

## **TESTE DE IMUNODIFUSÃO EM ÁGAR GEL PARA *Rhodococcus equi*: PODE SER CONSIDERADO UMA FERRAMENTA PARA DIAGNÓSTICO E PREVENÇÃO?**

**FRITSCH, Samuel Catuci<sup>1</sup>; FINGER, Ilusca<sup>2</sup>; FREY, Jr, Friedrich<sup>4</sup>; KASINGER, Sabine<sup>4</sup>; NOGUEIRA, Carlos Eduardo Wayne<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Acadêmico em Medicina Veterinária/FV/UFPeI;

<sup>2</sup>Acadêmica em Medicina Veterinária/FV/UFPeI;

<sup>3</sup>Prof. Dr. Faculdade de Veterinária – UFPeI;

<sup>4</sup>Médico Veterinário.

Campus Universitário s/nº - Caixa Postal 354 - CEP 96010-900.

[samuelfritsch@yahoo.com](mailto:samuelfritsch@yahoo.com)

### **1 INTRODUÇÃO**

O *Rhodococcus equi* é uma bactéria cocobacilar Gram-positiva, intracelular facultativa, aeróbia obrigatória e de caráter oportunista, com capacidade de sobreviver e se multiplicar no interior dos macrófagos. A infecção por este agente da origem a doença Rodococose, que é uma enfermidade infectocontagiosa caracterizada por broncopneumonia piogranulomatosa, enterite ulcerativa e linfadenite mesentérica em potros com idade inferior a 6 meses (NOGUEIRA & LINS, 2010). A infecção por este agente, apesar de possuir baixa prevalência em isolados para cultura laboratorial (17%) foi responsável por uma alta letalidade (50%) entre outras causas respiratórias em potros jovens (RIBAS, 2007). Este microorganismo é encontrado no solo, água, fezes de herbívoros e está presente na microbiota intestinal do cavalo. Segundo Deprá *et al.* (2001), condições de calor e seca, características da região de Bagé-RS nos meses de verão, aumenta a poeira no ar, favorecendo a multiplicação do *R. equi* e conseqüentemente o risco de infecções em potros suscetíveis.

A distinção entre infecções do trato respiratório inferior causadas por *R. equi* daquelas causadas por outros patógenos são o principal problema em criatórios sem histórico anterior de infecções por *R. equi*. Meios de diagnóstico incluindo a coleta de sangue para exames laboratoriais para mensuração de fibrinogênio, acompanhamento clínico diário, ultrassonografia pulmonar, bem como o uso de técnicas sorológicas como o Teste de Imunodifusão em Ágar Gel (TIDAG) são úteis na distinção de pneumonia causada por *R. equi* das causadas por outros patógenos. Contudo, a amplificação da reação em cadeia da enzima polimerase (PCR) ou cultura bacteriológica combinada com o exame citológico do aspirado traqueobrônquico, são necessários para fazer um diagnóstico definitivo de broncopneumonia por *R. equi* (GUIGUERE, 2001).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a relação entre potros que apresentaram resultado positivo na detecção de anticorpos através do TIDAG e a apresentação de Rodococose.

## 2. METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Foram avaliadas 282 amostras de soro sanguíneo referentes a 94 éguas e seus respectivos potros nascidos na temporada reprodutiva de 2010, em um criatório localizado na região de Bagé/RS.

A coleta de amostras sanguíneas para obtenção de soro nas éguas foi realizada imediatamente após o parto. Nos potros as amostras foram coletadas pré-mamada do colostro e aos 25 dias de idade. Os procedimentos de coleta seguiram os métodos de antissepsia e utilização de material estéril.

As amostras foram submetidas ao Teste de Imunodifusão em Agar Gel (TIDAG), segundo a técnica descrita por Gaskin *et al.* (1990). A leitura era realizada após 24, 48 e 72 horas, sendo a placa conservada em estufa entre 23 e 25 °C.

Todos os animais eram inspecionados duas vezes por dia, durante o recebimento da ração. Hemogramas dos potros eram realizados a cada 20 dias, e animais com valores de fibrinogênio e células da série branca elevados eram submetidos a exame clínico geral e monitoramento diário.

Os potros com sinais clínicos compatíveis com Rodococose como febre, taquipnéia, anorexia e estertoração pulmonar com aumento no esforço abdominal para realizar a respiração (GUIGUERE, 2001), foram catalogados em uma ficha clínica individual.

Ao fim da temporada, os dados sorológicos e clínicos foram avaliados a fim de estabelecer a relação entre os animais que se mostraram com resultado positivo no TIDAG aos 25 dias e aqueles que apresentaram sinais clínicos compatíveis com rodococose.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O TIDAG é utilizado no criatório de Bagé-RS como método de acompanhamento e triagem dos animais, que apresentam anticorpos precipitantes da classe IgG contra os fatores equi, do *R. equi*.

