

ISOLAMENTO DE ACTINOMICETALES AEROBIOS DO GENERO *NOCARDIA* DE PROCESSOS INFECCIOSOS DOS ANIMAIS DOMESTICOS

ELIZABETH OLIVEIRA DA COSTA
Professora Assistente Doutora
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

MARTA MARIANI MACEDO
Bolsista FAPESP - Estagiária
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

SELENE DALL'ACQUA COUTINHO
Bolsista FAPESP - Estagiária
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

WISNER CASTILHO
Estagiário
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

CLAUDIO MELLO TEIXEIRA
Estagiário
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

JOSE FERNANDO BENESI
Professor Assistente Doutor
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

tificadas como *Nocardia asteroides*, todas provenientes de leite de vacas com mastite; as outras 04 amostras classificadas como *Nocardia brasiliensis* foram isoladas de: "swab" vaginal de suíno, muco traqueal de bovino da raça Holstein-friesian P.O. com comprometimento pulmonar e as outras duas do leite de vacas com mastite.

UNITERMOS: *Nocardia asteroides*; *Nocardia brasiliensis*; Leite bovino; lavado intra-traqueal bovino; "swab" vaginal suíno

INTRODUÇÃO

Em 1888 *Nocardia* foi pela primeira vez reconhecida como patogênica, quando NOCARD, 26, a isolou de lesões granulomatosas de bovinos em Guadalupe; logo após, EPPINGER, 15, 1890, descreveu a primeira nocardiose humana. Desde então, tem sido associada a uma grande variedade de manifestações clínicas no homem, 3, 29, 31, animais domésticos, 3, 5, 7, 18, 25, 27, 28, mamíferos marinhos, 3, 36 e peixes, 3, 38.

No Brasil o primeiro registro de nocardiose em animais domésticos foi a descrição de granuloma mamário por *Nocardia brasiliensis*, na espécie bovina, por CORREA et alii, 10, em 1971. Neste mesmo ano, GOTTSCHALK et alii, 17, isolaram *Nocardia asteroides* de linfonodo de suíno, material procedente de matadouro. Em 1973, CORREA et alii, 11, descreveram nocardiose sistêmica em cão por *Nocardia caviae*. WALD et alii, 37, em 1977, descreveram mastite bovina por *Nocardia asteroides* no Estado do Rio Grande do Sul e COSTA et alii, 13, 1978, mastite clínica e subclínica por *Nocardia asteroides* e *Nocardia brasiliensis* no Estado de São Paulo. Em 1979 CORREA et alii, 12, relataram nocardiose em égua (granuloma mandibular).

O objetivo deste trabalho é relatar o isolamento de Actinomicetales do gênero *Nocardia*, de processos infecciosos de animais domésticos.

MATERIAL E METODOS

Amostras de leite bovino de quartos com mastite clínica e subclínica (detectada pelo "California Mastitis Test", 33, e pelo teste Whiteside modificado, 24, foram colhidas asepticamente, transportadas e mantidas à temperatura de 0 a 4°C e semeadas em placas com meio de agar infusão de cérebro e coração (BHI-DIFCO) e agar sabouraud dextrose (DIFCO), incubadas a 37°C e 25°C respectivamente. Após 96 horas de incubação as colônias isoladas foram examinadas quanto à morfologia macro e microscópica. Utilizou-se coloração GRAM e método

COSTA, E.O.; MACEDO, M.M.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W.; TEIXEIRA, C.M.; BENESI, J.F. Isolamento de actinomicetales aeróbios do gênero *Nocardia* de processos infecciosos dos animais domésticos. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 24(1):17-21, 1987

RESUMO: Descreveu-se o isolamento de Actinomicetales do gênero *Nocardia* associados à patologia veterinária, principalmente à mastite bovina. Foi isolado um total de 28 amostras; destas, 24 iden-

REFERÊNCIA

de Kinyoun, 9.

