

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE *Corynebacterium pseudotuberculosis* EM CAPRINOS E OVINOS COM LINFADENITE

(Isolation and molecular identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in goats and sheeps with lymphadenitis)

Diego Moraes SOARES¹; Mateus Silva ALVES²; Tatiana Magalhães BARROS¹;
Wendel Adelino POLICARPO¹; Thais Bastos ROCHA¹; Naylla Raquel
Costa Leite CAMPOS¹; Helder de Moraes PEREIRA^{1*}

¹Laboratório de Bacteriologia Clínica, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, nº 1000, Jardim São Cristovão, CEP: 65.055-310, São Luís/MA;

²Universidade CEUMA. *E-mail: helderpereira@professor.uema.br

RESUMO

A presente pesquisa objetivou realizar o estudo bacteriológico e molecular para identificação de agente etiológico na Linfadenite Caseosa em caprinos e ovinos do Baixo Parnaíba, Maranhão. Foram avaliados clinicamente 3890 caprinos e 1240 ovinos a fim de identificar sinais clínicos de Linfadenite. 61 animais que apresentaram hipertrofia dos linfonodos, foram submetidos a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) para a realização do cultivo bacteriológico, coloração de Gram, teste bioquímico da catalase e a Reação em cadeia da polimerase (PCR). Os rebanhos foram georreferenciados para identificação espacial de focos da Linfadenite Caseosa. Os resultados mostraram uma frequência de 91,80% (56/61) para o crescimento no cultivo bacteriológico, sendo que, 82,14% (46/56) apresentaram colônias características de *Corynebacterium pseudotuberculosis* e 17,86% (10/56) apresentaram colônias com características divergentes. Na PCR, 94,64% (53/56) apresentaram amplificação dos genes 16S rRNA (816pb), rpoB (416pb) e pld (203pb), mostrando-se positivas para *C. pseudotuberculosis*. Desta forma, concluiu-se que o principal agente etiológico de abscessos em linfonodos superficiais de pequenos ruminantes no Baixo Parnaíba, Maranhão foi o *C. pseudotuberculosis*.

Palavras-chave: Pequenos ruminantes, enfermidades, linfonodos, Maranhão

ABSTRACT

The present research aimed to carry out a bacteriological and molecular study to identify the etiological agent in Caseous Lymphadenitis in goats and sheep from Baixo Parnaíba, Maranhão. A total of 3890 goats and 1240 sheep were clinically evaluated in order to identify clinical signs of Lymphadenitis. 61 animals that presented lymph node hypertrophy underwent fine needle aspiration (FNA) for bacteriological culture, Gram stain, biochemical catalase test, and the polymerase chain reaction (PCR). The herds were georeferenced for spatial identification of Caseous Lymphadenitis foci. The results showed a frequency of 91.80% (56/61) for growth in bacterial culture, where 82.14% (46/56) showed characteristic colonies of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and 17.86% (10/56) showed colonies with divergent characteristics. In PCR, 94.64% (53/56) showed amplification of the 16S rRNA (816pb), rpoB (416pb), and pld (203pb) genes, which were positive for *C. pseudotuberculosis*. Thus, it was concluded that the main etiological agent of abscesses in superficial lymph nodes of small ruminants in Baixo Parnaíba, Maranhão was *C. pseudotuberculosis*.

Keywords: Small ruminantes, diseases, lymph nodes, Maranhão

INTRODUÇÃO

Corynebacterium pseudotuberculosis (Buchanan 1911; Ebersson 1918) são bactérias Gram-positivas imóveis, pleomórficas e intracelulares facultativas Baird e Fontaine (2007). Este

Recebido: abr./2023.

Publicado: mar./2024.

microrganismo tem sido relatado como agente etiológico da linfadenite em diferentes estados do Nordeste brasileiro como: Sergipe, Rizzo *et al.* (2017); Alagoas, Jabour, (2013), Paraíba, Andrade *et al.* (2012) e Pernambuco, Abreu *et al.* (2008). Esta bactéria tem importância zoonótica, devido à exposição ocupacional, e de saúde pública, pois precisa de diagnóstico diferencial para a tuberculose (MACHADO *et al.*, 2011; ANDRADE *et al.*, 2012).

