

Lesões em linfonodos de suínos causadas por *Mycobacterium* grupo III (Runyon)

Porcine lymph nodes lesions caused by *Mycobacterium* group III, (Runyon)

Marisa CARDOSO¹; Paulo Eduardo BENNEMANN⁴;
Fernando Pandolfo BORTOLOZZO²; Ivo WENTZ³; Sandra BOROWSKI⁵;
Flauri MIGGLIACCA⁶; Rejane Esteves FERNANDES²

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Marisa Cardoso
Departamento de Medicina Veterinária
Preventiva
Faculdade de Veterinária
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Av. Bento Gonçalves, 9090
Prédio 42602 – Caixa Postal 15094
91540-000 – Porto Alegre – RS
e-mail: favet@vortex.ufrgs.br

1-Departamento de Medicina Veterinária
Preventiva da Faculdade de Veterinária
da UFRGS – RS
2-Departamento de Patologia e Clínica
Veterinária da Faculdade de Veterinária
da UFRGS – RS
3-Departamento de Clínica da Faculdade
de Veterinária da UFSM – RS
4-Ex-bolsista de Iniciação Científica CNPq
5-Centro de Pesquisas Veterinárias
Desidério Finamor
6-Secretaria de Agricultura do RS

RESUMO

Condenações de suínos no momento do abate devido a lesões tuberculoides causadas por micobactérias são descritas em diversos países, inclusive no Brasil. No presente trabalho, 146 animais de idades variando entre 2,5 e > 14 meses, provenientes de uma propriedade com problema de condenações por tuberculose foram abatidos e os linfonodos examinados quanto ao tipo de lesão macro e microscópica e à presença de micobactérias. Ao mesmo tempo, a ração, a água e a maravalha utilizadas na propriedade foram investigadas quanto à presença de micobactérias. Macroscopicamente, os linfonodos afetados apresentavam nódulos arredondados de 1-2 mm de diâmetro, de coloração amarelo-clara com conteúdo pastoso a caseoso, delimitados por uma cápsula. Em linfonodos de 12 animais foi possível visualizar bacilos álcool-ácido resistentes, sendo que em quatro deles foi isolado o *Mycobacterium*-grupo III (Runyon). As lesões foram encontradas principalmente em animais entre 6 e 14 meses de idade. A mesma bactéria foi isolada da maravalha, que pode ter sido a fonte de infecção dos animais.

UNITERMOS: Linfonodos; Suínos; Tuberculose; Micobacteriose.

INTRODUÇÃO

Condenações de suínos no momento do abate por lesões macroscopicamente semelhantes à tuberculose foram descritas por diversos autores em vários países^{2,5,9,11}. Segundo alguns autores^{3,10}, estas condenações podem alcançar índices que variam de 1,3 a 46,9% dos animais abatidos. As lesões observadas têm sido relacionadas na sua maioria com o isolamento de micobactérias do grupo III (Runyon), principalmente o complexo MAIS^{5,8}. Também no Brasil existem relatos da ocorrência de lesões semelhantes à tuberculose das quais foram isoladas micobactérias do complexo MAIS, *Rhodococcus equi* e estreptococos^{1,6,7,10}. Clinicamente não há manifestação de qualquer quadro nem evidências de diferenças nas performances produtivas de suínos infectados ou livres¹¹.

Nos casos de lesões causadas por micobactérias atípicas, estudos realizados na Austrália, Alemanha e

Inglaterra associaram como fonte de infecção a maravalha utilizada na maternidade^{2,5,11}.

No presente trabalho, linfonodos, com e sem lesões macroscopicamente semelhantes à tuberculose, foram colhidos de suínos de diversas faixas etárias no momento do abate. Os linfonodos colhidos foram submetidos a exame histopatológico, bacterioscópico e bacteriológico. Com o objetivo de identificar a possível fonte de contaminação dos animais foram realizados, também, exames bacteriológicos de todos os componentes da ração oferecida aos animais da granja, bem como da água e da maravalha utilizadas.

MATERIAL E MÉTODO

Animais abatidos: Foram abatidos 146 animais com idade entre 2,5 e >14 meses, provenientes de uma granja com 800 matrizes, localizada na região noroeste do Rio Grande do Sul, na qual a condenação de carcaças por lesões tuberculoides era crescente e recidivante.

Material: Foram colhidos linfonodos mesentéricos macroscopicamente normais de dois animais escolhidos de forma aleatória em cada lote. Ao mesmo tempo, foram colhidos linfonodos mesentéricos, submandibulares, hepáticos e mediastínicos de todos os animais que apresentavam lesões identificadas como possivelmente tuberculosas pela Inspeção Federal. Os linfonodos colhidos foram acondicionados separadamente em sacos plásticos, identificados e enviados ao laboratório sob refrigeração. Logo após a chegada ao laboratório foram dissecados e examinados macroscopicamente para a caracterização das lesões. De cada linfonodo foram colhidos fragmentos para exame histopatológico, bacterioscópico e bacteriológico.

Paralelamente, foram enviadas para exame bacteriológico amostras de premix comercial, componentes e aditivos utilizados na formulação da ração (lisina, calcário, lactose, milho, farinha de carne, sal, sulfá, banha, cobre e farelo de soja), resíduo do misturador, água fornecida aos animais e maravalha, utilizadas na granja de origem dos animais.