Na identificação utilizaram-se as provas de motilidade em agar semi-sólido, catalase, urease em meio de Christensen, oxidação-fermentação em meio de Hugh e Leifson, glicose acidificação, gelatinase, hidrólise de amido, caseína, xantina, tirosina de acordo com o esquema proposto por BENEKE & ROGERS, 4, 1970, LENNETTE et alii, 22, 1974 e FINEGOLD & MARTIN, 16, 1982.

O muco traqueal de bovino com comprometimento pulmonar foi obtido assepticamente por introdução de agulha 20 x 50 mm entre os anéis da traquéia, injeção de solução fisiológica e posterior aspiração. O muco vaginal de suíno foi colhido assepticamente com "swab" estéril. Procedeu-se ao isolamento e identificação como descrito no parágrafo anterior em relação às amostras de leite.

Muito embora outros métodos de identificação, (STANFORD, 34, 1983, tais como, constituição da parede celular, ácido nocardimicólico e análise do número de duplas ligações (LECHEVALIER & LECHEVALIER, 21, 1970; ALSHAMADNY et alii, 1, 1976, estejam sendo empregados para a classificação dos Actinomicetales do gênero *Nocardia*, no presente trabalho, por tratar-se de amostras de origem clínica, utilizaram-se os esquemas convencionais, como sugerido por STEVENS, 1983, 35.

RESULTADOS

Foram isoladas, tanto em BHI como em sabouraud dextrose, um total de 28 amostras de bactérias da ordem dos Actinomicetales, colônias cerebriformes, duras, de coloração variando do creme ao laranja que com o passar dos dias, apresentava superfície esbranquiçada, com aspecto semelhante a pó de giz. Ao exame microscópico observaram-se bactérias GRAM positivas filamentosas ramificadas e formas de bastonetes e cocóides, demonstrando fragmentação positiva e ácido resistência (método de Kinyoun). Em relação às características bioquímicas, apresentaram motilidade negativa, catalase positiva, urease positiva, glicose acidificação positiva e oxidação-fermentação negativa. As 24 amostras, classificadas de acordo com BENEKE & ROGERS, 4, 1970 e FINEGOLD & MARTIN, 16, 1982 como *Nocardia asteroides*, não hidrolizaram caseína, xantina, tirosina, tampouco amido, gelatinase negativa, apresentando crescimento à temperatura de 46°C. De acordo com os mesmos autores, 4, foram identificadas 04 amostras como *Nocardia brasiliensis* por apresentarem hidrólise de caseína e tirosina positivas, gelatinase positiva, xantina e amido negativas e não crescerem a 46°C. Estas 04 amostras haviam sido isoladas: duas do leite de vacas com mastite, uma de "swab" vaginal de suíno, outra de lavado traqueal de bovino holandês P.O. com comprometimento pulmonar e as

amostras de *Nocardia asteroides* foram obtidas do leite de vacas com mastite.

Os resultados das provas realizadas para identificação estão apresentados na Tab.1.

DISCUSSÃO

PIER et alii, 30, 1961, consideram os microrganismos do gênero *Nocardia* como patógenos oportunistas, saprófitas do solo. Comparada às outras espécies, *Nocardia asteroides* foi a mais prevalente no solo em trabalho de ORCHARD, 27, 1971. Na minuciosa revisão de literatura realizada por BEAMAN & SUGAR, 3, 1983, observa-se, à semelhança do verificado neste trabalho (Tab. 1), predomínio das mastites por *Nocardia asteroides* dentre aquelas produzidas por bactérias do gênero *Nocardia*, o que seria até esperado, uma vez que a via ascendente, esfíncter do teto, constitui a mais importante via de infecção nos processos de mastite, apresentando grande exposição ao solo.

