

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Corynebacterium pseudotuberculosis: caracterização *in vitro* da sensibilidade a
agentes quimioterápicos

Layze Cilmara Alves da Silva

2008



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPOS DE PATOS – PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Corynebacterium pseudotuberculosis: caracterização *in vitro* da sensibilidade a
agentes quimioterápicos

Layze Cilmara Alves da Silva
Graduanda

Prof. Dr. Albério Antônio de Barros Gomes
Orientador

Patos
Setembro de 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPOS DE PATOS – PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

LAYZE CILMARA ALVES DA SILVA
Graduanda

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médica Veterinária.

ENTREGUE EM/...../.....

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Albério Antônio de Barros Gomes

Nota _____

Prof^a Cláudia Morgana Soares

Nota _____

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo

Nota _____

*Dedico este trabalho a minha mãe e meu pai,
ele é o fruto do nosso esforço! Sem vocês eu
nunca teria conseguido. Amo vocês!*

AGRADECIMENTOS

A “**Deus**”, pois se cheguei até aqui foi porque “**Ele**” permitiu e me deu forças para seguir em frente. Ao longo de minha jornada universitária, várias barreiras se colocaram em meu caminho, emocionais ou até mesmo financeiras, porém sou feliz em dizer: “O meu Deus supriu todas as minhas necessidades”. Obrigada pai altíssimo!

Aos meus pais, pela educação que recebi, pela confiança e principalmente pelo amor. Sei que estou realizando o nosso sonho. “Mainha” quantas lágrimas já derramamos para que eu pudesse chegar a hoje! “Painho” olha ai tua veterinária!! Obrigada por acreditarem em mim, amo vocês!

Ao meu maninho Léo, obrigada por seu ombro amigo, te amo cara!

Sou grata a toda minha família, meus avós: Joel, Nina, Chico e Zefa, vocês são exemplos de pessoas, são um orgulho pra mim. Aos meus tios, tias, primos e primas, pelo apoio e orações.

As amigas do AP (Apartamento), Cicélia, Dalana, Daniela, Fernanda, Gabriela, Janiely, Patrícia e Werlaneide, momentos felizes passamos, Deus colocou todas vocês em minha vida não por acaso, algumas já estão distantes, mas sempre presente em boas lembranças, e com um lugar reservado em meu coração, outras vieram pra ficar, “Régia, Gaby e Dany” amo vocês! Não somos irmãos de sangue, somos, além disso, somos irmãos de coração.

A todos que fazem parte da Igreja Batista Fundamentalista de Santa Cruz-RN e também da 1º Igreja Batista de Patos-PB, suas orações foram essenciais, amo vocês meus queridos irmãos!

Aos que me auxiliaram na execução deste trabalho, Albério, Dalana, Daniela, Gaby, Polyne, Rômulo e Vinícius, esse trabalho não seria possível sem a ajuda de vocês.

Aos funcionários Tereza “um anjo em minha vida” e Damião, grandes amigos, obrigado por tanto carinho e ajuda, vocês são especiais para Deus e para mim também!

Ao meu orientador Prof. Dr. Albério Antonio de Barros Gomes, pelos ensinamentos e ajuda que me prestou.

A minha turma 2004.1, éramos estranhos que iniciavam uma nova vida, trilhando novos caminhos, nos tornamos amigos, e dessa amizade surgiu meio que uma irmandade, nossa vocês são especiais, os terei pra sempre em meu coração!

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Caprinos na inspeção <i>ante-mortem</i>	16
Figura 2. Abscesso na região abdominal de caprino recém abatido.....	16
Figura 3. Abscesso aberto.....	17
Figura 4. Colônia de corinebactérias cultivada em ágar sangue.....	17
Figura 5. Colônias de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	18
Figura 6. Meios de cultura BHI.....	18
Figura 7. Antibióticos utilizados para realização do antibiograma.....	19
Figura 8. Antibiograma de ovino.....	21
Figura 9. Antibiogramas de caprinos.....	21

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Limites para interpretação do antibiograma com 12 antibacterianos de uso corrente na terapêutica clínica.....	20
Tabela 2. Resultado ao antibiograma de seis amostras de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> isoladas de caprinos abatidos no Matadouro Público do Município de Patos- PB, no período de Julho a Agosto de 2008. Patos- PB, 2008.....	22
Tabela 3. Resultado ao antibiograma de seis amostras de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> isoladas de ovinos abatidos no Matadouro Público do Município de Patos- PB, no período de Julho a Agosto de 2008. Patos- PB, 2008.....	23
Tabela 4. Resultado ao antibiograma de doze amostras de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> isoladas de caprinos e ovinos abatidos no Matadouro Público do Município de Patos- PB, no período de Julho a Agosto de 2008. Patos- PB, 2008.....	24