Essa enfermidade possui importância mundial, devido à sua alta prevalência e prejuízos econômicos nos rebanhos Baird e Fontaine (2007), causados pela hipertrofia dos linfonodos superficiais e/ou internos contendo material purulento de cor branco-esverdeada, podendo atingir órgãos e vísceras Ayers (1977). Os prejuízos são causados pela redução na produção de carne e leite, custos com tratamento e mão de obra veterinária, diminuição dos índices reprodutivos do rebanho, perda de carcaças, descarte precoce e morte ocasional de animais Radostits *et al.* (2007).

Deste modo, o objetivo deste estudo foi realizar a caracterização bacteriológica e identificação molecular do *C. pseudotuberculosis*, bem como, georreferenciar focos em rebanhos com caprinos e ovinos infectados com esta bactéria.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

Esta pesquisa foi autorizada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão, conforme protocolo nº 14/2018. O estudo foi realizado no Estado do Maranhão, mais especificamente na região do Baixo Parnaíba Maranhense (latitude 3° 20' 12" e longitude 42°18'45"). Abrange uma superfície de 13.620.277 km² (IBGE, 2015), constituída por 12 municípios compreendidos entre as regiões do Alto Muni e do Delta do Parnaíba, sendo eles: Chapadinha, Anapurus, Mata Roma, Buriti, Brejo, Santa Quitéria, Milagres do Maranhão, São Bernardo, Santana do Maranhão, Magalhães de Almeida, Araióses e Água Doce.

Colheita de Amostras

De janeiro de 2017 a dezembro de 2018, foram avaliados clinicamente 3890 caprinos e 1240 ovinos a fim de identificar sinais clínicos de Linfadenite Caseosa por meio da identificação de animais com hipertrofia dos linfonodos superficiais, independente da raça, idade, sexo e tipo de criação. Foi realizada assepsia local com iodo a 10% e utilizou-se o citoaspirador acoplado em seringa descartável de 20 mL com agulha hipodérmica 40 x 1,20mm estéril, para aspirar o conteúdo caseoso, totalizando 61 amostras. Estas foram identificadas, armazenadas na própria seringa e acondicionadas em caixas isotérmicas sob refrigeração até o cultivo bacteriológico no Laboratório de Bacteriologia Clínica Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão.

Cultivo Bacteriológico

As amostras foram semeadas em placas de Petri com meio ágar sangue ovino a 5% e incubadas a 37 °C por um período de 48 a 72 horas. Após esse período, caracterizou-se morfológicamente as colônias bacterianas de acordo com Quinn *et al.* (2005). Posteriormente,

foram submetidas à técnica de coloração de Gram, para a observação da morfologia, disposição das células e características tintoriais. Após o crescimento, as colônias foram transferidas para o meio de manutenção, Brain Heart Infusion (BHI) e incubadas durante 48hs a 37 °C, transferidas para microtubos plástico e mantidas sob refrigeração para posterior identificação molecular.

Diagnóstico Molecular

Os isolados foram submetidos à técnica de PCR, para a identificação genotípica de *C. pseudotuberculosis*. Realizou-se à amplificação dos genes 16S rRNA, rpoB e pld utilizando a PCR Multiplex, em um volume final de 50µL, 25µL GoTaq® Green Master Mix, 2X (Promega), 0,5µL de cada primer a uma diluição de 1:100 pmol/µL. Os primers utilizados para o gene 16S (16S rDNA) foram, 16S-F 5'-ACCGCACTTTAGTGTGTGTG-3'-16S-R 5-'TCTCTACGCCGATCTTGTAT-3 ', com fragmento de 816pb considerado indicativo para identificação como *C. pseudotuberculosis* (CETINKAYA *et al.*, 2002).

