

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**CENTRO DE BIOTECNOLOGIA**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

**CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS CLÍNICOS E AMBIENTAIS DE  
*RHODOCOCCLUS EQUI* DO BRASIL UTILIZANDO A TÉCNICA DE REAÇÃO EM  
CADEIA DA POLIMERASE MULTIPLEX**

**CRISTINA DA COSTA KREWER**

Porto Alegre, maio de 2006

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR**

**CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS CLÍNICOS E AMBIENTAIS DE  
*RHODOCOCCLUS EQUI* DO BRASIL UTILIZANDO A TÉCNICA DE REAÇÃO EM  
CADEIA DA POLIMERASE MULTIPLEX**

**Cristina da Costa Krewer**

Dissertação submetida ao Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Celular e  
Molecular da UFRGS como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Mestre em Ciências

Prof<sup>ª</sup>. Irene Silveira Schrank  
Orientadora

Prof<sup>ª</sup>. Agueda Castagna de Vargas  
Co-orientadora

Porto Alegre, maio de 2006.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

**CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS CLÍNICOS E AMBIENTAIS DE  
*RHODOCOCCLUS EQUI* DO BRASIL UTILIZANDO A TÉCNICA DE REAÇÃO EM  
CADEIA DA POLIMERASE MULTIPLEX**

CRISTINA DA COSTA KREWER

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, à comissão formada pelos professores:

Profa. Dra Marilene Henning Vainstein  
Membro da Comissão

Prof. Dr. Marcio Garcia Ribeiro  
Membro da Comissão

Profa. Dra Sonia de Ávila Botton  
Membro da Comissão

Profa. Dra. Irene Silveira Schrank  
Orientadora

Prof.Dra. Agueda Castagna de Vargas  
Co-orientadora

Porto Alegre, maio de 2006.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Santa Maria.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e por estar sempre ao meu lado, capacitando a realização desse trabalho.

Aos meus pais Pedro e Eunice, por oportunizarem meus estudos, por serem meu porto seguro, por todo amor e apoio que deles recebo em todos os momentos. À minha irmã Carina e ao meu noivo Frederico pelo apoio, amor, cumplicidade e momentos de alegria proporcionados durante a realização desse trabalho.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e à Universidade Federal de Santa Maria, pelo auxílio no desenvolvimento desse trabalho.

À professora Irene Schrank, por mostrar-se sempre disposta, pela orientação, atenção e ensinamentos recebidos em todos os momentos da execução desse trabalho.

À professora Agueda, cujas condutas pessoal e profissional são para mim exemplo de vida, pela oportunidade, pelo auxílio, disposição, ensinamentos e amizade.

Aos professores Augusto Schrank e Marilene Henning Vainstein pelo auxílio e orientação recebidos na realização do trabalho.

Ao Mateus por acreditar na minha capacidade, por me abrir portas, e me auxiliar em todos os momentos.

Aos avós, tios, primos e demais familiares pelas orações, pelo exemplo de vida, incentivo e torcida, sem os quais esse trabalho não seria possível.

A todos os colegas do LABAC pela amizade, carinho, apoio e momentos de descontração recebidos durante a execução do trabalho.

Aos funcionários da UFSM e UFRGS, especialmente Silvia e Luciano, pelo apoio e disposição para auxiliar e resolver problemas.

A TODOS, MUITO OBRIGADA!

## SUMÁRIO

Agradecimentos	iii
Lista de abreviações símbolos e unidades	v
Lista de Tabelas	vi
Lista de Figuras	vii
Resumo	viii
Abstract	ix
1 – Introdução	1
1.1 – A bactéria <i>Rhodococcus equi</i>	1
1.2 – Epidemiologia da infecção por <i>Rhodococcus equi</i>	2
1.3 – Fatores de virulência bacterianos	5
1.4 – Considerações gerais sobre a infecção por <i>Rhodococcus equi</i> em humanos	9
1.5 – Considerações gerais sobre a infecção por <i>Rhodococcus equi</i> em potros	11
1.6 – Imunidade da infecção por <i>Rhodococcus equi</i>	13
1.7 – Diagnóstico laboratorial da infecção por <i>Rhodococcus equi</i>	16
1.8 – Tratamento e profilaxia das infecções por <i>Rhodococcus equi</i>	20
2 – Objetivos	23
3 – Materiais e Métodos	24
3.1 – Isolados bacterianos	24
3.2 – Preparação do DNA molde	26
3.3 – Padronização da PCR multiplex	26
3.3.1 – <i>Primers</i>	26
3.3.2 – Otimização das condições de reação	27
3.4 – Sequenciamento do DNA	28
4 – Resultados	28
4.1 – Extração do DNA bacteriano	28
4.2 – Padronização da técnica de PCR multiplex	28
4.3 – Avaliação da especificidade da técnica	30
4.4 – Aplicação da técnica para isolados de <i>R. equi</i>	31
5 – Discussão	34
6 – Conclusões e perspectivas	38
7 – Referências bibliográficas	39

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

Vap	<i>Virulence Associated Protein</i>
vap	<i>Virulence Associated Plasmid</i>
ROI	<i>Reactive oxygen intermediates</i>
RNI	<i>Reactive nitrogen intermediates</i>
ORF	<i>Open Reading Frame</i>
FIV	<i>Feline Immunodeficiency Virus</i>
MHC	<i>Main Histocompatibility Complex</i>
LT	Linfócito T
Th	Linfócito T <i>helper</i>
IFN $\gamma$	Interferon gama
IL	Interleucina
TNF	<i>Tumoral Necrosis Factor</i>
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
IgG	Imunoglobulina G
BCG	<i>bacillus Calmette-Guerin</i>
EHV-2	<i>Eqüine Herpervirus type 2</i>
g/l	gramas por litro
DNA	ácido desoxirribonucléico
dNTPs	desoxi-nucleotídeos
EDTA	ácido etilenodiaminotetraacético; sal dissódico
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i> (ensaio imunoenzimático)
ATCC	American Type Collection Culture
°C	grau Celsius
CAMP	<i>Christie, Atkin, Munch-Peterson reaction</i>
SAA	Soro amilóide A
Kb	kilobase
kDa	Kilodalton

M	Molar
min	Minuto
MgCl <sub>2</sub>	cloreto de magnésio
ml	Mililitro
mM	Milimolar
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (reação em cadeia da polimerase)
pMOL	Picomolar
pb	par de bases
pH	potencial de hidrogênio
s	Segundos
rDNA 16S	Gene para o RNA ribossomal 16S
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
U	Unidade
UFC	unidade formadora de colônia
UV	Ultra Violeta
μg	Micrograma
μM	Micromolar
μl	Microlitro
+	Resultado positivo
-	Resultado Negativo
16S rDNA	Região 16 S do DNA ribossomal
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Vírus</i>
G+C	Conteúdo guanina citosina
FIV	<i>Feline Immunodeficiency Vírus</i>
V	Volts
h	Hora



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Níveis de virulência encontrados em cepas de <i>R. equi</i> , com o respectivo antígeno codificado e fontes de origem	6
TABELA 2. Comparação entre os linfócitos T <i>helper</i> (LTh) dos tipos 1 e 2, quanto ao tipo de citocina produzida e célula ativada.	15
TABELA 3. Origem e características epidemiológicas das amostras de <i>R. equi</i> utilizadas na PCR multiplex	25
TABELA 4. Sequências dos <i>primers</i> para reação em cadeia da polimerase multiplex	26
TABELA 5. Concentração dos constituintes da reação de PCR multiplex nas diferentes condições testadas para padronização da técnica	27
TABELA 6. Caracterização das amostras de <i>R. equi</i> utilizando a técnica de PCR multiplex	32

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Condições testadas para amplificação dos fragmentos dos genes 16S rDNA e <i>vapA</i> em cepas padrão de <i>R. equi</i> ATCC 33701 P+.	29
FIGURA 2. Resultados da PCR multiplex utilizando a condição 4 para 16S rDNA e gene <i>vapA</i>	30
FIGURA 3. Avaliação da especificidade da técnica para diferenciação entre isolados bacterianos correlacionados.	31
FIGURA 4. Prevalência de isolados de <i>R. equi</i> <i>vapA</i> positivos nos diferentes haras da região de Bagé – RS.	33

