

RHODOCOCCLUS EQUI: SOROLOGIA E AVALIAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA PASSIVA DE ANTICORPOS PARA POTROS

RHODOCOCCLUS EQUI: SEROLOGY AND EVALUATION OF PASSIVE ANTIBODY TRANSFERENCE TO FOALS

Andrea Lazzari¹ Agueda Castagna de Vargas² Lúcia Niederauer Weiss³
Carlos Horácio Borges⁴

RESUMO

Objetivando esclarecer alguns aspectos relacionados à sorologia e a transferência passiva de anticorpos contra o *Rhodococcus equi* em potros, foram testadas pela técnica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) amostras de soro e colostro de duas populações distintas de eqüinos. A primeira população era constituída por 59 potros e suas mães, de um haras onde não se efetuava a vacinação contra esta bactéria. Do total de potros, 32,2% (19/59) mostraram anticorpos contra este agente. No colostro foram detectados anticorpos em 30,5% (18/59) das amostras, entretanto, não se observou transferência passiva de anticorpos. A segunda população, constituída por 12 éguas prenhas, foi submetida à vacinação contra o *Rhodococcus equi*, sendo testados soro e colostro das éguas e soro de seus respectivos potros. Antes da vacinação todas as fêmeas mostraram-se soronegativas. Após, 91,6% (11/12) foram positivas ao teste de IDGA. Nas amostras de colostro e soro dos potros, os percentuais de positividade foram de 75% (9/12) e 66,7% (8/12), respectivamente. Observou-se a transferência passiva de anticorpos para os potros, tendo esta, relação com a ingestão de colostro positivo.

Palavras-chave: *Rhodococcus equi*, imunidade, anticorpos, vacina, colostro, eqüino.

SUMMARY

Two equine populations were evaluated in relation to serology and passive antibodies against *Rhodococcus equi*. The

first population had 59 foals with no history of mare vaccination against *Rhodococcus equi*. The foals sera samples and the mare colostrum were examined with the agar gel immunodiffusion test. Antibodies were detected in 32.2% of the foals and also 30.5% (18/59) of colostrum samples examined. However, no passive antibody transfer was observed. The second population, 12 pregnant mares were vaccinated against *Rhodococcus equi*. Before the vaccination, all mares were seronegative. After vaccination, 91.6% (11/12) of the vaccinated mares were positive on the serologic test. In mare colostrum and foals sera, positive results were 75% (9/12) and 66.7% (8/12) respectively. Passive antibody transmission was observed in the foals and there was a relationship with ingestion of positive colostrum.

Key words: *Rhodococcus equi*, immunity, antibody, vaccine, colostrum, equine.

INTRODUÇÃO

O *Rhodococcus equi* foi identificado pela primeira vez em 1923 por Magnusson, de casos de pneumonia em potros na Suécia (BARTON & HUGHES, 1980). Esta bactéria possui uma distribuição mundial, tendo sido isolada de solos contaminados por fezes de eqüinos e de outros herbívoros (KNOTTENBELT, 1993). Sua presença no

¹Médico Veterinário, aluno do Curso de Pós-graduação (área de Medicina Veterinária Preventiva), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97119-900 - Santa Maria, RS.

²Médico Veterinário, MsC, Professor Assistente, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UFSM, RS, Brasil. Fax (055)226-2347. Email:AGUEDA at super.ufsm.br. Autor para correspondência.

³Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária da UFSM.

⁴Médico Veterinário autônomo.

trato gastrointestinal de eqüinos saudáveis sugere associação à flora intestinal normal desta espécie (TAKAI & TSUBAKI, 1985). Segundo GASKIN *et al.* (1990), este agente bacteriano tornou-se mundialmente importante como causa de broncopneumonia com abscedação pulmonar em potros, entre o 2º e 6º mês de idade, o que coincide com o período de transição entre a imunidade passiva e a ativa (PRESCOTT & HOFFMAN, 1993). LANGONI *et al.* (1994) em um levantamento de amostras laboratoriais, encontrou o *Rhodococcus equi* como o 2º microrganismo mais prevalente em isolamentos de pulmão e lavados tráqueo-bronquiais de eqüinos da região de Botucatu, Brasil.