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS.....	5
LISTA DE TABELAS.....	6
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 Agente Etiológico.....	11
2.2 Histórico.....	11
2.3 Linfadenite Caseosa.....	11
2.3.1 Etiologia e Epidemiologia.....	11
2.3.2 Sinais Clínicos.....	12
2.3.3 Patogenia e Patologia.....	12
2.3.4 Patogenicidade.....	13
2.3.5 Diagnóstico e Controle.....	13
2.4 Identificação e Isolamento do <i>C. pseudotuberculosis</i>	14
2.4.1 Determinação da Sensibilidade das Bactérias aos Antimicrobianos.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Coleta de Amostras.....	16
3.2 Processamento das amostras.....	16
3.3 Isolamento e Identificação do agente infeccioso.....	17
3.4 Antibiograma.....	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5 CONCLUSÃO.....	25
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

RESUMO

SILVA, LAYZE CILMARA ALVES. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: caracterização *in vitro* da sensibilidade a agentes quimioterápicos. 2008 27 p. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Patos, 2008.

A linfadenite caseosa é uma doença de ovinos e caprinos causada pelo *Corynebacterium pseudotuberculosis*, é de difícil controle, causando grandes prejuízos a essas criações. O presente trabalho teve como objetivo, testar a sensibilidade do agente *C. pseudotuberculosis* a diferentes agentes antibacterianos determinando os mais eficientes. Doze amostras isoladas foram submetidas ao antibiograma pelo método de difusão com discos, sendo seis de caprinos e seis de ovinos, essas colhidas no Matadouro Público de Patos-PB no período de junho a agosto de 2008. As amostras testadas apresentaram 100 % de sensibilidade aos antibacterianos: Cefalotina, clorafenicol, eritromicina, gentamicina, neomicina, penicilina, tetraciclina e vancomicina, sendo estes considerados os mais indicados para o combate do agente infeccioso.

Palavras-chave: Linfadenite caseosa, antibiograma, antibiótico.

ABSTRACT

SILVA, LAYZE CILMARA ALVES. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: **caracterization in vitro of the sensitivity to agents quimioterapcs.** 2008 27 p. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. Patos, 2008.

The caseous lymphadenitis is a disease of sheep and goats caused by the *Corynebacterium pseudotuberculosis*. It is of difficult control and cause great losses to these breedings. The aim of the present work was, to test the sensitivity of the agent *C. psedotuberculosis* to different antibacterial agents determining the most efficient. Twelve samples were submitted to the antibiogram by the diffusion method with disks, being six from goats and six from sheeps, and they were collected in the Public Slaughterhouse of Patos-PB, in the period of June to August 2008. The agent presented 100% of sensitivity for the following antibacterials: cefalotin, cloranfenicol, eritromicin, gentamicin, neomicin, penicillin, tetraciclín and vancomicin, being these antibacterials considered the most suitable for the combat of the infectious agent.

Key-words: Caseous lymphadenitis, antibiogram, antibacterial.

1 INTRODUÇÃO

O *Corynebacterium pseudotuberculosis* é um bacilo gram positivo, pleomórfico, aeróbio, que cresce em agár sangue de 24 a 48 horas. Suas colônias são pequenas de cor laranja ou creme e podem produzir uma ligeira hemólise (SCALAN, 1991). Em sua composição existe uma toxina termolábil, dermonecrótica, que é uma fosfolipase a qual atua como esfingomielinase e causa aumento da permeabilidade vascular, também apresenta um lipídio de superfície leucotóxico, que o proteja da fagocitose. O *C. pseudotuberculosis* é um parasito intracelular facultativo que no meio ambiente pode sobreviver por períodos de 4-8 meses. Pode contaminar o hospedeiro por feridas, localizando-se nos linfonodos regionais causando abscessos.

Este agente infeccioso é o causador da “Linfadenite caseosa” uma doença de ocorrência freqüente em ovinos e caprinos, porém esse agente tem sido encontrado em outras doenças de espécies como bovinos e eqüinos.

O Diagnóstico da linfadenite no Brasil é descrito em todas as regiões onde se pratica a caprinoovinocultura, sendo uma doença muito prevalente em caprinos e ovinos na região Nordeste.

Os animais afetados pela doença apresentam linfonodos periféricos aumentados de tamanho, ocasionalmente os abscessos se rompem drenando pus espesso e esverdeado.

O diagnóstico presuntivo é obtido pela presença de abscessos nos linfonodos, para o diagnóstico definitivo faz-se necessário o isolamento do agente no pus dos animais vivos, este, pode ser obtido por biopsia com agulha ou mesmo coletado na necropsia ou no abate.

