

Micoplasmoses em Pequenos Ruminantes



República Federativa do Brasil

Luís Inácio Lula da Silva

Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues

Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa

Conselho de Administração

José Amauri Dimárzio

Presidente

Clayton Campanhola

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Ernesto Paterniani

Hélio Tollini

Luís Fernando Rigato Vasconcelos

Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola

Diretor-Presidente

Gustavo Kauark Chianca

Herbert Cavalcante de Lima

Mariza Marilena T. Luz Barbosa

Diretores-Executivos

Embrapa Caprinos

Aurino Alves Simplicio

Chefe-Geral

Maria Eliene da Silva Dourado

Chefe-Adjunto de Administração

Luiz da Silva Vieira

Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Exedito Aguiar Lopes

Chefe-Adjunto de Comunicação e Negócios para Transferência de Tecnologias

Documentos 53

Micoplasmoses em Pequenos Ruminantes

Andréa Alice da Fonseca Oliveira
Francisco Selmo Fernandes Alves
Raymundo Rizaldo Pinheiro
Lea Chapaval
Alice Andrioli Pinheiro

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Caprinos

Estrada Sobral/Groaíras, Km 04, Caixa Postal D 10

CEP 62011-970 - Sobral/CE

Fone:(0xx88) 3677-7000

Fax:(0xx88) 3677-7055

Home page: <http://www.cnpc.embrapa.br>

E-mail: sac@cnpc.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: Eneas Leite Carneiro

Secretário-Executivo: Ana Clara Rodrigues Cavalcante

Membros: Ana Clara Rodrigues Cavalcante

Expedito Aguiar Lopes

José Ubiraci Alves

Tânia Maria Chaves Campêlo

Supervisor editorial: Alexandre César Silva Marinho

Revisor gramatical: José Ubiraci Alves

Normalização bibliográfica: Tânia Maria Chaves Campelo

Foto(s) da capa: Arquivos da Embrapa Caprinos

Editoração eletrônica: Alexandre César Silva Marinho

1ª edição

1ª impressão (2004): 500 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Micoplasmoses em pequenos ruminantes / Andréa Alice da Fonseca Oliveira ...
[et al.] – Sobral : Embrapa Caprinos, 2004.

32 p. : il. – (Documentos / Embrapa Caprinos, ISSN 1676-7659; 53).

1. Doença animal – Micoplasmose – Caprino. 2. Doença animal –
Micoplasmose – Ovino. 3. Ovino – Micoplasmose. 4. Caprino –
Micoplasmose. I. Oliveira, Andréa Alice da Fonseca. II. Embrapa Caprinos. III.
Título. IV. Série.

CDD 636.39089

© Embrapa 2004

Autores

Andréa Alice da Fonseca Oliveira

Méd. Vet., D.Sc., em Medicina Veterinária,
Embrapa Caprinos, Estrada Sobral/Groaíras, Km 04,
Caixa Postal - D10, CEP - 62011-970 - Sobral/CE
Embrapa Caprinos
andrea@cnpic.embrapa.br

Francisco Selmo Fernandes Alves

Méd. Vet., D.Sc., em Microbiologia Veterinária
selmo@cnpic.embrapa.br

Raymundo Rizaldo Pinheiro

Méd. Vet., D.Sc., em Ciência Animal,
Embrapa Caprinos
rizaldo@cnpic.embrapa.br

Lea Chapaval

Méd. Vet. D.Sc., em Ciência
Embrapa Caprinos
lea@cnpic.embrapa.br

Alice Andrioli Pinheiro

Méd. Vet., D.Sc., em Ciência Animal,
Embrapa Caprinos
alice@cnpic.embrapa.br

Apresentação

Os caprinos e ovinos representam um importante segmento da pecuária nordestina, gerando fonte de renda e constituindo a base alimentar para o homem do campo. A abordagem de enfermidades que acometem estas espécies é de fundamental importância para o criador, permitindo uma terapêutica adequada, bem como medidas de controle e profilaxia específicas, impedindo, desse modo, a disseminação das doenças para outros animais.

O conhecimento sobre os aspectos epidemiológicos, as manifestações clínicas, o tratamento adequado, as formas de diagnóstico e as medidas de controle e profilaxia que impeçam a disseminação das enfermidades, são de caráter fundamental, pois uma vez instaladas, torna-se muito difícil o seu controle e a eliminação de possíveis portadores do agente.

O presente documento refere-se a um importante complexo de enfermidades, inseridas na sanidade de caprinos e ovinos, as micoplasmoses. Elaborado de forma didática, este documento poderá ser utilizado como fonte de conhecimento para técnicos e produtores de pequenos ruminantes, bem como fonte de consulta para profissionais e acadêmicos de Medicina Veterinária.

Andréa Alice da Fonseca Oliveira
Pesquisadora

Sumário

Introdução	09
Situação Atual e Impacto Econômico das Micoplasmoses em Pequenos Ruminantes no Brasil	11
Principais Micoplasmoses	13
Pleuropneumonia Contagiosa Caprina (PPCC)	13
Aspectos Etiológicos e Epidemiológicos	13
Aspectos Patológicos e Clínicos	14
Ceratoconjuntivite Infecciosa	15
Aspectos Etiológicos e Epidemiológicos	15
Aspectos Patológicos e Clínicos	15
Agalaxia Contagiosa	16
Aspectos Etiológicos e Epidemiológicos	16
Aspectos Patológicos e Clínicos	17
Diagnósticos das Micoplasmoses	19
Achados Epidemiológicos e Clínicos	19
Isolamento e Identificação	19
Métodos Sorológicos/Imunológicos	20
Análise Molecular	21
Reação em Cadeia da Polimerase	21
Tratamento das Micoplasmoses	21
Controle e Profilaxia das Micoplasmoses	22
Considerações Finais	23
Referências Bibliográficas	25