Atribui-se a esta bactéria em torno de 3% das mortes em potros, sendo que nos casos de surto esta mortalidade pode chegar à 20% (TAKAI *et al.*, 1993). Na Argentina, BECU (1994) encontrou um percentual de mortalidade de 2-8% em haras de criação da raça Puro Sangue de Corrida. FERNANDEZ & ESTEIN (1994), também na Argentina, registraram uma taxa de mortalidade de 17-22% em haras endêmicos. Estes percentuais são alcançados pela dificuldade do estabelecimento de um diagnóstico precoce (KNOTTENBELT, 1993). No entanto, os testes sorológicos podem ser utilizados como indicadores precoces desta infecção, permitindo a intervenção terapêutica antes do avanço das lesões e evidências clínicas da doença (GASKIN *et al.*, 1990).

Estudos relativos à imunidade humoral demonstraram que a opsonização por anticorpos específicos é de grande importância no aumento da adesão e morte do microrganismo por macrófagos e neutrófilos (SANADA *et al.*, 1992). MARTENS *et al.* (1989) demonstram este fato pela capacidade da imunoprofilaxia passiva, através do plasma hiperimune, alterar a progressão clínica da pneumonia causada pelo *Rhodococcus equi*. TAKAI *et al.* (1991) sugerem que a vacinação parenteral de éguas e a administração de plasma hiperimune à potros podem ser opções viáveis para o controle desta enfermidade. Entretanto, MADIGAN (1994) citou que os anticorpos derivados do colostro de éguas vacinadas contra o *Rhodococcus equi* não protegeriam os potros contra a pneumonia causada por este agente.

Apesar da importância desta enfermidade, existem poucas informações e registros sorológicos no Brasil. Os objetivos do presente estudo foram pesquisar anticorpos contra o *R. equi* no soro de éguas, potros e colostro de eqüinos vacinados e não vacinados contra esta bactéria, e avaliar a transferência passiva de anticorpos para potros.

MATERIAIS E MÉTODOS

Eqüinos não vacinados:

Foram analisadas amostras de soro sangüíneo de 59 potros provenientes de um haras do Estado do Paraná. A coleta foi realizada às 3, 6, 12, 18 e 24 horas e ao 7º, 14º, 21º, 28º, 35º, 42º, 49º, 56º, 71º, 86º, 101º, 116º, 161º e 176º dias após o parto. As amostras de colostro foram coletadas logo após o parto, antes da primeira mamada.

Eqüinos vacinados:

O soro sangüíneo de 12 éguas prenhas, vacinadas contra o *R. equi*, foi obtido de um haras do Estado do Rio Grande do Sul. As coletas foram realizadas antes da 1ª, 2ª e 3ª dose da vacina e 15 dias após a última aplicação da vacina. Para a determinação da transferência passiva de anticorpos contra este agente, o soro sangüíneo dos 12 potros, filhos das éguas vacinadas, foi coletado 24 horas após o nascimento (após ingestão do colostro). A pesquisa de anticorpos no colostro foi realizada em amostras coletadas logo após o parto, antes da primeira mamada dos potros. Nas 12 éguas prenhas foi utilizada uma vacina **importada**, produzida a partir da cepa Joaquim 89-Curitiba, Paraná. O esquema de vacinação foi de 1ml subcutâneo aos 50-40 e 30 dias pré-parto.

