



***Trueperella pyogenes* como causa de aborto em uma vaca – relato de caso**

[*Trueperella pyogenes* as an abortion cause in a cow – case report]

L.S. Costa¹, G.G.M. Snel², T.G. Cristo¹, L.R. Ribeiro¹, L.V. Furlan¹,
G.B. Camargo¹, D. Driemeier², R.A. Casagrande^{1*}

¹Laboratório de Patologia Animal - Centro de Ciências Agroveterinárias - Universidade do Estado de Santa Catarina - Lages, SC

²Setor de Patologia Veterinária - Faculdade de Veterinária - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, RS

RESUMO

Trueperella pyogenes é uma bactéria oportunista que causa mastite, metrite e abortos esporádicos em bovinos. Este trabalho relata um caso incomum de abort em uma vaca por *Trueperella pyogenes*. Um feto bovino, fêmea, mestiço Brahman, com oito meses de gestação, foi encaminhado para exame anatomopatológico e exames complementares. Na necropsia, evidenciou-se grande quantidade de líquido serossanguinolento e moderada quantidade de fibrina recobrimdo a pleura visceral e o saco pericárdico. Os pulmões estavam difusamente avermelhados e consolidados, com áreas firmes esbranquiçadas ao corte de não mais de 1cm. No exame histopatológico, observou-se pneumonia necrossupurativa, pleurite fibrinopurulenta e placentite purulenta. No exame microbiológico, isolou-se *T. pyogenes* nas amostras de fígado, pulmões, conteúdo abomasal do feto e placenta. O feto foi negativo na PCR para *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* e vírus da diarreia viral bovina (BVDV). *Trueperella pyogenes* geralmente causa broncopneumonia supurativa com formação de abscessos, porém, no presente feto abortado, observaram-se lesões macro e microscópicas comumente descritas em casos de aborto por *Brucella abortus*. Este estudo constata, então, a importância dessa bactéria como causa de aborto em bovinos, com lesões semelhantes à brucelose, destacando sua relevância dentro das causas de aborto em bovinos e o potencial zoonótico pouco explorado.

Palavras-chave: morte fetal, ruminantes, zoonose, doença bacteriana

ABSTRACT

Trueperella pyogenes is an opportunistic bacterium associated with mastitis, metritis and occasional abortion in bovines. Here we report an uncommon case of abortion by *T. pyogenes* in a cow. An aborted female Brahman bovine fetus, at 8 months of gestational age was submitted for anatomopathological examination and complementary diagnostic tests. Macroscopic findings at necropsy included large amounts of free serum-blood fluid and moderate fibrin deposition covering both the visceral pleura and pericardial sack. The lungs were diffusely reddened and markedly consolidated, showing widespread smaller than 1cm, hard, white nodules. Necrosuppurative pneumonia, fibrinopurulent pleuritis, and purulent placentitis were the main histopathologic alterations observed. *Trueperella pyogenes* was isolated from liver, lungs, abomasal contents and placental samples. All tissue samples were PCR-negative for *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and bovine viral diarrhoea virus (BVDV). Although *T. pyogenes* is often involved in suppurative bronchopneumonia and abscesses formation, macro and microscopic lesions in the present report were compatible with those commonly attributed to *Brucella abortus* fetal infections. *Trueperella pyogenes* is an important bovine pathogen with a neglected zoonotic potential being responsible for infections that can mimic other diseases' typical presentations.

Keywords: fetal death, ruminants, zoonosis, bacterial disease

Recebido em 19 de abril de 2018

Aceito em 25 de janeiro de 2019

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: renata.casagrande@udesc.br

INTRODUÇÃO

Trueperella pyogenes é uma Actinobacteria com um longo histórico de mudanças taxonômicas, sendo anteriormente conhecida como *Bacillus pyogenes*, *Actinomyces pyogenes*, *Corynebacterium pyogenes* e, mais recentemente, *Arcanobacterium pyogenes*. Trata-se de uma bactéria Gram-positiva, anaeróbica facultativa, pleomórfica, imóvel e não esporulada (Yassin, 2014). É uma bactéria oportunista, que causa afecções nos animais domésticos, e em bovinos é uma importante causa de mastite e metrite (Azawi, 2008; Zhang *et al.*, 2017), podendo levar a abortos esporádicos, geralmente nos terços médio e final da gestação (Arainga *et al.*, 2003; Anderson, 2007). Essa bactéria pode ser o agente primário para a ocorrência do aborto, ou estar associada a outros agentes, como o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) (Kirkbride, 1993).

