

## Infecção fatal por *Rhodococcus equi* em caprinos no Sul do Brasil

Fatal *Rhodococcus equi* Infection in Goats in Southern Brazil

João Ari Gualberto Hill<sup>1</sup>, Fernando José Benesi<sup>2</sup>, André Luís Finkler da Silveira<sup>1</sup>, Sonia Maria Biesdorf<sup>3</sup>, Michele Garcia Medeiros<sup>4</sup>, Pedro Ribas Werner<sup>5</sup>, Lorena Lima Barbosa Guimarães<sup>6</sup> & David Driemeier<sup>6</sup>

### ABSTRACT

**Background:** *Rhodococcus equi* is a Gram-positive, aerobic, cosmopolitan coccobacillus present in the soil and in feces of birds and a large variety of domestic mammals. It is the etiologic agent that commonly causes pneumonia in foals. This case report describes the clinical signs, lesions and the microbiological analysis of samples collected from three goats infected with *Rhodococcus equi* in a farm in southern Brazil.

**Cases:** Three Boer goats died one week after presenting clinical signs that included: diarrhea, ruminal atony and anorexia (Goat 1); abortion, progressive weight loss, appetite loss, pale mucosas and tachycardia (Goat 2); and submandibular edema and anemia (Goat 3). Upon necropsy, it was shown that all goats presented multiple liver nodes between 0.5 and 3.0 cm in diameter. When sectioned these nodes presented yellowish contents that were not resistant. Additionally, Goat 2 presented nodes with caseous contents in mesenteric lymph nodes and lungs, which were similar to those observed in the liver. Upon necropsy, samples of organs were collected and fixed in 10% formaldehyde for histopathological analyses and kept under refrigeration for microbiological analyses. Histopathological analyses of liver, lung and lymph node of all goats revealed the presence of multifocal necrotic areas associated with the deposition of basophilic granular material (mineralization) surrounded by intense macrophage and neutrophil infiltration. Besides, moderate amounts of giant cells were also observed. Fite-Faraco staining showed coccobacillary structures in cytoplasm of macrophages and giant cells. The histopathological changes observed in this study are consistent with lymphadenitis, hepatitis and pyogranulomatous pneumonia. For the microbiological examination, samples were inoculated by direct imprint on Blood agar and MacConkey agar, and in Brain Heart Infusion enrichment broth at 37°C for between 24 h and 48 h. Subsequently, small, shiny, non-hemolytic mucoid colonies were observed, which were then submitted to Gram staining. Isolated colonies underwent biochemical differentiation. *Rhodococcus equi* was isolated by direct microscopy and the Gram method.

**Discussion:** *Rhodococcus equi* sporadically affects goats, causing multiple hepatic and pulmonary caseous nodules. These lesions were observed in the samples examined in the present study. Differential diagnosis of rhodococcosis in goats includes caseous lymphadenitis and tuberculosis, although the etiologic agents of these diseases were not isolated in this study. In spite of the fact that *Rhodococcus equi* is isolated from the feces of herbivores, especially equines, no such animals were reared in the farm where the goats analyzed lived. Goats have been farmed in the property since 2006. It was not possible to determine the virulence of the agent. Nevertheless, new cases of rhodococcosis in goats indicate that infection by *Rhodococcus equi* may be more frequent in ruminants than it is expected, and play an important role in the differential diagnosis of caseous lymphadenitis. The detailed description of clinical signs and of the macroscopic and microscopic lesions associated with the isolation of the infectious agent confirm the diagnosis of rhodococcosis, and allow the veterinary doctor to list the possibilities in the differential diagnosis of the disease in goats with other granulomatous and pyogranulomatous diseases.

**Keywords:** liver, lung, ruminants, goats, hepatitis, pneumonia, Boer.

**Descritores:** fígado, pulmão, ruminantes, caprinos, hepatite, pneumonia, Boer.

## INTRODUÇÃO

*Rhodococcus equi* é um cocobacilo Gram-positivo, aeróbico, cosmopolita, presente no solo [7] e nas fezes de pássaros e de uma grande variedade de mamíferos domésticos [5].

A infecção por *R. equi* comumente relaciona-se aos diagnósticos de broncopneumonia supurativa em potros, associada ou não a colite ulcerativa [2], peritonite, pleurite, pericardite e artrite [8]. Em caprinos a bactéria foi isolada de abscessos pulmonares e hepáticos [5] e, além disso, existem relatos de infecção determinando absces-

sos em tecido ósseo, costelas e vertebrae cervical e torácica [4].

Este relato descreve os sinais clínicos, os aspectos anatomopatológicos e análise microbiológica da infecção por *Rhodococcus equi* em caprinos no Sul do Brasil.

## CASOS

Na Unidade Regional de Pesquisa do Instituto Agrônomo do Paraná no município de Pato Branco, Paraná, três caprinos da raça Boer vieram a óbito 7 dias após o início dos sinais clínicos. As informações a cerca da idade dos animais, sexo e sinais clínicos estão discriminados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Achados clínicos e patológicos da infecção por *Rhodococcus equi* em caprinos durante um surto ocorrido no Paraná, no Sul do Brasil.