Técnica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA):

As amostras coletadas foram submetidas à técnica sorológica de IDGA. Para a realização da técnica foram produzidos o antígeno e o soro controle, segundo descrição feita por NAKAZAWA (1980) e SKALKA & SVASTOVÁ (1984) respectivamente. O antígeno foi preparado a partir da cepa SB 17/91, isolada no laboratório de bacteriologia da UFSM. Esta cepa foi obtida do pulmão de um potro com pneumonia piogranulomatosa proveniente de um haras do Estado do Paraná. Os resultados obtidos foram analisados pelo teste do qui-quadrado. As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05\%$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Eqüinos não vacinados contra o *Rhodococcus equi*:

Através da análise de amostras coletadas de um haras onde nunca se efetuou a vacinação de fêmeas prenhas contra o *R. equi*, alguns aspectos relacionados

com o número de animais positivos e a transferência passiva de anticorpos contra este agente para os potros foram elucidados.

Dos 59 potros que tiveram o soro coletado, 32,2% (19/59) apresentaram anticorpos contra o *R. equi*, e 67,8% (40/59) foram negativos. Nas diferentes datas de coleta do soro dos potros, revelou-se uma persistência média de anticorpos contra o *R. equi* de 38 dias, sendo que o mínimo e o máximo desta persistência foi de 7 e 126 dias. Este achado demonstra que nesta população não vacinada, os potros apresentaram uma variação bastante ampla na persistência de anticorpos contra esta bactéria. A data de coleta onde primeiro se detectou anticorpos específicos foi a do 28º dia em 2,6% das amostras de potros positivos. O maior percentual de positividade foi observado no 56º dia (18,2%). Os dados referentes à vida média dos anticorpos contra o *Rhodococcus equi* e as datas de coleta dos potros estão representados na Figura 1.

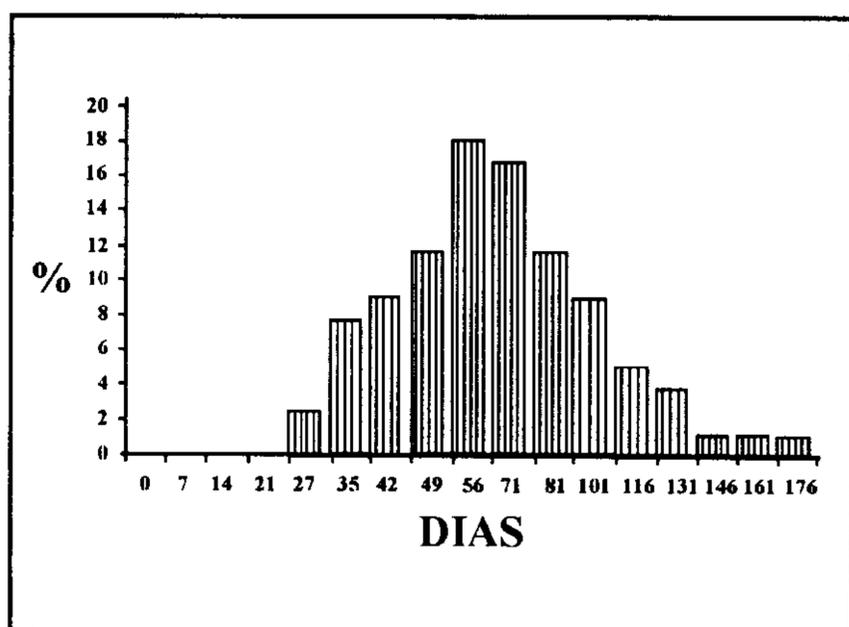


Figura 1. Detecção de anticorpos contra o *Rhodococcus equi* no soro de potros de acordo com o período de coleta.

As amostras de colostro em estudo apresentaram 30,5% (18/59) de positividade para anticorpos contra esta bactéria, sendo os demais negativos. A análise estatística mostrou que não houve relação entre a presença de anticorpos contra o *Rhodococcus equi* no colostro e o início do aparecimento dos mesmos no soro sanguíneo dos potros.