Para o gene rpoB (subunidade beta da RNA polimerase) foram, C2700F 5'-CGTATGAACATCGGCCAGGT-3' - C3130R 5'- TCCATTTCCGCCGAAGCGCTG-3' e para o gene PLD (exotoxina fosfolipase D) foram, PLD-F 5'-ATAAGCGTAAGCAGGGAGCA-3'-PLD-R5'-ATCAGCGGTGATTGTCTTCCAGG- 3') e 2µL de DNA (20ng/µL). A Reação da Polimerase em Cadeira (PCR) foi realizada em um termociclador Verititm 96-Well Thermal Cycler sob as condições de desnaturação inicial de 95 °C durante 3min, 40 ciclos de desnaturação de 95 °C durante 1min, alinhamento a 58 °C durante 40s e extensão 68 °C por 90seg e uma extensão final de 68 °C por 7min.

Os produtos da amplificação foram observados por eletroforese a 90V por 90 minutos, separados por gel de agarose a 0,8%, corados com brometo de etídio e visualizados com transluminador sob luz ultravioleta. Utilizou-se o marcador de peso molecular 1Kb Plus DNA Ladder® para dimensionamento e quantificação aproximada de DNA na faixa de 100 a 15.000pb, para quantificar o tamanho dos fragmentos.

Georreferenciamento

Os rebanhos foram georreferenciados com o auxílio de um receptor do Sistema de Posicionamento Global – GPS (Tracker Multilaser®), para a obtenção dos mapas foi utilizado o software GPS TrackMaker® versão 13.0.

Análise Estatística

Os dados foram analisados através do Programa Microsoft Excel® utilizando estatística descritiva simples com avaliação dos valores absolutos e relativos com cálculo de porcentagem para distribuição da frequência dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 61 amostras, 91,80% (56/61) apresentaram crescimento em cultivo bacteriológico. 82,14% (46/56) apresentaram colônias pequenas, brancas acinzentadas, secas e opacas (Fig. 01A)

com halo de beta hemólise (Fig. 01B), características morfológicas sugestivas de *C. pseudotuberculosis*. E 17,86% (10/56) apresentaram características divergentes com colônias pequenas, transparentes e puntiformes (Fig. 01C). Resultados semelhantes foram descritos por Souza *et al.* (2011) em municípios da Paraíba, Pernambuco e Bahia, que verificaram crescimento bacteriológico em 84,3% (43/51) de amostras proveniente de ovinos, caracterizadas por colônias pequenas, de coloração branco-acinzentada, opacas e friáveis. A mesma caracterização foi descrita por Rizzo *et al.* (2017) no estado de Sergipe com frequência de 100% (20/20). Trabalho realizado por Barbosa *et al.* (2012) com ovinos em Uberlândia, Minas Gerais, verificaram crescimento de colônias de *C. pseudotuberculosis* em 81,8% (18/22) dos abscessos em linfonodos, resultados que corroboram com o presente estudo.

Estudo realizado por Parin *et al.* (2018) na província de Aydin, na Turquia, identificaram 17% (17/100). Já Magdy *et al.* (2022), identificaram um percentual de 45% (59/129) de amostras de abscessos em linfonodos superficiais como colônias opacas, hemolíticas e convexas formadas após a incubação a 37 °C por 72 horas sugestivas de *C. pseudotuberculosis*, características que corroboram com os achados do presente estudo, bem como verificado por Guerrero *et al.* (2018) no México, que identificaram uma frequência de 35,62% (57/160) das amostras de abscessos de linfonodos superficiais de caprinos e ovinos no cultivo bacteriológico, com colônias de cor branca acinzentada, cercada por zona de hemólise incompleta, resultado inferior ao encontrado no presente estudo, o qual pode ser explicado pelas condições de clima, vegetação e topografia da região em estudo.

Esse resultado por ser explicado pelo fato do Baixo Parnaíba apresentar uma vegetação de transição, constituída principalmente pelos biomas, mata dos cocais, caatinga e cerrado, as quais predisõem a abertura de soluções de continuidade na pele em caprinos e ovinos, que servem como porta de entrada, favorecendo a infecção pelo *C. pseudotuberculosis* (IMESC, 2017). Além disso, a falta de assistência técnica e a criação de forma extensiva a ultra extensiva, possibilita maior tempo de exposição dos animais à agente infecciosos presente no ambiente, uma vez que estes animais são soltos pela manhã e presos em apriscos sem estrutura adequada no final da tarde.