## RESUMO

*Rhodococcus equi* é uma importante causa de broncopneumonia em potros com menos de 6 meses de idade, sendo responsável por 3% das mortes de eqüinos no mundo. É um microrganismo intracelular capaz de sobreviver e multiplicar no interior de macrófagos. Apresenta 3 níveis de virulência de acordo com os diferentes antígenos expressos em sua superfície. Cepas virulentas apresentam um plasmídeo que codifica para a proteína de superfície VapA e são isoladas principalmente de potros com pneumonia e de alguns pacientes humanos. Cepas com virulência intermediária expressam a proteína VapB e predominam em suínos e humanos com AIDS. Cepas avirulentas não expressam antígeno de superfície e são encontradas principalmente no ambiente e em pacientes humanos. Um dos fatores responsáveis pela ampla distribuição da enfermidade em potros, é a imaturidade do sistema imunológico dos animais acometidos pela infecção, que pode tornar-se endêmica em alguns criatórios. Para humanos, as formas de infecção são ainda desconhecidas, mas o contato com eqüinos é relatado em um terço das infecções. Devido à importância clínica da doença, são necessários métodos diagnósticos que promovam sua identificação precoce, facilitando e aumentando as chances de sucesso com o tratamento. Os métodos mais utilizados atualmente são o cultivo microbiológico da bactéria, testes sorológicos para detecção de anticorpos no soro dos animais e técnicas de PCR que detectam a região 16S do rDNA e o fragmento do gene *vapA* do microrganismo. O objetivo desse trabalho foi utilizar uma técnica de PCR multiplex para detectar simultaneamente os fragmentos dos genes *vapA* e 16S do rDNA, e gerar um método rápido, específico e sensível para o diagnóstico e caracterização molecular de cepas de *R. equi* provenientes de eqüinos e seus ambientes. Foram utilizados 118 isolados, sendo 74 amostras de fezes de eqüinos (41 de adultos e 33 de potros), 21 do solo, 10 das instalações utilizando swabs e 3 de outros animais domésticos. Isolados clínicos (10) foram cultivados do pulmão de potros com pneumonia causada por *R. equi*. Todas as cepas testadas foram confirmadas pela amplificação do gene 16S rDNA, sendo que 16 destes (10 de

potros doentes e 6 de seus ambientes) também foram positivos na amplificação do gene *vapA*. Quatro dos isolados ambientais que mostraram amplificação do gene *vapA* foram de haras endêmicos para a doença. A análise desses dados mostra o grande potencial da técnica de PCR multiplex para caracterização molecular de isolados de *R. equi*.

## Abstract

*Rhodococcus equi* is an important cause of pyogranulomatous pneumonia in 1-6-month-old foals, being responsible by 3% horse death around the world. It is an intracellular microorganism able to survive and to multiply itself in the macrophages. Three virulence levels have been identified in *R. equi*, by the presence of virulence associated antigens on the bacteria surface. Virulent strains have a plasmid encoding VapA protein and are isolated from diseased foals and some human patients. Intermediate virulent strains show VapB protein and are commonly founded in swines and humans with AIDS isolates. Avirulent strains don't show virulence antigens and are founded in environmental samples and human. The immature immune system is the major cause of the susceptibility of foals for the *R. equi* pneumonia. To humans, the infection routes are unknown yet, but the contact with horses is related with one third of human infections. Due the clinical importance of the disease, diagnostics methods for early identification in animals are necessary, increasing the chances for treatment. The more common diagnostic methods are microbiologic culture, serologic tests and PCR techniques for 16S rDNA and *vapA* detection. The mainly purpose of this study was apply a multiplex PCR for simultaneous detection and characterization of 16S rDNA and *vapA* gene fragments in *R. equi*. Were analyzed 118 *R. equi* isolates, being 74 equine fecal isolates (41 from horses and 33 from foals), 21 from soil, 10 from breed stuffs and 3 from other domestic animals. Ten clinical isolates were cultured from lungs of diseased foals. All 118 isolates characterized as *R. equi*, were confirmed by 16S rDNA, being 16 isolates positive to *vapA* gene PCR amplification (10 from diseased foals and six from horse environment). Four environment *R. equi* isolates positive to both 16S rDNA e *vapA* gene amplification was from an endemic horse breeding farm. The results show the great potential of multiplex PCR to molecular characterization of *R. equi* isolates.

## 2 – OBJETIVOS

### Geral:

Utilizar a técnica de PCR multiplex para caracterização de isolados de *Rhodococcus equi* obtidos de potros enfermos e do meio ambiente, garantindo um método que propicie a identificação molecular do patógeno

### Específicos:

- Testar a técnica de PCR multiplex;
- Gerar um método que identifique o patógeno e informe sobre a presença do gene *vapA* simultaneamente;
- Comparar os diferentes isolados de *Rhodococcus equi* (clínicos e ambientais) quanto à presença do gene *vapA*
- Relacionar os achados na técnica de PCR com a situação epidemiológica de haras da região de Bagé, RS.

## 4 – RESULTADOS

### 4.1 – Extração do DNA bacteriano

A extração do DNA das cepas bacterianas testadas pela metodologia de termo-extração foi eficiente e confirmada através de eletroforese em gel de agarose 0,5%.

### 4.2 – Padronização da técnica de PCR multiplex

A condição testada para amplificação na PCR que apresentou o melhor resultado foi a de número 4 (30 pmol do *primer* RG e 90 pmol do *primer vapA*, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>), onde observou-se amplificação dos fragmentos dos genes *vapA* e 16S do rDNA simultaneamente (figuras 1 e 2). Os fragmentos amplificados apresentaram tamanho esperado (564pb para o fragmento *vapA* e 468pb para o fragmento 16SrDNA) conforme os dados descritos na literatura (TAKAI *et al.*, 1995; BELL *et al.*, 1996). A identidade dos fragmentos foi comprovada através do sequenciamento com seqüências previamente publicadas.

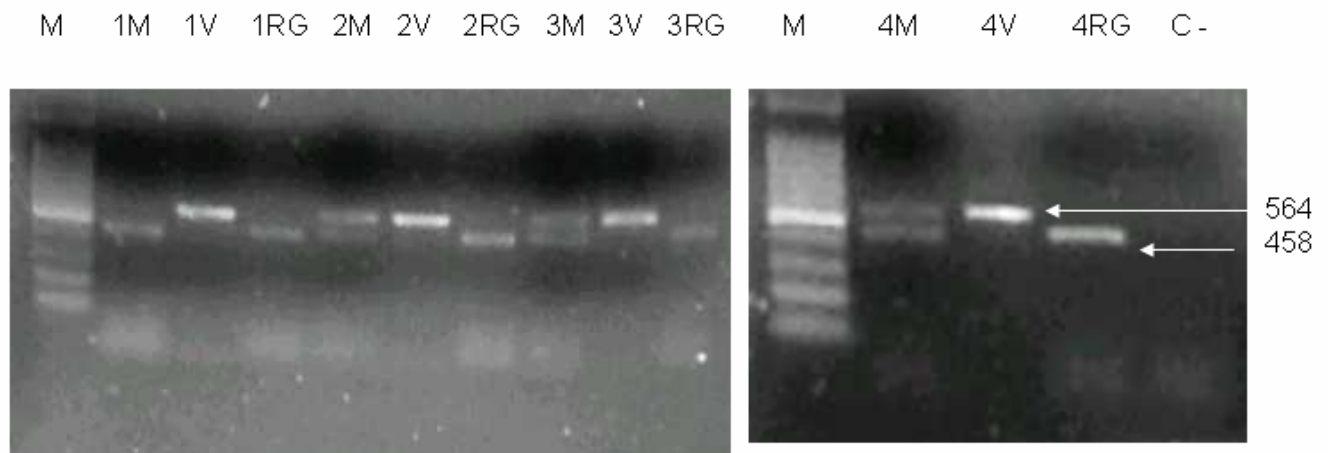


Figura1: Padronização da PCR multiplex para identificação de *R. equi* utilizando diferentes condições de amplificação.

M: Marcador de tamanho molecular (Ladder 100 pb Ludwigbiotec). 1M: Condição 1 multiplex. 1V: Condição 1 *primer vapA*. 1RG: Condição 1 *primer RG*. 2M : Condição 2 multiplex. 2V: Condição 2 *primer vapA*,. 2RG: Condição 2 *primer RG*. 3M: Condição 3 multiplex. 3V: Condição 3 *primer vapA*. 3RG: Condição 3 *primer RG*. 4M: Condição 4 multiplex. 4V: Condição 4 *primer vapA*., 4RG: Condição 4 *primer RG*. C-: controle negativo das reações.



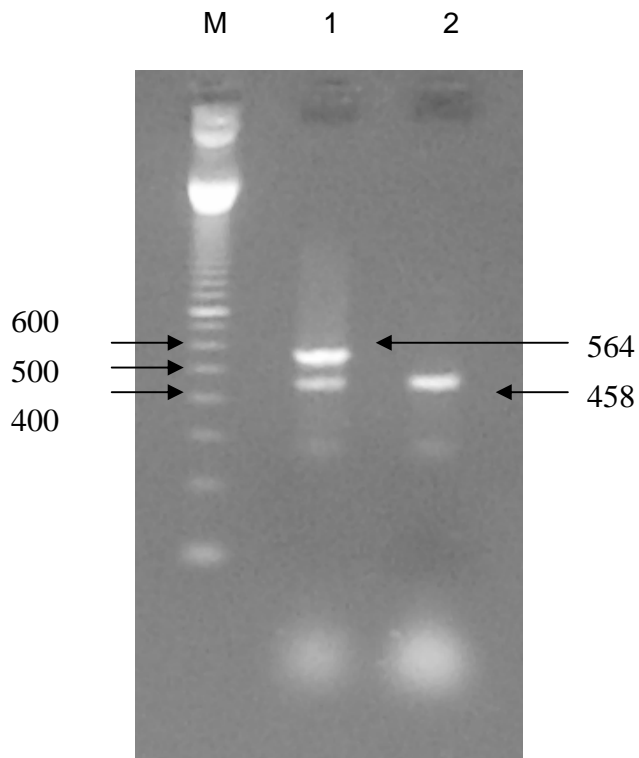


Figura 2: Resultados da PCR multiplex utilizando a condição 4 (90pmol do *primer vapA* e 30 pmol do *primer RG*; 2,5 mM de  $MgCl_2$ ) para amplificação dos fragmentos 16S rDNA e gene *vapA*

M: marcador de tamanho molecular (Ladder 100 pb Ludwigbiotec), 1: ATCC 33701P+, 2: ATCC 33701P-. Tamanhos dos fragmentos indicados em pares de base (pb).