São poucos os registros sobre estudos sorológicos, o que dificulta a discussão. O percentual de potros soropositivos neste trabalho (32,2%) é superior ao encontrado por SANADA *et al.* (1992) no Japão, que foi de 11% e por GASKIN *et al.* (1990) em Kentucky (EUA), que foi de 12%. Isto talvez se deva

a maior contaminação ambiental e ou manejo predisponente a infecção por este agente na propriedade em estudo. No período da realização deste estudo ocorreram surtos desta enfermidade. Autores como SKALKA (1987) descrevem que a soropositividade de potros pode estar associada com a presença ou mesmo com a ausência de história de doença por este agente.

A detecção de 2,6% de potros soropositivos somente a partir da coleta do 28º dia e a presença de 30,5% de amostras de colostro positivo, demonstra que não houve transferência passiva de anticorpos (Figura 1). Pela característica coprofágica dos potros, as fezes das mães e o solo são fontes essenciais para a colonização inicial pelo *Rhodococcus equi* (DEBEY & BAILIE, 1987). Isto leva à crer que a soroconversão a partir do 28º dia de vida, pode estar relacionada ao contato dos potros nas 3 primeiras semanas após o nascimento com o agente presente no meio ambiente. Tal constatação encontra respaldo em GASKIN *et al.* (1990), citando que a inoculação do antígeno de *R. equi* a partir da primeira semana de vida resulta em resposta imune mensurável pela IDGA sete dias após sua aplicação.

Eqüinos vacinados contra o *Rhodococcus equi*:

As 12 éguas prenhas utilizadas foram negativas à técnica de IDGA antes da vacinação. Quinze dias após a aplicação da 3ª dose da vacina, 91,6% (11/12) das éguas apresentaram anticorpos contra o *Rhodococcus equi*. O colostro destas éguas mostrou uma positividade de 75% (9/12).

Analisando os dados referentes às fêmeas com colostro positivo e potros com sorologia positiva ao *R. equi*, se observou que 89% (8/9) dos potros que receberam colostro com anticorpos contra esta bactéria foram positivos à técnica de IDGA (Figura 2). Um percentual de 11% (1/9), mesmo recebendo colostro positivo, não apresentou anticorpos detectáveis neste teste. Todos os potros que receberam colostro negativo para anticorpos contra o *R. equi* permaneceram soronegativos nas 24 horas após ingestão do colostro. A presença de anticorpos no soro dos potros está relacionada com a positividade para o *R. equi* no colostro de suas mães ($P < 0,01\%$).

As pesquisas sobre vacinas ocorreram a partir da demonstração feita por HIETALA & ARDANS (1987) de que macrófagos alveolares de potros sensibilizados por este agente possuíam uma capacidade mais elevada para destruir esta bactéria. Neste estudo, se observou que a vacina foi capaz de

estimular a produção de anticorpos específicos contra o *R. equi*, corroborando achados de MARTENS *et al.* (1991). O percentual de positividade encontrado nos potros (66,7%) foi inferior ao encontrado por BECU (1994) na Argentina que foi de 85%, isto pode ser atribuído às diferenças das populações estudadas bem como à vacina empregada. A transferência passiva de anticorpos contra o *R. equi* para os potros está significativamente relacionada com a presença de imunoglobulinas específicas no soro sanguíneo e colostro de suas respectivas mães. A transmissão passiva foi também observada por TAKAI *et al.* (1985) e MADIGAN *et al.* (1991), tendo este último descrito que éguas prenhas imunizadas tiveram altos títulos de anticorpos no colostro e poucos potros apresentaram falha na transferência passiva.

