

OCORRÊNCIA DE *MYCOPLASMA CONJUNCTIVAE* EM OVINOS SADIOS E COM CERATOCONJUNTIVITE INFECCIOSA, NO ESTADO DE PERNAMBUCOJ.B. Almeida Neto¹, F.B. Sá¹, M. Buziniani², J. Timenetsky², R.A. Mota³, M.Z. Almeida¹

¹Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manuel de Medeiros s/nº, CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: jbn@bravil.com.br

RESUMO

Relatou-se, pela primeira vez no Brasil, a ocorrência de *Mycoplasma conjunctivae*, em ovinos sadios e com ceratoconjuntivite infecciosa, na microrregião de Garanhuns, Estado de Pernambuco. Os animais com sintomatologia clínica apresentaram lacrimejamento profuso, hiperemia conjuntival, descarga ocular mucopurulenta e, em alguns casos, ceratite ulcerativa, vascularização corneana, e sinais clínicos de uveíte anterior.

PALAVRAS-CHAVE: Ceratoconjuntivite infecciosa, ovinos, *Mycoplasma conjunctivae*.

ABSTRACT

OCCURRENCE OF *MYCOPLASMA CONJUNCTIVAE* IN HEALTHY SHEEP AND WITH OVINE KERATOCONJUNCTIVITIS IN PERNAMBUCO STATE, BRAZIL. This is the first report of an occurrence of *M. conjunctivae* in healthy sheep and with ovine keratoconjunctivitis in Pernambuco State, Brazil. Affected animals presented increased lacrimation, conjunctival hyperemia, mucopurulent ocular discharge and, in severe events, ulcerative keratitis, corneal vascularization and signs of anterior uveitis.

KEY WORDS: Infectious keratoconjunctivitis, sheep, *Mycoplasma conjunctivae*.

Ceratoconjuntivite infecciosa ovina é uma doença contagiosa caracterizada por reação inflamatória aguda da conjuntiva, hiperemia da esclera e *pannus*, além de aumento de lacrimejamento, blefaroespasma, fotofobia, descargas oculares purulentas, opacidade e ulceração corneana, em casos avançados. A gravidade varia de um indivíduo para outro, podendo inclusive ambos os olhos, quando afetados, apresentarem quadros diversos (EGWU *et al.*, 1989; GREIG, 1989; HOSIE & GREIG, 1995).

As perdas econômicas resultantes da doença são, essencialmente, com os custos medicação, tempo e manejo requerido para o tratamento e perda de peso, além do aumento de toxemia da prenhez e pisoteio das crias por ovelhas cegas (GELLAT, 2003). A variação dos sinais clínicos na expressão da doença torna difícil avaliar a extensão das perdas econômicas.

O agente etiológico da doença permanece obscuro, pois uma ampla variedade de microrganismos tem sido encontrada associada a doença (JONES *et al.*, 1976; EGWU *et al.*, 1989). Estudos epidemiológicos envolvendo a ceratoconjuntivite infecciosa ovina e relatos de transmissão experimental têm incriminado o *Mycoplasma*

conjunctivae como o mais provável agente causal da doença. No entanto, sua interrelação com outras espécies bacterianas e seu papel na patogênese permanecem obscuros, bem como o de fatores ambientais que podem predispor à doença (EGWU *et al.*, 1989; DAGNALL, 1994b; HOSIE & GREIG, 1995; RUFFIN, 2001).

GREIG (1989) e HOSIE & GREIG (1995) asseguraram que dois agentes infecciosos estão associados à doença, *Chlamydia psittaci ovis* e *M. conjunctivae*. Diversos autores diferenciaram uma ceratoconjuntivite infecciosa não-folicular causada por *M. conjunctivae* de uma ceratoconjuntivite folicular causada por *Chlamydia* (BOOGARD, 1984; DAGNALL, 1994a; SLATTER, 2001).