Micoplasmoses em Pequenos Ruminantes

Andréa Alice da Fonseca Oliveira

Francisco Selmo Fernandes Alves

Raymundo Rizaldo Pinheiro

Lea Chapaval

Alice Andrioli Pinheiro

Introdução

Os micoplasmas são organismos difundidos na natureza e acometem o homem, mamíferos, répteis, peixes, artrópodes e plantas. São distinguidos de outras bactérias por seu tamanho diminuto e pela ausência total de parede celular (Figura 1). A ausência de parede celular é um fator de diferenciação que leva à constituição dos micoplasmas em uma classe denominada de *Mollicutes* (do latino *mollis*, delicado e *cutis*, parede). Usualmente utilizam-se de hospedeiros e tecidos específicos, provavelmente em decorrência da sua exigência nutricional natural e obrigação do modelo de vida parasitária. São primariamente encontrados em mucosas do trato respiratório e urogenital, nos olhos, no tubo digestivo, na glândula mamária e nas articulações (Razin et al., 1998).

Economicamente, as espécies mais importantes relatadas para pequenos ruminantes são classificadas como "*Mycoplasma mycoides* cluster". Este "cluster" consiste dos seguintes exemplares: *M. mycoides* subespécie *mycoides* small colony (colônias pequenas), *M. mycoides* subespécie *mycoides* large colony (colônias grandes), *M. mycoides* subespécie *capri*, *M. capricolum* subespécie *capricolum*, *M. capricolum* subespécie *capripneumoniae* e sorogrupo bovino 7. Além destas, outras espécies como o *M. agalactiae*, *M. conjunctivae*, *M. ovipneumoniae* e a cepa F38 (também causadora de pleuropneumonia) exercem importante papel para as espécies caprina e ovina (DaMassa et al., 1992; Gutierrez et al., 1999).

No Brasil, estudos relataram a ocorrência e a importância da micoplasmose, principalmente na atual descrição da presença da Agalaxia Contagiosa em caprinos na região nordeste (Nascimento et al., 1986; Nascimento et al., 2002). O primeiro relato de isolamento no Brasil, de *Mycoplasma ovipneumoniae*, ocorreu no Rio de Janeiro por Nascimento & Nascimento no ano de 1982 (Nascimento & Nascimento, 1984).

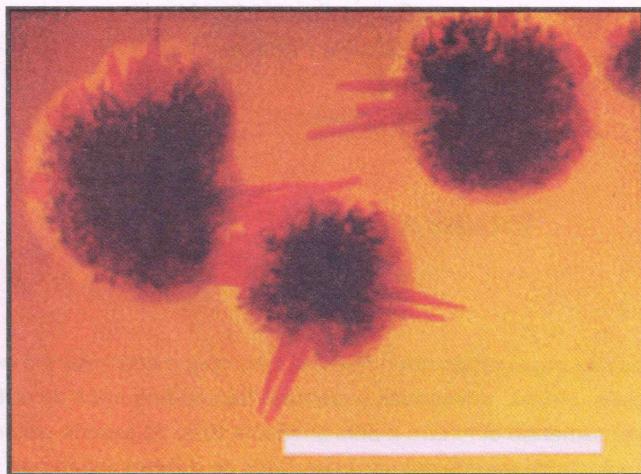


Fig. 1. Microscopia de *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small colony

O *M. mycoides* subespécie *mycoides* large colony e o *M. mycoides* subespécie *capri* compartilham de muitas características sorológicas, antigênicas e genômicas, sendo ambos associados a alta mortalidade em rebanhos caprinos (Gutierrez et al., 1999).

As espécies envolvidas nas infecções em animais apresentam tropismo por leucócitos polimorfonucleares e macrófagos. A entrada do agente na célula do hospedeiro inicia-se pela ligação do mesmo na superfície celular do animal. Enfatiza-se que a localização intracelular por um curto período de tempo torna-se um mecanismo de escape do patógeno, levando à proteção dos micoplasmas contra os efeitos do sistema imunológico e da ação de antibióticos, o que dificulta a erradicação dos micoplasmas em cultivos celulares infectados (cerca de 10% a 87% dos cultivos celulares são infectados por micoplasmas), determinando também, o estabelecimento de infecções crônicas ou latentes (Razin et al., 1998).

Os achados mais expressivos, no que se refere aos micoplasmas, são as interações destes com o sistema imune, ativação de macrófagos, manifestações autoimunes e componentes da célula micoplásmica que atuam como superantígenos. A interação com o sistema imune envolve a indução de reações específicas, que incluem a produção de anticorpos de diferentes classes e subclasses, opsonização e fagocitose dos organismos e reações não específicas (Cassel et al., 1985; Razin et al., 1998).

A habilidade dos micoplasmas em modular a resposta imune do hospedeiro contribui para suas propriedades patogênicas, capacitando-os a suprimir os mecanismos de defesa e estabelecer uma infecção crônica, persistente. Potentes toxinas não apresentam associação com os micoplasmas. Entretanto, os produtos tóxicos do metabolismo destes, como peróxido de hidrogênio e radicais superóxidos, têm sido incriminados como causa de danos oxidativos nas membranas celulares dos hospedeiros (Wang et al., 1993; Razin et al., 1998).

Em pequenos ruminantes, os micoplasmas são associados a doenças respiratórias, mastites, artrites, doenças da esfera reprodutiva e lesões oculares (Tabela 1). Destacam-se entre estas enfermidades a Pleuropneumonia Contagiosa Caprina (PPCC) e a Agalaxia Contagiosa, que são designadas pela Organização Internacional de Epizootias (OIE) como enfermidades da lista B pelo impacto econômico que ocasionam nos rebanhos (Contagius..., 2004; Nicholas, 2002).

