sheep against infection with a virulent United Kingdom strain of *Corynebacterium pseudotuberculosis*, **Vaccine**, v. 24, n. 33/34, p. 5986-5996. 2006.

GOUVEIA, A. M. G **Caracterização zoonosológica da caprinocultura e ovinocultura em Minas Gerais. Belo Horizonte: Instituto Mineiro de Agropecuária**. (IMA) e GEPOC-EV-UFMG, Belo Horizonte, MG. 2001.

GUIMARÃES, A. S. **Caracterização da caprinovinocultura em Minas Gerais**. 84p. 2006. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal Minas Gerais, Belo Horizonte. 2006.

GUIMARÃES, A. S.; CARMO, F. B.; HEINEMANN, M. B.; PORTELA, R. W. D.; MEYER, R.; LAGE, A. P.; SEYFFERT, N.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V.; GOUVEIA, A. M. G High sero-prevalence of caseous lymphadenitis identified in slaughterhouse samples as consequence of deficiencies in sheep farm management in the state of Minas Gerais, Brazil. **BioMed Central Veterinary Research**, v. 7, p. 68. 2011.

GUIMARÃES, A. S.; GOUVEIA, A. M. G.; ABREU, A. B.; HADDAD, J. P.A.; LEITE, R. C.; HEINEMANN, M. B.; LAGE, A. P.; CRUZ, J. C. M.; CARMO, F.B. Características zoonosológicas da ovinocultura em Minas Gerais. **Revista de Veterinária e Zootecnia**, v. 102, p.34-40. 2009.

GUIMARÃES, A. S.; SEYFFERT, N.; BASTOS, B. L.; PORTELA, R. W. D.; MEYER, R.; CARMO, F. B.; CRUZ, J. C. M.; MCCULLOCH, J.A.; LAGE, A. P.; HEINEMANN, M. B.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V.; GOUVEIA, A. M. G. Caseous lymphadenitis in sheep flocks of the state of Minas Gerais, Brazil: prevalence and management surveys. **Small Ruminantes Research**, v. 87, p. 86-91. 2009.

GUIMARÃES, M. P. M. P.; CLEMENTE, W. T.; SANTOS, E. C.; RODRIGUES, R. Caracterização de alguns componentes celulares e físico-químicos do leite para diagnóstico da mamite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.41, p.129-142, 1989.

HARD, G. C. Electron Microscopic Examination of *Corynebacterium ovis*. **Journal of Bacteriological**, v. 97, n. 3, p. 1480 – 1485. 1969.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário, 2003.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=mg&tema=censoagro>>. Acesso em: 01 de set. de 2012.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário, 2006.** Disponível em: <<<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=mg&tema=censoagro>>>. Acesso em: 01 de set. de 2012.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Comunicação social, 2011.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2002&id_pagina=1>>. Acesso em: 01 de set. de 2012.

IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária. **Caprinocultura em Minas Gerais.** IMA: Belo Horizonte, p.14, 1998.

IONEDA, T.; SILVA, C. L. Purification of 1-monoacylglycerols containing alphabranched-beta-hydroxylated fatty acids from lipids of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 25, n. 1, p. 85-91. 1979.

IRWIN M. R.; KNIGHT H. D. Enhanced resistance to *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections associated with reduced serum immunoglobulin levels in levamisole-treated mice. **Infection and Immunity**, v. 12, p. 1098-1103. 1975.

JOHNSON, E.; VIDAL, C.; SANTA ROSA, J.; KASS, P. Observation on goats experimentally infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis* **Small Ruminantes Research**, v.12, p.357-369. 1993

JOLLY, R. D. Some observations on surface lipids of virulent and attenuated strains of *Corynebacterium ovis*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 29, p. 189-196. 1966.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. Moléstias Causadas por Bacterias. In: JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6.ed. São Paulo: Manole, p. 489-491.2000.

LEAMASTER, B.R.; SHEN, D.T.; GORHAM, J.R.; LEATHERS, C.W.; WELLS, H.D. Efficacy of *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacterin for the immunologic protection of sheep against development of caseous lymphadenitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 48, p. 869-872. 1987.