O controle da enfermidade consiste na adoção de algumas medidas sanitárias tendo por fim a eliminação dos animais doentes. Porém a ausência de informações, “dados”, de sensibilidade do agente a quimioterápicos, ou seja antibacterianos, é um fator limitante para as possibilidades de tratamento. Estudos dessa natureza poderão levar a descoberta de alternativas para o controle e/ou eliminação da doença. Dessa forma o presente trabalho tem como meta verificar a sensibilidade do agente *C. pseudotuberculosis* a diferentes agentes quimioterápicos determinando os mais eficientes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Agente Etiológico

O *Corynebacterium pseudotuberculosis* é um bacilo gram-positivo, curto, pleomórfico, que cresce em ágar nutritivo simples, sem proteína nativa, são formadoras de colônias pequenas, branco-acinzentadas com borda denteada (BEER, 1988).

Resiste meses à dessecação, quando protegido do sol direto, morre ao ser exposto a 70°C e aos desinfetantes comuns. Inoculado em cobaias causa abscessos nos pulmões e fígado com morte em quatro a dez dias (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

2.2 Histórico

Nocard, em 1888 isolou uma bactéria de afecção nodular subcutânea de bovino que pela descrição era o *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Preisz e Guinardem 1891 isolaram germe similar dos rins de ovelhas. A partir de 1894, o agente foi observado e isolado com maior frequência de processos de linfadenite caseosa de ovelhas e cabras, de linfagite ulcerativa de eqüinos e de alguns processos cutâneos supurativos de ovinos, até que finalmente em 1918 Ebersson o classificou como *Corynebacterium pseudotuberculosis* (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

2.3 Linfadenite Caseosa

2.3.1 Etiologia e Epidemiologia

A linfadenite caseosa, causada pelo *C. pseudotuberculosis* biótipo não redutor de nitrato é condição supurativa crônica de ovinos, de caprinos e raramente, de bovinos. Caquexia pode ser evidente em animais afetados, a doença resulta invariavelmente em condenação da carcaça e desvalorização do couro (QUINN et al., 2005). É caracterizada por um quadro de abscesso dos linfonodos que apresentam material seco, purulento de cor branco-esverdeada (AYERS, 1977).

O *C. pseudotuberculosis* tem sido identificado em países em que existem grandes criações de ovinos e caprinos como Austrália, Argentina, Nova Zelândia, África do Sul e Estados Unidos (MERCHANT & PACKER, 1995; AYERS, 1977; ASHFAQ & CAMPBELL, 1979; BURREL, 1981) e em países da Comunidade Européia (STING & STENG; SPENGLER 1998). No Nordeste do Brasil, existe uma alta prevalência de linfadenite caseosa nos rebanhos de caprinos (RIBEIRO et al., 1988; UNANIAN & SILVA, 1985). Os prejuízos nesta região do país provocados pela linfadenite são muito grandes, uma vez que muitos dos pequenos criadores têm a caprinoovinocultura como uma das suas principais atividades econômicas (RIBEIRO et al., 1988) e os abscessos levam a danos à pele e à condenação da carne, principalmente no comércio exterior (EGGLETON et al., 1991).

2.3.2 Sinais Clínicos

Em grande parte dos casos não há sinais clínicos, porém se a doença assume grande incidência no rebanho, muitos apresentarão caquexia progressiva e anemia; outros mostrarão linfonodos hiperplásicos principalmente os pré-escapulares; alguns podem mostrar dispnéia, aumento de volume subcutâneo e até mastite nodular (BEER, 1988).

2.3.3 Patogenia e Patologia

O agente penetra mais comumente pela via respiratória, já que há maior frequência de lesões pulmonares e de linfonodos mediastinais (BEER, 1988).

Os ovinos podem infectar-se por contaminação de feridas de tosquia, castração e também, pela pele intacta. Os banhos de imersão podem ser uma via de transmissão, tanto de feridas produzidas durante a tosquia, quanto da pele intacta (RIET-CORREA et al., 2001). A partir da porta de entrada, a bactéria chega até os linfonodos regionais, principalmente pré-crurais e pré-escapulares (em caprinos), onde produz uma lesão caseosa característica (JOLLY, 1966; BATEY, 1986), que apresenta pus de consistência caseosa ou caseosa purulenta, de cor esverdeada ou branco-acinzentada, que aparece em lâminas concêntricas e está rodeado por uma cápsula fibrosa. O aspecto laminado é característico da lesão e se produz por que à medida que a mesma aumenta de tamanho, a cápsula sofre

um processo de necrose e posterior substituição por nova cápsula. Os abscessos medem 4-5 cm, mas, ocasionalmente, podem chegar até 15 cm (RIET-CORREA et al., 2001). A disseminação hematogena pode levar à formação de abscessos nos linfonodos internos, sem lesão superficial óbvia. A forma visceral pode não ser detectável antes da morte. Os caprinos geralmente desenvolvem a forma superficial da doença, com abscessos subcutâneos na região da cabeça e pescoço (QUINN et al., 2005).