#### 4.3 – Avaliação da especificidade da técnica

Nos isolados de *N. asteroides*, *Streptococcus sp* e *Pasteurella multocida*, não foi observada amplificação de DNA, confirmando a eficiência da técnica em diferenciar seguramente as espécies bacterianas testadas (figura 3).

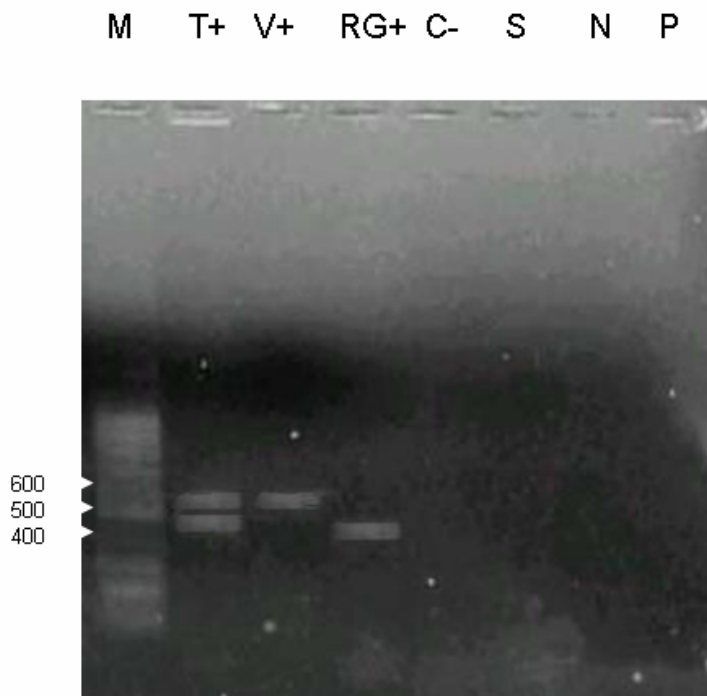


Figura 3: Avaliação da especificidade da técnica para diferenciação entre isolados bacterianos correlacionados.

M: marcador de massa molecular (Ladder 100 pb Ludwigbiotec). T+: ATCC 33701P+ reação multiplex. V+: ATCC 33701 P+ reação *vapA*. 16S: ATCC 33701P+ reação 16S. C-: controle negativo das reações. S: *Streptococcus* sp. N: *Nocardia asteroides*. P: *Pasteurella multocida*

#### 4.4 – Aplicação da técnica para isolados de *R. equi*

Os resultados da técnica de PCR multiplex realizada nesse trabalho são apresentados na tabela 6 e na figura 4. A análise desses resultados confirmou os 118 isolados testados como *R. equi* de acordo com a classificação bioquímica previamente realizada. Dez (100%) dos isolados obtidos de potros e 7 (6,54%) dos isolados obtidos do ambiente (fezes de equinos adultos ou potros), foram positivos simultaneamente para o gene *vapA*, indicando o potencial de virulência desses isolados para potros. O maior número de isolados patogênicos foi obtido no haras considerado endêmico para a enfermidade (figura 4).

Tabela 6 – Caracterização das amostras de *R. equi* utilizando a técnica de PCR multiplex

Haras	Ocorrência da doença	Origem	Total	Resultados positivos na PCR	
				16 S rDNA	vap A
Haras 1	Esporádica	Solo	5	5	0
		Fezes de eqüinos adultos	8	8	1
		Fezes de potros	9	9	0
		Instalações	2	2	0
		Fezes de bovinos	1	1	0
		Fezes de aves	1	1	0
<b>Total</b>			<b>26</b>		
Haras 2	Esporádica	Solo	3	3	0
		Fezes de eqüinos adultos	10	10	1
		Fezes de potros	4	4	0
		Instalações	1	1	0
		Amostras clínicas	1	1	1
<b>Total</b>			<b>19</b>		
Haras 3	Esporádica	Solo	4	4	0
		Fezes de eqüinos adultos	8	8	1
		Fezes de potros	8	8	0
		Instalações	1	1	0
<b>Total</b>			<b>21</b>		
Haras 4	Endêmica	Solo	3	3	0
		Fezes de eqüinos adultos	11	11	3
		Fezes de potros	6	6	1
		Instalações	4	4	0
		Amostras clínicas	9	9	9
<b>Total</b>			<b>33</b>		
Haras 5	Não relatada	Solo	2	2	0
		Fezes de eqüinos adultos	3	3	0
		Fezes de potros	4	4	0
		Instalações	2	2	0
		Fezes de bovinos	1	1	0
<b>Total</b>			<b>12</b>		
Haras 6	Não relatada	Solo	4	4	0
		Fezes de eqüinos adultos	1	1	0
		Fezes de potros	2	2	0
<b>Total</b>			<b>7</b>		
<b>Total de isolados de <i>R. equi</i></b>			<b>118</b>		

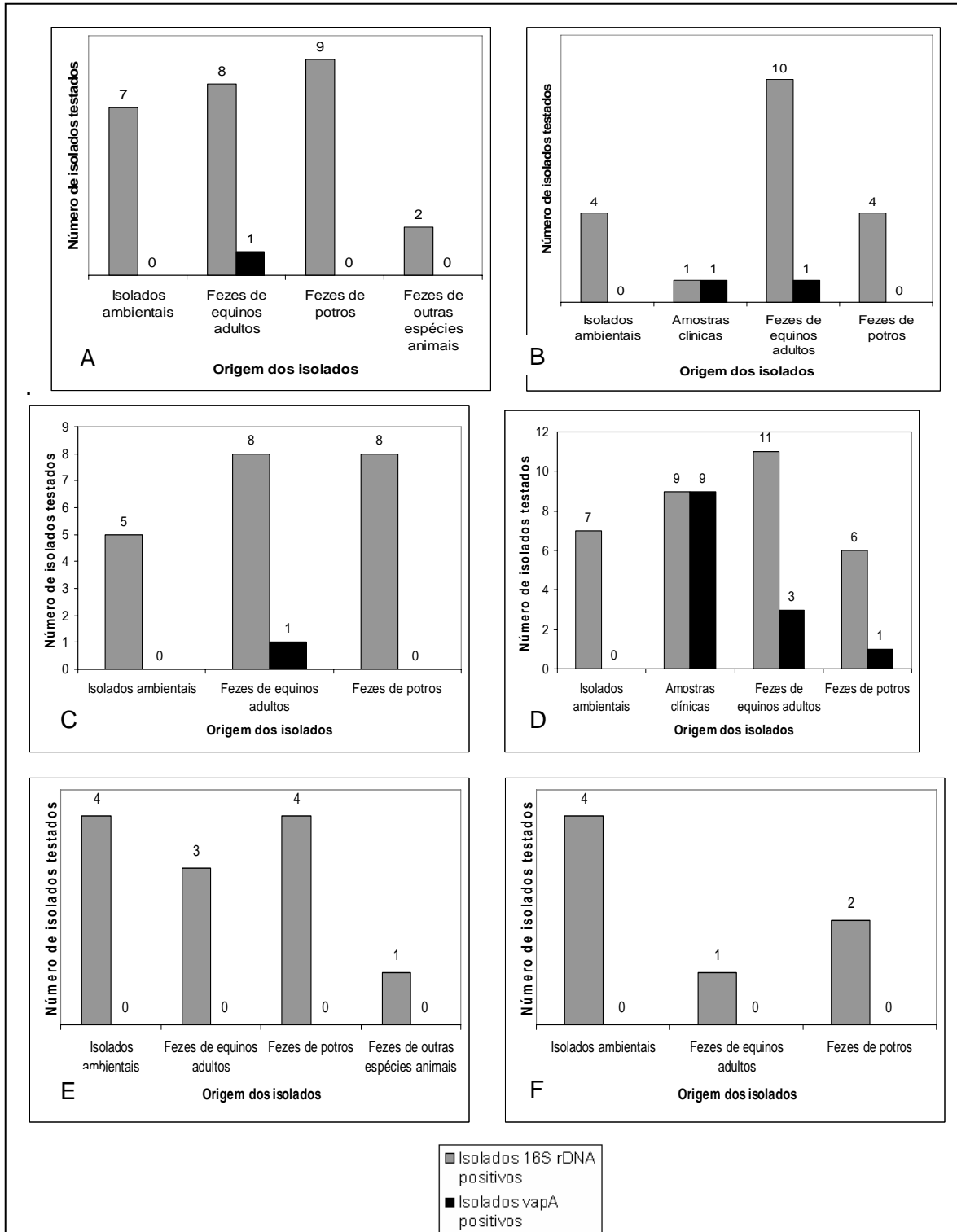


Figura 4: Prevalência de isolados de *R. equi vapA* positivos nos diferentes haras da região de Bagé – RS

A: Haras 1, B: Haras 2, C: Haras 3, D: Haras 4, E: Haras 5, F: Haras 6

diagnóstico e fornece melhorias na caracterização molecular dos isolados. As principais vantagens dessa técnica com relação à PCR tradicional são a redução no tempo necessário para preparação e análise dos resultados e a redução dos custos, pois a quantidade de material necessária para a realização da metodologia diminui praticamente pela metade (EDWARDS *et al.*, 1994).