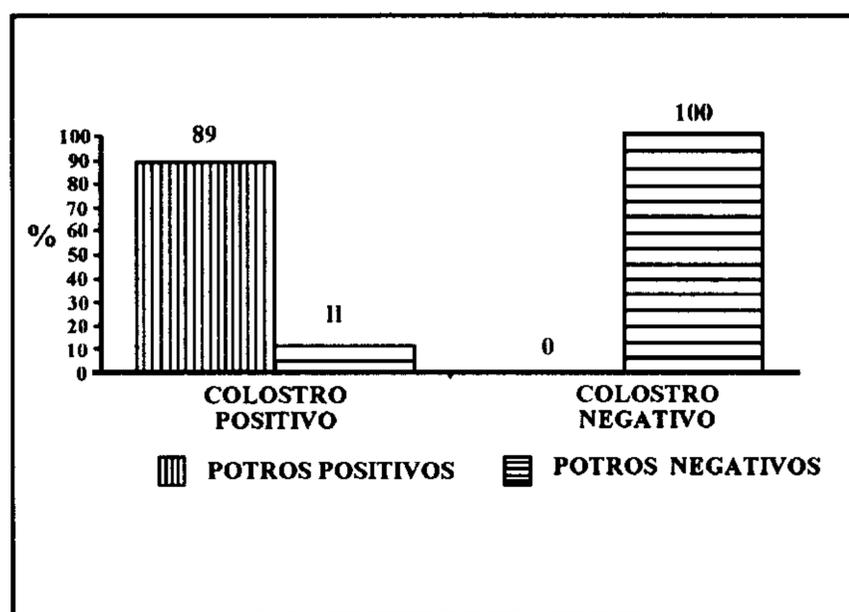


Figura 2. Relação entre a positividade de anticorpos contra o *Rhodococcus equi* nas amostras de colostro e soro sanguíneo dos potros.

Embora o relato da diminuição de casos clínicos provocados pelo *Rhodococcus equi* (de 26,1% para 6,4%) e da mortalidade (de 69,6% para 20%) na população vacinada, permanece a dúvida do efeito protetor dos anticorpos transferidos passivamente pelo colostro e da importância da vacinação de éguas prenhas. Várias medidas de manejo adotadas provavelmente contribuíram para esta melhora. Existe portanto, a necessidade de maiores estudos para a elucidação destas questões, bem como o conhecimento da situação epidemiológica da região estudada.

CONCLUSÕES

Mediante os resultados obtidos neste trabalho e as condições em que foi realizado, pode-se concluir que:

- éguas não vacinadas que apresentam anticorpos em seus colostros não são capazes de transmitir imunidade passiva para seus potros. Não há relação entre a presença de anticorpos contra o *Rhodococcus equi* no colostro e o início do aparecimento dos mesmos no soro sanguíneo dos potros;

- em éguas vacinadas para *R. equi* ocorre a transferência passiva de anticorpos existindo uma relação entre a presença destes no colostro e no soro de seus respectivos potros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTON, M.D., HUGHES, K.L. *Corynebacterium equi*: a review. *Veterinary Bulletin*, v. 50, n. 2, p. 65-80, 1980.
- BECU, T. *Rhodococcus equi*: Diagnostico serologico e imunoprofilaxis; experiencias clinicas y de laboratorio en la República Argentina. In: EQUÍNE MEDICINE CONGRESS, 1994, São Paulo. *Proceedings...* Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1994, 256 p. p. 220.
- DEBEY, M.C., BAILIE, W.E. *Rhodococcus equi* in fecal and environment samples from Kansas horse farms. *Veterinary Microbiology*, v. 14, n. 3, p. 251-258, 1987.
- FERNANDEZ, A.S., ESTEIN, S. Analisis antigenico de cepas de *Rhodococcus equi* aisladas en Argentina. In: EQUÍNE MEDICINE CONGRESS, 1994, São Paulo. *Proceedings...* Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1994, 256 p. p. 222.
- GASKIN, J.M., KING, R.R., LANE, T.J. *et al.* Serological detection of *Rhodococcus equi* infections of foals. In: ACIM FORUM., 1990, Washington. *Proceedings...* Washington, 1990.
- HIETALA, S.K., ARDANS, A.A. Interation of *Rhodococcus equi* with phagocytic cells from *R. equi* exposed and nonexposed foals. *Veterinary Microbiology*, v. 14, p. 307-320, 1987.
- KNOTTENBELT, D.C. *Rhodococcus equi* infection in foals: a report of an outbreak on a thoroughbred stud in Zimbabwe. *Veterinary Record*, v. 132, p. 79-85, 1993.
- LANGONI, H., DA SILVA, A.V., RASMUSSEN, R., *et al.* Contribuição ao estudo da etiologia da pneumonia na espécie eqüina. In: EQUÍNE MEDICINE CONGRESS, 1994, São Paulo. *Proceedings...* Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1994, 225 p. p. 218.
- MADIGAN, J.E., HIETALA, S., MULLER, N. Protection against naturally acquired *Rhodococcus equi* pneumonia in foals by administration of hyperimmune plasma. *Journal of Reproduction and Fertility*, supplement n. 44, p. 571-578, 1991.
- MADIGAN, J.E. *Rhodococcus equi* immunoprophylaxis. In: EQUÍNE MEDICINE CONGRESS, 1994, São Paulo. *Proceedings...* Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1994, 256 p., p. 110-111.