LIU, D. T.; CHAN, W. M.; FAN, D. S.; LAN, D. S. An infected hydrogel buckle with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **British Journal of Ophthalmology**, v. 89, p. 245.246. 2005.

LOBATO, Z.I.P.; BARCELOS, M.A.C.; LIMA, F., RIBEIRO, E.B.T.; YORINORI, E.H.; GOUVEIA, A.M.G.. Língua azul em ovinos e caprinos na Região Mineira da SUDENE. In: Congresso Brasileiro De Buiatria, 4, 2001, Campo Grande **Anais...**Campo Grande: MS,. 2001.

MARTINS, R. J.; VESCHI, J. L. A.; CARMO, F. B. ; AZEVEDO, V.; SEYFFERT, N.; MIYOSHI, A.; MEYER, R.; PORTELA, R.; PEIXOTO, R. M.; COSTA, M. M. ; ZAFALON, L. F.; GOUVEIA A. M. G. Avaliação da presença de anticorpos anti-*Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos leiteiros do Território do Sisal, BA. In: VI Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido, 2010, Petrolina – Pernambuco, **Anais...** 2010.

MENZIES, P.I.; HWANG, T.-I.; PRESCOTT, J.F. Comparison of an interferon-gamma to a phospholipase D enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in experimentally infected goats. **Veterinary Microbiology**, v. 100, p.129– 137. 2004.

MERCHANT, I.A.; PACKER, R.A. The Genus *Corynebacterium*. In: MERCHANT, I.A.; PACKER, R.A. **Veterinary Bacteriology and Virology**. Iowa: The Iowa State University Press, p. 425–440.1967.

MEYER, R.; CARMINATI, R.; CERQUEIRA, R. B.; VALE, V.; VIEGAS, S.; MARTINEZ, T.; NASCIMENTO, I.; SCAER, R.; SILVA, J. A. H.; RIBEIRO, M.; RÉGIS, M.; PAULE, B.; FREIRE, S. M. Avaliação da resposta imune humoral em caprinos inoculados com uma vacina viva atenuada liofilizada contra *Corynebacterium pseudotuberculosis*, **Revista de Ciência Médica e Biologia**, v. 1, n. 1, p. 42-48. 2002.

MILLS, A. E.; MITCHELL, R. D.; LIM, E. K. *Corynebacterium pseudotuberculosis* is a cause of human necrotising granulomatous lymphadenitis. **Pathology**, v. 29, n. 2, p. 231-233. 1997.

MOORE, R.J.; ROTHEL, L.; KRYWULT, A.J.; LUND, K.L.; HODGSON, A.L.M. Foreign gene expression in *Corynebacterium pseudotuberculosis*: development of a live vaccine vector. **Vaccine**, v. 18, p. 487-497. 2000.

MOURA SOBRINHO, P.A.; MOTA, R.A.; ELOY, A.M.X.; ALVES, L.C. Prevalência da brucelose caprina no estado do Ceará, Brasil. **Ciência Veterinária nos Trópicos**. v. 3, n. 1, p. 17-23, 2000.

MUCKLE, C. A.; MENZIES, P. I. Caseous lymphadenitis in sheep and goats. In: Howard J. (Ed.) **Current Veterinary Therapy**. Food Animal Practice. Philadelphia: W.B Saunders Co., p.537-541. 1993.

NAIN, M. E.; MITCHELL, R. D.; LIM, E. K. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep: role of skin lesions and dipping fluid. **Australian Veterinary Journal**, v. 50, n. 12, p. 337-342, 1984.

NFI, A. N.; NDI, C. N. Caseous lymphadenitis in sheep and goats in Mankon Cameroun. *Bulletin of Animal Health Production in Africa* 42: 163-166. 1994.

NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFD, C. M.; GRAAF, E. A. M. **Application of quantitative methods in veterinary epidemiology**. Wageningen: Wageningen Pers, 445p., 1997.