Situação Atual e Impacto Econômico das Micoplasmoses em Pequenos Ruminantes no Brasil

As descrições de micoplasmose caprina e ovina no Brasil datam de 1942, quando ocorreu um surto de pleuropneumonia e mastite em caprinos no Estado de São Paulo. A partir de então, várias espécies de micoplasmas foram isolados e identificados em nossos rebanhos, determinando vários quadros clínicos. Em 2001 diagnosticou-se, através do leite, líquidos articulares e lavados de conduto auditivo externo, a presença do *M. agalactiae* em caprinos procedentes da Paraíba e outras regiões do Nordeste, até então considerado inexistente no Brasil. As perdas econômicas foram elevadas, visto que o surto determinou uma morbidade (total de animais doentes no rebanho) de 100%, mortalidade de 5,32% e queda na produção de leite de 90%, apesar da realização de tratamento com antibiótico (Azevedo et al., 2002; Nascimento et al., 2002). Surto de

ceratoconjuntivite infecciosa no Brasil também foi relatado por Gregory *et al.* (2003) no Estado de São Paulo, onde 50% do rebanho estava acometido pela enfermidade.

Considerando-se que as micoplasmoses determinam altas morbidades nas suas manifestações, acometendo animais em diversas fases produtivas, e alta mortalidade na pleuropneumonia contagiosa, subentende-se que as perdas econômicas estão implícitas nestes indicadores, e que, portanto, a profilaxia e o controle da enfermidade direcionam o melhor caminho para minimizar o impacto econômico negativo determinado pelas micoplasmoses.

Tabela 1. Espécies de micoplasmas que acometem caprinos e ovinos e seus locais usuais de isolamento.

<i>Espécie</i>	<i>Locais de Isolamento</i>
<i>M. agalactiae</i>	Tonsilas, úbere, articulações, ouvido externo, olhos, trato genital
<i>M. arginini</i>	Tonsilas, trato respiratório, olhos
<i>M. auris</i>	Ouvido externo
<i>M. bovis</i>	Pulmão
<i>M. capricolum subesp. capricolum</i>	Tonsilas, úbere, articulações, trato respiratório, ouvido externo
<i>M. capricolum subesp. capripneumoniae</i>	Trato respiratório
<i>M. conjunctivae</i>	Olhos, trato respiratório
<i>M. mycoides subesp. capri</i>	Trato respiratório
<i>M. mycoides subesp.</i>	Tonsilas, úbere, articulações, trato respiratório, ouvido externo (ácaros do ouvido), olhos
<i>Mycoides (LC, SC?)</i>	Tonsilas, trato respiratório, olhos
<i>M. ovipneumoniae</i>	Úbere, articulações, ouvido externo (ácaros)
<i>M. yeatsii</i>	Tonsilas, pulmões, úbere, ouvido externo

Fonte: Nascimento (2003).

Principais Micoplasmoses

Pleuropneumonia Contagiosa Caprina (PPCC)

A Pleuropneumonia Contagiosa Caprina (PPCC) foi primeiramente descrita na Argélia por Thomas em 1873. Na maioria dos casos, os caprinos apresentavam apenas um dos pulmões acometido (McMartin et al., 1980). A contagiosidade da enfermidade não foi inicialmente reconhecida, por tratar-se na época de uma enfermidade endêmica em muitas regiões. Ao passar do tempo a mesma foi estudada, em virtude da ocorrência de surtos, reconhecendo-se, posteriormente, a alta contagiosidade da mesma (Nicholas, 2002).

Aspectos Etiológicos e Epidemiológicos

O agente causal da PPCC trata-se do *Mycoplasma capricolum* subesp. *capripneumoniae*. Entretanto, outras espécies, tais como *Mycoplasma mycoides* subesp. *mycoides* Large Colony (LC), *Mycoplasma mycoides* subesp. *capri*, *Mycoplasma ovipneumoniae* e *Mycoplasma arginini* também podem estar envolvidos (Martrenchard et al., 1995). A mortalidade é variável de acordo com a espécie de micoplasma envolvida na infecção, pela variação na patogenicidade. As micoplasmoses são descritas em diferentes formas de evolução nos pequenos ruminantes: aguda, hiperaguda e crônica. Na forma hiperaguda a morte ocorre entre três a cinco dias; na forma aguda o aparecimento dos sinais clínicos pode ocorrer entre 15 a 30 dias pós-infecção, e a forma crônica assemelha-se à forma aguda da doença, ocorrendo neste caso, resolução pela encapsulação da lesão aguda, determinando ou não o término do processo infeccioso (Ojo et al., 1980).

Animais de todas as idades e sexo podem ser acometidos. A doença aguda é mais observada em rebanhos não acometidos, de áreas recentemente afetadas. A transmissão pode ocorrer tanto com a introdução de animais infectados em rebanhos susceptíveis, quanto no contato de animais sadios com secreções contaminadas ou durante o acesso de tosse de animais infectados (Nicholas, 2002).

A ocorrência da pneumonia em ovinos e caprinos é influenciada por diversos fatores ambientais e de manejo, ocorrendo a associação de outros agentes infecciosos juntamente com as espécies de micoplasmas, em concomitância com o estresse (Müller et al., 1998). Algumas espécies como *M. capricolum capripneumoniae* apresentam alta patogenicidade, levando ao agravamento dos

sinais clínicos. De forma contrária, o *M. ovipneumoniae* é caracterizado pelo baixo poder patogênico; entretanto, pode alterar a atividade de macrófagos alveolares em ovinos sem que seja fagocitado, permanecendo infectante no animal (Niag et al. 1997).

Aspectos Patológicos e Clínicos

O período de incubação geralmente é em torno de 10 dias, podendo variar de dois a 28 dias. Os primeiros sinais clínicos observados são dificuldade na locomoção e febre (variações entre 41°C e 42°C), embora os animais continuem se alimentando e ruminando. Posteriormente são observados sinais de dispnéia, episódios de tosse, corrimentos nasais mucopurulentos e salivação intensa. Na fase terminal, o animal não se locomove e vem à óbito. Nas formas subagudas e crônicas os sinais clínicos são verificados apenas quando os animais são submetidos a condições de exercício.