- MARTENS, R.J., MARTENS, J.G., FISKE, R.A. *Rhodococcus equi* foal pneumonia: Protective effects of immune plasma in experimentally infected foals. *Equine Veterinary Journal*, v. 21, n. 4, p. 249-255, 1989.
- MARTENS, R.J., MARTENS, J.G., FISKE, R.A. Failure of passive immunization by colostrum from immunised mares to protect foals against *Rhodococcus equi* pneumonia. *Equine Veterinary Journal*, supplement n. 12, p. 19-22, 1991.
- NAKAZAWA, M. Detection of colt serum antibody against *Corynebacterium equi* by agar gel diffusion. *Japanese Journal Veterinary Science*, v. 42, p. 551-555, 1980.
- PRESCOTT, J.F., HOFFMAN, A.M. *Rhodococcus equi*. *Veterinary Clinics of North America, Equine Practice*, v. 9, n. 2, p. 375-384, 1993.
- SANADA, Y., NODA, H., NAGAHATA, H. Serological survey of *Rhodococcus equi* infection in horses in Hokkaido. *Journal Veterinary Medicine Science*, v. 54, n. 4, p. 649-659, 1992.
- SKALKA, B., SVASTOVÁ, A. Two techniques for detection of antibodies against *Corynebacterium (Rhodococcus) equi* in horse sera. *Veterinary Microbiology*, v. 10, p. 239-300, 1984.
- SKALKA, B. Dynamics of equi-factor antibodies in sera of foals kept on farms with differing histories of *Rhodococcus equi* pneumonia. *Veterinary Microbiology*, v. 14, n. 3, p. 269-276, 1987.
- TAKAI, S., KAWAZU, S., TSUBAKI, S. Enzyme linked immunosorbent assay diagnosis of *Corynebacterium (Rhodococcus) equi* in foals. *American Journal Veterinary Research*, v. 46, p. 2166-2170, 1985.
- TAKAI, S., TSUBAKI, S. The incidence of *Rhodococcus (Corynebacterium) equi* in domestic animals and soil. *Japanese Journal Veterinary Science*, v. 47, n. 3, p. 493-496, 1985.
- TAKAI, S., KOIKE, K., OHBUSHI, S., IZUMI, C., TSUBAKI, S. Identification of 15-to 17-Kilodalton antigens associated with virulent *Rhodococcus equi*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 29, n. 3, p. 439-443, 1991.
- TAKAI, S., SUGAWARA, T., WATANABE, Y. *et al.* Effect of growth temperature on maintenance of virulent *Rhodococcus equi*. *Veterinary Microbiology*, v. 39, p. 187-192, 1993.

Ciência Rural, v. 26, n. 2, 1996.