

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

ISOLAMENTO DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS* NO SÊMEN DE UM CARNEIRO NA REGIÃO CENTRAL DO RIO GRANDE DO SULE.V. Camargo^{1*}, C.S. Barboza¹, C. Krewer¹, A.P.C. Vargas¹, M. Cecim², M.L.R. Leal¹

Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Grandes Animais, Rua Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: emmanuelvcamargo@hotmail.com

RESUMO

O presente trabalho descreve o isolamento do *Corynebacterium pseudotuberculosis* no sêmen de um carneiro da raça Suffolk proveniente do Município de São Martinho da Serra, RS. Ao exame físico constatou-se aumento de volume subcutâneo aderido à pele, junto à inserção do escroto, próximo ao plexo pampiniforme esquerdo. Realizou-se exame andrológico com coleta de sêmen e, posteriormente, punção no local da lesão, obtendo-se material viscoso de coloração amarelo esverdeado. As amostras coletadas (sêmen e material obtido da punção) foram enviadas ao LABAC (Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria) para realização de cultura bacteriana. Em ambas as amostras, foi isolado o cocobacilo Gram positivo denominado *C. pseudotuberculosis*.

PALAVRAS-CHAVE: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, linfadenite caseosa, ovinos, sêmen.

ABSTRACT

ISOLATION OF *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS* FROM THE SEMEN OF A SHEEP IN THE CENTRAL REGION OF RIOGRANDE DOSUL, BRAZIL. The present paper describes the isolation of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from a semen sample of a Suffolk ram from São Martinho da Serra County, state of Rio Grande do Sul, Brazil. Physical examination revealed a subcutaneous mass close to the insertion of the scrotum, more specifically around the left pampiniform plexus. A routine andrological exam with semen collection was performed. Also, the mass was aspirated yielding a viscous greenish material. Samples were sent to a bacteriology lab for culture and identification. Gram positive coccobacillus *C. pseudotuberculosis* was isolated from both samples.

KEY WORDS: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, caseous lymphadenitis, sheep, semen.

Atualmente, a importância econômica da ovinocultura gaúcha é expressa pelo grande crescimento dos rebanhos voltados à produção de carne em sistema intensivo de produção, facilitando, de certa forma, a instalação e disseminação de doenças de caráter contagioso, envolvendo vários animais de um mesmo rebanho.

Corynebacterium pseudotuberculosis, agente causador da linfadenite caseosa, é um bacilo Gram-positivo, curto e pleomórfico, pertencente ao grupo dos Actinomicetes, que muitas vezes apresenta-se na forma cocoide isolado ou formando grupamentos irregulares (QUINN *et al.*, 1994). O potencial desse agente de sobreviver por muitas semanas no ambiente, contribui para sua disseminação no rebanho, característica essa que provoca perdas econômicas advindas da redução progressiva no ganho de peso, diminuição

da produção de leite, carne, lã e, eventualmente, morte causada por toxemia (CETINKAYA *et al.*, 2002; DORELLA *et al.*, 2006). A linfadenite caseosa é uma doença infecciosa crônica caracterizada pela formação de piogranulomas em caprinos e ovinos e, ocasionalmente, em bovinos e humanos (MCKEAN *et al.*, 2005; BAIRD; FONTAINE, 2007). Sua prevalência é elevada em rebanhos ovino e caprino em vários países do mundo (DORELLA *et al.*, 2006), como a Austrália, onde os prejuízos chegam a US\$ 15 milhões anuais (PATON *et al.*, 2003) e o Brasil, com a maior incidência dessa afecção no Nordeste, Centro-Oeste e Norte do País (CARMINATTI *et al.*, 2003). No entanto, apesar de ser uma doença que acarreta grandes prejuízos para a ovinocultura nacional, o isolamento desse agente no sêmen de animais de produção ainda não havia sido citado na literatura nacional.

O presente relato descreve o isolamento do *C.*

²Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Santa Maria, RS, Brasil.

*Aluno de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFSM.

pseudotuberculosis no sêmen de carneiro oriundo da região Central do Rio Grande do Sul, e reforça a necessidade imediata de medidas de controle e profilaxia desse micro-organismo no ambiente de produção animal.

Foi atendido no Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) um carneiro da raça Suffolk, três anos de idade, pesando 80 kg, com um aumento de volume subcutâneo aderido à pele, na inserção do escroto, próximo ao plexo pampiniforme esquerdo, com um mês de evolução, sem histórico prévio de trauma na referida região. Ao exame físico observou-se rubor local, dor à palpação e espessamento do cordão espermático adjacente. A lesão apresentava-se na forma de uma massa esférica, firme à palpação, com pontos de flutuação (Fig. 1). Por ser o carneiro um dos principais reprodutores da cabanha, realizou-se exame andrológico com coleta de sêmen. No local da lesão foi realizada punção, de forma asséptica, com obtenção de material de aspecto purulento de cor esverdeada (Fig. 2).