## **5 – CONCLUSÕES**

A PCR multiplex, mostrou-se um método rápido, sensível e específico para caracterização de isolados clínicos e ambientais de *R. equi*. É especialmente útil para estudos epidemiológicos da presença do microrganismo nos criatórios eqüinos. Estudos futuros serão necessários para avaliar sua utilidade em amostras clinicas (material de necropsia, sangue, escarro ou aspirado traqueal) eliminando a necessidade de cultivar o microrganismo, diminuindo gastos e aumentando a velocidade do diagnóstico.

## 6 – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANZAI, T.; WADA, R.; NAKANISHI, A.; KAMADA, M.; TAKAI, S.; SHINDO, Y.; TSUBAKI, S. Comparison of tracheal aspiration with other tests for diagnosis of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. *Veterinary Microbiology*, 56: 335-345, 1997.

BELL, K.S.; PHILIP, J.C.; CHRISTOFI, N.; AW, D.W.J. Identification of *Rhodococcus equi* using the polymerase chain reaction. *Letters in Applied Microbiology*, 23: 72-74, 1996.

BELL, K.S.; PHILIP, J.C.; AW, D.W. & CHRISTOFI, N. The genus *Rhodococcus*. *Journal of Applied Microbiology*, 85(2): 195-210, 1998.

BENOIT, S., BENACHOUR, A.; TAOUJI, S.; AUFRAY, Y. & HARTKE A. Induction of *vap* genes encoded by the virulence plasmid of *R. equi* during acid tolerance response. *Research Microbiology*, 152: 439-449, 2001

BYRNE, B. A.; PRESCOTT, J.F.; PALMER, G.H.; TAKAI, S.; NICHOLSON, V.M.; ALPERIN, D.C. & HINES S.A. Virulence plasmid of *Rhodococcus equi* contains inducible gene family encoding secreted proteins. *Infections and Immunity*, 69(2): 650-656, 2001.

CANTOR, C.H.; BYRNE, B.A.; HINES, S.A. & RICHARDS, H.M. Vap-A negative *Rhodococcus equi* in a dog with necrotizing pyogranulomatous hepatitis, osteomyelitis, and myositis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 10: 297-300, 1998.

CAUCHARD, J.; SEVIN, C.; BALLEET, J-J. & TAOUJI, S. Foal IgG and opsonizing anti-*Rhodococcus equi* antibodies after immunization of pregnant mares with a protective VapA candidate vaccine. *Veterinary Microbiology*, 104: 73-81, 2004.

CHAFFIN, M.K.; COHEN, N.D.; MARTENS, R.J.; EDWARDS, R.F. & NEVILL, M. Foal-related risk factors associated with development of *Rhodococcus equi* pneumonia on farms with endemic infections. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 223(12): 1797-9, 2003

CHAFFIN, M.K.; COHEN, N.D.; MARTENS, R.J.; EDWARDS, R.F.; NEVILL, M. & SMITH I. R. Hematologic and immunophenotypic factors associated with development of *Rhodococcus equi* pneumonia of foals at equine breeding farms with endemic infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 100: 33-48, 2004.

CHIRINO-TREJO, J.M. & PRESCOTT, J.F. Polyacrylamide Gel Electrophoresis of Whole-cell Preparations of *Rhodococcus equi*. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 51: 297-300, 1987.

COHEN, N.D. Causes of and farm management factors associated with disease and deaths in foals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 204: 1644-1651, 1994.

COHEN, N.D.; O'CONNOR, M.S.; CHAFFIN, M.K. & MARTENS, R.J. Farm characteristics and management practices associated with development of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 226(3): 404-413, 2005.

COSTA, M.M.; DENZEN, D.; GRAÇA, D.L.; ILHA, M.R.S; KREWER, C.C.; MACHADO, S.A.; MATTOS-GUARALDI, A.L.; SALOMONI, S.A & VARGAS, A.C.V. *Rhodococcus equi*: Pesquisa de fatores de virulência em isolados clínicos e ambientais obtidos em seis Haras da região de Bagé – RS, Brasil. *Rhodococcus equi*: Pesquisa de fatores de virulência em isolados clínicos e ambientais obtidos de seis haras da região de Bagé, RS, Brasil. In: XIV JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 1999, Santa Maria. XIV Jornada Acadêmica Integrada. 1999a.

COSTA, M.M.; KREWER, C.C.; NAPOLEÃO, F.C.; GRAÇA, D.L.; GUARALGI, A.L.M. & VARGAS, A.C. Pesquisa de portadores de *Rhodococcus equi* entre trabalhadores rurais. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 1999, Salvador - BA. XX Congresso Brasileiro de Microbiologia. 1999b.

EDWARDS, M.C. & GIBBS, R.A. Multiplex PCR: advantages, development and applications. *PCR Methods Applied*, 3: 65-75, 1994.

FERNANDEZ, A.S.; PRESCOTT, J.F. & NICHOLSON, V.M. Protective effect against *Rhodococcus equi* infection in mice of IgG purified from horses vaccinated with virulence associated protein (VapA)-enriched antigens. *Veterinary Microbiology*, 56(3-4): 187-192, 1997.

FONTANALS, A.M.; BECÚ, T.; POLLEDO, G.; GASKIN, C.K.M. & BRAUN M. Antigenic analysis of *Rhodococcus equi* preparations using different horse sera. *Veterinary Microbiology*, 56: 247-255, 1997.

GASKIN, J.M.; BREWER, B. & KOTERBA, A. Diagnostic significance or serological responses to *Rhodococcus equi* in horses. In: ACVIM FORUM, 8<sup>th</sup>, 1990, Washington. Proceedings... Washington: University of Florida, 1990. p. 579-584.

GOTOH, K.; MITSUYAMA, M.; IMAISUMI, S.; KAWAMURA, I. & YANO, I. Mycolic acid-containing glycolipid as a possible virulence factor of *Rhodococcus equi* for mice. *Microbiology and Immunology*, 35(3): 175-85, 1991

GIGUÈRE, S. & PRESCOTT, J.F. Clinical manifestations, diagnosis, treatment, and prevention of *Rhodococcus equi* infections in foals. *Veterinary Microbiology*, 56(3-4): 313-334, 1997.

GIGUÈRE, S.; WILKIE, B.N. & PRESCOTT, J.F. Modulation of cytokine response of pneumonic foals by virulent *Rhodococcus equi*. *Infection and Immunity*, 67(10): 5041-5047, 1999.

GIGUÈRE, S.; HERNANDEZ, J.; GASKIN, S.; MILLER C. & BOWNMAN J.L. Performance of five serological assays for diagnosis of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. *Clinical Diagnosis and Laboratory Immunology*, 10(2): 241-245, 2003.

GOLUB, B.; FALK, G.; SPRINK, W.W. Lung abscess due to *Corynebacterium equi*. Report of first human infection. *Annual Internal Medicine*, 66 (6), 1176-1176, 1967.

GOODFELLOW, M.; ALDERSON, G. & CHUN, J. Rhodococcal systematics: problems and developments. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 74: 3-20, 1998.

HAGHIGHI, H.R. & PRESCOTT, J.F. Assessment in mice of VapA-DNA vaccination against *Rhodococcus equi* infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 104: 215-225, 2005.

HALBERT, N.D.; REITZEL, R.A.; MARTENS, R.J. & COHEN, N.D. Evaluation of a multiplex polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of *Rhodococcus equi* and the *vapA* gene. *American Journal of Veterinary Research*, 66(8): 1380-1385, 2005.

HARRINGTON, J.R.; MARTENS, R.J. COHEN, N.D. & BERNSTEIN, L.R. Antimicrobial activity of gallium against virulent *Rhodococcus equi* in vitro and in vivo. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy*, 29(2): 121-127, 2006.

HARRINGTON, J.R.; GOLDING, M.C.; MARTENS, R.J.; HALBERT, N.D. & COHEN, M.D. Evaluation of a real-time quantitative polymerase chain reaction assay for detection and quantitation of virulent *Rhodococcus equi*. *American Journal of Veterinary Research*, 66(5):755-761, 2005. Erratum in: *American Journal of Veterinary Research*, 66(7):1139. 2005.

HINES, S.A.; KANALY, S.T.; BYRNE, B.A. & PALMER, G.H. Immunity to *Rhodococcus equi*. *Veterinary Microbiology*, 56: 177-185, 1997.