Em humanos, esse patógeno não foi isolado como parte da microbiota comensal; seus principais relatos estão associados à infecção oportunista, culminando principalmente em lesões dérmicas, com epidemiologia ligada a pessoas que habitam áreas rurais ou exerçam atividades que culminem em intenso contato com animais portadores (Kavitha *et al.*, 2010). Este trabalho objetiva relatar um caso de aborto no terço final da gestação de uma vaca, causado por *Trueperella pyogenes*, com lesões macro e

microscópicas semelhantes às promovidas por bactérias do gênero *Brucella* sp., destacando-se a sua importância como causa de aborto em bovinos e o potencial zoonótico pouco explorado.

CASUÍSTICA

Foi encaminhado ao Laboratório de Patologia Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina (Lapa-Udesc), em outubro de 2016, um feto da espécie bovina, fêmea, mestiço Brahman, proveniente de uma propriedade rural localizada no município de Lages, região Serrana do estado de Santa Catarina, com histórico prévio de três abortos. No presente relato, o aborto ocorreu no oitavo mês de gestação, o feto estava em bom estado corporal e possuía tamanho compatível com a idade. À necropsia, observou-se, na cavidade torácica, grande quantidade de líquido serossanguinolento e moderada quantidade de fibrina recobrindo a pleura visceral, o que era mais evidente e intenso nos lobos pulmonares direitos (Fig. 1), além de recobrir discretamente o saco pericárdico. Os pulmões estavam difusamente avermelhados e consolidados, com áreas firmes e esbranquiçadas ao corte, medindo aproximadamente 1cm de diâmetro. No coração, havia área de hemorragia transmural de aproximadamente 1,5cm de diâmetro na base da artéria pulmonar.

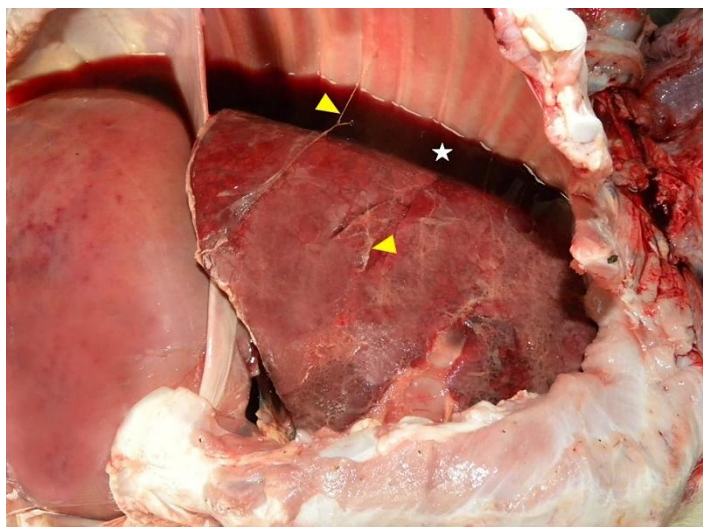


Figura 1. Aborto em bovino por *Trueperella pyogenes*. Cavidade torácica com grande quantidade de líquido serossanguinolento (estrela branca) e moderada quantidade de fibrina recobrindo a pleura pulmonar (setas amarelas).

Durante a necropsia, foram coletadas e acondicionadas em formol tamponado a 10% amostras de encéfalo, pulmões, coração, timo, placenta, pálpebra, diafragma, músculo esquelético, fígado, baço, rins e abomaso, posteriormente processadas rotineiramente para inclusão em blocos de parafina para confecção de lâminas histológicas com espessura de 3µm, coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (HE) e Gram. Amostras de placenta, pulmões, fígado e conteúdo do abomaso foram reservadas também em refrigeração para posterior cultivo bacteriano. Adicionalmente, fragmentos de encéfalo foram congelados para realização de PCR para detecção de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*, utilizando-se como alvo as seqüências Nc5-Np21plus/Np6plus e REP-529, respectivamente, e amostras de tecidos linfóides (timo e baço) foram congeladas para detecção do vírus da diarréia viral bovina por RT-PCR pela

detecção de um fragmento de 119pb da região 5'UTR de pestivírus (Weber et al., 2014).