SURMAN (1968) foi o primeiro a cultivar, caracterizar e associar o *Mycoplasma* com a ceratoconjuntivite em ovinos. Também foi bem sucedido na transmissão do microrganismo para animais sadios, reproduzindo uma forma suave da doença. BARILE *et al.* (1972) caracterizaram e nomearam microrganismos isolados de ovinos e caprinos com ceratoconjuntivite como *M. conjunctivae*. JONES (1983) classificou-o como um organismo pouco ou não-patogênico e provavelmente

²Instituto de Ciências Biomédicas II, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

³Laboratório de Doenças Infecciosas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

presente na flora, sendo também encontrado no trato respiratório de caprinos e ovinos.

Os trabalhos de JONES *et al.* (1976) e EGWU *et al.* (1989) indicam que o *M. conjunctivae* provavelmente desempenha um significativo e importante papel primário na ceratoconjuntivite infecciosa ovina, porém outros agentes ainda não tiveram sua participação bem determinada.

Em trabalho conduzido por HOSIE (1988) *M. conjunctivae*, apesar de ter sido incriminado como agente causal de ceratoconjuntivite infecciosa, foi encontrado no saco conjuntival de ovelhas sadias na ausência de sinais clínicos de ceratoconjuntivite.

No Brasil, o *M. conjunctivae* foi relatado pela primeira vez em três caprinos com sintomatologia clínica de ceratoconjuntivite (GREGORY *et al.*, 2003).

Não se tem referências na literatura científica nacional, até a presente data, sobre a ocorrência de *Mycoplasma conjunctivae* em ovinos sadios ou com ceratoconjuntivite. Por este motivo, este trabalho relata o envolvimento deste agente na ceratoconjuntivite de ovinos assim como a sua identificação em animais sadios procedentes de propriedades rurais da microrregião de Garanhuns, PE.

Foram utilizados 64 ovinos da raça Santa Inês e seus cruzamentos, machos ou fêmeas e de idades variadas, criados em sistema de manejo semi-intensivo. As coletas foram realizadas na microrregião de Garanhuns, PE, no período de janeiro a dezembro de 2002.

Antes da colheita cada animal foi submetido à exame oftalmológico (SLATTER, 2001). Indivíduos que apresentaram afecção unilateral tiveram amostra colhida apenas do olho acometido. Formaram-se 3 grupos de estudo, baseados nos achados do exame: Grupo I, composto por 31 ovinos clinicamente sadios (60 amostras), pertencentes a 5 rebanhos diferentes. Animais acometidos por diferentes estágios de ceratoconjuntivite infecciosa, uni ou bilateral (33 ovinos, pertencentes a outros 5 rebanhos), compuseram o Grupo II formado por indivíduos que apresentaram sinais clínicos de doença suave, caracterizada por lacrimejamento profuso, hiperemia da conjuntiva e, em alguns casos, descarga ocular catarral, mucopurulenta ou purulenta (27 indivíduos/52 amostras); e Grupo III, composto por seis animais (8 amostras) que apresentavam, além dos sintomas já descritos, sinais graves de ceratoconjuntivite, evidenciada por ceratite ulcerativa superficial ou profunda, vascularização corneana superficial ou profunda, e sinais clínicos de uveíte anterior, como hifema e hipópio.

Para identificação do *Mycoplasma*, as amostras foram colhidas por meio de swab seco estéril friccionado junto ao terço médio do saco conjuntival inferior. O material, conservado sob refrigeração em meio SP4

(TULLY, 1995) foi encaminhado ao Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas II da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. O material clínico foi submetido ao método de extração de DNA descrito por FAN *et al.* (1995). Numa primeira etapa, todas as amostras foram submetidas à Reação em Cadeia da Polimerase utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) gênero-específico comum para *Mycoplasma*, *Acholeplasma*, *Ureaplasma* e *Spiroplasma*, descritos por VAN KUPPEVELD *et al.* (1992). As amostras positivas nesta prova foram submetidas a uma nova reação, com *primers* específicos para *Mycoplasma conjunctivae*, descritos por LAUERMAN (1998).

