



<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20110003>
www.higieneanimal.ufc.br/

Artigo Científico

Sequenciamento do Genoma do *Corynebacterium pseudotuberculosis* e as implicações no diagnóstico e controle da Linfadenite Caseosa¹

Genome sequencing of Corynebacterium pseudotuberculosis and Implications for Diagnosis and Control of Lymphadenitis Caseosa¹

Diana Magalhães de Oliveira²

¹ Palestra proferida no 2º Simpósio de Higiene e Sanidade Animal em Fortaleza, CE 2

² Profa. Dra. Universidade Estadual do Ceará (UECE) * E.Mail:
diana.magalhaes@uece.br

Resumo; O gênero *Corynebacterium* pertence ao grupo supragenérico dos actinomicetos, os quais incluem também os gêneros *Mycobacterium*, *Nocardia* e *Rhodococcus* (denominadas grupo CMN). Os genomas de várias espécies desse grupo já foram seqüenciados, o que reflete a importância considerável (médica, veterinária e biotecnológica) desses organismos.

Palavras – chave: *Corynebacterium*, supragenérico, actinomicetos

Abstract: The genus *Corynebacterium* belongs to the group of supra-generic actinomycetes, which also includes the genera *Mycobacterium*, *Nocardia* and *Rhodococcus* (called CMN group). The genomes of several species of this group have been sequenced, which reflects the considerable importance (medical, veterinary and biotechnology) of these organisms.

KEYWORDS: *Corynebacterium*, suprageneric, actinomycetes

Autor para correspondência. E.Mail: * diana.magalhaes@uece.br

Recebido em 20.04.2011. Aceito em 10.06.2011

Introdução

Características de *C. pseudotuberculosis*

Essas bactérias gram-positivas constituem um grupo muito heterogêneo; mas que compartilha características particulares, como suas paredes celulares conterem ácido micólico; e seus genomas possuírem alto conteúdo G+C (50-72%). Interessante ressaltar que, apesar da sua inegável importância na sanidade animal, essa bactéria é pouco caracterizada e poucos genes envolvidos nos mecanismos patogênicos são realmente conhecidos.

1. A Doença

O. C. pseudotuberculosis, conhecido patógeno de animais, é um parasita intracelular facultativo de caprinos e ovinos; agente etiológico da doença comumente denominada linfadenite caseosa ou mal do caroço. A doença ocorre em todas as partes do mundo onde são criados ovinos e caprinos, causando significativas perdas econômicas mundialmente, principalmente devido: à redução na produção de lã, carne e leite; à diminuição da eficiência reprodutiva e à condenação de carcaças e pele em

abatedouros (AMARANTE & SALES, 2007).

A linfadenite caseosa é considerada uma doença infectocontagiosa crônica que acomete caprinos e ovinos. É caracterizada por um quadro de abscesso dos linfonodos que apresentam material seco, purulento de cor branco-esverdeada. Estes abscessos podem ser superficiais ou internos e pode haver, ainda, lesão de vísceras. O diagnóstico da linfadenite caseosa é clínico. Observa-se, no animal acometido, a formação de grandes caroços, geralmente na cabeça, mandíbula e pescoço. Contagiosa, a doença se propaga nos rebanhos principalmente pelo contato direto entre animais. Em alguns casos, a infecção produz poucos sintomas evidentes, permanecendo indetectável até que um exame *post-mortem* seja realizado. Assim, o problema do diagnóstico clínico é que ele só é feito quando é tarde demais. Quando se verifica a lesão nodular (o caroço), o animal já pode estar francamente comprometido, com perda de peso e do rendimento da produção de carne e/ou leite. A única solução, para evitar a propagação, é o descarte de animais acometidos, inclusive a carcaça,

não havendo sequer o aproveitamento do couro/pele (AZEVEDO et al., 2008).

A doença causada por *C. pseudotuberculosis* tem sido identificada em países onde existem grandes criações de ovinos e caprinos como Austrália, Argentina, Nova Zelândia, África do Sul e Estados Unidos e em países da Comunidade Européia (França, Itália, Grã-Bretanha, União Soviética), Argentina, Chile, Uruguai, Canadá, e Sudão. No Brasil, já foi isolada e caracterizada em vários Estados. Trata-se, portanto, de um microrganismo cosmopolita.