No exame histopatológico dos pulmões, observou-se necrose multifocal de alvéolos associada a infiltrado predominante de neutrófilos e macrófagos moderado, acompanhado por miríades bacterianas intralesionais Gram-positivas (Fig. 2A-B) e congestão difusa moderada. Evidenciou-se, ainda, exsudação fibrinosa no interior de alvéolos, no espaço interlobular e subpleural, difusa moderada associada a infiltrado moderado predominante de neutrófilos e macrófagos (Fig. 2A-B). No fígado, havia marginação leucocitária de neutrófilos discreta nos sinusoides. A placenta que acompanhava o feto demonstrava acentuado grau de autólise, entretanto, histologicamente, era possível observar infiltrado de neutrófilos na mucosa e muscular, multifocal moderado, principalmente em volta de vasos sanguíneos.

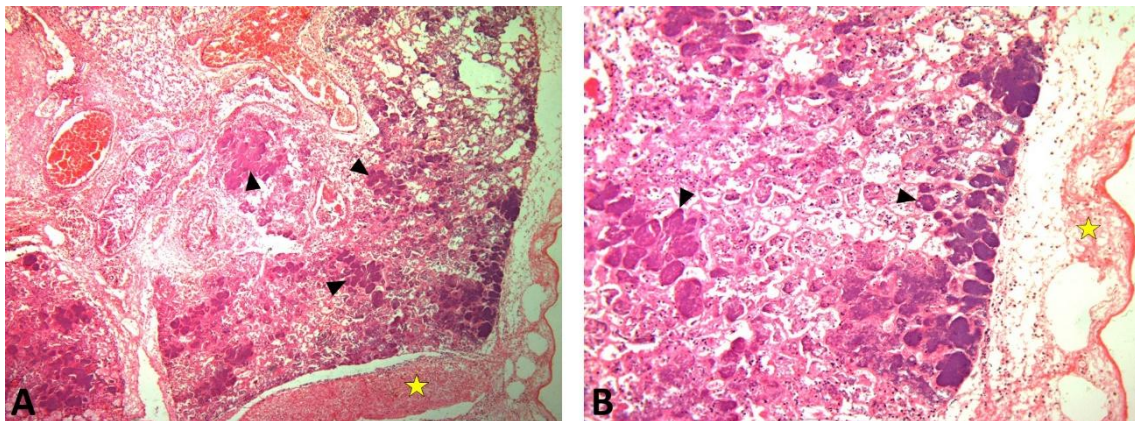


Figura 2. Aborto em bovino por *Trueperella pyogenes*. A: pulmões com necrose multifocal de alvéolos associada a infiltrado predominante de neutrófilos e macrófagos moderado acompanhado por miríades bacterianas intralesionais (cabeças de seta pretas). Evidenciou-se, ainda, exsudação fibrinosa difusa moderada no interior de alvéolos, no espaço interlobular e subpleural (estrela amarela), associada a infiltrado predominante de neutrófilos e macrófagos moderado (200x, HE). B: maior aumento do A, no qual se podem observar as miríades bacterianas (cabeças de setas pretas) (400x, HE).

As amostras refrigeradas de placenta, pulmões, fígado e conteúdo do abomaso foram encaminhadas para cultivo bacteriano aeróbio padrão. Para esse fim, utilizaram-se ágar sangue (Base Mueller-Hinton, 5% sangue ovino, KASVI, Brasil) e ágar MacConkey (KASVI, Brasil) a 37°C, durante 24-72 horas, com inspeção diária das placas. Realizou-se também pesquisa específica de *Brucella* spp., tanto por plaqueamento direto das amostras em ágar Brucella (OXOID, Reino Unido), como por

enriquecimento prévio em caldo Brucella (OXOID, Basingstoke, Reino Unido), ambos com a adição de soro equino inativado (7% e 5% v/v, respectivamente) e de suplemento comercial de antimicrobianos (*Brucella Selective Supplement*, HiMedia, Índia), conforme indicação do fabricante. Alíquotas de 10mL dos caldos inoculados foram incubadas a 37°C, por 96 horas, com posterior plaqueamento. Todas as placas de ágar Brucella utilizadas (inoculação direta e enriquecida) foram incubadas a 37°C em

atmosfera modificada, contendo 10% de CO₂ e inspecionadas a cada 48 horas, por um período de até sete dias.