HINES, M.T.; PAASCH, K.M.; ALPERIN, D.C.; PALMER, G.H.; WESTHOFF, NC. & HINES, S.A. Immunity to *Rhodococcus equi*: antigen-specific recall responses in the lungs of adult horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 79: 101-113, 2001.



HINES, S.S.; STONE, D.M.; HINES, M.T.; ALPERIN, D.C.; KNOWLES, D.P.; NORTON, L.K.; HAMILTON, M.J.; DAVIS, W.C. & McGUIRE, T.C. Clearance of virulent but not avirulent *Rhodococcus equi* from the lungs of adult horses is associated with intracytoplasmic gamma interferon production by CD4+ and CD8+ T lymphocytes. *Clinical Diagnostic and Laboratory Immunology*, 10(2): 208-15, 2003.

HOLT, J.G. Nocardioforms actinomycetes. In: Bergey's Manual of determinative Bacteriology. 9<sup>o</sup> Ed. Williams & Wilkins, 1994

HONDALUS, M.K. & MOSSER, D.M. Survival and replication of *Rhodococcus equi* in macrophages. *Infect Immun.*, 62(10): 4167-4175, 1994.

HONDALUS, M.K. Pathogenesis and virulence of *Rhodococcus equi*. *Veterinary Microbiology*, 56: 257-268, 1997.

HOOPER-McGREVY, K.E.; GIGUERRE, S.; WILKIE, B.N. & PRESCOTT, J.F. Evaluation of equine immunoglobulin specific for *Rhodococcus equi* virulence-associated proteins A and C for use in protecting foals against *Rhodococcus equi*-induced pneumonia. *AJVR*, 62(8): 1307-1313, 2001.

HOOPER-McGREVY, K.E.; WILKIE, B.N. & PRESCOTT, J.F. Virulence-associated protein-specific serum immunoglobulin G-isotype expression in young foals protected against *Rhodococcus equi* pneumonia by oral immunization with virulent *R. equi*. *Vaccine*, 23: 5760-5767, 2005.

HUGUES, K.L. & SULAIMAN, I.; The ecology of *Rhodococcus equi* and physicochemical influences on growth. *Veterinary Science*, 54(3): 509-515, 1987.

HULTEN, S. & DEMMERS, M. Serum amyloid A (SAA) as an aid in the management of infectious disease in the foal: comparison with total leucocyte count, neutrophil count and fibrinogen. *Equine Veterinary Journal*, 34(7): 693-398, 2002.

JACKS, S.; GIGUÈRE, S.; GRONWALL, R.R.; BROWN, M.P.; KELLY, A. & MERRITT, B.S. Pharmacokinetics of azithromycin and concentration in body fluids and bronchoalveolar cells in foals. *American Journal of Veterinary Research*, 62: 467-75, 2001.

JACKS, S.; GIGUÈRE, S.; GRONWALL, R.R.; BROWN, M.P. & MERRITT, B.S. Disposal of oral clarithromycin in foals. *Veterinary Pharmacology Therapy*, 25: 359-362, 2002.

KANALY, S.T.; HINES, S.A. & PALMER, S.A. Failure of pulmonary clearance of *Rhodococcus equi* infection in CD4+ T-lymphocyte-deficient transgenic mice. *Infection and Immunity*, 61(11): 4929-4932, 1993.

KANALY, S.T.; HINES, S.A. & PALMER, G.H. Cytokine modulation alters pulmonary clearance of *Rhodococcus equi* and development of granulomatous pneumonia. *Infection Immunity*, 63(8): 3037-3041, 1995.

KANALY, S.T.; HINES, S.A. & PALMER, G.H. Transfer of a CD4+ Th1 cell line to nude mice effects clearance of *Rhodococcus equi* from the lung. *Infection Immunity*, 64(4): 1126-1132, 1996.

KEDLAYA, I.; ING, M.B. & WONG, S.S. *Rhodococcus equi* Infections in Immunocompetent Host: Case Report and Review. *Clinical Infectious Diseases*, 32: 39-47, 2001.

LINDER, R. & BERNHEINER, A.W. Oxidation of macrophage membrane cholesterol by intracellular *Rhodococcus equi*. *Veterinary Microbiology*, 56(3-4): 269-276, 1997.

LAZZARI A.; VARGAS A. C.; DUTRA V.; COSTA M.M. & FLORES L.A.S. Aspectos epidemiológicos do *Rhodococcus equi* em eqüinos do município de Bagé, RS, Brasil. *Ciência Rural*, 27(3): 441-446, 1997.

MACHANG'U, R.S. & PRESCOTT, J.F. Role of antibody to extra cellular proteins of *Rhodococcus equi* in protection against *R. equi* pneumonia in foals. *Veterinary Microbiology*, 26(4): 323-333, 1991.

MAKRAI L.; TAKAI S.; TAMURA M.; TSUKAMOTO A.; SEKIMOTO R.; SASAKI Y.; KAKUDA T.; TSUBAKI S.; VARGA J.; FODOR L.; SOLYMOSI N. & MAJOR A. Characterization of virulence plasmid types in *Rhodococcus equi* isolates from foals, pigs, humans and soil in Hungary. *Veterinary Microbiology*, 88: 377-384, 2002.

MAKRAI, L. ; TAKAYAMA, S.; DÉNES, B. ; HAJTÓS, I.; SASAKI, Y.; KAKUDA, T.; TSUBAKI, S.; MAJOR, A.; FODOR, L.; VARGA, J. & TAKAI, S. Characterization of Virulence Plasmids and Serotyping of *Rhodococcus equi* Isolates from Submaxillary Lymph Nodes of Pigs in Hungary. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(3): 1246-1250, 2005a.

MAKRAI, L.; FODOR, L.; VENDEG, I.; SZIGETI, Z.; DENES, B.; REICKZIEGEL, J. & VARGA, J. Comparison of selective media for the isolation of *Rhodococcus equi* and description of a new selective plating medium. *Acta Veterinaria Hungary*. 53(3): 275-285, 2005b.

MARTENS, R.J.; MARTENS, J.G. & FISKE, R.A. Failure of passive immunization by colostrums from immunized mares to protect foals against *Rhodococcus equi* pneumonia. *Equine Veterinary Journal*, 21: 19-22, 1991.

MARTENS R.J.; TAKAI S.; CHEN N.; CHAFFIN M.K.; LIU H.; SAKURAI K.; SUGIMOTO H. & LINGSWEILER S.W. Association of disease with isolation and

virulence of *Rhodococcus equi* from farm soil and foals with pneumonia. *Journal of Veterinary Medical Association*, 217 (2): 220-225, 2000.

MARTENS R.J.; COHEN N.D.; CHAFFIN M.K.; TAKAI S.; DOHERTY C.L.; ANGULO A.B. & EDWARDS R.F. Evaluation of 5 serologic assays to detect *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. *Journal of Veterinary Medical Association*, 221(6): 825-833, 2002.

MAIR, T.S. Pneumonia in the foal. *In Practice*, 11: 50-56, 1989.

MEIJER, W.G. & PRESCOTT, J.F. *Rhodococcus equi*. *Veterinary Research*, 35: 383-396, 2004.

MIZUNO, Y.; SATO, F.; SAKAMOTO, M.; YOSHIKAWA, K.; YOSHIDA, M.; SHIBA, M.; ONODERA, S.; MATSUURA, R. & TAKAI, S. VapB-positive *Rhodococcus equi* infections in an HIV-infected patient in Japan. *Journal of Infecton Chemotherapy*, 11: 37-40, 2005.

MOSSMAN, T.R. & SAD, S. The expanding universe of T cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunology Today*, 17: 138-146, 1996.

MOSSMAN, T.R. & COFFMAN, R.L. Th1 and Th2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annual Revision of Immunology*, 7: 145-173, 1989.

NAKASAWA, M.; HARINATANI, M. & SUGIMOTO, C. Virulence of *Rhodococcus equi* for mice. *Nippon Juigaku Zasshi*. 45(5): 679-682, 1983.

NAPOLEÃO, F.; DAMASCO, P.V.; CARMELLO, T.C.F.; VALE, M.D.; ANDRADE, A.F.B.; HIRATA, JR, R. & MATTOS-GUARALDI, A.L. Pyogenic Liver Abscess Due to *Rhodococcus equi* in an Immunocompetent Host. *Journal of clinical Microbiology*, 43(2): 1002-1004, 2005.

NORDMANN, P.; KELLER, M.; ESPINASSE, F. & RONCO, E. Correlation between Antibiotic Resistance, Phage-Link Particle Presence, and Virulence in *Rhodococcus equi* Human Isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(2): 377-383, 1994.

NORDENGRAHN, A.M.; RUSVAI, M.; MERZA, M.; EKSTROM, B.; MOREIN, B. & BELAK, S. Equine herpesvirus type 2 (EHV-2) as a predisposing factor for *Rhodococcus equi* pneumonia in foals: prevention of bifactorial disease with EHV-2 immunomodulating complexes. *Veterinary Microbiology*, 51: 55-68, 1996.