2.3.4 Patogenicidade

O *Corynebacterium pseudotuberculosis* é um patógeno intracelular facultativo, capaz de sobreviver e de multiplicar-se em fagócitos. A virulência desse patógeno está ligada aos lipídeos de sua parede celular e à produção de uma exotoxina, a fosfolipase D (PLD). Essa enzima hidrolisa esfingomiéline na membrana das células mamárias, liberando colina. Nos estágios iniciais de infecção, o PLD pode aumentar a sobrevivência e a multiplicação de *C. pseudotuberculosis* no hospedeiro (QUINN et al., 2005).

2.3.5 Diagnóstico e Controle

O diagnóstico presuntivo realiza-se pela presença de abscessos nos linfonodos. Para diagnóstico definitivo o agente deve ser isolado do pus dos animais vivos, obtido por biópsia com agulha ou coletado na necropsia ou mesmo no abate. Em ovinos as medidas de controle da enfermidade consistem em eliminar os animais doentes e evitar novas infecções, através de medidas higiênicas e de desinfecção dos instrumentos de tosquia, castração e assinalação. Vacinas contendo células bacterianas e/ou toxóides empregadas em ovinos em outros países são parcialmente eficientes, diminuindo significativamente o número de animais com abscessos. A eliminação dos animais clinicamente afetados e as medidas higiênicas para evitar novas infecções são aplicadas, também, em caprinos (RIET-CORREA et al., 2001).

2.4 Identificação e Isolamento do *C. pseudotuberculosis*

Os microorganismos necessitam de um meio de cultura adequado para seu crescimento *in vitro*. Mas além dos componentes presentes no meio, outros fatores interferem no seu desenvolvimento: são fatores ambientais como temperaturas e tensão de oxigênio. Inoculando o microorganismo em um meio de cultura que possua todos os requisitos nutritivos e fatores ambientais favoráveis, o microorganismo inicia seu desenvolvimento, passando pelas diversas fases de *curva de crescimento*, desde a fase de latência, logarítmica, estacionária, até a fase da morte (RIBEIRO & SOARES, 1998).

A fase logarítmica (exponencial) é caracterizada por divisões sucessivas por cissiparidade, originando a formação de um grupamento de bactérias da mesma espécie, que é denominado colônia. Esta é visualizada sem o auxílio do microscópio, sendo então considerada como característica macroscópica das bactérias (RIBEIRO & SOARES, 1998).

Como cada espécie possui um tipo morfológico diferente, estas devem ser analisadas quanto à elevação, forma, tamanho, bordas e pigmentação. Em um meio de cultura, um único tipo de colônia observado é denominado cultura pura, vários tipos de colônia, cultura mista. Em microbiologia, há várias técnicas de inoculação de microorganismos, algumas são utilizadas para exames qualitativos e outras para estudos quantitativos (RIBEIRO & SOARES, 1998).

Espécimes adequados para exame laboratorial incluem pus, exsudato, amostras de tecidos afetados e urina obedecendo aos critérios de identificação seguintes: características coloniais; presença ou ausência de hemólise; requerimentos de incubação em aerobiose ou anaerobiose; ausência de crescimento em meio ágar MacConkey; pleomorfismo coriniforme típico em esfregaços das culturas coradas pela técnica de Gram; resultados de testes bioquímicos convencionais ou comercialmente disponíveis; testes específicos para diferenciar membros do grupo *Corynebacterium renale*; teste da intensificação da hemólise para *C. pseudotuberculosis* (QUINN et al., 2005).

2.4.1 Determinação da sensibilidade das bactérias aos antimicrobianos

Para se prescrever um antimicrobiano, é necessário determinar previamente se a amostra bacteriana, responsável pela infecção é sensível ou resistente a ele. Uma bactéria é

considerada sensível a um antimicrobiano quando o seu crescimento é inibido *in vitro* por uma concentração três ou mais, vezes inferior àquela que o antimicrobiano atinge no sangue (TRABULSI, 1999).

O antibiograma é uma prova de sensibilidade aos antimicrobianos utilizada para alguns grupos de bactérias, principalmente para as que adquirem resistência facilmente. É indicado para qualquer microorganismo estritamente relacionado ao processo infeccioso, cuja sensibilidade às drogas empregadas na terapia não seja eficiente. (RIBEIRO & SOARES, 1998).