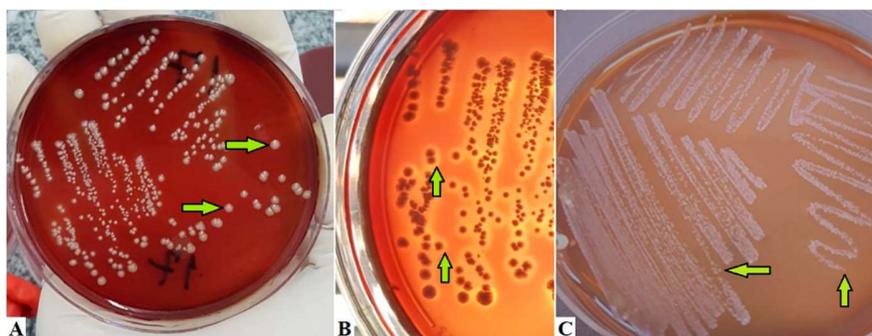


Figura 01: Isolamento bacteriano de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Em placas de ágar.

Obs.: A = cultivo em ágar sangue ovino com colônias pequenas, branco acinzentadas, secas e opacas (setas); B = formação de halos beta hemolítico ao redor das colônias (setas); C = ágar sangue ovino demonstrando crescimento de colônias pequenas, transparentes e puntiformes.

Quanto à morfologia e disposição das células na coloração de Gram, em todos os isolados, foram observadas bactérias com morfologia cocóide a cocobacilos Gram positivo, curtos e irregulares (Fig. 02). Rizzo *et al.* (2017) verificaram 100% das amostras com morfologia coco bacilos Gram positivas. O mesmo tendo sido relatado por Souza *et al.* (2011) que ao analisarem 47 amostras, 74,5% foram positivas para *C. pseudotuberculosis*, apresentando bacilo Gram positivo curto e irregular, medindo 0,5 a 0,6µm por 1 a 3µm, com aspecto cocóide. O mesmo tendo sido descrito por Torky *et al.* (2023), ao isolarem o *C. pseudotuberculosis*.

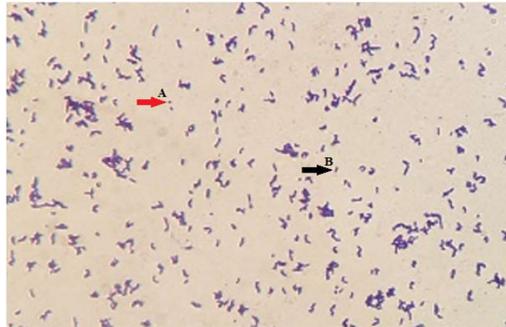


Figura 02: Fotomicrografia de esfregaço de colônia bacteriana corada pela técnica de Gram apresentando bactérias de morfologia cocos (seta A) bacilos (seta B) Gram positivos (100x).

Obs.: seta A= bactérias com morfologia cocos; seta B= bactérias com morfologia bacilos Gram positivos, aumento de 100x.

Dos 56 isolados, 53 apresentaram amplificação dos genes 16S rRNA: (816pb), rpoB (416pb) e pld (203pb). Sendo, 46 com características morfológicas compatíveis com *C. pseudotuberculosis* e sete com morfologia de colônias diferentes (Figs. 03 e 04). Em um estudo comparativo do cultivo microbiológico e PCR em amostras ovinas realizado por Nassar *et al.* (2015), verificou-se que 80% (90/113) das culturas foram positivas na PCR para *C. pseudotuberculosis*. Em outro estudo realizado por Ribeiro (2009) no estado de São Paulo, obteve uma frequência de 75% (124/165) de positividade na PCR. Parin *et al.* (2018) na província de Aydin, na Turquia, todas as 17 amostras foram identificadas como *C. pseudotuberculosis* pelos testes bioquímicos e confirmadas pela PCR, o mesmo tendo sido descrito por Magdy *et al.* (2022), no Egito, sendo a primeira descrição naquele país. A frequência de positividade em amostras de abscessos verificadas na literatura é alta, o que condiz com os resultados dessa pesquisa.