Nenhum soro testado pertencente às éguas apresentou formação de linha de precipitação indicando presença de anticorpos contra *Rodococcus equi*, confirmando o que descreve Gaskin *et al.* (1990), o qual considera que, a menos que vacinados, cavalos adultos são quase sempre negativos. Da mesma forma, que as amostras dos potros na pré- mamada do colostro, partindo princípio de que a égua não transmite anticorpos via placentária ao potro e, portanto, todos os potros estudados não apresentavam anti-corpos prévios contra *R. equi*.

Dos 94 potros (100%), somente dois (2,1% da população total de potros e 18,2% da população dos doentes) demonstraram reação de precipitação no teste TIDAG, que foi realizado aos 25 dias de vida e 11 potros (11,7%) apresentaram posteriormente sinais clínicos de infecção por *R. equi*. Neste criatório, a incidência foi inferior aos mencionados por Becú *et al.* (2000), na Argentina, e Deprá *et al.* (2001), no Brasil. Em outro estudo, Madigan *et al.* (1991) compararam o título de anticorpos alcançado em potros através do colostro da égua vacinada e da transfusão de plasma hiperimune, observando que apesar do aumento de anticorpos

no colostro ser significativo, a proteção conferida não foi suficiente para evitar o aparecimento da doença. Estes dois casos positivos encontrados no período de avaliação de nosso trabalho, confirmam a premissa de que potros entram em contato com o *R. equi* durante os primeiros dias de vida, sendo as fezes da mãe uma importante fonte de infecção (HIETALA et al., 1985).

Os resultados desse estudo remetem a reconsiderar a finalidade do uso do TIDAG como ferramenta de monitoramento sorológico de potros na infecção por *R. equi*, partindo do princípio de que é um teste que irá demonstrar a presença ou ausência de anticorpos no momento da coleta do soro. Provavelmente o monitoramento dos animais que apresentaram reação negativa ou até mesmo discreta linha de precipitação considerada uma reação fraco-positiva, seja de maior importância, uma vez que isso indica nenhuma ou discreta formação de anticorpos contra o *R. equi*.

#### 4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, onde apenas 18,2% do total de animais que apresentaram Rodococose, apresentava reação positiva à presença de anticorpos contra *R. equi* aos 25 dias de idade, pode-se afirmar que o TIDAG possui pouca importância quando destinado ao acompanhamento clínico de potros que apresentam reação de precipitação positiva. No entanto, pode ser considerado como uma alternativa para o monitoramento sorológico da formação de anticorpos contra o *R. equi* em diferentes momentos da vida do potro.

#### 5 REFERÊNCIAS

BECÚ, T. et al. Prevalence of virulence plasmids in soil isolates of *Rhodococcus equi* from 5 horse-breeding farms in Argentina. **Journal of Equine Science**, v.11, p.23-27, 2000. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1294/jes.11.23>. Acesso em: 7 ago. 2011.

DEPRÁ N.M. et al. Monitoramento da infecção por *Rhodococcus equi* em potros puro sangue de corrida. **Arquivo Faculdade Veterinária – UFRGS**, v.29, n.1, p.25-35, 2001.

GASKIN, J.M., KING, R.R., LANE, T.J. Serological detection of *Rhodococcus equi* infections of foals. In: **Amer. Coll. Vet. Int. Med. Forum, Proceedings**, p. 581-584, 1990.

GIGUÉRE, S. *Rhodococcus equi* Pneumonia. In: **Proceedings of the 47<sup>th</sup> Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners – AAEP**, 2001, v. 47. Gainesville, p. 456-467.

HIETALA, S.K.; et al. Detection of *Corynebacterium equi* specific antibody in horses by enzyme-linked immunosorbent assay. **Am. J. Vet. Res.** v46, p. 13-15, 1985.

MADIGAN, J. E.; HIETALA, S.; MULLER, N. Protection against naturally acquired *Rhodococcus equi* in foals by administration of hiperimmune plasma. **Journal of Reproductive an fertility**, Cambridge, v. 44, suppl., p. 571-578, 1991.

MARTENS, R. J. et. al. *Rhodococcus equi* foal pneumonia: Protective effects of immune plasma in experimentally infected foals. **Equine Veterinary Journal**, New market, v. 21, n. 4, p. 249-255, 1989.

NOGUEIRA, Carlos Eduardo Wayne; LINS, Luciana Araújo. **Neonatologia e Pediatria Equina**. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária, 2010, v.2, n.7, p. 41- 59.

RIBAS, Leandro do Monte. Fatores de risco associados a doenças respiratórias em potros Puro Sangue Inglês do nascimento ao sexto mês de vida. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.6, p.1789-1794, 2009.