O número de drogas testadas deve ser limitado para evitar gastos desnecessários. Os testes rotineiros devem incluir apenas um representante de cada classe de antimicrobianos, utilizando-se a nomenclatura científica do princípio ativo (RIBEIRO & SOARES, 1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta de Amostras

Foram colhidas amostras de caprinos (Figura - 1) e ovinos abatidos no Matadouro Público do Município de Patos, Estado da Paraíba, no período de junho a agosto de 2008. Coletou-se 24 amostras, sendo que dessas o *C. pseudotuberculosis* foi isolado em apenas 12 amostras, 6 de caprinos e 6 de ovinos. Utilizaram-se amostras provenientes de abscessos de animais recém abatidos (Figura - 2), sendo esses abscessos retirados por inteiro com auxílio de um bisturi, por vezes, coletava-se parte do pulmão ou mesmo linfonodos claramente alterados, colocados em um tubo coletor estéril sendo devidamente acondicionadas em caixas isotérmicas com cubos de gelos recicláveis, após a coleta, as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) Patos - PB.



Figura- 1 Caprinos na inspeção *ante-mortem*

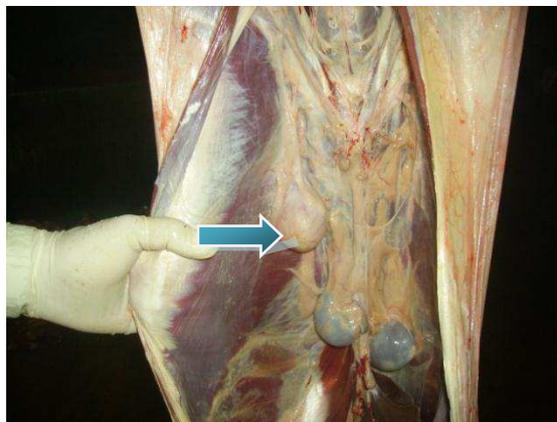


Figura- 2 Abscesso na região abdominal de caprino recém abatido.

3.2 Processamento das amostras

O material colhido foi encaminhado ao laboratório e colocado em recipientes com água sanitária suficiente para cobrir a amostra e garantir uma considerável diminuição da contaminação externa, foi colocado em placas de Petri e com o auxílio de uma pinça

anatômica e um bisturi, ambos devidamente estéreis, os abscessos foram abertos (Figura-3) em condições assépticas na capela. Em seguida utilizou-se o bico de Bunsen flambando-se uma alça de platina, a qual foi introduzida no material caseoso sendo o mesmo colhido e cultivado em placa de Ágar-sangue meio esse propício para o crescimento de colônias das corinebactérias (Figura-4), através da técnica de semeadura em meio sólido, a amostra foi espalhada de modo a se obter esgotamento suficiente para formação de colônias isoladas. Em seguida as placas foram mantidas na estufa a uma temperatura de 37°C.



Figura- 3 Abscesso aberto



Figura- 4 Colônia de corinebactérias cultivadas em ágar sangue.

3.3 Isolamento e Identificação do agente infeccioso

Entre 24-48 horas após semeadas no meio Ágar-sangue, foi realizada a visualização das colônias bacterianas nas placas e sendo estas identificadas como colônias de *C. pseudotuberculosis* mediante morfologia colonial, diferenciadas das demais por apresentarem-se pequenas de cor laranja ou creme podendo produzir hemólise fraca (Figura-5). Após serem identificadas as amostras de *C. pseudotuberculosis*, foram repassadas em meio líquido *Brain Heart Infusion* “BHI” (Figura- 6), processo este em que a partir da placa original da cultura tocava-se o topo de cada colônia com uma alça de platina estéril, coletando e transferindo quatro a cinco colônias de aparência similar a do microorganismo a ser testado, em seguida acondicionava-se o meio BHI na estufa a uma temperatura de 37°C por 24 horas.

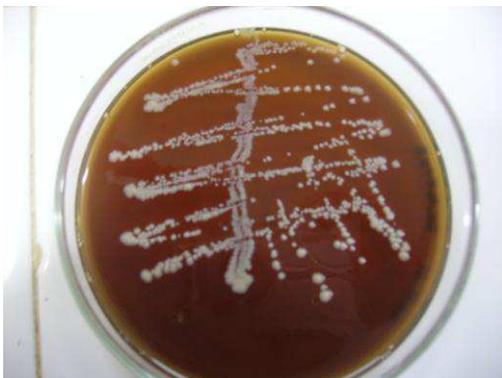


Figura- 5 Colônias de *C. pseudotuberculosis*



Figura- 6 Meios de cultura BHI

3.4 Antibiograma

Para a realização do antibiograma, uma prova que testa a sensibilidade das bactérias aos antibióticos, foi utilizado o método de difusão com discos de Bawer e Kirby (modificado pela FDA), por estes poderem ser realizados rapidamente, tendo preferência sobre os de diluição para os testes de rotina.