As lesões patológicas são localizadas principalmente nos pulmões e na pleura denominando-se de pleuropneumonia, normalmente com ocorrência de hepatização unilateral, pleurite e acúmulo de líquido pleural. A pleura, em muitos casos, está aderida ao diafragma, pericárdio e caixa torácica. O exsudato pleural pode ser solidificado em forma gelatinosa (fibrina) (Figura 2) revestindo os pulmões.



Embrapa Caprinos

Fig. 2. Aderência de fibrina (seta) em pulmão de caprino, lobo cardíaco.

Ao exame histopatológico do tecido pulmonar, observa-se infiltrados serofibrinosos com presença de células inflamatórias, principalmente neutrófilos nos alvéolos, brônquios, septo intersticial e tecido conectivo subpleural. Edemas intra e interlobular também podem estar presentes, assim como infiltrados constituídos por células mononucleares (Nicholas, 2002).

Ceratoconjuntivite Infecciosa

Aspectos Etiológicos e Epidemiológicos

A ceratoconjuntivite infecciosa é conhecida mundialmente como enfermidade que afeta a região ocular de ovinos e caprinos. As espécies de micoplasmas envolvidas neste processo são, principalmente, o *Mycoplasma conjunctivae* e o *Mycoplasma agalactiae*.

Relatos de surtos de ceratoconjuntivite, principalmente em ovinos, são descritos por Rodriguez et al. (1996) no sul da Espanha e Janovsky et al. (2001) na Suécia. No Brasil, Gregory et al. (2003) descreveram o primeiro surto de ceratoconjuntivite infecciosa em caprinos adultos no Estado de São Paulo. Os animais apresentavam como principal manifestação clínica opacidade de córnea, hiperemia conjuntival, secreção ocular seromucosa e blefaroespasmos. Até então, a ocorrência da enfermidade nos caprinos era sempre descrita como associada a quadros multissistêmicos causados por *M. mycoides* subsp. *capri* e *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC em caprinos jovens (Nascimento et al., 1986), que apresentavam manifestações típicas de pneumonia associada a outras manifestações clínicas, como ceratoconjuntivite e artrite.

Aspectos Patológicos e Clínicos

A enfermidade usualmente envolve a superfície ocular, com sinais clínicos iniciais de lacrimejamento, hiperemia da conjuntiva (conjuntivite) e blefaroespasmos. Com o agravamento dos sintomas a enfermidade evolui envolvendo a córnea, tornando-a opaca (Figura 3) e determinando quadros de irite e ceratite, podendo levar o animal à perda da visão.

Histologicamente, um abundante infiltrado de neutrófilos determina áreas de necrose de liquefação e neoformação vascular na córnea, que está associada à migração de neutrófilos e células mononucleares, induzindo uma ceratite aguda ou subaguda (Rodriguez et al., 1996).



Embrapa Caprinos

Fig. 3. Opacidade total da córnea em caprino, com perda da visão.

Agalaxia Contagiosa

A agalaxia contagiosa é uma das principais enfermidades infecciosas causada por micoplasmas, sendo recentemente diagnosticada no Nordeste brasileiro em pequenos ruminantes (Azevedo et al., 2003). A doença clínica foi descrita primeiramente por Metaxa na Itália em 1816 (Madanat et al., 2001), e atualmente ocorre em muitos países que produzem estas espécies intensivamente. Apesar da denominação, a enfermidade acomete animais de ambos os sexos, determinando quadros inaparentes, leves, agudos ou crônicos.

Aspectos Etiológicos e Epidemiológicos

O agente causal da doença, o *Mycoplasma agalactiae*, foi isolado inicialmente em 1923. Embora a agalaxia contagiosa não apresente alta mortalidade, a morbidade da doença no rebanho pode encontrar-se entre 30% e 60%. A redução ou completa parada na produção de leite, quadros de mastite, ou a ocorrência de abortos, torna a enfermidade responsável por consideráveis perdas econômicas (Madanat et al., 2001).

Em ovinos, particularmente, o *M. agalactiae* é considerado como o agente etiológico clássico da agalaxia contagiosa. Entretanto, outras espécies de

micoplasma podem determinar sinais clínicos e patológicos semelhantes em pequenos ruminantes.

O agente etiológico é sensível ao aumento de temperatura, sendo inativado em cinco minutos a 60° C, ou em um minuto a 100° C. São sensíveis também à radiação ultravioleta e à degradação do ambiente. Desinfetantes como formalina, cloro e outros, podem destruir o agente em 15 a 20 minutos (Bergonier et al., 1997).

A doença é disseminada rapidamente e a transmissão ocorre a partir do contato de animais sadios com portadores, ou animais e meio ambiente infectados por descargas nasais, fezes, urinas e excreções articulares. Em animais jovens, a ocorrência da doença acontece pela ingestão de leite e colostro contaminados, podendo o agente ser excretado no leite por no mínimo 12 meses e no máximo 8 anos, quando os sinais clínicos são mais brandos (DaMassa & Brooks, 1991).

A presença de portadores do microrganismo representa um sério risco para a saúde animal, pois estes, carregam o agente no trato genital ou no conduto auditivo. Outras espécies de ruminantes, tais como bovinos, camelos ou pequenos ruminantes silvestres, podem funcionar como reservatórios para Micoplasmas (DaMassa, 1990; Perrin et al, 1994).

Aspectos Patológicos e Clínicos

Em condições naturais, a porta de entrada do microrganismo pode ser a via oral, mamária ou respiratória. Em animais infectados oralmente, as células intestinais serão o sítio de ligação primária e adesão. Infecções e subsequente colonização da glândula mamária pelo *M. agalactiae*, são resultados de técnicas de ordenha incorretas ou defeitos no equipamento de ordenha (Kinde et al, 1994).