O material puncionado do abscesso foi enviado ao Laboratório de Bacteriologia Veterinária da UFSM (LABAC), juntamente com uma amostra do sêmen obtida pelo método de eletro ejaculação. As amostras foram semeadas em ágar nutriente sangue ovino a 5% e ágar Mac Conkey. As placas foram incubadas a 37° C por 48 horas em aerobiose. Após o período de incubação, verificou-se, no ágar sangue, o desenvolvimento de colônias beta hemolíticas, branco-acinzentadas, secas e opacas (Fig. 4). Não foi observado crescimento bacteriano em ágar Mac Conkey. A coloração de Gram revelou cocobacilos Gram positivos (Fig. 3). Além disso, o micro-organismo isolado foi positivo aos testes de catalase e produção de urease e não redutor de nitrato. No teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, observou-se sensibilidade à rifampicina, lincomicina, azitromicina, penicilina, tetraciclina, eritromicina, ceftiofur, gentamicina e sulfazotrin e resistência à polimixina. Com base nas características morfológicas, tintoriais e bioquímicas das culturas (QUINN *et al.*, 1994), o isolado foi identificado como *C. pseudotuberculosis*.

A patogenia da doença causada pelo *C. pseudotuberculosis* ainda não está bem elucidada (linfadenite caseosa). A transmissão da doença entre os pequenos ruminantes pode ocorrer pela via oral, nasal e vaginal, sendo facilitada por pequenos ferimentos superficiais mediante contato de animais sadios com animais portadores de abscessos que evoluem até a supuração contaminando, por longo tempo, o meio ambiente. Sabe-se que a fosfolipase D produzida pelo *C. pseudotuberculosis* promove um aumento na permeabilidade vascular e ruptura de pequenos vasos sanguíneos no local da

lesão e, conseqüentemente, extravasamento de plasma, facilitando a difusão da bactéria aos locais de drenagem linfática desenvolvendo nesses linfonodos múltiplos piogranulomas que coalescem em um único e grande abscesso (SANCHES, 2008; BAIRD; FONTAINE, 2007).

O carneiro é o principal responsável pelo melhoramento genético dentro do rebanho, tendo grande importância na eficiência do sistema de produção devido a sua alta capacidade de serviço, podendo fertilizar mais de 50 fêmeas sob condições naturais durante uma estação de monta (MANDIKI *et al.*, 1998). Na ocasião da cópula, proporciona-se um contato direto das mucosas peniana e vaginal com intensa abrasão entre elas, podendo ocasionar pequenas lesões no trato reprodutivo da fêmea. Essas lesões vaginais, em contato com o sêmen contaminado pelo *C. pseudotuberculosis*, servem como porta de entrada do agente a um novo hospedeiro, alcançando a linfa e atingindo os linfonodos regionais; a partir disso ocorre infecção sistêmica perpetuando a disseminação do agente no rebanho (CETINKAYA *et al.*, 2002; BAIRD; FONTAINE, 2007).

Significante proporção de carneiros apresenta lesões escrotais palpáveis que não envolvem o testículos ou epidídimo. *C. pseudotuberculosis* foi isolado de cultura de material proveniente dessas lesões que geralmente são observadas no alto do escroto e prontamente distinguidas das lesões epididimais causadas por *Brucella ovis* e *Actinobacillus seminus* (JUBB *et al.*, 1979). Em estudo realizado na Universidade de Murdoch, na Austrália, objetivando determinar a presença lesões ou de bactérias no escroto que poderiam afetar a qualidade seminal de carneiros, WILLIAMSON; NAIRN (1980) examinaram 200 animais durante atendimento de rotina veterinária; 20 animais apresentaram abscessos escrotais palpáveis. Como resultado do estudo, *C. pseudotuberculosis* foi detectado nas lesões caracterizadas como abscessos em 13 animais, porém, a bactéria não foi encontrada no sêmen de nenhum carneiro e a qualidade seminal estava normal em todos os animais. Dessa maneira, salienta-se a importância deste caso frente aos estudos já realizados, visto que o carneiro em questão apresentou lesão escrotal associada à cultura microbiológica seminal positiva para *C. pseudotuberculosis*.

Alternativas de controle desse agente têm apresentado pouco sucesso em decorrência do escasso conhecimento dos produtores sobre as formas de sua transmissão e controle, como tratamento de umbigo, limpeza das instalações e retirada de abscessos antes que se rompam espontaneamente (ALVES; PINHEIRO, 2004), mas principalmente pela dificuldade de identificar os animais acometidos (BAIRD; FONTAINE, 2007).



Fig. 1 - Carneiro Suffolk, 3 anos com aumento de volume na região de inserção do escroto e próximo ao plexo pampiniforme esquerdo.



Fig. 2 - Conteúdo viscoso de coloração amarelo esverdeada obtido por punção aspiratória do abscesso.