O meio Ágar Müller-Hinton (MH) foi previamente preparado, fundido, esterilizado e resfriado a uma temperatura de 45-50°C sobre uma superfície nivelada.

Foram utilizados discos de alta concentração de drogas, pois estes correspondem ao maior nível sanguíneo atingido pela droga no percurso de um tratamento usual (RIBEIRO & SOARES, 1998).

Utilizou-se para a realização dos antibiogramas os seguintes antibacterianos: Ampicilina (AP), Eritromicina (EL), Estreptomicina (ET), Neomicina (NO), Clindamicina (CI), Gentamicina (GN), Penicilina (PN), Clorafenicol (CO), Tetraciclina (TT), Amicacina (BB), Vancomicina (VC) e Cefalotina (CF), (Figura-7).



Figura- 7 Antibióticos utilizados para realização do antibiograma.

Fazendo-se uso da máquina de fluxo laminar, a fim de evitar o máximo de contaminação nas amostras, fez-se o repasse do material contido no meio BHI, seguidas 24 horas de incubação do mesmo. Com o auxílio de um swab saturado com a suspensão bacteriana, removendo-se o excesso de umidade do mesmo girando-o contra a parede do tubo, um pouco acima do nível do líquido. Concluída essa etapa semeou-se a suspensão bacteriana uniformemente sobre a superfície estéril do meio MH com o swab, sucessivamente em três direções para obter um inóculo uniforme. Esperados cerca de 15 segundos para permitir a secagem das placas, colocou-se um a um os discos de sensibilidade sobre a superfície do meio MH com uma pinça estéril e resfriada, pressionando cada disco para baixo levemente para assegurar um contato uniforme. Os discos sendo espaçados com muito cuidado, de modo que não ficassem mais próximos do que 10 a 15mm da borda da placa de Petri, e devidamente separados para que não houvesse superposição de halos de inibição. Logo após as placas foram acondicionadas na estufa a uma temperatura de 35-37°C, por 24 horas.

Seguidas às 24 horas foi realizada a leitura das placas, anotando-se o diâmetro de cada halo (incluindo o diâmetro do disco), aproximadamente ao milímetro mais próximo, lendo até o ponto da inibição, fazendo-se o julgamento a olho nu.

Na interpretação, é conveniente dividir os tamanhos dos halos em duas categorias principais: resistentes e sensíveis, sendo essa última subdividida em sensibilidade intermediária e sensível. Com base nos valores obtidos, a interpretação foi realizada utilizando-se uma tabela padronizada pela FDA (Tabela- 1).

Tabela 1. Limites para interpretação do antibiograma com 12 antibacterianos de uso corrente na terapêutica clínica.

Antibacteriano	Símbolo	Concen- tração disco	Zonas de Inibição		
			Resistente	Interme- diário	Sensível
Amicacina	BB	30 mcg	14 ou menos	15 -18	17 ou mais
Ampicilina	AP	10mcg	20 ou menos	21-28	29 ou mais
Cefalotina	CF	30 mcg	14 ou menos	15-17	18 ou mais
Clindamicina	CI	2mcg	14 ou menos	15-16	17 ou mais
Clorafenicol	CO	30 mcg	12 ou menos	13-17	18 ou mais
Eritromicina	EL	15 mcg	13 ou menos	14-17	18 ou mais
Estreptomicina	ET	10 mcg	11 ou menos	12-14	15 ou mais
Gentamicina	GN	10 mcg	12 ou menos	13-14	15 ou mais
Neomicina	NO	30 mcg	12 ou menos	13-16	17 ou mais
Penicilina	PN	10 un.	11 ou menos	12-21	22 ou mais
Tetraciclina	TT	30 mcg	14 ou menos	15-18	19 ou mais
Vancomicina	VC	30mcg	9 ou menos	10-11	12 ou mais

Adaptada de Ribeiro; Soares et al., 1998.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isoladas doze amostras do *Corynebacterium pseudotuberculosis*, sendo seis provenientes de caprinos e seis de ovinos, onde através dessas foi realizado o antibiograma (Figura 8 e 9).