No Nordeste do Brasil, existe uma alta prevalência de linfadenite caseosa nos rebanhos de ovinos e caprinos. Os prejuízos provocados pela linfadenite são muito grandes, uma vez que muitos dos pequenos criadores têm a ovinocaprinocultura como uma das suas principais atividades econômicas e os abscessos levam a danos à pele e à condenação da carne, principalmente no comércio exterior. Casos da doença foram relatados por 85% dos produtores na região Norte e 41% no Nordeste. Nessas regiões se concentra a maior parte dos rebanhos brasileiros, e a produção ali está ligada essencialmente à

pecuária familiar. Por isso, além do impacto econômico, a doença tem um grave impacto social.

A caprinocultura e a ovinocultura têm presença importante no agronegócio brasileiro, com cerca de 16 milhões e 10,3 milhões de cabeças, respectivamente, de acordo com dados do Anuário da Pecuária Brasileira de 2005.

2. O projeto genoma de *C. pseudotuberculosis*

Uma pesquisa iniciada em 2006 pela Rede Genoma de Minas Gerais tem por objetivo seqüenciar o genoma do *C. pseudotuberculosis*, gerando informações para o desenvolvimento de uma eventual vacina, de terapias e de kits de diagnóstico. O projeto é coordenado pelo pesquisador do Centro de Pesquisa René Rachou, unidade da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) em Belo Horizonte, Dr. Guilherme Oliveira e deverá permitir a identificação de proteínas sabidamente relacionadas à patologia.

Em pouco tempo, devem ser identificadas também regiões do genoma específico dessa espécie que possibilitarão um diagnóstico molecular da doença.

A iniciativa reúne diversos pesquisadores mineiros (de laboratórios em instituições como Fiocruz, Embrapa Milho e Sorgo e as Universidades Federais de Minas Gerais (UFMG), Ouro Preto, Uberlândia, Lavras e Viçosa), de outras instituições nacionais (como a UNESP de Jaboticabal), além de contar com o ingresso recente do grupo do NUGEN (Núcleo de Genômica e Bioinformática - <http://nugen.uece.br>) da UECE que pretende colaborar com o Prof Vasco Azevedo em seu trabalho de descoberta gênica através da utilização de um sistema de transposição *in vitro*.

Este sub-projeto que inclui o NUGEN/UECE e o grupo do ICB/UFMG será desenvolvido parcialmente no Ceará por uma estudante do curso de Doutorado da RENORBIO e dará início á colaboração formal entre os dois grupos de pesquisa.

A importância de se empreender tentativas de caracterizar geneticamente o agente etiológico da linfadenite caseosa reside essencialmente na perspectiva de se contribuir diretamente no controle da doença, através da eficiência no diagnóstico (ou seja, diagnóstico precoce) ou intervenção

terapêutica (drogas mais potentes e menos tóxicas).

Helmintose em caprinos

Introdução

Os helmintos representam um dos principais problemas sanitários nas criações de caprinos, causando apreciáveis danos econômicos a esses criatórios, retardo no seu desenvolvimento, diminuição na produção de carne e leite, com conseqüências graves e irreversíveis, mesmo depois de debelada a infecção.

As ações dos helmintos nos animais parasitados são de natureza obstrutiva, espoliativa, compressiva, enzimática e traumática, debilitando o organismo e facilitando a instalação de outras enfermidades.

Dentre os helmintos que acometem os caprinos destaca-se o *Haemonchus contortus* RUDOLPHI, 1803; COBB, 1898, nematódeo gastrintestinal da família *Trichostrongylidae*, causando nos animais infectados a anemia, (RAHMAN & COLLINS, 1990). Essa anemia é de caráter hemorrágico, caracterizada por oligocitemia, que progride rapidamente, tornando-se do tipo microcítica e hipocrômica, não se

observando icterícia, hemoglobinúria e hemoglobinemia, devido a ausência de hemólise em nível da circulação (SOUESBY, 1965), possuindo potencial para sobreviver, todo o ano, em áreas tropicais, porém com maior intensidade nos períodos chuvosos (Medeiros et al, 1994).