Caprino	Idade	Sexo	Sinais Clínicos	Lesões
1	8 meses	Macho	Diarreia, atonia ruminal e anorexia	Nódulos amarelados e friáveis no fígado
2	23 meses	Fêmea	Emagrecimento progressivo, inapetência, palidez de mucosas e taquicardia	Nódulos amarelados e friáveis no fígado, linfonodos mesentéricos e pulmões
3	13 meses	Fêmea	Edema submandibular	Nódulos amarelados e friáveis no fígado

Cerca de duas semanas antes do início dos sinais clínicos, o Caprino 2 abortou. Contudo, a causa não pode ser definida. Durante o exame clínico dos caprinos, não foram percebidas alterações no Caprino 1. Já o Caprino 2 apresentou o fígado palpável, ultrapassando o rebordo costal em sua posição ventral. No Caprino 3 foram detectados nódulos hepáticos à palpação.

Diante do quadro clínico do Caprino 2, foi administrado soro glicosado a 5% (dose única) e enrofloxacina (5 mg/Kg/BID) durante sete dias. Porém, a cabra veio a óbito no sétimo dia após o início do tratamento. Devido ao prognóstico desfavorável do Caprino 3, optou-se pela eutanásia.

Na necropsia dos três caprinos foram observados múltiplos nódulos de coloração branco-amarelado, distribuídos difusamente pelo parênquima hepático e de tamanho variando entre 0,5 - 3,0cm de diâmetro. Ao corte, os nódulos exibiam conteúdo amarelado de

aspecto friável (Figura 1A e 1B). No Caprino 2 havia aumento de volume dos linfonodos mesentéricos (Figura C) e múltiplos nódulos de até 2,0 cm de diâmetro disseminados pelo parênquima pulmonar (Figura D) semelhantes aos observados no fígado.

Durante a necropsia, amostras dos órgãos dos três caprinos foram coletadas e fixadas em 10% de formol para avaliação histopatológica e amostras de fígado e pulmão foram refrigeradas para análise microbiológica.

No exame histopatológico o fígado exibia áreas multifocais de acentuado infiltrado de macrófagos e neutrófilos (Figura 2A) com extensas áreas de necrose e mineralização. No pulmão havia acentuado infiltrado de macrófagos e neutrófilos no interior de brônquios e alvéolos. Tanto no fígado, quanto no pulmão havia extensas áreas de necrose caseosa associada à deposição de material granular basofílico (mineralização). Inúmeras estruturas bacterianas cocobacilares basofí-

licas no citoplasma de macrófagos (Figura 2B). Tais estruturas foram positivas ao método de Fite-Faraco (Figura 2C), portanto, compatíveis com Bacilo Álcool Ácido Resistente (BAAR).

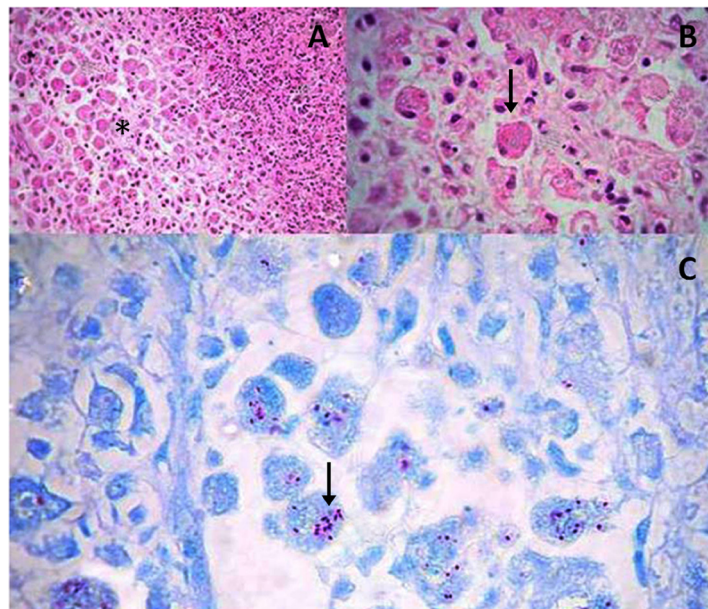
As lesões histológicas observadas nesse estudo são consistentes de linfadenite, hepatite e pneumonia piogranulomatosa.

Pelo exame microbiológico isolou o *Rhodococcus equi* através da microscopia direta pelo método de Gram. A amostra passou por impressão direta nos meios de ágar Sangue, MacConkey e em caldo de enriquecimento Brain Heart Infusion (37°C

por 24 a 48 h). Após esse período havia pequenas colônias, brilhantes, não hemolíticas e mucoides que foram submetidas ao Gram. A partir das colônias isoladas foi realizada a diferenciação bioquímica através das seguintes provas: CAMP teste com *Staphylococcus aureus* (ocorreu aumento da hemólise em forma de seta), hidrólise da esculina (-), redução do nitrato (+), prova da ureia (+), Glicose (-), Maltose (-), Sacarose (-). Também foi observada a presença de pigmento em ágar Mueller - Hinton (rosa - salmão). Não foi isolado *Corynebacterium pseudotuberculosis*.