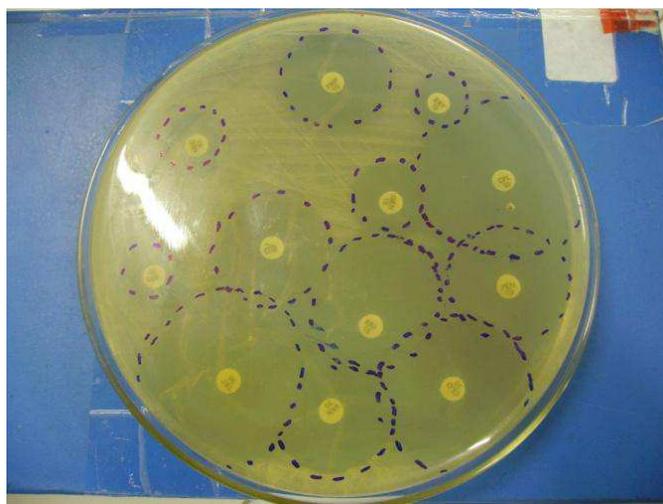


Figura-8 Antibiograma de ovino

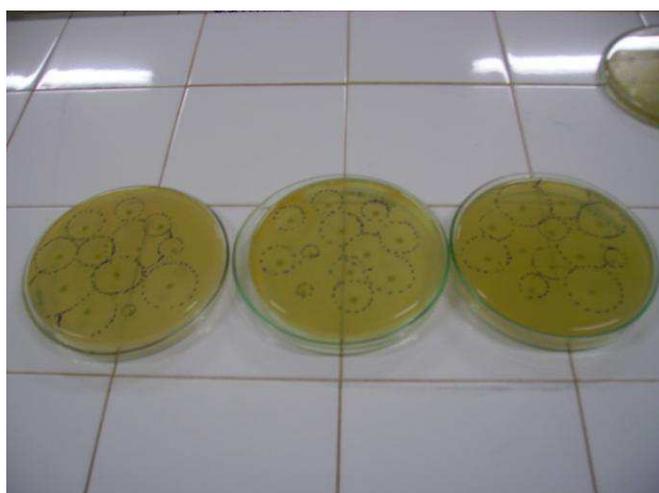


Figura-9 Antibiogramas de caprinos

Para as amostras de caprinos os antibacterianos: cefalotina, clorafenicol, eritromicina, gentamicina, neomicina, penicilina, tetraciclina e vancomicina, apresentaram-se como os mais eficazes como demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Resultado ao antibiograma de seis amostras de *Corynebacterium pseudotuberculosis* isoladas de caprinos abatidos no Matadouro Público do Município de Patos- PB, no período de Junho a Agosto de 2008. Patos- PB, 2008.

Antibacteriano	Interpretação					
	Resistente	%	Intermediário	%	Sensível	%
Amicacina	2/6	33,3	3/6	50,0	1/6	16,6
Ampicilina	0/6	0,0	1/6	16,6	5/6	83,3
Cefalotina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Clindamicina	1/6	16,6	1/6	16,6	4/6	66,6
Clorafenicol	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Eritromicina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Estreptomicina	0/6	0,0	2/6	33,3	4/6	66,6
Gentamicina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Neomicina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Penicilina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Tetraciclina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Vancomicina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100

Além dos antibacterianos que se mostraram eficientes em 100% para os caprinos, a ampicilina também apresentou 100% de eficiência para as amostras de ovinos como expressos na Tabela 3.

Tabela 3. Resultado ao antibiograma de seis amostras de *Corynebacterium pseudotuberculosis* isoladas de ovinos abatidos no Matadouro Público do Município de Patos- PB, no período de Junho a Agosto de 2008. Patos- PB, 2008.

Antibacteriano	Interpretação					
	Resistente	%	Intermediário	%	Sensível	%
Amicacina	1/6	16,6	3/6	50,0	2/6	33,3
Ampicilina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Cefalotina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Clindamicina	2/6	33,3	0/6	0,0	4/6	66,6
Clorafenicol	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Eritromicina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Estreptomicina	1/6	16,6	2/6	33,3	3/6	50
Gentamicina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Neomicina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Penicilina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Tetraciclina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100
Vancomicina	0/6	0,0	0/6	0,0	6/6	100

Dos doze antibacterianos testados oito apresentaram 100% de eficácia no teste ao *C. pseudotuberculosis*, são eles: cefalotina, clorafenicol, eritromicina, gentamicina, neomicina, penicilina, tetraciclina e vancomicina. Já a amicacina foi a menos eficiente com apenas 16,6% de sensibilidade, esse resultado mostra que o agente não responde bem a terapêutica com este antibacteriano, devendo-se, pois evitar o seu uso. Quanto aos demais a ampicilina, clindamicina e estreptomicina, que mostraram algumas falhas quanto à sensibilidade, podem ser utilizados com restrição já que se dispõe de vários outros antibacterianos com 100% de eficiência (Tabela- 4).