O'REILLY, K.M., GREEN, L.E., MALONE, F.E., *et al.*, Parameter estimation and simulations of a mathematical model of *Corynebacterium pseudotuberculosis* transmission in sheep. **Preventive Veterinary Medicine** 83, 242–259. 2008.

OLSON, M.E.; CERI, H.; MORCK, D.W.; BURET, A.G.; READ, R.R. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 66, p. 86– 92. 2002.

PACHECO, L.G.C.; PENA, R.R.; CASTRO, T.L.P.; DORELLA, F.A.; BAHIA, R.C.; CARMINATI, R.; FROTA, M.N.L.; OLIVEIRA, S.C.; MEYER, R.; ALVES, F.S.F.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. Multiplex PCR Assay for Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from Pure Cultures and for Rapid Detection of this Pathogen in Clinical Samples. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, p. 480-486. 2007.

PATON, M. W.; MERCY, A. R.; SUTHERLAND, S. S ; ELLIS, T. M.; DUDA, S. R. The effect of antibody to caseous lymphadenitis in ewes on the efficacy of vaccination in lambs, **Australian Veterinary Journal**, v. 68, n. 4, p. 143.146. 1991.

PATON, M. W.; ROSE, I. R.; HART, R. A.; SUTHERLAND, S. S.; MERCY, A. R.; ELLIS, T. M.; DHALIWAL, J. A. New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production. **Australian Veterinary Journal**, v. 71, n. 2, p. 47.49, Fev. 1994.

PATON, M.W. Applying the experience of CLA in the Southern Hemisphere. In: **Proceedings of the Moredun Research**, Institute/Scottish Agricultural College Workshop on Caseous Lymphadenitis, p. 3–15. 2000.

PATON, M.W.; WALKER, S.B.; ROSE, I.R.; WATT, G.F. Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. **Australian Veterinary Journal**, v. 81, p. 91–95. 2003.

PAULE, B. J. A.; AZEVEDO, V.; MOURA-COSTA, L. F.; FREIRE, S. M.; REGIS, L. F.; VALE, V. L. C.; BAHIA, R. C.; CARMINATI, R.; MEYER, R.; SDS-PAGE and Western blot analysis of somatic and extracellular antigens of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 3, n. 1, p. 44 -52. 2003.

PEEL, M. M. PALMER, G. G.; STACPOOLE, A. M.; KERR, T. G. Human lymphadenitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis*: report of ten cases from Australia and review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, n. 2, p. 185.191. 1997.

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

PEPIN, M.; BISRAME, A.; MARLY, J. *Corynebacterium pseudotuberculosis*; biochemical properties, production of toxin and virulence of ovine and caprine strains. **Annales de Recherches Veterinaries**, v. 20, p.111-115. 1989.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. Aspectos Epidemiológicos da Caprinocultura Cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 52, no. 5, p. 534-543. 2001.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, M. A. G.; ALVES, F. S. F.; HADDAD, J. P. A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 534-43. 2000.

PRESCOTT, J. F.; MENZIES, P. I.; HWANG, Y. T. An interferon-gamma assay for diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in adult sheep from a research flock. **Veterinary Microbiology**, v. 88, p. 287-297. 2002.

PUGH, G. D. Sheep and goat medicine. **New York: Elsevier**, 2004.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. *Corynebacterium* species and *Rhodococcus equi* In: QUINN, P. J. **Clinical veterinary microbiology**. London: Wolfe, p. 881-881. 1994

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Doenças causadas por bactérias. In: RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica Veterinária**. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 653-655. 2002.

REBOUÇAS, M. F.; PORTELA, R. W.; LIMA, D. D.; LOUREIRO, D.; BASTOS, D. L.; MOURA-COSTA, L. F.; VALE, V. L.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V.; MEYER, R. *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted antigen-induced specific gamma-interferon production by peripheral blood leukocytes: potential diagnostic marker for caseous lymphadenitis in sheep and goats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 23, p.213–220. 2011.

