

Avaliação do Tempo de Sobrevivência de Cepa de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em Amostras de Água

Evaluation of Survival Time of *Corynebacterium pseudotuberculosis* Strain in Water Samples

Mayara Ramalho Dantas¹; Edmilson de Moura Dantas Junior² Luiz Francisco Zafalon³; Josir Laine A. Veschi⁴

Resumo

A linfadenite caseosa, vulgarmente referida como o mal-do-carço, é uma doença infectocontagiosa que ocorre principalmente em caprinos e ovinos. A *Corynebacterium pseudotuberculosis* penetra no organismo do animal por meio de fissuras na pele, cortes ou arranhões ou quando o animal ingere o conteúdo caseoso de um abscesso de linfadenite caseosa. Os animais infectados tornam-se portadores da doença durante toda a sua vida. Este estudo avaliou a sobrevivência de cepa de *C. pseudotuberculosis* em amostras de água, mantidas em condição de casa de vegetação na ausência e na presença de luz. Para isso, foi utilizada uma cepa da bactéria pertencente à bacterioteca do Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Semiárido. Os resultados da avaliação de sobrevivência deste microrganismo, demonstraram que o mesmo sobreviveu por

¹Estudante de Biologia, Universidade de Pernambuco (UPE), estagiária da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

²Técnico em Química Industrial, Técnico da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

³Médico-veterinário, D. Sc em Medicina Veterinária Preventiva, pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

⁴Médica-veterinária, D. Sc. em Medicina Veterinária Preventiva, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, josir.veschi@embrapa.br.

4 dias em amostras de água em ausência de luz e por 2 dias nas amostras de água expostas à luz. Concluiu-se que a cepa de *C. pseudotuberculosis* sobreviveu por 2 a 4 dias nas amostras de água, respectivamente, na presença e na ausência de luminosidade, sob condições ambientais de casa de vegetação.

Palavras-chave: linfadenite caseosa, contaminação ambiental, água contaminada.

Introdução

A linfadenite caseosa é uma enfermidade infectocontagiosa crônica e debilitante que acomete principalmente caprinos e ovinos e se caracteriza pela formação de abscesso em um ou mais linfonodos (SMITH; SHERMAN, 1994). O agente etiológico dessa doença é a *Corynebacterium pseudotuberculosis*, que é uma bactéria Gram-positiva em formato de cocobacilos. Este microrganismo pode ser encontrado no solo, água doce e salgada e matéria orgânica contaminada com o exsudato purulento (BAIRD; FONTAINE, 2007). São vários os mecanismos de sobrevivência dessa bactéria. Sá (2014) verificou que, sob temperatura de 42 °C, o tempo de sobrevivência dessa bactéria foi, em média, de 42 dias em plantas da Caatinga.

O Nordeste é a região brasileira na qual se concentra a maior parte da criação de pequenos ruminantes, como caprinos e ovinos. A Caatinga, bioma predominante nessa região e principal fonte de alimentação para esses animais, se caracteriza por uma vegetação com predominância de arbustos com espinhos que durante o pastejo podem causar ferimentos na pele desses animais, facilitando, assim, a sua contaminação pelo *C. pseudotuberculosis* (DANTAS et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o tempo de sobrevivência de cepa de *C. pseudotuberculosis* em amostras de água na ausência e na presença de luz em temperatura ambiente.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Sanidade Animal (LSA) da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE. Para isso, foi utilizada uma cepa de *C. pseudotuberculosis* previamente identificada e tipificada pertencente à bacterioteca do LSA.

A cepa (CP 351) utilizada foi cultivada em ágar sangue ovino a 8% e incubada por 48 horas a 37 °C. Posteriormente, as colônias características da bactéria foram transferidas para o meio BHI (infusão de cérebro e coração) caldo e submetidas novamente à incubação por 48 horas a 37 °C. Após esse tempo de incubação, o crescimento pôde ser verificado pela turvação do meio e com a formação de um precipitado no fundo do tubo de ensaio. Os tubos contendo os cultivos foram centrifugados sob refrigeração (4 °C) durante 30 minutos. O sobrenadante foi descartado e o pellet resultante contendo as bactérias foi reservado.

Para a realização dos experimentos, foram usadas garrafas de vidro transparentes com capacidade para 300 mL contendo 150 mL de água destilada previamente autoclavada em cada uma delas. Para realizar a contaminação das amostras de água, foi utilizado o conteúdo caseoso de um abscesso de linfadenite caseosa previamente armazenado no LSA. Foram utilizados 0,02 g de material caseoso e homogeneizado ao material do pellet e este conteúdo foi distribuído em cada uma das garrafas contendo 150 mL de água que foram protegidas ou não da luz. Além das garrafas contaminadas com a bactéria, foram utilizadas, também, testemunhas (controles) apenas com água destilada autoclavada sem a bactéria, também protegidas ou não da luz. A proteção de cada garrafa contra a luz foi realizada envolvendo cada uma em papel alumínio. Após a contaminação, todas as garrafas foram mantidas em casa de vegetação sob temperatura ambiente durante todo o experimento.