O controle da infecção por helmintos vem sendo feito na sua quase totalidade, com o uso de produtos químicos alopáticos convencionais. Desde o descobrimento da fenotiazina em 1938, considerada o primeiro grande avanço na terapia anti-helmíntica, outros esforços têm sido feitos na busca do anti-helmíntico ideal (ROBERSON, 1982), resultando no descobrimento de muitos compostos de amplo espectro. Esse processo foi intensificado a partir da introdução do tiabendazol em 1961, por Brow e colaboradores, que incorporaram o grupo dos benzimidazóis com o desenvolvimento de compostos endoectocidas, que atuam sobre endo e ectoparasitas.

Em que pese o progresso no desenvolvimento de fármacos mais eficientes no combate aos helmintos, os impactos ambientais associados ao uso dos compostos são cada vez mais

questionados. As avermectinas são potencialmente tóxicas no meio ambiente, pois são excretadas nas fezes, persistem no bolo fecal por longos períodos e são letais e subletais para uma variedade de insetos benéficos que colonizam o bolo fecal, (STRONG & BROWN, 1987; STRONG & WALL, 1994). A ecotoxicidade das avermectinas tem implicações mundiais já que elas são comercializadas em todo o mundo e geralmente em larga escala.

As dificuldades para a produção de vacinas para helmintos defrontam-se com as questões pertinentes a custo e a complexidade antigênica, o que representa uma barreira para os pesquisadores (DINEEN, 1984).

2- Materiais e métodos

2.1- Medicamentos homeopáticos

Foram selecionados os medicamentos *Mercurius corrosivus D6*, *sulphur D30*, *Arsenicum Album D6*, *Ferrum phosphoricum D6* por apresentarem de acordo com a Matéria Médica, os sintomas mais semelhantes aos das helmintoses dos caprinos.

2.2- Grupos experimentais

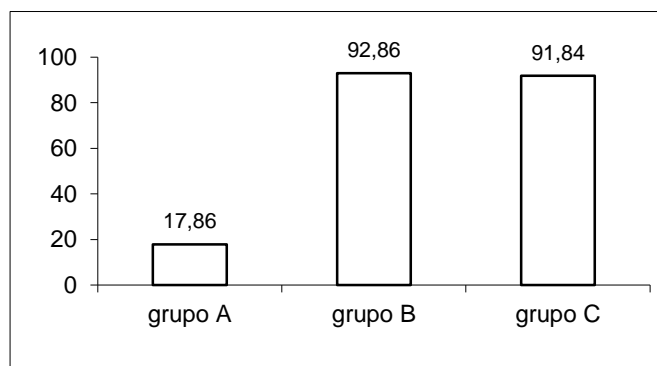
Foram selecionados 32 matrizes da

raça Alpina em 4 grupos de 8 animais. Dois grupos com homeopatia *Mercurius corrosivus D6* e *Sulphur D30*, *Arsenicum Album D6* e *Ferrum phosphoricum D6* 1 grupo com vermífugo a base de Albendazole e Cobalto e 1 grupo controle sem nenhuma medicação. A medicação homeopática foi oferecida oral mente na água 10

gotas pela manhã e a tarde alternadamente durante 7 dias o medicamento alopático foi oferecido oralmente aos animais no sétimo dia do experimento em dose única. Antes de ser iniciado o experimento todos os animais foram submetidos ao exame parasitológico de fezes e no segundo momento 10 dias após o uso da medicação alopáta.

2.3- Resultados

Gráfico 1: Eficácia para cada grupo



Segundo estimativas para a diferença entre o número de ovos antes e após o experimento – segundo as substâncias homeopáticas, estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Estimativas para a diferença entre o número de ovos antes e após o experimento

Substâncias	Estimativa para a diferença entre o número de ovos antes e após o experimento
A	75,0008
B	1712,7555
C	742,9255
D	657,2345

Conclusões

O uso de medicamentos homeopáticos no controle da eimeriose e da helmintose em caprinos leiteiros, criados em sistemas confinados, mostraram-se eficazes.