OLDFIELD, C; BONELLA, H.; REINVICK, L.; DODSON, H.I.; ALDERSON, G. & GOODFELLOW, M. Rapid determination of vapA/vapB genotype in *Rhodococcus equi* using a differential polymerase chain reaction method. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 85(4): 317-326, 2004.

PATE, M.; PIRŠ, T.; ZDOVC, I.; KRT, B. & OCEPEK, M. Haemolytic *Rhodococcus equi* Isolated from a Swine Lymph Node with Granulomatous Lesions. *Journal of Veterinary Medicine*, 51: 249-250, 2004.

PATTON, K.M.; McGUIRE, T.C.; HINES, M.T.; MEALEY, R.H. & HINES, S.A. *Rhodococcus equi* – Specific Cytotoxic T Lymphocytes in Immune Horses and Development in Asymptomatic Foals. *Infection and Immunity*, 73(4): 2083-2093, 2005.

PERKINS, G.A.; YEAGER, A.; ERB, H.N.; NYDAM, D.V.; DIVERS, T.J. & BOWMAN, J.I. Survival of foals with experimentally induced *Rhodococcus equi* infection given either hyperimmune plasma containing *R. equi* antibody or normal equine plasma. *Veterinary Therapy*, 3: 334-346, 2002.

POWER, C.A.; WEI, G. & BRESCHER, P.A. Mycobacterial dose defines the Th1/Th2 nature of immune response independently of whether immunization is administered by the intravenous, subcutaneous, or intradermal route. *Infection and Immunity*. 66: 5743-5750, 1998.

PHUMMOONNA, T.; BARTON, M.D. & HEUZENROEDER, M.W. Recognition of a B-cell Epitope of the VapA Protein of *Rhodococcus equi* in newborn and Experimentally Infected Foals. *Journal of Medical Veterinary*, 52: 291-295, 2005.

PRESCOTT, J.F. *Rhodococcus equi*: an animal and human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 29(12):2696-2700, 1991.

PRESCOTT, J.F. & HOFFMAN, J.F.; *Rhodococcus equi*. *Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 9(2): 375-385, 1993.

PRESCOTT, J.F. *Rhodococcus equi*. In: Pathogenesis of bacterial infections of animals. PRESCOTT, C.L., THOEN, C.O., PRESCOTT, J.F., SONGER, J.G. 3rd Edition. Blackwell Publishing, Ames, IA. 2004

RIBEIRO, M.G.; SEKI, I.; YASUOKA, K.; KAKUDA, T.; SASAKI, Y.; TSUBAKI, S. & TAKAI, S. Molecular epidemiology of virulent *Rhodococcus equi* from foals in Brazil: virulence plasmids of 85-kb type I, and a new variant, 87-kb Type III. *Comparative immunology microbiology & infectious diseases*, 28: 53-61, 2005.

QUINN, P.J. et al. Gênero *Rhodococcus*. In: Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas. Artmed, p. 334-345, 2005.

SAMBROOK, R. & RUSSEL, D.W. *Molecular Cloning: a laboratory manual*. 3<sup>rd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 3v. 2001.

SELLON, D.C.; WALKER, K.; SUYEMOTO, M. & ALTIER, C. Nucleic acid amplification for rapid detection of *Rhodococcus equi* in equine blood and tracheal wash fluids. *American Journal of Veterinary Research*, 58 (11): 1232-1237, 1997.

SELLON, D.C., BESSER, T.E., VIVRETTE, S.L., McCONNICO, R.S. Comparison of nucleic acid amplification, serology, and microbiologic culture for diagnosis of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(4): 1289-1293, 2001.

SHALKA, B. Dynamics of equi-factor antibodies in sera of foals kept on farms with differing histories of *Rhodococcus equi* pneumonia. *Veterinary Microbiology*. 14(3): 269-276, 1987.

SOEDARMANTO I.; OLIVEIRA R.; LÄMMLER C. & DÜRRLING H. Identification and further characterization of *Rhodococcus equi* isolated from cases of lymphadenitis in cattle. *Zentralbl Bakteriol*, 286(4): 457-467, 1997.

TAKAI, S.; OHBUSH, S. & KOIKE, K. Prevalence of virulent *Rhodococcus equi* in isolates from soil and feces of horses from horse breeding farms with and without endemic infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(12): 2887-2889, 1991a.

TAKAI, S.; SEKISAKI, T. & OSAWA, A. Association between a large plasmid and 15-17 kDa antigens in virulent *Rhodococcus equi*. *Infection and Immunity*, 59: 4056-4060, 1991b.

TAKAI S.; ANZAI T.; SASAKI Y.; TSUBAKI S. & KAMADA M. Virulence of *Rhodococcus equi* isolated from lesions of infected foals. *Bulletin of Equine Research Institute*, 30: 9-14, 1993.

TAKAI, S.; SASAKI, Y. & IKEDA, T. Virulence of *Rhodococcus equi* isolates from patients with and without AIDS. *Journal of Clinical Microbiology*. 32(2): 457-460, 1994a.

TAKAI, T.; SUGAWARA, T.; WATANABE, Y.; SASAKI, Y.; TSUBAKI, S. & SEKISAKI, T. Effect of growth temperature on maintenance of virulent *Rhodococcus equi*. *Veterinary Microbiology*, 39(1-2): 187-192, 1994b.

TAKAI, S.; ANZAI, T.; YAMAGUCHI, K.; KAKIZAKI, S.; TAKAHAGI, J.; SATO, Y.; TAKEHARA, F.; TAMADA, Y.; MATSUKURA, S.; TANI, A.; KATO, M.; SENO, N.; SASAKI, Y.; TSUBAKI, S. & KAMADA, M. Prevalence of virulence plasmids in environmental isolates from *Rhodococcus equi* from horse-breeding farms in Hokkaido. *Journal of Equine Science*, 5: 21-25, 1994c.

TAKAI S.; SASAKI Y. & TSUBAKI S. *Rhodococcus equi* infections in foals – current concepts and implication for future research. *Journal of Equine Science*, 6(4): 105-119, 1995a.

TAKAI, S.; FUKUNAGA, N.; OCHIDA, Y.; KAMISAWA, K.; SASAKI, Y.; TSUBAKI, S. & SEKISAKI, Y. Identification of virulence-associated antigens and plasmids in *Rhodococcus equi* from patients with AIDS. *Journal of Infection Disease*, 172(5):1306-11, 1995b.

TAKAI, S.; IKEDA, T.; SASAKI, Y.; WATANABE, Y.; OZAWA, T.; TSUBAKI, S. & SEKIZAKI, T. Identification of virulent *Rhodococcus equi* by amplification of gene coding 15-to 17-Kilodalton antigens. *Journal of Clinical Microbiology*, 33: 1624-1627, 1995c.

TAKAI, S.; FUKUNAGA, N.; OCSHIAI, S.; YMAI, Y.; SASAKI, Y.; TSUBAKI, S. & SEKISAKI, T. Identification of intermediately virulent *Rhodococcus equi* isolates from pigs. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(4): 1034-1037, 1996a.

TAKAI, S.; FUKUNAGA, N.; OCSHIAI, S.; SAKAI, T.; SASAKI, Y. & TSUBAKI, T. Isolation of virulent and intermediately virulent *Rhodococcus equi* from soil and sand on parks and yards in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 58(7): 669-672, 1996b.

TAKAI S.; HIDAKA D.; SHINDOH Y.; MURATA T.; NAKANISHI S.; SASAKI Y.; TSUBAKI S. & KAMADA M. Serum antibody responses of foals to virulence-associated 15-to 17- kilodalton antigens of *Rhodococcus equi*. *Veterinary Microbiology*, 52(1-2): 63-71, 1996.

TAKAI, S. Epidemiology of *Rhodococcus equi* infections: a review. *Veterinary Microbiology*, 56(3-4):167-176, 1997.

TAKAI, S.; SHODA, M.; SASAKI, Y.; TSUBAKI, S.; FORTIER, G.; PRONOST, S.; RAHAL, K.; BECU, T.; BEGG, A.; BROWNING, G.; NICHOLSON, V.M. & PRESCOTT, J.F. Restriction fragment length polymorphisms of virulence plasmids in *Rhodococcus equi*. *Journal of Clinical Microbiology*, 37: 3417-3420, 1999.

TAKAI, S.; HINES, S.A.; SEKIZAKI, T.; NICHOLSON, V.M.; ALPERIN, D.A.; OSAKI, M.; TAKAMUTSU, D.; NAKAMURA, M.; SUZUKI, K.; OGINO, N.; KAKUDA, T.; DAN, H. & PRESCOTT, J.F. DNA Sequence and Comparison of Virulence Plasmids from *Rhodococcus equi* ATCC 33701 and 103. *Infection and Immunity*, 68, (12): 6840 – 6847, 2000a.

TAKAI, S.; ANZAI, T.; FUJITA, Y.; AKITA, O. SHODA, M.; TSUBAKI, S. & WADA, R. Pathogenicity of *Rhodococcus equi* expressing a virulence-associated 20 kDa protein (VapB) in foals. *Veterinary Microbiology*, 76(1):71-80, 2000b.