Tabela 4. Resultado ao antibiograma de doze amostras de *Corynebacterium pseudotuberculosis* isoladas de caprinos e ovinos abatidos no Matadouro Público do Município de Patos- PB, no período de Junho a Agosto de 2008. Patos- PB, 2008.

Antibacteriano	Interpretação					
	Resistente	%	Intermediário	%	Sensível	%
Amicacina	3/12	25,0	6/12	50,0	3/12	25,0
Ampicilina	0/12	0,0	1/12	8,3	11/12	91,6
Cefalotina	0/12	0,0	0/12	0,0	12/12	100
Clindamicina	3/12	25,0	1/12	8,3	8/12	66,6
Clorafenicol	0/12	0,0	0/12	0,0	12/12	100
Eritromicina	0/12	0,0	0/12	0,0	12/12	100
Estreptomicina	1/12	8,3	4/12	33,3	6/12	50,0
Gentamicina	0/12	0,0	0/12	0,0	12/12	100
Neomicina	0/12	0,0	0/12	0,0	12/12	100
Penicilina	0/12	0,0	0/12	0,0	12/12	100
Tetraciclina	0/12	0,0	0/12	0,0	12/12	100
Vancomicina	0/12	0,0	0/12	0,0	12/12	100

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados, chega-se a conclusão que os antibacterianos: cefalotina, clorafenicol, eritromicina, gentamicina, neomicina, penicilina, tetraciclina e vancomicina, apresentaram 100% de eficiência *in vitro* para o controle do *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

É importante ressaltar que a sensibilidade *in vitro* pode não refletir a sensibilidade *in vivo*, uma vez que vários outros fatores estão envolvidos na relação hospedeiro – parasita. De acordo com os resultados obtidos fica evidente a necessidade de realizar experimentos futuros, visando estabelecer as concentrações adequadas dos antibacterianos para tratamento dos animais a campo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHFAQ, M. K.; CAMPBELL, S. G. **A survey of caseous lymphadenitis and its etiology in goats in the United States.** Veterinary Medicine/Small Animal Clinician, p. 1161-1165, Aug. 1979.

AYERS, J. L. **Caseous lymphadenitis in goat and sheep: review of diagnosis, pathogenesis, and immunity.** JAVMA, n. 171, p. 1251-1254, 1977.

BATEY, R. G. **Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats.** Aust. Vet. J., n. 63, p. 269-272, 1986.

BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos: Doenças produzidas por bactérias, fungos e intoxicações.** v.2, São Paulo: Roca Ltda, p.380, 1988.

BURREL, D. H. **Caseous lymphadenitis in goats.** Aust. Vet. J., n. 57, p. 105-110, 1981.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos.** Rio de Janeiro: Médica e Científica Ltda, p. 843,1992.

EGGLETON, D. G. et al. **Immunization against ovine caseous lymphadenitis: comparison of *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccines with and without bacterial cells.** Aust. Vet. J., n. 68, p. 317-319, 1991.

JOLLY, R. D. **Some observations on surface lipids of virulent and attenuated strains of *Corynebacterium ovis*.** J. Appl. Bact., v. 29, n. 1, p. 189-196, 1966.

MERCHANT, I. A. & PACKER, R. A. **Bacteriología y Virología Veterinarias.** 3. ed Zaragoza: Acribia, p. 437-452, 1995.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas.** Porto Alegre: Artmed, p.512, 2005.

RIBEIRO, M.C.; SOARES, M.M.S.R. **Microbiologia prática roteiro e manual: Bacterias e fungos**. Rio de Janeiro: Atheneu, p. 112, 1998.

RIBEIRO, O. C. et al. **Avaliação de vacina contra linfadenite caseosa em caprinos mantidos em regime extensivo**. Pesq. Vet. Bras., v. 8, n. 1/2, p. 27-29, 1988.

RIET-CORREA F., SCHILD A. L., MÉNDEZ M.C., LEMOS R.A.A.; **Doenças de Ruminantes e Equinos**, Ed. Varela, v. 1, p. 425, 2001.

SCALAN, C. M. **Intruduction to Veterinary Bacteriology**. Acribia, Zagoza, p. 555, 1991.

STING, R.; STENG, G.; SPENGLER, D. **Serological studies on *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in goats using enzyme-linked immunosorbent assay**. J. Vet. Med., n. 45, p. 209-216, 1998.

TRABULSI, L.R. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, p. 523, 1999.

UNANIAN, M. M.; SILVA, A. E. D. F.; PANT, K. P. **Abscesses and caseous lymphadenitis in goats in tropical semi-arid North-east Brazil**. Trop. Amm. Hlth. Prod., n. 17, p. 57-62, 1985.