Em relação à *Nocardia brasiliensis* há escassas referências de isolamento desta espécie associada a processos de mastite bovina, 10, 13, 14. No presente estudo foram isoladas apenas quatro amostras de *Nocardia brasiliensis*: duas de leite de vacas com mastite, uma de lavado traqueal de bovino holandês P.O., com comprometimento pulmonar e uma de "swab" vaginal de suíno. COLE & HOLZINGER, 8, consideram que a contaminação da vulva pelo solo e subsequente introdução mecânica do agente pode ocorrer durante o coito. Os autores acima citados foram os primeiros a descrever abortamento em suíno por *Nocardia*, em 1972, seguindo-se as citações de KIRKIBRIDE & McARDARASH, 19, 1978; MASON et alii, 23, 1981 e KOEHNE & GILES, 20, 1981. Todos esses trabalhos referiram-se à *Nocardia asteroides*.

A detecção de infecção por espécies de *Nocardia* através da rotina microbiológica pode apresentar dificuldades pelo lento crescimento destes agentes, 72 a 96 horas, como foi bem assinalado por SALMAN et alii, 32, 1982, justificando, portanto, o pequeno número de isolamento desses microrganismos associado à patologia animal.

Considera-se que maior atenção deva ser dada aos Actinomicetales aeróbios do gênero *Nocardia* como agentes etiológicos de infecções nos animais domésticos, pois, embora considerados como patógenos oportunistas, determinam processos patológicos graves, algumas vezes fatais, quando da diminuição da resistência do hospedeiro (BUCHANAN et alii, 6, 1983). Poderiam, ainda, representar risco potencial à saúde pública, como por exemplo, a sua eliminação no leite de vacas com mastite.

BEAMAN et alii, 2, 1976, em uma coletânea de informações epidemiológicas, nos

Estados Unidos, relataram um número de 500-1000 casos de nocardiose humana por ano, sendo que STEVENS, 35, em 1983, assinalou que relatórios clínicos recentes indicam aumento nos índices de ocorrência de nocardiose humana nesse mesmo país, desconhecendo-se, entretanto, o grau de participação de nocardiose animal neste contexto, aspecto que merecia ser melhor estudado.

Além dos aspectos acima mencionados deve-se ressaltar que a nocardiose bovina, principalmente na sua forma pulmonar, constitui problema no diagnóstico diferencial com a tuberculose, dada a ocorrência de reações cruzadas com a tuberculina.

AGRADECIMENTOS

Aos Médicos Veterinários: Vania Maria de Carvalho, Luiz A.A. Jorge, Carlos Amadeu Botelho Netto e Vera Vicari pelo auxílio prestado na realização deste trabalho. E à

biomédica - Rosana de la Penha Chiachio Fernandez.

COSTA, E.O.; MACEDO, H.M.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W.; TEIXEIRA, C.M.; BENESI, J.F. Isolation of aerobic actinomicetales genus *Nocardia* from infections of domestic animals. *Rev.Fac.Med.Vet.Zootec.Univ.S.Paulo*, 24(1): 17-21, 1987.

SUMMARY: It was described the isolation of Actinomicetales, genus *Nocardia*, associated with veterinary pathology, mainly with bovine mastitis. From a total of 28 sample isolate 24 were identified as *Nocardia asteroides*, all of them isolated from milk sources. The other one were classified as *Nocardia brasiliensis* and they were obtained from: swine vaginal swab (1); tracheal mucus of a Holstein-Friesian P.D. with pulmonary affections (1) and bovine mastitis milk samples (2).

UNITERMS: *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*; Milk; tracheal mucus; swine vaginal swab

TABELA 1 - Resultados das provas de identificação de 28 amostras de Actinomicetales do genero *Nocardia*, isoladas de animais domésticos. São Paulo, 1977-1984.

PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO	N.asteroides* (24 amostras)	N.brasiliensis (4 amostras)**
Agar Sabouraud T.ambiente	+	+
37°C	+	+
46°C	+	-
Fragmentação	+	+
Alcool-ácido resistência	+	+
Glicose acidificação	+	+
Motilidade	-	-
Catalase	+	+
Oxidação-Fermentação	-	-
Liquefação da gelatina	-	+
Produção de urease	+	+
Hidrólise da caseína	-	+
Hidrólise da xantina	-	-
Hidrólise da tirosina	-	+
Hidrólise do amido	-	-
Redução de nitrato	+	+

* Isoladas do leite de bovino com mastite clínica e subclínica.