Animais infectados desenvolvem bacteremia acompanhada por febre, ocorrendo a disseminação do agente à glândula mamária, olhos, linfonodos, articulações e tendões. Animais gestantes podem abortar. O período de incubação ocorre entre um e dois meses.

O sinais clínicos observados em animais infectados são anorexia, letargia, indisposição e mastite que conduz à diminuição da produção de leite e à agalaxia propriamente dita. O leite apresenta aspecto amarelado, com consistência aquosa, tornando-se gradativamente de aspecto purulento. Quando as articulações são afetadas, a artrite ocorre normalmente no carpo e no tarso, com acúmulo de

líquido sinovial (Figura 4), e em casos crônicos, um quadro de anquilose pode ser observado. O acometimento ocular ocasiona sinais clínicos semelhantes aos descritos na ceratoconjuntivite infecciosa. Ocorrem também associações entre casos de vulvovaginites granulosa em cabras, com a presença do *Mycoplasma agalactiae*.

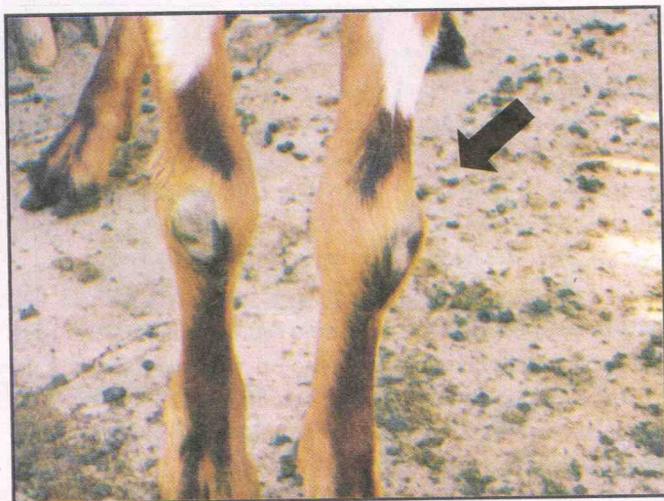


Fig. 4. Artrite em articulação carpo metacarpiana de caprino, decorrente de infecção crônica por *Mycoplasma agalactiae*.

Ao exame macroscópico *post-mortem* de animais acometidos com artrite, os achados podem ser resumidos em sinovite/artrite muco-purulenta nas articulações afetadas.

Diagnósticos das Micoplasmoses

Achados Epidemiológicos e Clínicos

Os achados epidemiológicos e clínicos das micoplasmoses em pequenos ruminantes fornecem informações valiosas para um correto diagnóstico, entretanto, não podem ser utilizados separadamente dos exames laboratoriais, pois é de extrema importância a realização do diagnóstico diferencial da micoplasmose com outras enfermidades, que determinam quadros clínicos semelhantes, principalmente Listeriose, Lentivirose, abortos ocasionados por *Chlamydia* ou *Campylobacter*, ceratoconjuntivites e mastites ocasionadas por outros micorga-

nismos. Outro importante fator é a dificuldade de diagnóstico dos portadores inaparentes (não apresentam sinais clínicos), que passam despercebidos (Madanat et al., 2001).

Estudos realizados por Gutierrez et al. (1999) determinaram variações nos valores hematológicos de caprinos jovens inoculados experimentalmente com *M. mycoides* subesp. *mycoides*, e verificaram uma leucopenia acompanhada de depleção de neutrófilos e linfócitos, atribuída à destruição das células brancas sangüíneas na indução da septicemia, refletindo-se em um processo agudo. Verificaram uma diminuição do fibrinogênio, trombocitopenia e eritrocitopenia, relatada também em infecções naturais, assim como baixos níveis de hemoglobina. Apesar dos significantes achados hematológicos, estes, por si só, não são suficientes para diagnosticar a enfermidade (Nayak & Bhowmik, 1988).

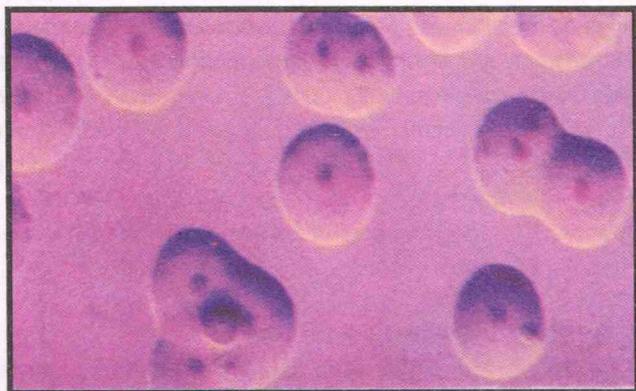
Isolamento e Identificação

O isolamento das diversas espécies de *Mycoplasma* é realizado a partir de materiais como:

- Macerado de fragmentos de tecidos lesionados (pulmão, linfonodos regionais e glândula mamária) , obtidos de animais necropsiados;
- Material obtido através de swab nasal, orofaríngea, vaginal e ocular;
- Coleta de leite, sangue e urina;
- Coleta de exsudatos articulares;
- Material obtido de lavados bronco-alveolares e conduto auditivo (portadores).

As amostras são cultivadas em meios específicos, como o Hayflick modificado, Agar PPLO e SP4 (para crescimento de micoplasmas fastidiosos), entre outros. As placas são incubadas a 37°C (sob condições de microaerofilia), com leituras diárias por um período de 21 dias, tempo necessário para crescimento de micoplasmas originadas de pequenos ruminantes. As colônias apresentam aspecto de “ovo frito” (Figura 5), são transparentes, variando de 50 a 500 µm de diâmetro e são visualizadas em microscópio estereoscópico com aumento de 100 vezes (Nascimento et al., 2002).