No Grupo I (animais sadios), a presença de *Mycoplasma conjunctivae* foi detectada em 15% (9/60) das amostras. No Grupo II (doença suave) *M. conjunctivae* esteve presente em 75% (39/52) dos olhos estudados. No Grupo III (doença grave) *M. conjunctivae* foi encontrado em 62,5% (5/8) do total de amostras.

A ocorrência de *M. conjunctivae* em ovinos com ceratoconjuntivite infecciosa é amplamente descrita, com vários estudos relatando um papel significativo deste agente na etiologia da doença (JONES *et al.*, 1976; HOSIE, 1988; EGWU *et al.*, 1989). LAAK *et al.* (1988) sugeriram, inclusive, um papel etiológico primário. No entanto, de acordo com GREGORY *et al.* (2003) há um inexpressivo número de relatos de casos clínicos ou de pesquisas científicas no Brasil. Este fato é de grande preocupação, especialmente para a região Nordeste, detentora do maior rebanho de pequenos ruminantes do país (IBGE, 1996).

A presença de *M. conjunctivae* em amostras de animais sadios, apesar de pouco freqüente, é relatada por HOSIE (1988) e RADOSTITIS *et al.* (2000). SURMAN (1968) sugeriu que todo ovino pode abrigar *Mycoplasma* na conjuntiva de uma forma latente, e sua ativação ser resultante de traumas ou condições estressantes. HOSIE (1988) alertou para a possibilidade de *M. conjunctivae*, isolado de animais aparentemente sadios, ser decorrente de amostras coletadas antes destes animais desenvolverem a enfermidade. Sugeriu, ainda, a alternativa deste microrganismo fazer parte da flora em números tão pequenos que não iniciam resposta clínica. DAGNALL (1994a) e EGWU (1992) sugeriram diferenças na patogenicidade entre cepas de *M. conjunctivae*, resultando em alguns animais exibindo sintomas de ceratoconjuntivite e outros não. Estas possibilidades justificam a presença de animais positivos para este agente no grupo de animais sadios (Grupo I).

Outra justificativa pode ser o fato de animais tratados, mesmo com terapêutica eficiente na eliminação dos sinais clínicos, apresentarem o agente por um longo período (JONES *et al.*; 1976; LAAK *et al.*, 1988; HOSIE, 1988; GREIG, 1989; HOSIE & GREIG, 1995).

A não observação de sinais clínicos em animais positivos para *M. conjunctivae* é um dado importante para a epidemiologia da doença, uma vez que o trânsito destes animais possibilita a infecção de novos animais ou rebanhos.