RIBEIRO, O. C.; SILVA, J. H. da; OLIVEIRA, S. C.; MEYER, R.; FERNANDES, G. B. Dados preliminares sobre uma vacina viva contra a linfadenite caseosa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 461-465. 1991.

SAEG - **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SANTOS, D. C.; MAIA, T. L.; GONÇALVES, R. W.; COSTA, M. D.; SILVA, F.

V.; CARVALHO, Z. G.; SILVA, E. de S. P. Desenvolvimento ponderal de ovinos santa Inês do nascimento a desmama sob regime de pastagem no Norte de Minas. III FORUM DE GESTÃO, PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UNIMONTES – **Anais...**, 2009.

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

SELIM, A.S. Oedematous skin disease of buffalo in Egypt. **Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v. 48, p. 241–258. 2001.

SEYFFERT, N.; GUIMARAES, A.S.; PACHECO, L.G.; PORTELA, R.W.; BASTOS, B.L.; DORELLA, F.A.; HEINEMANN, M.B.; LAGE, A.P.; GOUVEIA, A.M.; MEYER, R.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. High seroprevalence of caseous lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted protein-based ELISA. **Research of Veterinary Science**, v. 88, p. 50-55. 2010.

SHIGIDI, M.T.A. An indirect haemagglutination test for the serodiagnosis of *Corynebacterium ovis* infection in sheep. **Research of Veterinary Science**, v. 24, p. 57-60. 1978.

SILVA, R. B. **Eficácia anti-helmintica do levamisol e albendazol em ovinos criados no Norte de Minas Gerais** – Trabalho de Conclusão de Curso, ICA/ UFMG, Montes Claros/ MG, p. 34, 2010.

SILVA, S. F., SANTOS, A. F., LAUZER J. J., COSTA, D. F. Linfadenite caseosa em ovinos abatidos na região de Campanha do Rio Grande do Sul. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v. 12, n. 2-3, p. 149 – 154. 1982.

SIMMONS, C.P.; DUNSTAN, S.J.; TACHEDJIAN, M.; KRYWULT, J.; HODGSON, A.L.; STRUGNELL, R.A. Vaccine potential of attenuated mutants of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep **Infection and Immunity**, v. 66, p. 474-479. 1998.

SIMMONS, C.P.; HODGSON, A.L.; STRUGNELL, R.A. Attenuation and vaccine potential of aroQ mutants of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Infection and Immunity**, v. 65, p. 3048-3065. 1997.

SMITH, I. J.; SQUIRES, M. B.; MCGREGOR, H. Caseous lymphadenitis: an increasing cause for concern. **Veterinary Record**, v. 140, p. 635. 1997.

SMITH, P. B. **Large animal internal medicine**. 4th St. Louis: Mosby; 2003.

SOBRINHO, A. G. S. **Principais Enfermidades dos Ovinos**. In: Criação de ovinos. 2^o ed. Jaboticabal: Funep. p. 220-221, 2001.

SONGER, J. G. BECKENBACH, K.; MARSHALL, M. M.; OLSON, G. B.; KELLEY, L. Biochemical and genetic characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **American Journal of Veterinary Research**, n. 49, v. 2, p. 223-226. 1988.

SONGER, J.G. The Genus *Corynebacterium*. In: SONGER, J.G. **Veterinary microbiology: bacterial and fungal agents of animal disease**. St. Louis: Elsevier Saunders, p. 72-80. 2005.

TACHEDJIAN, M.; KRYWULT, J.; MOORE, R.J.; HODGSON, A.L.M. Caseous lymphadenitis vaccine development: site-specific inactivation of the *Corynebacterium pseudotuberculosis* phospholipase D gene. **Vaccine**, v. 13, p. 1785-1792. 1995.

TER, LAAK E.A.; BOSCH, J.; BIJL, G.C.; SCHREUDER, B.E. Double-antibody sandwich enzymelinked immunosorbent assay and immunoblot analysis used for control of caseous lymphadenitis in goats and sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, p. 1125– 1132, 1992.