A caracterização bioquímica das espécies é realizada por testes de sensibilidade à digitonina, fermentação da glicose, hidrólise da uréia e arginina, atividade da fosfatase e digestão da caseína, entre outros.



www.mycoplasma-exp.com

Fig. 5. Aspecto de "ovo frito" em colônias de *Mycoplasma mycoides*

Métodos Sorológicos/Imunológicos

Apesar da relativa quantidade de testes sorológicos empregados no diagnóstico das micoplasmoses em pequenos ruminantes, não existe ainda um teste que possa ser amplamente recomendado (Nascimento et al., 2003).

Alguns métodos sorológicos de identificação incluem a Imunofluorescência, Imunoperoxidase Indireta, ELISA (mais recentemente utilizando-se a técnica de Dot-Immunoblotting), Fixação de Complemento (FC), Teste de aglutinação em látex (maior sensibilidade que a FC), Imunohistoquímica (a partir de fragmentos de tecidos obtidos em animais necropsiados) e Imunocitoquímica (a partir de lavados bronco-alveolares, punção de líquido articular e punção de glândula mamária).

Análise Molecular

Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

Consiste na detecção de fragmentos de DNA e RNA de determinado microrganismo, que podem ser repetidamente amplificados e detectados com maior rapidez, sensibilidade e especificidade. Apesar das suas vantagens, a PCR também apresenta limitações, como em outras técnicas de diagnóstico, tais como

ocorrência de falso-positivos (pela amplificação de outros produtos) e baixa especificidade do primer (presença de inibidores da polimerase na amostra) (Vanechoutte & Van Eldere, 1997).

Tem sido previamente relatado em detecções diretas de DNA de *M. agalactiae* em amostras de leite de ovelha, sendo considerada como a melhor técnica para detecção direta do agente em leite, apresentando vantagens sobre os métodos tradicionais de diagnóstico, na rápida detecção e diferenciação do "Cluster" de *Mycoplasma mycoides* (Hotzel et al., 1996; Tola et al., 1997).

Apesar dos avanços das pesquisas com uso da PCR na detecção de espécies de Micoplasmas de pequenos ruminantes, o seu uso no Brasil ainda é restrito, pois faz-se necessária a padronização da técnica, além da decisão de que espécies irão compor o diagnóstico (Nascimento, 2003), o que não impossibilita o avanço de novas pesquisas avancem neste sentido.

Tratamento das Micoplasmoses

O tratamento das micoplasmoses baseia-se principalmente na antibioticoterapia sistêmica, por longo período, caso contrário a probabilidade de reincidentivas e aparecimento de cepas resistentes é muito provável. Exceto a penicilina ou outros antibióticos b-lactâmicos com atuação na parede celular, que são inativos contra os micoplasmas, pela ausência de parede celular na mesma, vários antibióticos e quimioterápicos têm sido utilizados (Tabela 2) (Hannan, 2000; Madanat et al., 2001; Nascimento, 2003).

Mesmo com a realização do tratamento, as micoplasmoses podem reaparecer após o término do mesmo; entretanto, em ocasiões de surtos, o tratamento deve ser preconizado até que sejam adotadas medidas de controle adequadas. O tratamento sintomático é também recomendado, como a utilização de secretolíticos em casos de pneumonia, tratamento local da glândula mamária em casos de mastites e utilização de colírios à base de antibióticos, aos quais os micoplasmas apresentem sensibilidade.

Tabela 2. Principais quimioterápicos sistêmicos utilizados nas diversas manifestações clínicas da micoplasmosose em pequenos ruminantes.

Antibiótico	Dosagem	Duração	Via de administração	Espécies Susceptíveis
Tilosina	1mL/5kg/dia	5 dias	IM	<i>M. agalactiae</i> e "Cluster" de <i>M. mycoides</i>
Enrofloxacin	0,5mL/10kg/dia	5 dias	IM	<i>Mycoplasma spp</i>
Oxitetraciclina	1mL/10kg/dia	5 dias	IM	<i>Mycoplasma spp</i>
Lincomicina	1mL/10kg/dia	5 dias	IM	<i>Mycoplasma spp</i>
Ciprofloxacina	1mL/20kg/dia	5 dias	IM	<i>Mycoplasma spp</i>
Norfloxacina	1mL/10kg/dia	5 dias	IM ou subcutânea	<i>Mycoplasma spp</i>

IM = Intramuscular

Fonte: Ouretetra... (2000); Tylan... (2000); Flotril... (2002); Ciprodez... (2004); Lincospectin... (2004); Norflomax.... (2005).

Controle e Profilaxia

O controle e a profilaxia das micoplasmoses em pequenos ruminantes é fundamental para o sucesso da criação, uma vez que o tratamento torna-se medida de urgência. A erradicação da doença é desejável, porém trabalhosa e muitas vezes impossível, pois, considerando a presença de animais portadores e assintomáticos no rebanho, a eliminação do agente de determinada propriedade é difícil.

Algumas medidas podem ser adotadas para controle :

- medidas de biossegurança na propriedade, capazes de impedir a infecção de animais sãos, tendo-se o cuidado na introdução de novos animais;
- realização de quarentena para detecção de possíveis doentes;
- detecção e eliminação de portadores inaparentes no rebanho;
- separação das crias ao nascimento, impedindo contato com suas mães, substituindo o colostro por sucedâneo ou termizando-se (56°C/30 minutos) o colostro procedente das mães (Nascimento et al, 2002);

- medidas higiênicas durante a ordenha;
- desinfecção correta de instalações e equipamentos de ordenha;
- isolamento e separação de animais com sintomatologia clínica do resto do rebanho, para tratamento.