Baseado na observação clínica e identificação microbiológica permitiu-se concluir: a identificação, pela primeira vez no Brasil de *Mycoplasma conjunctivae* em ovinos sadios e com sintomatologia de ceratoconjuntivite infecciosa. Sua presença em maior número nos grupos de animais com manifestação clínica da doença sugere sua participação na etiologia do processo. Animais assintomáticos podem ser fontes de infecção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARILE, M.F.; GIUDICE, R.A. DEL; TULLY, J.G. Isolation and characterization of *Mycoplasma conjunctivae* sp. n. from sheep and goats with keratoconjunctivitis. *Infect. Imm.*, v.5, p.70-76, 1972.
- BOGAARD, A.E.J.M. Inclusion keratoconjunctivitis ('pink eye') in sheep. A proposal for a new name for chlamydial keratoconjunctivitis in sheep and comment on recent clinical trials. *Vet. Quartely*, v.6, p.229-235, 1984.
- DAGNALL, G.R.J. An investigation of colonization of the conjunctival sac of sheep by bacteria and *Mycoplasmas*. *Epidemiol. Infect.*, v.112, p.561-567, 1994a.
- DAGNALL, G.R.J. The role of *Branhamella ovis*, *Mycoplasma conjunctivae* and *Chlamydia psittaci* in conjunctivitis of sheep. *Br. Vet. J.*, v.150, p.65-71, 1994b.
- EGWU, G.O. Outbreak of ovine infectious keratoconjunctivitis caused by *Mycoplasma conjunctivae*. *Small Ruminant Res.*, v.9, p.189-196, 1992.
- EGWU, G.O.; FAULL, W.B.; BRADBURY, J.M.; CLARKSON, M.J. Ovine infectious keratoconjunctivitis: a microbiological study of clinically unaffected and affected sheep's eyes with special reference to *Mycoplasma conjunctivae*. *Vet. Rec.*, v.125, p.253-256, 1989.
- FAN, H.H.; KLEVEN, S.H.; JACKWOOD, M.W. Application of polymerase chain reaction with arbitrary to strain identification of *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Dis.*, v.39, p.729-735, 1995.
- GELLAT, K.N. *Manual de oftalmologia veterinária*. São Paulo: Manole, 2003. 594p.
- 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. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.70, n.2, p.179-181, 2003.
- GREIG, A. Ovine keratoconjunctivitis. An update. *In Practice*, v.11, p.110-113, 1989.
- HOSIE, B.D. Keratoconjunctivitis in a hill sheep flock. *Vet. Rec.*, v.122, p.40-43, 1988.
- HOSIE, B.D. & GREIG, A. Role of oxytetracycline dihydrate in the treatment of *Mycoplasma*-associated ovine keratoconjunctivitis in lambs. *Br. Vet. J.*, v.151, p.83-88, 1995.
- IBGE – Censo Agropecuário. Efetivo dos rebanhos (cabeças) Brasil [on line], 1996. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/cgibin/prtabl>>. Acesso em: 20 jul. 2003.
- JONES, G.E. *Mycoplasmas* of sheep and goats: a synopsis. *Vet. Rec.*, v.113, p.619-620, 1983.
- JONES, G.E.; FOGGIE, A.; SUTHERLAND, A.; HARKER, D. *Mycoplasma* and ovine keratoconjunctivitis. *Vet. Rec.*, v.99, p.137-141, 1976.
- LAACK, E.A.; SCHREUDER, B.E.C.; SMITH-BUYS, M.C. The occurrence of *Mycoplasma conjunctivae* in the Netherlands and its association with keratoconjunctivitis in sheep and goats. *Vet. Quartely*, v.10, p.73-83, 1988.
- LAUERMAN, L.H. *Mycoplasma* PCR Assays. In: LAUERMAN, L.H. (Ed.). *Nucleic acid amplification assays for diagnosis of animal diseases*. Alabama: Dept. of Agriculture and Industries, 1998. p.41-47.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W. *Veterinary medicine*. 9.ed. London: W.B. Saunders, 2000. 1877p.
- RUFFIN, D.C. *Mycoplasma* infections in small ruminants. *Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract.*, v.17, p.315-332, 2001.
- SLATTER, D. *Fundamentals of veterinary ophthalmology*. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001. 640p.
- SURMAN, P.G. Cytology of 'pink eye' of sheep including a reference to trachoma of man, by employing acridine orange and iodine stains, and isolation of *Mycoplasma* agents in infected sheep eyes. *Aust. J. Biol. Sci.*, v.21, p.447-467, 1968.
- TULLY, J.G. Culture medium formulation for primary isolation and maintenance of Mollicutes. In: TULLY, J.G. & RAZIN, S. (Eds.). *Molecular and diagnostic procedures in Mycoplasma*. San Diego: Academic Press, 1995. v.1, p.33-40.
- VAN KUPPEVELD, F.J.M.; VAN DER LOGT, J.T.M.; ANGULO, A.F.; VAN ZOEST, M.J.; QUINT, W.G.V.; NIESTERS, J.M.; GALAMA, J.M.D.; MELCHERS, W.J.G. Genus- and Species-Specific Identification of *Mycoplasmas* by 16S rRNA Amplification. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.58, p.2606-2615, 1992.

Recebido em 7/10/03

Aceito em 19/12/03