TINÔCO, A. L. A. **Diagnóstico de situação da ovinocaprinocultura em três municípios do sertão baiano - Euclides da Cunha, Quijingue, Monte Santo-Bahia**, 1981/1982. Seminário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais Departamento de Medicina Veterinária Preventiva; 1983.

UNANIAN, M. M.; FELICIANO SILVA, A. E. D.; PANT, K. P. Abscesses and caseous lymphadenitis in goats in tropical semi-arid North-east Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 17, n. 1, p. 57-62. 1985.

VESCHI, J. L. Linfadenite caseosa. In: VII ENCONTRO DE CAPRINOCULTORES DO SUL DE MINAS E MÉDIA MOGIANA, 2005, Espírito Santo do Pinhal. **Anais...** Disponível em < <http://www.caprítec.com.br/> >. Acesso em 16 de abr. de 2011.

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

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

WINTER, A. C. Caseous lymphadenitis: an increasing cause for concern. **Veterinary Record**, v.140, n. 23, p.611. 1997.

XU, H.; LOHR, J.; GREINER, M. The selection of ELISA cut-off points for testing antibody to Newcastle disease by two-graph receiver operating characteristic (TG-ROC) analysis. **Journal Immunology Methods**, v. 208, p. 61-64. 1997.

YERUHAM, I.; BRAVERMAN, Y.; SHPIGEL, N.Y.; CHIZOV-GINBURG, A.; SARAN, A.; WINKLER, M. Mastitis in dairy cattle caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* and the feasibility of transmission by houseflies. **Vet. Q.**, v. 18, p. 87–89, 1996.

YORINORI, E. H.; GOUVEIA, A. M. G. **Características dos sistemas de produção de pequenos ruminantes e prevalências da artrite-encefalite caprina (CAE) e Maedi- Visna (MV) ovina, nas regiões norte e nordeste de Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado). Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG 2001.

ZERBINATI, J.; GREVE, I. C.; LEAL, R. F.; AMORIN, L. M. P. V.; SILVA, D. L.; VIEGAS, S. R. A. A.; PEIXOTO, A. P. C.; CARMINATI, R.; CERQUEIRA, R. B. Produção e padronização de um antígeno para um teste elisa indireto no diagnóstico da linfadenite caseosa em soros caprinos. **Revista Acadêmica**, v. 5, n. 3, p. 285-293. 2007.

**ANEXO A – Certificado do CETEA/UFMG relativo ao projeto:
“Caracterização de antígenos de *Corynebacterium pseudotuberculosis*
para o diagnóstico da linfadenite caseosa subclínica em ovinos e
caprinos através de um teste de pele.”**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 160/2007**, relativo ao projeto intitulado **“Caracterização de antígenos de *Corynebacterium pseudotuberculosis* para o diagnóstico da linfadenite caseosa subclínica em ovinos e caprinos através de um teste de pele”**, que tem como responsável **Vasco Ariston de Carvalho Azevedo**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **19/ 12/2007**.

Este certificado expira-se em **19/ 12 / 2012**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 160/2007**, related to the project entitled **“Characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* antigens for subclinical diagnosis of caseous lymphadenitis in goat and sheep by skin test”**, under the supervision of **Vasco Ariston de Carvalho Azevedo**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **December 19, 2007**.

This certificate expires in **December 19, 2012**.

Belo Horizonte, 21 de Dezembro de 2007.

Prof. Humberto Pereira Oliveira
Coordenador do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4516
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br

ANEXO B- QUESTIONÁRIO**Nome:****Propriedade:****Criação:****1. Possui acompanhamento de veterinário:** Sim Não**2. Realiza aquisição de animais:** No estado de Minas Gerais Em outros estados**3. Realiza trânsito de animais entre propriedade vizinhas:** Sim Não**4. Conhece a Linfadenite Caseosa:** Sim Não**5. Separa os animais doentes:** Sim Não**6. Incinera o material drenado:** Sim Não**7. Vacina contra a linfadenite caseosa:** Sim Não