A proteção vacinal contra a Pleuropneumonia Contagiosa Caprina tem sido possível ao longo dos anos com o uso de autovacinas administradas subcutâneamente, oriundas de extratos pulmonares de animais afetados. Vacinas inativadas com saponinas e fenol, como também as produzidas com culturas da cepa F38, determinam boa imunidade. Entretanto, as vacinas comerciais para as micoplasmoses em pequenos ruminantes, ainda não são encontradas Brasil. Animais jovens, a partir de 10 semanas, podem ser vacinados sem que ocorra a interferência dos anticorpos maternos (Nicholas, 2002).

As vacinas vivas atenuadas de culturas de *Mycoplasma agalactiae* apresentam-se mais efetivas do que as inativadas, que determinam reduzida resposta imunológica. Caso a vacina seja aplicada em animais infectados a lactação normal é reduzida e as lesões articulares e oculares são diminuídas, entretanto o animal permanece excretando o patógeno através do leite, por um longo período (Madanat et al., 2001).

Considerações Finais

As infecções micoplásmicas, apesar de causarem enormes prejuízos à exploração pecuária da caprino-ovinocultura, ainda são pouco estudadas nos países em desenvolvimento, principalmente no Brasil.

Um fator importante a ser considerado é a condição de portador inaparente que alguns animais detêm, eliminando o agente por vários anos, constituindo fonte constante de contaminação para outros animais e possibilitando a difusão da doença. As perdas econômicas decorrentes da ausência de apetite, o baixo rendimento de carcaça, queda na produção de leite, condenação de carcaças e gastos com medicamentos, tornam as micoplasmoses um importante problema, principalmente em países onde a caprinocultura é expressiva.

O diagnóstico das micoplasmoses em caprinos é muitas vezes dificultado por condições de isolamento, identificação do microrganismo e pela não disponibilidade de antisoro e antígeno para realização dos testes sorológicos e obtenção de dados epidemiológicos existentes, que possam determinar o diferencial entre micoplasmose e outras enfermidades similares. O estabelecimento de testes diagnósticos seguros e eficientes para a detecção da infecção é assunto que ainda demanda muitas pesquisas envolvendo biologia molecular e outras técnicas de avançadas.

O avanço do conhecimento sobre micoplasmose caprina facilitará a implantação de medidas de controle desta infecção em rebanhos problemas e, assim, promoverá um impacto na redução das perdas econômicas, determinando um aumento da produtividade.

Referências Bibliográficas

AZEVEDO, E. O.; CASTRO, R. S.; TABOSA, I. M.; ALMEIDA, V. M.; SANTOS, L. P.; BANDEIRA, D. A.; ARAÚJO, M. D.; ALMEIDA, J. F.; NASCIMENTO, E. R. Comportamento da Agalaxia contagiosa em caprinos e ovinos no Nordeste brasileiro. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 11.; CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 5.; CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 3., 2003, Salvador. **Sanidade, base da economia pecuária: programa final: livro de resumos**. Salvador: Associação Brasileira de Buiatria, 2003. p. 71. Resumo.157.

BERGONIER, D.; BERTHELOT, X.; POUMARAT, F. **Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control**. **Review Science Technology OIE**, v. 16, n. 3, p. 848-873, 1997.

CASSEL, G. H.; CLYDE, W. A. J., DAVIS, J. K. Mycoplasmal respiratory infections. In: RAZIN, S.; BARILE, M.F. (Ed.). **The mycoplasmas..** Orlando: Academic Press, 1985. v. 4. p. 69-106.

CIPRODEZ: ciprofloxacino; injetável. Responsável técnico Paulo Roberto Andreoli. São Paulo: Ceva Saúde Animal. 2004. Bula de remédio.

CONTAGIOUS caprine pleurópneumonia. In: INSTITUTE FOR INTERNATIONAL COOPERATION IN ANIMAL BIOLOGIES. Disponível em <http://www.vmiastate.edu/services/institutes/iicab/iicab/htm> Acesso em: 07 dez. 2004

DaMASSA, A. J. The ear canal as a culture site for demonstration of mycoplasmas in clinically normal goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 67, n. 7, p. 267-269, 1990.

DaMASSA, A. J., BROOKS, D. L. The external ear canal of goats and other animals as a *Mycoplasma* habitat. **Small Ruminants Research**, v. 4, n.1, p. 85-93, 1991.

DaMASSA, A. J.; WAKENELL, P. S.; BROOKS, D. L. Mycoplasmas of goats and sheep (Review article). **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 4, p. 101-113, 1992.

FLOTTRIL 10%: enrofloxacin; injetável. Responsável técnico Leônidas Resende. Rio de Janeiro: Shering-Plough, 2002. Bula de remédio.

GREGORY, L.; CARDOSO, M.V.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; TEIXEIRA, S. R.; SOUZA, R. M.; PACHECO, W. A.; BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. Surto de ceratoconjuntivite infecciosa dos caprinos causada por *Mycoplasma conjunctivae* em caprinos adultos, criados no Estado de São Paulo. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 199-201, 2003.

GUTIERREZ, C.; RODRIGUEZ, J. L.; MONTOYA, J. A.; FERNANDEZ, A. Clinico-pathological and haematological findings in goats kids experimentally infected simultaneously with *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large colony -type). **Small Ruminant Research**, v.31, n. 3, p.187-192, 1999.

HANNAN, P. C. T. Guidelines and recommendations for antimicrobial minimum inhibitory concentration (MIC) testing against veterinary mycoplasma species. **Veterinary Research**, v. 31, p. 373-395, 2000.

HOTZEL, H.; SACHSE, K.; PFUTZNER, H. A PCR scheme for differentiation of organisms belonging to the *Mycoplasma mycoides* cluster. **Veterinary Microbiology**, v. 49, p. 31-43, 1996.