As amostras de pulmões e abomaso submetidas à cultura microbiológica demonstraram crescimento de *T. pyogenes* (incontáveis unidades formadoras de colônias [UFC]) e fígado (50UFC). Já na placenta, houve crescimento misto exuberante composto por *T. pyogenes* (incontáveis UFC, predominante), *Bacillus* sp., *Proteus* sp., bacilos Gram- negativos e bactérias ambientais. A pesquisa de *Brucella* spp. foi negativa, bem como a PCR para *N. caninum*, *T. gondii* e BVDV.

Realizou-se visita à propriedade e coletaram-se 10mL de sangue, por meio de venopunção da veia jugular das quatro vacas que abortaram e do touro. As amostras foram acondicionadas em tubos estéreis sem anticoagulante, submetidas ao ensaio de microaglutinação (MAT) para leptospirose (testado para os seguintes sorovares: *L. australis*, *L. Bratislava*, *L. canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hardjo*, *L. hebdomadis*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. Pomona*, *L. pyrogenes*, *L. tarassovi*, *L. wolffi*), ensaio imunoenzimático (ELISA) para BVDV, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) e *N. caninum*.

A propriedade não utilizava nenhuma vacina reprodutiva e, quanto aos exames sorológicos, as quatro vacas e o touro não foram reagentes para *Leptospira* sp., *N. caninum* e IBR. Quanto ao ELISA para BVDV das quatro vacas testadas, três foram reagentes, incluindo a vaca do feto avaliado e o touro (S/P 0,35 a 0,87).

DISCUSSÃO

As lesões macro e microscópicas associadas ao isolamento bacteriano foram compatíveis com pneumonia necrossuprativa, pleurite fibrinopurulenta e placentite purulenta por *T. pyogenes*. No presente relato, possivelmente a vaca passou por algum episódio estressante no período pré-parto, que desencadeou queda de sua imunidade, permitindo que o agente, que é comensal do trato reprodutivo, se proliferasse, desencadeando a infecção uterina que culminou no aborto. Nenhuma enfermidade intercorrente foi diagnosticada nos outros exames complementares. A vaca apresentava anticorpos contra BVDV, no entanto a PCR dos tecidos

fetais foi negativo, indicando que o aborto não estava relacionado a esse agente (Anderson, 2007). Nessa propriedade, houve outros casos de aborto, no entanto de etiologia indeterminada, pois os fetos não foram recuperados para análise anatomopatológica.

Trueperella pyogenes é considerada uma das principais causas de aborto esporádico em bovinos (Kirkbride, 1993; Arainga *et al.*, 2003; Anderson, 2007), além do potencial zoonótico, visto que já foi isolada em feridas de humanos que viviam no ambiente rural, mostrando, assim, sua íntima relação com os animais (Kavitha *et al.*, 2010). Essa bactéria geralmente causa broncopneumonia supurativa com formação de abscessos (Arainga *et al.*, 2003; Hariharan *et al.*, 2015).

No presente feto abortado, entretanto, observaram-se macroscopicamente pleuropneumonia fibrinosa, áreas esbranquiçadas nos pulmões e hemorragia cardíaca, lesões essas comumente descritas em casos de aborto por *B. abortus*. As lesões histológicas também são semelhantes às de aborto por brucelose, tais como pneumonia necrossuprativa e pleurite fibrinosa. As infiltrações de células inflamatórias no fígado e a placentite purulenta também são características em comum entre as duas bactérias (Orlando *et al.*, 2014; Antoniassi *et al.*, 2016).

Assim, vale ressaltar a importância dos diagnósticos diferenciais de aborto em bovinos em casos como este, bem como a pesquisa por exames anatomopatológico e microbiológico dos demais agentes bacterianos que apresentam quadro lesional semelhante. Por isso, no presente relato, foi realizada pesquisa de *B. abortus* por cultivo em ágar específico, tendo resultado negativo. Com isso, o diagnóstico por exames complementares é de extrema importância, visto que brucelose tem potencial zoonótico e pode causar infecções em seres humanos que entram em contato com animais positivos (Lawinsky *et al.*, 2010).