TAKAI, S.; THARAVICHITKUL, P.; SASAKI, C.; ONISHI, Y.; YAMANO, S.; KAKUDA, T.; TSUBAKI, S.; TRINARONG, C.; ROJANASTHIEN, S.; SIRIMALAISUWAN, A.; TESAPRATEEP, T.; MANEEKARN, N.; SIRISANTHANA, T. & KIRIKAE, T. Identification of virulence-associated antigens and plasmids in *Rhodococcus equi* from patients with acquired immune deficiency syndrome and prevalence of virulent *R. equi* on soil collected from domestic animal farms in Chiang Mai, Thailand. *American Journal of Therapeutic Medicine*, 66(1): 52-55, 2002.

TAKAI, S.; THARAVICHTIKTUL, P.; TAKARN, P.; KHANTAWA, B.; TAMURA, M.; TSUKAMOTO, A.; TAKAYAMA, S.; YAMATODA, N.; KIMURA, A.; SASAKI, Y.; KAKUDA, T.; SHIRO, T.; MANEEKARN, N. SIRISANTHANA, T. & KIRIKAE, T. Molecular epidemiology of *Rhodococcus equi* of intermediate virulence isolated from patient with and without acquired immune deficiency syndrome in Chiang Mai, Thailand. *Journal of Infectious Diseases*, 188(11): 1717-1723, 2003.

TAOUJI S.; BRÉARD E.; PEYRET-LACOMBE A.; PRONOST S.; FORTIER G. & COLLOBERT-LAUGIER C. Serum and mucosal antibodies of infected foals recognized two distinct epitopes of Vap A of *Rhodococcus equi*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 34: 299-306, 2002.

TAN, C.; PRESCOTT, J.F.; PATTERSON, M.C. & NICHOLSON, V.M. Molecular characterization of a lipid-modified virulence-associated protein of *Rhodococcus equi* and its potential in protective immunity. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 59(1):51-9, 1995.

VARGA, J.; FODOR, L.; RUSVAI, M.; SOOS, I. & MAKRAI, L.; Prevention of *Rhodococcus equi* pneumonia of foals using two different inactivated vaccines. *Veterinary Microbiology*, 56(3-4):205-212, 1997.

VARGAS, A. Infecções por *Rhodococcus equi*. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, A.M.C.; LEMOS, R.A.A. *Doenças de Ruminantes e Equinos*. 2º Ed. Varela, 2001.

VENGUST, M.; STAEMPFLI, H. & PRESCOTT, J.F. *Rhodococcus equi* pleuropneumonia in an adult horse. *Canadian Veterinary Journal*, 43: 706-708, 2002.

VERVILLE T.D.; HUYCKE M.M.; GREENFIELD R.A.; FINE D.P.; KUHLS T.L. & SLATER L.N. *Rhodococcus equi* infections of humans. *Medicine*, 73(3): 119-132, 1994.

VULLO, V.; MASTROIANI, C.M.; LICHTNER, M.; MENGONI, F.; CHIAPPINI, E.; D'AGOSTINO, C. & DELIA, S. Serologic responses to *Rhodococcus equi* in individuals with and without human immunodeficiency virus infection. *European Journal Clinical Microbiology Infection Disease*, 15(7): 588-594, 1996.

WADA, R.; KAMADA, M.; ANZAI, T.; NAKANISHI, A.; KANEMARU, T.; TAKAI, S. & TSUBAKI, S. Pathogenicity and virulence of *Rhodococcus equi* in foals following intratracheal challenge. *Veterinary Microbiology*, 56(3-4):301-12, 1997.

WILSON, D.W. Foal pneumonia: an overview. In: 38th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 1992, Davis. Proceedings... Davis: American Association of Practitioners, 1992, 203-229.

WOLCOOK, J.B.; FARMER, A.T. & MULTIMER, M.D. Selective medium for *Corynebacterium equi*. *Journal of Clinical Microbiology*, 9(5): 640-642, 1979.

YAGER, A.C.; PRESCOTT, C.A.; KRAMAR, D.P.; HANNAH, H.; BALSON, G.A. & CROY, B.A. The effect of experimental infection with *Rhodococcus equi* on immunodeficient mice. *Veterinary Microbiology*, 28(4):363-376, 1991.

YAMAMURA, M.; UYEMURA, K.; DEANS, R.J.; WENBERG, K.; REA, T.H.; BLOOM, B.R. & MODILIN, R.L. Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprose lesions. *Science*, 254: 277-279, 1991.

## **CURRICULUM VITAE RESUMIDO**

### **CURRICULUM VITAE**

Abril, 2006

#### **1 DADOS PESSOAIS**

Nome: Cristina da Costa Krewer

Filiação: Pedro Roberto Schneider Krewer e Eunice Medianeira da Costa Krewer

Nascimento: 13/08/1981, SANTA MARIA/RS - Brasil

Carteira de identidade: 8035630527 / SSP / RS / 06/03/1996

CPF: 80580289087

Endereço profissional: Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais,  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva.  
Campus Universitário Prédio 44 sala 5137  
Camobi  
97105-900 SANTA MARIA, RS - Brasil  
Telefone: (55) 32208107 Fax: 32208257  
E-mail: criskrewer@smail.ufsm.br

Endereço residencial: RUA VICENTE NOAL N°. 20  
NOAL  
97020700 SANTA MARIA, RS - Brasil  
Telefone: (55) 32121386 Cel (55) 99773450



## 2 FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

- 1999 - 2003      Graduação em Farmácia e Bioquímica.  
Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Rio Grande do Sul, Brasil.
- 2004 - atual      Mestrado em Biologia Celular e Molecular.  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Rio Grande do Sul,  
Brasil.  
Título: Caracterização de isolados clínicos e ambientais de *Rhodococcus equi*  
do Brasil utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase multiplex  
Orientador: Irene Silveira Schrank.  
Co-orientador: Agueda Castgna de Vargas

## 3 FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

- 2005 - 2005      Curso de Proteômica e Genômica Estrutural (Carga horária: 20h)  
Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Rio Grande do Sul, Brasil
- 2005 - 2005      Extensão Universitária Células Tronco: Biologia e Aplicações (Carga Horária:  
5h)  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Rio Grande do Sul,  
Brasil
- 2004 - 2004      Curso Internacional de Redação Científica. (Carga horária: 40h)  
Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Rio Grande do Sul, Brasil.
- 2003 - 2003      Atenção Farmacêutica Comunicação Com o Paciente. (Carga horária: 8h)  
Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Rio Grande do Sul, Brasil.
- 2003 - 2003      Clonagem Gênica e Sua Aplicação na Biotecnologia. (Carga horária: 8h)  
Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Rio Grande do Sul, Brasil.
- 2002 - 2002      Estudo de Casos Clínicos Em Bioquímica Clínica. (Carga horária: 6h)  
Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Santa Catarina, Brasil.
- 2002 - 2002      Alterações do Eritrograma (Carga horária: 4h)  
Associação Santamariense dos Farmacêuticos-Químicos, Rio Grande do Sul,  
Brasil
- 2001 - 2001      Atualização em Antibioticoterapia Hospitalar (Carga horária: 10h)  
Associação Santamariense dos Farmacêuticos-Químicos, Rio Grande do Sul,  
Brasil
- 2001 - 2001      Treinamento em técnicas Avançadas de Biologia Molecular: Clonagem e  
Expressão Gênica (Carga horária: 40h)  
Centro de Biotecnologia, UFRGS, Rio Grande do Sul, Brasil
- 2000 - 2000      Curso de Atualização Em Pneumologia Pediátrica. (Carga horária: 10h)  
Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Rio Grande do Sul, Brasil.
- 2000 - 2000      Curso de Diagnóstico Laboratorial da Cisticercose. (Carga horária: 20h)  
Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Rio Grande do Sul, Brasil.
- 1999 - 1999      Higiene e Sanificação na Indústria de Alimentos. (Carga horária: 6h)  
Sociedade Brasileira de Microbiologia, SBM, Brasil.
- 1999 - 1999      Extensão universitária em Avaliação Crítica e Padronização do Antibiograma.  
(Carga horária:  
6h)  
Sociedade Brasileira de Microbiologia, SBM, Brasil.

## 4 ATUAÇÃO PROFISSIONAL

### Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

#### Vínculo institucional

1999 - 2003 Vínculo: Colaborador, Enquadramento funcional: Colaborador.  
2003 - 2005 Vínculo: Servidor público, Enquadramento funcional: Professor substituto, Carga horária: 40.

11/2003 – 11/2005 Ensino, Farmácia e Bioquímica, Nível: Graduação.

#### Disciplinas ministradas

1. Histologia e embriologia gerais.
2. Histologia aplicada à odontologia.
3. Histologia Humana F.

3/2002 – Atual Participação em projetos, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva.