**Figura 1.** Necropsia de três caprinos da raça Boer com infecção por *Rhodococcus equi*. A e B: Múltiplos nódulos hepáticos com áreas centrais de necrose caseosa. C: Linfonodo mesentérico com aumento de tamanho e contendo múltiplos focos de necrose caseosa. D: Nódulo pulmonar composto por camadas concêntricas de exsudado caseoso envolto por uma delicada capsula fibrosa.



**Figura 2.** Hepatite piogranulomatosa por *Rhodococcus equi* em caprino. A: Aspecto histológico da periferia de uma das áreas de necrose hepática circundada por infiltrado inflamatório composto, principalmente, por macrófagos (\*), além de neutrófilos. [HE, Obj. 40x]. B: Mesma área em A evidenciando a presença de microrganismos pouco corados no citoplasma de macrófagos (seta) [HE, Obj. 100x]. C: Presença de microrganismos cocóides ou levemente alongados no citoplasma de macrófagos positivos para Bacilo Álcool Ácido Resistente pelo Método de Fite-Faraco (seta) [Método de Fite-Faraco, Obj. 100x]. Fotomicrografias: Prof. Dr. Pedro R. Werner.



## DISCUSSÃO

Em caprinos, o *Rhodococcus equi* ocasiona múltiplos nódulos hepáticos disseminados e com aspecto caseoso [3]. Há relato de abscessos circunscritos, firmes e esbranquiçados no pulmão de uma cabra Angorá [5]. Essas alterações são concordantes com aqueles que foram encontrados neste caso.

A rodococose em caprinos tem como diagnóstico diferencial a linfadenite caseosa e a tuberculose [1] e no presente relato não foram isolados os agentes etiológicos responsáveis por tais doenças.

A bactéria *Rhodococcus equi* está presente no solo e nas fezes de herbívoros, em especial dos equinos [7]. Na propriedade em que os animais foram criados não havia equinos. No local são criados apenas caprinos desde o ano de 2006, anteriormente a esse período

foram criados suínos. Pelas lesões encontradas fica claro que o agente apresentava fatores de virulência, portanto, capaz de causar as lesões encontradas.

Os relatos de novos casos de rodococose em caprinos indicam que a infecção por *Rhodococcus equi* pode ser mais frequente nos ruminantes do que se tem registro atualmente. A divulgação de relatos com fotos e descrições de lesões macroscópicas e microscópicas permite que o médico veterinário componha as possibilidades de diagnóstico diferencial com outras enfermidades que provoquem lesões granulomatosas ou piogranulomatosas devendo considerar enfermidades como a linfadenite caseosa e tuberculose.

**Declaration of interest.** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

## REFERENCES

- 1 Benesi F.J., Pinheiro S.R., Maiorka P.C., Sakamoto S.M., Roxo E., Benites N.R., Birgel Junior E.H. & Gregory L. 2008. Relato de caso: Tuberculose em caprino (*Capra hircus*). *Arquivos do Instituto Biológico*. 75(2): 217-220.
- 2 Brown C.B., Baker D.C. & Barker I.K. 2007. Alimentary system. In: Grant Maxie (Ed). *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 5th edn. Philadelphia: Saunders Elsevier, pp.297-388.
- 3 Davis W.P., Steficek B.A., Watson G.L., Yamini B., Madarame H., Takai S. & Render J.A. 1999. Disseminated *Rhodococcus equi* infection in two goats. *Veterinary Pathology*. 36(4): 336-339.
- 4 Jeckel S., Holmes P., King S., Whatmore A. M. & Kirkwood I. 2011. Disseminated *Rhodococcus equi* infection in goats in the UK. *Veterinary Record*. 169(2): 56.
- 5 Fitzgerald S.D., Walker R.D. & Parlor K.W. 1994. Fatal *Rhodococcus equi* infection in an Angora goat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 6(1): 105-107.
- 6 Kabongo P.N., Njiro S.M., Van Strijp M.F. & Putterill J.F. 2005. Caprine vertebral osteomyelitis caused by *Rhodococcus equi*. *Journal of the South African Veterinary Association*. 76(3): 163-164.
- 7 Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., FitzPatrick E.S., Fanning S. & Hartigan P.J. 2011. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2nd edn. Chichester: Blackwell Science, pp.213-216.
- 8 Zink M.C., Yager J.A. & Smart N.L. 1986. *Corynebacterium equi* Infections in Horses, 1958-1984: A Review of 131 Cases. *The Canadian Veterinary Journal*. 27(5): 213-217.