Trabalhos realizados por (CETINKAYA *et al.*, 2002; PACHECO *et al.*, 2007; PAVAN *et al.*, 2012; SCHLICHER *et al.*, 2021; TERAB *et al.*, 2021; KHANAMIR *et al.*, 2023; TORKY *et al.*, 2023) evidenciaram que os genes rpoB, pld e 16S O rRNA, tem sido empregados na PCR para identificação de *C. pseudotuberculosis* com sensibilidade de 94,6% em detecção de bactérias a partir de amostras de pus e que o gene rpoB codificador da subunidade da RNA polimerase responsável pela transcrição do DNA em RNA, mostra-se como um importante marcador molecular entre espécies, principalmente para *C. pseudotuberculosis* (ABREU *et al.* 2008;

RAMOS *et al.* 2022). Os isolados confirmados na PCR e com características morfológicas diferentes, serão submetidos a um novo estudo, com vista a identificação de outras espécies de *Corynebacterium*.

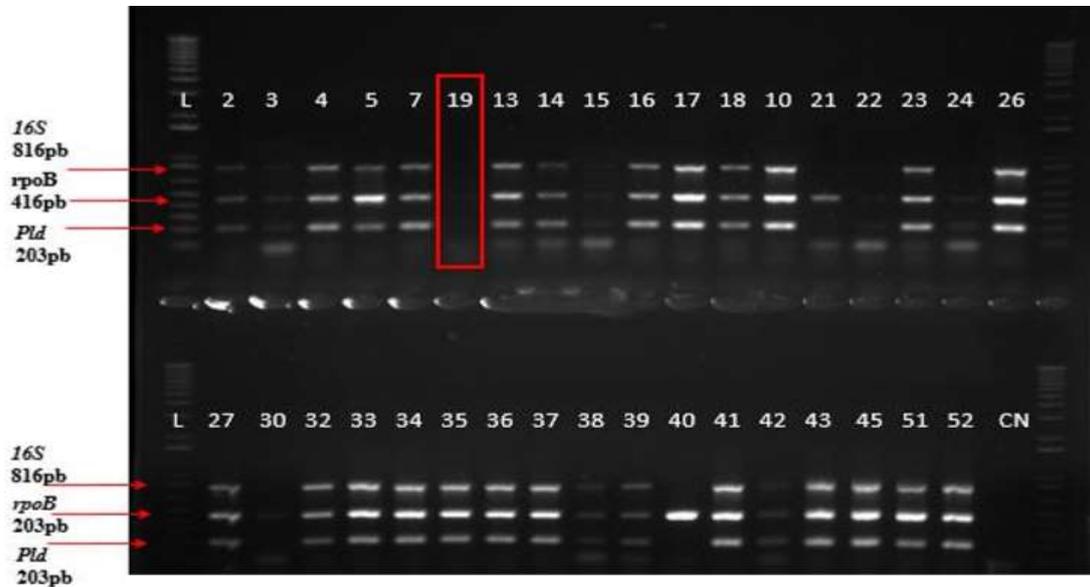


Figura 03: PCR Multiplex em gel de agarose a 0,8%.

Obs.: L = marcador de peso molecular 1Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen®); CN = controle negativo; (2-5, 7, 13-18, 10, 21-24, 26, 27, 30, 32-43, 51 e 52) isolados positivos para *C. pseudotuberculosis* e (19) isolados negativos para *C. pseudotuberculosis*.



Figura 04: PCR Multiplex em gel de agarose a 0,8%.