A temperatura ambiente foi aferida duas vezes ao dia no período diurno, às 8h30min e 15h30min, com o auxílio de termômetro de coluna de mercúrio. Para a avaliação da sobrevivência da cepa, foi realizado o cultivo das amostras de água em placas de ágar sangue ovino a 8% no dia zero (início do experimento) e depois, a cada 24 horas, até o final do experimento, que se deu 72 horas após a realização do plaqueamento das amostras e a não observação de nenhum crescimento bacteriano no meio de cultura após período de incubação (37 °C). Após o tempo de incubação e sendo possível visualizar a formação de colônias pequenas de coloração branco-acinzentada, foi realizada a técnica de coloração de Gram, para a confirmação da presença de cocobacilos Gram-positivos e irregulares, semelhantes a letras chinesas, que caracterizam a cepa de *C. pseudotuberculosis*.

Para cada tratamento foram utilizadas cinco garrafas que foram dispostas aleatoriamente na casa de vegetação.

Resultados e Discussão

Durante o período de realização do experimento foi possível observar que as garrafas contendo as amostras de água (controles) sem a contaminação com a bactéria, expostas ou não à luz, não apresentaram contaminação bacteriana, pois não foi observado crescimento de microrganismos no plaqueamento da água nas placas com meio de cultura. Entretanto, nas garrafas contendo as amostras de água previamente contaminadas com material caseoso acrescido de cepa de *C. pseudotuberculosis*, com ou sem exposição à luz, foi constatado o crescimento de colônias bacterianas nas placas nos primeiros dias de incubação. Posteriormente, não foi detectado crescimento bacteriano nas placas de petri contendo ágar sangue ovino a partir do segundo dia para as amostras contaminadas e mantidas sob luz direta e a partir do quarto dia para as amostras contaminadas protegidas da luz, como pode ser observado na Figura 1.

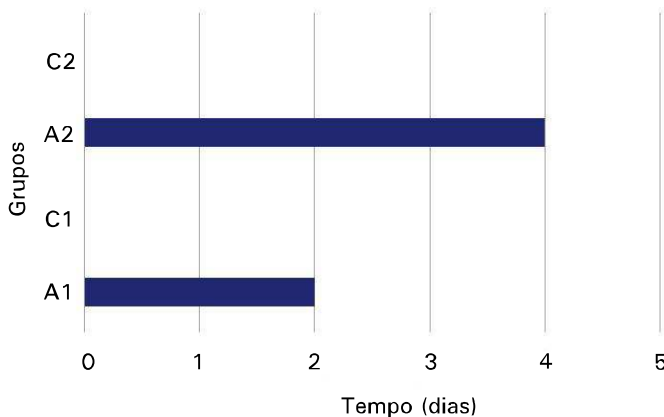


Figura 1. Representação gráfica da presença de colônias de *C. pseudotuberculosis* em amostras de água durante o tempo de realização do experimento (em dias, de 0 até 5). Grupos: A1 (água contaminada, sem a proteção contra a luz), A2 (água contaminada, protegida da luz), C1 (água sem contaminação e sem proteção contra a luz) e C2 (água sem contaminação e com proteção contra a luz).

Foi observado um maior tempo de sobrevivência das cepas nas amostras de água contaminadas e protegidas da luz quando comparadas com as amostras contaminadas e expostas à luz. Esse fato pode estar relacionado com a ausência da luz, pois estudos realizados por Benham et al. (1962) e Merchant e Packer (1975) mostraram que cepas de *C. pseudotuberculosis* podem se desenvolver melhor em baixas condições de luminosidade e em temperatura em torno de 37 °C. A temperatura média de duas leituras, realizadas às 8h30min e 15h30min, aferida no período de realização do experimento (5 dias) foi de 37,8 °C.

Conclusão

A cepa de *C. pseudotuberculosis* avaliada sobreviveu nas amostras de água por 2 dias quando exposta à luz e durante 4 dias quando na ausência de luz, sob condições ambientais de casa de vegetação.

Referências

- BAIRD, G. J.; FONTAINE, M. C. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 137, n. 4, p. 179-210, 2007.
- BENHAM, C. L.; SEAMAN, A.; WOODBINE, M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in diseases of animals. **Commonwealth bureau o animal health**, n.32, p.645-657, 1962.
- DANTAS, K. A.; DANTAS, T. R; ANDRADE, A. P; PARENTE, H. N; SILVA, E. E. Uso de espécies da caatinga na alimentação de rebanhos no Município de São João do Cariri-PB. **RA' E GA**. Curitiba, n.20, p.157-171, 2010.
- MERCHANT, I. A.; PACKER, R. A. **Bacteriología y virología veterinarias**. 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1975. p. 437-452.
- SÁ, M. da C. A. de; PEIXOTO, L. J. e S.; DANTAS JÚNIOR, E. de M.; VESCHI, J. L. A.; COSTA, M. M. da. Resistência de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em condições naturais no ambiente da Caatinga. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA , 41., 2014. **Um mundo, uma saúde**. Gramado: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul , 2014.
- SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. Subcutaneous swellings. In: SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. **Goat medicine**. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, 1994. p. 46-49.