JANOVSKY, M.; FREY, J.; NICOLET, J.; BELLOY, L.; GOLDSCHMIDT-CLERMONT, E.; GIACOMETTI, M. *Mycoplasma conjunctivae* infection is self-maintained in the Swiss domestic sheep population. **Veterinary Microbiology**, v. 83, p. 11-22, 2001.

KINDE, H.; DaMASSA, A. J.; WAKENELL, P. S.; PETTY, R. Mycoplasma infection in a commercial goat dairy caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (caprine biotype). **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, p. 423-427, 1994.

LINCO-SPECTIN solução estéril: cloridrato de lincomicina; injetável. Responsável técnico André Luiz Silveira. São Paulo: Pfizer, 2004. Bula de remédio.

MADANAT, A.; ZENDULKOVA, D.; POSPSIL, Z. Contagious agalactia of sheep and goats. A review. **Acta Veterinaria Brno**, v. 70, p. 403-412, 2001.

MARTRECHARD, A.; BOUCHEL, D.; ZOYEM, N. Isolation and experimental studies of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC and *Mycoplasma ovipneumoniae* in goats in northern Cameroon. **Small Ruminant Research**, v. 16, n. 2, p. 179-184, 1995.

McMARTIN, D.A.; MACOWAN, K. J.; SWIFT, L.L. A century of classical contagious pleuropneumonia: from original description to aetiology. **British Veterinary Journal**, v. 136, p. 507-515, 1980.

MÜLLER, E. E.; NASCIMENTO, E. R.; METTIFOGO, E.; REIS, A. C. F. dos; FREITAS, J. C. de; NASCIMENTO, M. da G. F. do. Isolamento de *Mycoplasma arginini* e *Actinomyces pyogenes* de ovino com pleuropneumonia. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 118-119, 1998.

NASCIMENTO, E. R. do. Micoplasmose caprina e ovina. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE O AGRONEGÓCIO DA CAPRINOCULTURA LEITEIRA = INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE AGRIBUSINESS OF THE GOAT MILK INDUSTRY, 1.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE = INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SHEEP AND GOAT PRODUCTION, 2.; ESPAÇO APRISCO NORDESTE, 1., 2003, João Pessoa. **Anais... = Proceedings...** João Pessoa: EMEPA, 2003. p. 141-151.

NASCIMENTO, E. R. do; NASCIMENTO, M. G. F.; FREUNDT, E. A.; ANDERSEN, H. Isolation of *Mycoplasma mycoides* from outbreaks of caprine mycoplasmosis in Brazil. **British Veterinary Journal**, v. 142, p. 246-257, 1986.

NASCIMENTO, M. G. F.; NASCIMENTO, E. R. do Isolamento de *Mycoplasma ovipneumoniae* de caprinos com pneumonia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 19., 1984, Belém. **Anais...** Belém: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1984. p. 304.

NAYAK, N. C.; BHOWMIK, M. K. Mycoplasmal polyarthritis associated with septicaemia in kids: Clinico-haematological and biochemical studies. **Indian Journal Veterinary Pathology**, v. 12, p. 13-17, 1988.

NIAG, M.; ROSEBUSCH, R. F.; LOPEZ-VIRELLA, J.; KAEBERLE, M. L. Expression of functions by normal sheep alveolar macrophages and their alteration by interaction with *Mycoplasma ovipneumoniae*. **Veterinary Microbiology**, v. 58, p. 31-43, 1997.

NICHOLAS, R. A. J. Improvements in the diagnosis and control of diseases of small ruminants caused by mycoplasmas. **Small Ruminants Research**, v. 45, n. 2, p.145-149, 2002.

NORFLOMAX: Norfloxacin; injetável. Responsável técnico Carlos Henrique Henrique. São Paulo: Ourofino, 2005. Bula de remédio.

OJO, M. O.; KASALI, O. B.; OZOYA, S. E. Pathogenicity of caprine strain of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* for cattle. **Journal of Comparative Pathology**, v. 90, p.209-215, 1980.

OUROTETRA L.A.: oxitetraciclina; injetável. Responsável técnico Carlos Henrique Henrique. São Paulo: Ourofino, 2000. Bula de remédio.

PERRIN, J.; MULLER, R.; ZANGGER, N.; NICOLET, J. Infections a *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* L.C. chez des cabris bézoard au jardin zoologique de Berne. **Schweizer Archives Tierheilk**, v. 136, p. 270-274, 1994.

RAZIN, S.; YOGEV, D.; NAOT, Y. Molecular biology and pathogenicity of *Mycoplasmas*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 4, p. 1094-1156, 1998.

RODRIGUEZ, J. L.; POVEDA, J. B.; RODRIGUEZ, F.; ESPINOSA de Los MONTEROS, A.; RAMÍREZ, A.S., FERNÁNDEZ, A. Ovine infectious

keratoconjunctivitis caused by *Mycoplasma agalactiae*. **Small Ruminant Research**, v. 22, p. 93-96, 1996.

TOLA, S.; ANGIOI, A.; ROCCHIGIANI, A.M.; IDINI, G.; MANUNTA, D.; GALLERI, G.; LEORI, G. Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. **Veterinary Microbiology**, v. 54, p. 17-22, 1997.

VANEECHOUTTE, M.; VAN ELDERE, J. The possibilities and the limitations of nucleic acid amplification technology in diagnostic microbiology. **Journal Medical Microbiology**, v. 134, p. 188-194, 1997.

WANG, R. Y.; SHIH, J. W.; WEISS, S. H.; GRANDINETTI, T.; PIERCE, P. F.; LANGE, M.; ALTER, H. J.; WEAR, D. J.; DAVIES, C. L.; MAYUR, R. K.; LO, S. C. *Mycoplasma penetrans* infection in male homosexuals with AIDS: high seroprevalence and association with Kaposi's sarcoma. **Clinical Infectious Disease**, v. 17, p. 724-729, 1993.

Embrapa

Caprinos

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