Obs.: L = marcador de peso molecular 1Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen®); CN = controle negativo; (1, 6, 8, 11, 20, 28, 44, 46-50, 53, 54, 57-61) isolados positivos para *C. pseudotuberculosis* e (12 e 55) isolados negativos para *C. pseudotuberculosis*. B)

O georreferenciamento de focos da LC nos municípios de Chapadinha, Mata Roma, Anapurus, Brejo, Buriti, Água Doce, Araioses, Magalhães de Almeida e São Bernardo está evidenciado no mapa, conforme a Fig. 05. A utilização do georreferenciamento espacial, possibilitou observar uma concentração entre os focos de linfadenite caseosa, o que sugere falhas à nível de organização da cadeia produtiva o que possibilita a transmissão do agente a outros

rebanhos, principalmente a venda e transporte sem controle sanitário, facilitando a disseminação do *C. pseudotuberculosis*.

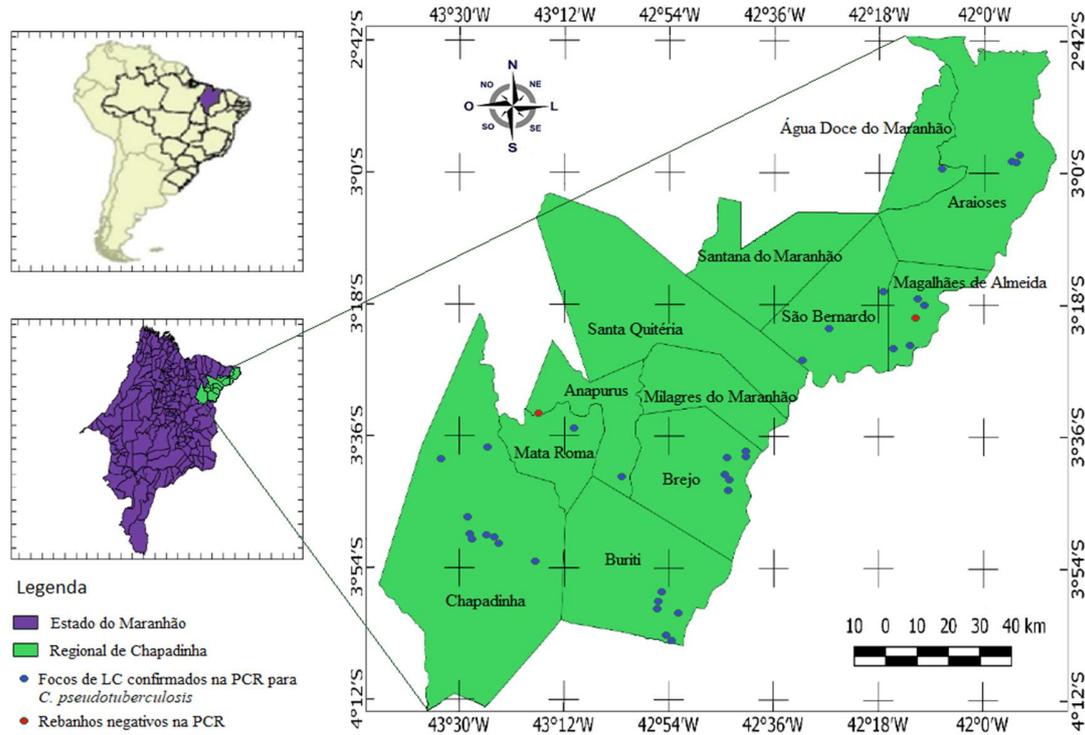


Figura 05: Distribuição espacial de focos de LC em pequenos ruminantes na região do Baixo Parnaíba Maranhense/MA, 2018.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados, conclui-se que o principal agente etiológico de abscessos em linfonodos superficiais de pequenos ruminantes no Baixo Parnaíba, Maranhão é o *C. pseudotuberculosis*, com frequência elevada.