Ressalta-se, portanto, a importância de *Trueperella pyogenes* como causa de aborto em bovinos. Acredita-se que essa bactéria tenha envolvimento com outros casos de aborto em bovinos e que os raros relatos acerca desse fato dão-se devido à pouca avaliação *post mortem* dos fetos. O diagnóstico das causas de aborto é

complexo e requer atenção especial para elaboração de protocolos de controle sanitário dos rebanhos, a fim de se obterem melhores resultados produtivos e reprodutivos.

CONCLUSÃO

Com esse relato, conclui-se que *T. pyogenes* pode causar alterações anatomopatológicas semelhantes a outras bactérias, porém não descritas anteriormente e, em casos de abortamento na espécie bovina, serve como diagnóstico diferencial de *B. abortus*, visto que, nesse caso, as lesões macro e microscópicas foram semelhantes às encontradas em brucelose fetal, por isso a importância de se realizarem exames complementares para determinação do agente etiológico.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Cláudio Wageck Canal, do Laboratório de Virologia Favet/UFRGS, pela realização da PCR para BVDV e à doutora Hilda Fátima de Jesus Pena, do Laboratório de Doenças Parasitárias do VPS-FMVZ/USP, pela realização da PCR de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, M.L. Infectious causes of bovine abortion during mid to late gestation. *Theriogenology*, v.68, p.474-486, 2007.

ANTONIASSI, N.A.B.; JUFFOB, G.D.; PESCADORA, C.A. *et al.* Occurrence and characterization of bovine abortion caused by *Brucella abortus* infection in southern Brazil. *Arch. Med. Vet.*, v.48, p.43-49, 2016.

ARAINGA, R.M.; ZACARIAS, E.R.; RIVERA, H.G. *et al.* *Actinomyces pyogenes* causando o aborto em bovinos. *Rev. Investig. Vet. Perú*, v.14, p.86-88, 2003.

AZAWI, O.I. Postpartum uterine infection in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.105, p.187-208, 2008.

HARIHARAN, H.; BHAIYAT, M.I.; TIWARI P.T.; CHIKWETO, A. Multifocal pulmonary abscesses due to *Trueperella pyogenes* in a sheep. *Vet. Sci.*, v.2, p.98-102, 2015.

KAVITHA, K. LATHA, R.; UDAYASHANKAR, C. *et al.* Three cases of *Arcanobacterium pyogenes* associated soft tissue infection. *J. Med. Microbiol.*, v.59, p.736-739, 2010.

KIRKBRIDE, C.A. Bacterial agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J. Vet. Diagn. Investig.*, v.5, p.64-68, 1993.

LAWINSKY, M.L.J. OHARA, P.M.; ELKHOURY, M.R. *et al.* Estado da arte da brucelose em humanos. *Rev. Pan-Amaz. Saúde*, v.1, p.75-84, 2010.

ORLANDO, D.R.; COSTA, R.C.; ABREU, R.V.S. *et al.* Caracterização morfológica e imuno-histoquímica de lesões em casos de aborto bovino bacteriano e viral no sul de Minas Gerais. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.34, p.974-980, 2014.

WEBER, M.N.; SILVEIRA, S.; MACHADO, G. *et al.* High frequency of bovine viral diarrhea virus type 2 in Southern Brazil. *Virus Res.*, v.191, p.117-24, 2014.

YASSIN, A.F. The Family *Actinomycetaceae*. In: ROSENBERG, E.; DELONG, E.F.; LORY, S. *et al.* (Eds.). *The prokaryotes: actinobacteria*. 4.ed. Berlin: Springer, 2014. cap.4, p.41-79.

ZHANG, D.; ZHAO, J.; WANG, Q. *et al.* *Trueperella pyogenes* isolated from dairy cows with endometritis in Inner Mongolia, China: tetracycline susceptibility and tetracycline-resistance gene distribution. *Microbial. Pathog.*, v.105, p.51-56, 2017.