** Duas (02) amostras de leite de bovino com mastite clínica.

Uma (01) amostra de muco traqueal de bovino com comprometimento pulmonar.

Uma (01) amostra "swab" vaginal de suíno

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - ALSHAMAONY, L.; GOODFELLOW, M.; MINNIKIN, D.E. Free mycolic acids in the classification of *Nocardia* and the "rhodochrous" complex. *J. gen. Microbiol.*, 92:188-199, 1976.
- 2 - BEAMAN, B.L.; BURNSIDE, J.; EDWARDS, B.; CAUSEY, W. Nocardial infections in the United States. *J. infect. Dis.*, 134:286-290, 1976.
- 3 - BEAMAN, B.L. & SUGAR, A.M. *Nocardia* in naturally acquired and experimental infections in animals. *J. Hyg. Cambridge*, 91:393-419, 1983.
- 4 - BENEKE, E.S. & ROGERS, A.L. *Medical mycology manual*. 3.ed. Minneapolis, Burgess Publishing, 1970..
- 5 - BESTETTI, G. Morphology of the "Sulphur granules" (Drusen) in some actinomycotic infections. A light and electron microscopic study. *Vet. Path.*, 15:506-510, 1979.
- 6 - BUCHANAN, A.M.; BEAMAN, B.L.; PEDERSEN, N.C.; ANDERSON, M.; SCOTT, J.L. *Nocardia asteroides* recovery from a dog with steroid- and antibiotic-unresponsive idiopathic polyarthrititis. *J. clin. Microbiol.*, 18:702-708, 1983.
- 7 - CAROL-DUMITRIU, E. & ELIAS, E. Détection de la nocardiose chez un chien en Roumanie. In: *WORLD VETERINARY CONGRESS*, 20., Thessaloniki, 1975 v.2, p.1748-1750.
- 8 - COLE, J.R. & HOLZINGER, E.A. *Nocardia asteroides* associated with swine abortion. *Vet. med. small. anim. Clin.*, 67:496-498, 1972.
- 9 - CONANT, N.F.; SMIDT, D.T.; BAKER, D.; CALLAWAY, J.L. *Manual of clinical mycology*. 3.ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1971.
- 10 - CORREA, W.M.; VASKE, T.R.; GOTTSCHALK, A.F.; CORREA, C.N.M. Nocardiose mamária em vaca. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 38:69-74, 1971.
- 11 - CORREA, C.N.M.; CORREA, W.M.; GOTTSCHALK, A.F.; MORENO, G. Nocardiose: um caso em cão. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 40:79-83, 1973.
- 12 - CORREA, W.M.; CORREA, C.N.M.; LOPES, C.A.M. Nocardiose em égua. *Arq. Fac. Vet. UFRS, Porto Alegre*, 7:81-95, 1979.
- 13 - COSTA, E.O.; JORGE, L.A.A.; MACEDO, M.M. Mastite bovina por *Nocardia asteroides* e *Nocardia brasiliensis*. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA*, 16., Salvador, 1978. p.23.
- 14 - DITCHFIELD, J.; BUTAS, C.A.; JULIAN, R.J. Mastitis due to *Nocardia brasiliensis*. *Canad. J. comp. Med.*, 23:93-96, 1959.
- 15 - EPPINGER, H. Ueber eine neue pathogene Cladothrix und eine sie hersorgernfene pseudotuberculosis. *Wien. Klin. Wschr.*, 3:221, 1890.
- 16 - FINEGOLD, S.M. & MARTIN, W.J. *Diagnostic microbiology*. St. Louis, C.V. Mosby, 1982.
- 17 - GOTTSCHALK, A.F.; CORREA, C.N.M.; CORREA, W.M.; CAMPOS, C.E.O.P. Isolamento de *Nocardia asteroides* de suínos. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 38:167-171, 1971.
- 18 - GRAIN JUNIOR, E.; ADERMAN, N.; CASTLEMAN, W. Disseminated nocardiosis in a dog. *Calif. Vet.*, 32:9-13, 1978.
- 19 - KIRKIBRIDE, C.A. & McARDARASH, J.P. Infectious agents associated with fetal and early neonatal death and abortion in swine. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 172:480-483, 1978.
- 20 - KOEHNE, G. & GILES, R.C. *Nocardia asteroides* abortion in swine. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 179:478-479, 1981.
- 21 - LECHEVALIER, M.P. & LECHEVALIER, H.A. Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. sist., Bact.*, 20:435-443, 1970.
- 22 - LENNETTE, L.H.; SPAUDING, L.H.; TRUANT, J.P. *Manual of clinical microbiology*. 2.ed. Washington, American Society for Microbiology, 1974.
- 23 - MASON, R.W.; ORCHARD, V.; CORBOULD, A.; STEWART, L. A case of porcine abortion caused by *Nocardia*