Os municípios georreferenciados que apresentaram focos de LC confirmados na PCR para *C. pseudotuberculosis* foram, Chapadinha, Mata Roma, Anapurus, Brejo, Buriiti, Água Doce, Araióses, Magalhães de Almeida e São Bernardo, o que possibilita o conhecimento da distribuição geográfica da enfermidade e dessa forma, instituir medidas de prevenção, controle e tratamento da enfermidade no Baixo Parnaíba.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico do Maranhão (FAPEMA/ Projeto IECT 008/17), pelo financiamento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ABREU, S.R.O.; MOTA, R.A.; ROSINHA, G.M.S.; FORNER, O.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; PEREIRA, R.R.B.; CASTRO, R.S.; ELISEI, C.; SOARES, C.O.; ARAÚJO, F.R.; MADUREIRA, R.C. Comparação genotípica de isolados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* de caprinos e ovinos do sertão de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.10, p.481-487, 2008.
- ANDRADE, J.S.L.; AZEVEDO, S.S.; TELES, J.A.A.; HIGINO, S.S.S.; AZEVEDO, E.O. Ocorrência e fatores de risco associados à infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos do semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.2, p.116-120, 2012.
- AYERS, J.L. Caseous lymphadenitis in goats and sheep: a review of diagnosis, pathogenesis, and immunity. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v.171, n.12, p.1251-1254, 1977.
- BAIRD, G.J.; FONTAINE, M.C. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. **Journal Comparative Pathology**, v.137, n.4, p.179-210, 2007.
- BARBOSA, V.M.; ANTUNES, U.C.; SILVA, N.C.; GONDIM, C.C.; NASCIUTTI, N.R.; NASSAR, A.F.C.; MIYASHIRO, S.; SAUT, J.P.E. Ocorrência de linfadenite caseosa em ovinos da raça Santa Inês com linfonodos superficiais reativos na região de Uberlândia, Minas Gerais. **Boletim de Indústria Animal**, v.69, n.2, p.109-115, 2012.
- CETINKAYA, B.; KARAHAN, M.; ATIL, E.; KALIN, R.; DE BAERE, T.; VANEECHOUTTE, M. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. **Veterinary Microbiology**, v.88, n.1, p.75-83, 2002.
- GUERRERO, J.A.V.; DE OCA JIMÉNEZ, R.M.; ACOSTA DIBARRAT, J.; LEÓN, F.H.; MORALES-ERASTO, V.; SALAZAR, H.G.M. Isolation and molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from sheep and goats in Mexico. **Microbiology Pathology**, v.117, n.1, p.304-309, 2018.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. **Censo agropecuário de 2015**. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/uf.php?lang=&coduf=21&search=maranhao>. Acesso em: 04 abr. 2017.
- IMESC. Instituto Maranhense de Estudos socioeconômicos e cartográficos. **Diagnóstico situacional regionalizado do Estado do Maranhão (Baixo Parnaíba Maranhense)**. Disponível em: www.imesc.ma.gov.br. Acesso em: 04 abr. 2017.
- JABOUR, F.F. **Diagnóstico de micobacterioses e linfadenite caseosa em ovinos e caprinos no Leste Alagoano**, 2013. 100p. (Tese de Doutorado em Ciência Veterinária). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.

KHANAMIR, R.A.; ISSA, N.A.; ABDULRAHMAN, R.F. First study on molecular epidemiology of caseous lymphadenitis in slaughtered sheep and goats in Duhok Province, **Iraque Open Veterinary Journal**, v.13, n.5, p.588-598, 2023.

KUMAR, J.; TRIPATHI, B.N.; KUMAR, R.; SONAWANE, G.G.; DIXIT, S.K. Rapid detection of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in clinical samples from sheep. **Tropical Animal Health Production**, v.45, n.6, p.1429-1435, 2013.

MACHADO, G.; GRESSLER, L.T.; KIRINUS, J.K.; HERRMANN, G.P. Linfadenite caseosa em ovinos abatidos sob inspeção federal no estado do Rio Grande do Sul-estimativas de perdas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.39, n.2, p.1-5, 2011.

MAGDY, S.A.; ATWA, S.M.; EL GEDAWY, A.A.; YOUNIS, E.E. Epidemiological, bacteriological and molecular studies on caseous lymphadenitis in sheep of Dakhlia, Egypt. **Animal Biotechnology**, v.33, n.7, p.1655-1660, 2022.

NASSAR, A.F.C.; DANIEL, G.T.; RUIZ, R.; MIYASHIRO, S.; SCANNAPIECO, E.M.; SOUZA NETO, J.; GREGORY, L. Diagnostic comparison of *Corynebacterium pseudotuberculosis* through microbiological culture and PCR in sheep samples. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v.82, n.1, p.1-6, 2015.