#### Participação em projeto

1. Clonagem e expressão do gene da proteína de superfície (SAP).

## 5 PRODUÇÃO CIENTÍFICA, TECNOLÓGICA E ARTÍSTICA/CULTURAL

### 5.1 PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 5.1.1 Resumos simples em anais de eventos

- 1 MARCHIORO, Silvana Beutinger; GASPERIN, Bernardo; KREWER, Cristina da Costa; HENTSCHKE Ligian; OLIVEIRA, Jananina; VARGAS, Agueda Castagna de. Relato de caso: Pasteurelose Pulmonar Ovina. . In: XIX JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2005, Santa Maria. XIX Jornada Acadêmica Integrada. 2005.
- 2 AUED, Anaide; GARLET, Liege; MONEGO, Fernanda; KREWER, Cristina da Costa; RODRIGUES, Daniele; VARGAS, Agueda Castagna de. LABAC – Soluções Tecnológicas. In: XIX JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2005, Santa Maria. XIX Jornada Acadêmica Integrada. 2005.
- 3 KREWER, Carina da Costa; DECIAN, Angela; SILVA, Mariana Sá e; BOTTON, Sonia de Ávila; KREWER, Cristina da Costa; VARGAS, Agueda Castagna de. Clonagem e expressão em Escherichia coli do gene vapA de Rhodococcus equi . In: XIX JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2005, Santa Maria. XIX Jornada Acadêmica Integrada. 2005.
- 4 OLIVEIRA, Thiana Guerresi de; MABONI, Franciele; FARIAS, Luana d'Avila; KREWER, Cristina da Costa; SILVA, Mariana Sá e; VARGAS, Agueda Castagna de. Relato de caso: Diarréia Hemorrágica Bovina no Rio Grande do Sul . In: XIX JORNADA ACADÊMICA

- INTEGRADA, 2005, Santa Maria. XIX Jornada Acadêmica Integrada. 2005.
- 5 MABONI, Franciele; MONEGO, Fernanda; SILVA, Mariana Sá e; GROFF, Ana Claudia Mello; KREWER, Cristina da Costa; VARGAS, Agueda Castagna de. Clostridioses diagnosticadas no Laboratório de Bacteriologia da UFSM entre os anos de 1987 a 2004. In: XIX JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2005, Santa Maria. XIX Jornada Acadêmica Integrada. 2005.
  - 6 MABONI, Franciele; KREWER, Cristina da Costa; GROFF, Ana Cláudia Mello; WITT, Niura MAzzini; RODRIGUES, Daniele; VARGAS, Agueda Castagna de. Relato de caso: Pasteurella multocida em lesão por mordida de gato. In: XVIII JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2004, Santa Maria. XIX Jornada Acadêmica Integrada. 2004.
  - 7 GOMES, Aline Diefenbach; KREWER, Cristina da Costa; SILVA, Mariana Sá e; SPRICIGO, Denis Augusto; COSTA, Mateus Matiuzzi da; VARGAS, Agueda Castagna de. Análise de isolados de Rhodococcus equi oriundos de humanos e equinos pela técnica de RAPD (polimorfismo de DNA amplificado ao acaso). In: XVIII JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2004, Santa Maria. XIX Jornada Acadêmica Integrada. 2004
  - 8 VARGAS, Agueda Castagna de; COSTA, Mateus Matiuzzi da; SPRICIGO, Dênis Augusto; KREWER, Cristina da Costa; HENZEL, Andréa; SILVA, Mariana Sá E. Análise de isolados de Rhodococcus equi oriundos de humanos e equinos pela técnica de RAPD (polimorfismo de DNA amplificado ao acaso). In: REUNIÃO DE GENÉTICA DE MICRORGANISMOS, 2004, Gramado - RS. XXIV Reunião de Genética de Microrganismos. 2004.
  - 9 KIRINUS, Jackeline Karsten; VIANA, Luciane Ribeiro; KREWER, Cristina da Costa; COSTA, Mateus Matiuzzi da; GROFF, Ana Cláudia Mello; VARGAS, Agueda Castagna de. Susceptibilidade antimicrobiana de Campylobacter fetus subespecie venerealis isolado de bovinos. In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2003, Florianópolis. XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia. 2003.
  - 10 COSTA, Mateus Matiuzzi da; KREWER, Cristina da Costa; LAZZARI, Abdrea; GUARALGI, Ana Luiza Mattos; VAINSTEIN, Marilene Henning; SCHRANK, Irene; VARGAS, Agueda Castagna de. Utilização da técnica de PCR multiplex para caracterização molecular de isolados de Rhodococcus equi obtidos de haras da região de Bagé, RS, Brasil. In: XXIII REUNIÃO DE GENÉTICA DE MICRORGANISMOS, 2003, Pirenópolis - GO. XXIII Reunião de Genética de microrganismos. 2003.
  - 11 KREWER, Cristina da Costa; CARVALHO, Amélia Rossi; DUARTE, Michele; CERETTA, Ana Paula Chiapinotto; WEBER, Fabia; CARATTI, Miriam. Assistência Farmacêutica ao abrigo Oscar Pithan: Uso de antihipertensivos. In: XVII JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2002, Santa Maria. XVII Jornada Acadêmica Integrada. 2002.
  - 12 LOGUERCIO, Andrea Pinto; SILVA, Mariana Sá E; SPRICIGO, Dênis Augusto; COSTA, Mateus Matiuzzi da; KREWER, Cristina da Costa; KRAUSPENHAR, Luciene da Costa; VARGAS, Agueda Castagna de. Detecção de Listeria spp em carcaças bovinas resfriadas. In: XV JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2000, Santa Maria. XV Jornada Acadêmica Integrada. 2000.
  - 13 KREWER, Cristina da Costa; VARGAS, Agueda Castagna de; COSTA, Mateus Matiuzzi

da; MACHADO, Sérgio Abreu; FIGUEIRA, Rafael; ILHA, Marcia Regina da Silva; GRAÇA, Dominguita Lühers. Inoculação de isolados clínicos e ambientais de *Rhodococcus equi* em camundongos imunossuprimidos. In: XV JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2000, Santa Maria. XV Jornada Acadêmica Integrada. 2000.

- 14 LOGUERCIO, Andrea Pinto; HENZEL, Andréa; KREWER, Cristina da Costa; VIANA, Luciane Ribeiro; COSTA, Mateus Matiuzzi da; VARGAS, Agueda Castagna de. Isolamento de *Salmonella* em lingüiças suínas do tipo frescal comercializadas em Santa Maria, RS. In: XV JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2000, Santa Maria. XV Jornada Acadêmica Integrada. 2000.
- 15 COSTA, Mateus Matiuzzi da; KREWER, Cristina da Costa; NAPOLEÃO, Fabio Camello; GRAÇA, Dominguita Lühers; GUARALGI, Ana Luiza Mattos; VARGAS, Agueda Castagna de. Pesquisa de portadores de *Rhodococcus equi* entre trabalhadores rurais. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 1999, Salvador - BA. XX Congresso Brasileiro de Microbiologia. 1999.
- 16 COSTA, Mateus Matiuzzi da; DEZEN, Diogenes; ILHA, Marcia Regina da Silva; KREWER, Cristina da Costa; MACHADO, Sérgio Abreu; GUARALGI, Ana Luiza Mattos; SALOMONI, Sabrina; VARGAS, Agueda Castagna de. *Rhodococcus equi*: Pesquisa de fatores de virulência em isolados clínicos e ambientais obtidos de seis haras da região de Bagé, RS, Brasil. In: XIV JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 1999, Santa Maria. XIV Jornada Acadêmica Integrada. 1999.

### **8.1.2 Artigos completos publicados em periódicos**

- 1 VARGAS, Agueda Castagna de; COSTA, Mateus Matiuzzi da; GROFF, Ana Cláudia Mello; VIANA, Luciane Ribeiro; KREWER, Cristina da Costa; SPRICIGO, Dênis Augusto; KIRINUS, Jackeline Karsten. Susceptibilidade antimicrobiana de *Campylobacter fetus* subespécie *venerealis* isolados de bovinos -Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 25 (1), p. 1-3. 2004.
- 2 COSTA, Mateus Matiuzzi, KREWER, Cristina da Costa, ABREU, Sérgio Machado, MATTOS-GUARALDI, Ana Luisa, VARGAS, Agueda Castagna, Pathogenicity of *Rhodococcus equi* isolated from Brazil. Submetido à Pesquisa Veterinária Brasileira sob o número 824.
- 3 KREWER, Cristina da Costa, MABONI, Franciele, WITT, Niura Maria Mazzini, ALVES, Sydney Hartz; VARGAS, Agueda Castagna de. Transmissão de *Pasteurella multocida* para humano através de mordida de gato. Submetido à Ciência Rural sob o número 262/06.

## **5.2 PRODUÇÃO TÉCNICA**

### **5.2.1 Demais tipos de produção técnica**

- 1 KREWER, Cristina da Costa, SILVA, Mariana Sá, GROFF, Ana Cláudia Mello, COSTA, Mateus Matiuzzi. II Curso Teórico Prático de Introdução a Técnicas de Biologia Molecular Aplicadas à Bacteriologia. 2004. (Curso ministrado 40h/LABAC/UFSM)
- 2 KREWER, Cristina da Costa. Curso Básico de Identificação de Fungos. 2004. (Curso de curta duração ministrado/Outra).