Vale ressaltar que esses resultados são parciais e refere-se a um tipo de exploração específica, não devendo portanto, serem extrapolados para outras espécies, sem uma devida avaliação. A experiência tem demonstrado que as diversas espécies animais reagem diferentemente à medicação homeopática, devendo seu uso orientado por profissional com domínio do assunto.

Fundamental também é a manutenção de práticas de manejos adequadas higiene, e alimentação dos animais, como medidas extremamente úteis na preservação da saúde dos animais

6. Referências Bibliográficas

ALYOUSIF, M.S., KASIM, A.A., AL-SHAWA, Y.R. Coccidian of the domestic goat (*Capra hircus*) in Saudi Arabia Int. **J. Parasitol.** V. 6, n. 221, p. 807 – 811. 1992.

AMARANTE, A.F.T. & SALES, R.O. Controle de Endoparasitoses dos Ovinos: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.** v.1, n. 2, p. 14 – 36, 2007. 73p,

AZEVÊDO, D.M M R. ALVES, A.A. SALES R.O. Principais Ecto e Endoparasitas que Acometem Bovinos Leiteiros no Brasil: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.** v.1, n. 2, p. 46– 58, 2008. 73p,

BATISTA NETO, R., SANTOS, N.M. Levantamento parasitológico em caprinos e ovinos de três microrregiões homogêneas do estado da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 18, 1982, Santa Catarina. ANAIS... Santa Catarina: **Sociedade Catarinenses de Medicina Veterinária**, 1982, 469p. p.160.

BAVIA, M.E., CALDAS, E.M., FITERMAN, I.R. Distribuição da frequência de helmintos e protozoários em ovinos e caprinos das regiões de Quinjingue, Euclides da Cunha e Monte Santo-BA. **Arq. EMV-UFBA.** V. 7, n.

1, p. 121-130, 1982.

BENITES, N.R. Utilização de medicamento homeopático na prevenção da cinomose. **Clínica Veterinária**, ano VII, n.39, julho/agosto 2002.

BENITES, N.R. Doenças agudas: aspectos imunológicos e patológicos e sua relação com a escolha do medicamento homeopático e modo de administração. Monografia. Pós Graduação *latu sensu*. Associação Paulista de Homeopatia. São Paulo, 1996.

BOMFIM T.C.B., LOPES, W.G. Levantamento de parasitos gastrintestinais em caprinos da região serrana do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia. Vet.** V. 2, n. 3, p. 119-124, 1994.

BORGSTEEDE, F.H.M., DERCKSEN, D.P. Coccidial and helminth infections in goats kept indoors in the Netherlands. **Vet. Parasitol.** V. 61, n. 3-4, p. 321-326, 1996.

CABARET, J. The homeopathic cina does not reduce the egg output of digestive – tract nematodes in lambs.

Revue Med; 147, 6, 445-446. 1996.

CAMARGO, A.; MOURA, B.C.; LIMA, E.; CASTELETI, L.C.; WILDNER, M.; CHAUDHRY, Z. De volta as origens. **Revista Brasileira de Agropecuária**, v.1,n.10, 2000 . p. 8 – 15.

CALDAS, E.M., SANTANA, A.F., CAETAN, S.L.A., COSTA, ^aJ. Estudo da ovinocaprinocultura na região nordeste do Estado da Bahia. **Arq. EMV-UFBA.** V.1, n.1, p. 1-96, 1989.

CAVALCANTE, A.C.R. Espécies do gênero *Eimeria* SCHNEIDER, 1875, (Apicomplexa: *Eimeriidae*) parasitos de caprinos leiteiros na microrregião homogênea de Sobral, Ceará. Itaguaí-RJ, 1996. 65p. Tese (Mestrado) – Instituto de Biologia, UFRRJ, 1996.

CHHABRA, R.C., PANDEY, V.S. Coccidian of goats in Zimbabwe. **Vet. Parasitol.** v. 39, p. 199-205, 1991.