PACHECO, L.G.C.; PENA, R.R.; CASTRO, T.L.P.; DORELLA, F.A.; BAHIA, R.C.; CARMINATI, R.; FROTA, M.N.L.; OLIVEIRA, S.C.; MEYER, R.; ALVES, F.S.F.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. Multiplex PCR assay for identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from pure cultures and for rapid detection of this pathogen in clinical samples. **Journal Medicine Microbiology**, n.56, v.1, p.480-486, 2007.

PARIN, U.; KIRKAN, S.; URAL, K.; SAVASAN, S.; ERBAS, G.; GULTEKIN, M.; YUKSEL, H.T.; BALIKCI, C. Molecular identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep. **Acta Veterinaria**, Brno, v.87, n.1, p.3-8, 2018.

PAVAN, M.E.; ROBLES, C.; CAIRÓ, F.M.; MARCELLINO, R.; PETTINARI, M.J. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from sheep by PCR-restriction analysis using the RNA polymerase β -subunit gene (*rpoB*). **Research Veterinary Science**, v.92, n.2, p.202-206, 2012.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. 1. ed. Artemed Editora S.A: Porto Alegre, 2007.

RADOSTITS, O.M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C. **Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**. 9. ed. Philadelphia: Bailliere Tindall, 2007.

RAMOS, C.P.; DORNELES, E.M.S; HASAS, D.P.; VESCHI, J.L.A.; LOUREIRO, D.; PORTELA, R.D.; AZEVEDO, V.; HEINEMAM, M.B.; LAGE, A.P. Molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *C. silvaticum* and *C. auriscanis* by ERIC-PCR. **Ciência Rural**, v.52, n.11, p.1-13, 2022.

RIBEIRO, D. **Análise comparativa de métodos de diagnóstico para Linfadenite Caseosa em ovinos sintomáticos e assintomáticos**, 2009. 65p. (Dissertação de Mestrado em Ciência Animal). Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2009.

RIZZO, H.; CARVALHO, J.S.; SANTOS JÚNIOR, N.S.; JESUS, T.K.S.; TOURINHO JÚNIOR, C.M.M.; REIS, D.D.; ALMEIDA, F.F.; MAGALHÃES, M.V F.; FARIAS, C.E.; COELHO, R.A.; SILVA, T.R. Avaliação clínica de linfonodos superficiais de pequenos ruminantes criados no estado de Sergipe, Brasil. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v.11, n.1, p.18-28, 2017.

SOUZA, M.F.; CARVALHO, A.Q.; GARINO JÚNIOR, F.; RIET-CORREA, F. Linfadenite caseosa em ovinos deslanados abatidos em frigorífico da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.3, p.224-230, 2011.

SCHLICHER, J.; SCHMITT, S.; STEVENS, M.J.A.; STEPHAN, R.; GHIELMETTI, G. Molecular Characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* Isolated over a 15-Year Period in Switzerland. **Veterinary Science**, v.8, n.8, p.151-155, 2021.

TERAB, A.M.A.; ABDEL WAHAB, G.E.D.; ISHAG, H.Z.A.; KHALIL, N.A.H.; EL TIGANI-ASIL, E.T.A.; HASHEM, F.M.; KHALAFALLA, A.I.; SHAH, A.A.M.; AL MUHAIRI, S.S.M. Pathology, bacteriology and molecular studies on caseous lymphadenitis in *Camelus dromedarius* in the Emirate of Abu Dhabi, UAE, 2015-2020. **PLOS ONE**, v.16, n.6, e0252893, 2021.

TORKY, H.A.; SAAD, H.M.; KHALIEL, S.A.; KASSIH, A.T.; SABATIER, J.M.; BATIHA, G.E.; HETTA, H.F.; ELGHAZALY, E.M.; DE WAARD, M. Isolation and Molecular Characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis*: Association with Proinflammatory Cytokines in Caseous Lymphadenitis Pyogranulomas. **Animals (Basel)**, v.13, n.2, p.296-301, 2023.