- asteroides. Aust.vet.J., 57:398-399, 1981.
- 24 - MURPHY, J.M. & HANSON, J.J. A modified Whiteside test for the detection of chronic bovine mastitis. Cornell Vet., 32:439-444, 1942.
- 25 - NEAL, J.E. & HEATH, M.K. Nocardiosis in dogs. Auburn Vet., 11:112-114, 1955.
- 26 - NOCARD, M.E. Note sur la maladie des boeufs de la Guadalupe connue sous le nom de farcin. Ann. Inst. Pasteur, Paris, 2:293-302, 1888.
- 27 - ORCHARD, V.A. Nocardial infections of animals in New Zealand, 1976-8. N.Z.vet.J., 27:159-160, 165, 1979.
- 28 - OTCENASCK, M.; DVORAK, J.; KRINAVC, K. *Nocardia asteroides* ryvolavetelem superficialni dermatózy kone. Veterinárstvi, 25(1):45-47, 1975.
- 29 - PETRILLO, V.F.; SEVERO, L.C.; LONDERO, A.T.; PORTO, N.S. Pulmonary nocardiosis report of the first two brazilian cases. Mycopathologia, 66:17-20, 1978.
- 30 - PIER, A.C.; WILLERS, E.H.; MEJIA, M.J. *Nocardia asteroides* as mammary pathogen of cattle. II. The sources of nocardial infection and experimental reproduction of the disease. Amer.J.vet.Res., 22:698-703, 1961.
- 31 - POIRIER, R. Bronchopneumopathies *Nocardia asteroides*. Nouv.Presse, 8:245-247, 1979.
- 32 - SALMAN, M.D.; BUSHNELL, R.B.; PIER, A.C. Determination of sensitivity and specificity of the *Nocardia asteroides* skin test for detection of bovine mammary infections caused by *Nocardia asteroides* and *Nocardia caviae*. Amer.J.vet.Res., 43:332-335, 1982.
- 33 - SCHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. J.Amer.Vet.Med.Ass., 130:199-204, 1957.
- 34 - STANFORD, J.L. A simple view of nocardial taxonomy. J.Hyg., Cambridge, 91:369-376, 1983.
- 35 - STEVENS, D.A. Clinical and laboratory aspects of nocardial infection. J.Hyg., Cambridge, 91:377-384, 1983.
- 36 - SWEENEY, J.C.; MIGAKI, G.; VAINIK, P.M.; CONKLIN, R.H. Systemic mycoses in marine mammals. J.Amer.Vet.Med.Ass., 169:946-948, 1976.
- 37 - WALD, V.B.; OLIVEIRA, R.T.; WALD, D.; FERNANDES, R.E.; FERNANDES, J.C. Mamite bovina causada por *Nocardia asteroides*. Arq.Fac.Vet. UFRGS, Porto Alegre, 4/5:96-102, 1976/77.
- 38 - WOLKE, R.E. & McADE, T.L. Nocardiosis in chinook salmon. J.Wildlife Dis., 10:149-154, 1974.

Recebido para publicação em 25/09/85
Aprovado para publicação em 29/10/86