ENBERGS, H.; KOSIEDOWSKI, P.; JAHNECKE, S. Efficacy of Nux Vomica – Homaccord and Veratrum – Homaccord in the treatment of diarrhoea

in suckling foals during the mare's fist. **Biologesche – Tiermedizin**. 2001, 18:1, 4 – 17; 24 ref.

FAYER, R. Epidemiology of protozoan an infections: the coccidian. **Vet. Parasitol**. v.6, p. 75-103, 1980.

FIGUEIREDO, P.C., FREIRE, N.M.S., GRISSI, L. *Eimeria* de bovinos leiteiros no Estado do Rio de Janeiro: técnica de diagnóstico e espécies identificadas. **ATAS. SOC.BIOL.** Rio de Janeiro, v.24, p 3 –10, 1984.

FUENTE, C. de la, ALUNDA, J.M. A quantitative study of *Eimeria* infection of goats from central Spain. **Vet. Parasitol**. V.41, p. 7-15, 1992

HAHNEMANN, S. Organon da arte de curar. São Paulo, Grupo de Estudos Homeopático de São Paulo. “Benoit Mure”, 1999 p.191.

HOVI, M; RODERICK, S; ALFOLDI, T (ed.); LOCKERETZ, W (ed); NIGGLI, U. Mastitis in organic dairy in England and Wales. **INFOAM 2000: The Word grows organic. Proceedings 13 th International. INFOAM Scientific**

Conference, Basel Switzerland, 28 to 31 August, 2000. 2000, 342; 1 ref.

JULIÃO, FRED. Frequência e Flutuação Sazonal de Oocistos das Espécies do Gênero *Eimeria* Schneider, 1875, (APICOMPLEXA: EIMEIRIIDAE) em caprinos Leiteiros Criados no Estado da Bahia. Monografia apresentada como parte integrante da disciplina MEV-155, Estágio Supervisionado, da graduação em Medicina Veterinária, sob a orientação da professora Maria Ângela Ornelas de Almeida.Salvador, Bahia 1999. 49p.

KANYARI, P.W.N. The relationship between coccidial and helminth infections in sheep and goats in Kenya. **Vet. Parasitol**. V 51, p.137-141,1993.

KOUDELA, B., BOKAVÁ, ^a Coccidiosis in goats in the Czech Republic. **Vet. Parasitol**. V.76, p.261-267,1998

LATHOUD, J.A. Estudos de Matéria Médica Homeopática – Tradução de Heloisa Helena Macedo. São Paulo. Editora Organon, 2001. 1149 pgs.

MANSVELT VAN, J.D. European features for sustainable development: a contribution to the dialogue. **In.** CONFERENCIA BRASILEIRA DE AGRICULTURA BIODINÂMICA, 3 ; Piracicaba, São Paulo, 1998. Anais... Piracicaba, 1999 p.284.

SELUKAR, P.S; DAKSHINKAR, N. P.; SARODE, D.B.; RODE, A. M.; KOT HEKAR, M.D. Evaluation of homeopathic drugs in hypogalactia of cows. **Indian Veterinary Journal.** 2000, 77: 9,813 – 814; 3 ref.

SMARTA, V.R.; JAGTAP, D.G.; DAKSHINKAR, N. P.; DESHMUKH, A.D. Effect of a homeopathic drug (*calcarea phosphorica*) on the performance of broilers. Nagpur Veterinary College. Nagpur, India.

Indian Veterinary Journal. 2002, 79: 4, 402 – 403; 3 ref.

SUKUL, NC.; GHOSH, S.; SINHABABU, S.P.;A. SUKUL; SUKUL, A. Strychnos nux – vomica extract and ets ultra – hight dilution reduce voluntary ethanol in take in rats. Department of Zoology, Visva. Baharati University, West Bengal , India. Journal. Of- Alternative and Complementary Medicine. 2001, 7: 2,187–193; 21 ref.

ZACHARIAS, F. Caprinocultura leiteira Mercado e orientações de manejo. Salvador: EBDA, 2001. 80p. (EBDA. Documentos, 13).