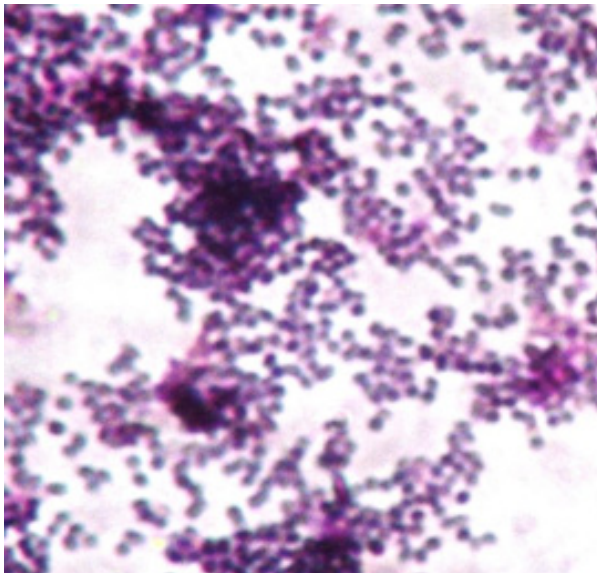


Fig. 3 - Verificação de cocobacilos Gram positivos pela Coloração de Gram.



Fig. 4 - Cultivo bacteriano de 48 horas em ágar sangue ovino, demonstrando colônias beta hemolíticas, branco-acinzentadas, secas e opacas.

A aplicação de antibióticos e quimioterápicos para o tratamento de animais infectados pelo *C. pseudotuberculosis* é uma forma pouco econômica e não apresenta bons resultados em decorrência das limitadas concentrações desses produtos no foco da lesão, sendo a erradicação dos animais do rebanho a melhor forma de controle da disseminação do agente no rebanho (JOHNSON *et al.*, 1993; BAIRD; FONTAINE, 2007). Assim, visando à redução da incidência da doença no rebanho, prioriza-se a adoção de medidas profiláticas,

tais como: inspeção periódica dos animais, isolamento de animais portadores de abscessos, incisão cirúrgica antes que os abscessos se rompam espontaneamente e o descarte desses animais acometidos (ALVES; PINHEIRO, 2004; PATON *et al.*, 2003; BAIRD; FONTAINE, 2007).

Por ser a infecção causada pelo *C. pseudotuberculosis* de difícil tratamento e controle, recomendou-se ao proprietário da Cabanha o descarte do reprodutor. Diante das perdas econômicas causadas pelo agente,

é de suma importância que os criadores de ovinos mantenham condições de sanidade do rebanho e façam o descarte dos animais acometidos. Portanto, deve-se salientar a relevância da possível contaminação do sêmen dos reprodutores ovinos pelo *C. pseudotuberculosis*.

REFERÊNCIAS

- ALVES, F.S.F.; PINHEIRO, R.R. Epididimite-orquite causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.26, n.1, p.11-15, 2004.
- 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.
- CARMINATTI, R.; BAHIA, R.; COSTA, L.F.M.; PAULE, B.J.A.; VALE, V.L.; REGIS, L.; FREIRE, S.M.; NASCIMENTO, I.; SCHAEER, 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.2, p.88-93, 2003.
- CETINKAYA, B.; KARAHAN, M.; DE BAERE, R.K.T.; VANECHOUTTE, M. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. *Veterinary Microbiology*, v. 88, n.1, p.75-83, 2002.
- 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, n.2, p.201-218, 2006.
- JOHNSON, E. H.; VIDAL, C.E.S.; SANTA ROSA, J.; KASS, P.H. Observations on goats experimentally infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Small Ruminant Research*, v.12, n.3, p.357-369, 1993.
- JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. *Pathology of domestic animals*. 2.ed. New York: Academic Press 1979.
- MANDIKI, S.N.M.; DERYCKE, G.; BISTER, J.L.; PAQUAY, R. Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and Ile-de-France rams. 1. Testicular size, semen quality and reproductive capacity. *Small Ruminant Research*, v.28, n.1, p.67-79, 1998.
- McKEAN, S.; DAVIS, J.; MOORE, R. Identification of macrophage induced genes of *Corynebacterium pseudotuberculosis* by differential fluorescence induction. *Microbes and Infection*, v.7, n.13, p.1352-1363, 2005.
- 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*, n.81, p.91-95, 2003.
- QUINN, P.J; CARTER, M.E.; MARKEY, B.; CARTER, G.R. *Clinical veterinary microbiology*. London: WOLFE, 1994. 648p.
- SANCHES, B.G.S. Avaliação da função fagocítica de células da linhagem monócitos macrófagos de caprinos naturalmente infectados pelo vírus da artrite encefalite caprina, à *Corynebacterium pseudotuberculosis*. 2008. 79f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária – Área de Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- WILLIAMSON, P.; NAIRN, M.E. Lesions caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* in the scrotum of rams. *Australian Veterinary Journal*, n.56, p.496-498, 1980.

Recebido em 8/4/09

Aceito em 9/10/09