Exame bacterioscópico: Foram feitos dois esfregaços de todos os linfonodos colhidos. Após a fixação pelo calor, uma das lâminas foi corada pelo método de Gram e a outra pelo método de Ziehl-Neelsen. De cada lâmina foram examinados 100 campos escolhidos aleatoriamente.

Exame bacteriológico: Todo o material examinado foi processado de duas formas distintas. Uma parte foi semeada em ágar-sangue ovino, ágar MacConkey e caldo simples e incubada a 37°C em aerobiose por 48 horas. O restante do material foi submetido a descontaminação pelo método de Petroff e semeado em meio Löwestein-Jensen adicionado de 50 UI/ml de penicilina e 35 mg/ml de ácido nalidíxico. Os meios foram incubados a 37°C em aerobiose por 8 semanas e examinados semanalmente.

As colônias que cresceram em ágar-sangue ovino e ágar MacConkey foram identificadas conforme descrito⁴.

Colônias observadas no meio de Löwestein-Jensen foram coradas pelo método de Gram e Ziehl-Neelsen e, quando se apresentaram como bacilos álcool-ácido resistentes, não coradas pelo método de Gram, foram classificadas como suspeitas para micobactérias. As colônias suspeitas foram repicadas em Löwestein-Jensen e encaminhadas para classificação no Centro de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor (CPVDF).

Exame histopatológico: Os fragmentos de linfonodos foram fixados em formalina 10% por 24 horas. Em seguida, os espécimes foram desidratados em soluções crescentes de álcoois, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Realizaram-se cortes de 5 mm que foram submetidos à coloração de HE e Ziehl-Neelsen.

RESULTADOS

O número de animais com lesões macroscópicas semelhantes à tuberculose, bacilosopia e cultura para micobactérias positivas nos lotes analisados no presente trabalho encontra-se no Quadro 1. Dos 146 animais abatidos e examinados, em diferentes idades, somente aqueles com menos de quatro e mais de 14 meses não apresentaram linfonodos com lesões do tipo tuberculóide.

No exame macroscópico dos linfonodos afetados de 19 animais, encontraram-se nódulos arredondados de 1-2 mm de diâmetro, de coloração amarelo-clara, com conteúdo pastoso a caseoso, delimitados por uma cápsula na qual o exsudato estava levemente aderido mas destacável, e que, ao ser removido, deixava cavidade no tecido. O exame histopatológico demonstrou lesões caracterizadas como uma área central de linfadenite com necrose caseosa, às vezes com calcificação distrófica, circunscrita por cápsula de tecido conjuntivo fibroso sem a presença de células mononucleares, epitelióides ou gigantes.

Quadro 1

Animais com lesões tuberculóides em linfonodos com bacilosopia e cultura positivas para micobactérias pertencentes ao Grupo III (Runyon), em lotes provenientes de propriedade com condenação por tuberculose no Rio Grande do Sul, em 1994.

Lote	Idade (meses)	Animais Abatidos	Animais com Lesões Macroscópicas	Animais com Bacilosopia Positiva	Animais com Cultura Positiva
1	2,5	8	0	0	0
2	3	8	0	0	0
3	3,5	10	0	0	0
4	4	50	2	2	0
5	6	8	5	3	1
6*	6	24	1	1	1
7	7	15	3	3	2
8	12	7	4	2	0
9	14	8	4	1	0
10	>14	8	0	0	0

* Animais provenientes de produtores em regime de integração com a granja.

Das lesões analisadas nos 19 animais, foi possível identificar bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) em linfonodos de 12 animais (63,3%), havendo um predomínio entre os animais de quatro a sete meses. No exame bacteriológico, isolaram-se micobactérias pertencentes ao Grupo III (Runyon) em quatro (21,0%) dos animais condenados. Todas as amostras bacterianas apresentavam em meio Löwestein-Jensen morfologia colonial semelhante, sendo opacas, com bordos irregulares, sem pigmento. Em todos estes casos o exame bacterioscópico havia sido positivo para BAAR e os animais tinham idade entre seis e sete meses. Em nenhum dos linfonodos sem lesão foram encontrados BAAR ou culturas positivas para micobactérias.

Todos os componentes e aditivos da ração, bem como a água utilizada na granja, foram negativos para micobactérias. Nos meios de ágar-sangue e MacConkey houve crescimento de cocos Gram-positivos, *Bacillus* sp. e *Enterobacter* sp. de amostras provenientes do milho, da ração de crescimento, do farelo de soja, da farinha de carne e do resíduo do misturador. Da serragem foi possível isolar uma bactéria macroscopicamente semelhante à encontrada nos linfonodos, também álcool-ácido resistente, e que, posteriormente, foi classificada como sendo a mesma micobactéria do Grupo III.

DISCUSSÃO

No presente estudo, foi possível constatar a distribuição de animais com lesões numa faixa etária entre quatro e 14 meses, o que poderia indicar que a infecção dos animais já ocorria há algum tempo na propriedade em questão. As lesões macroscópicas observadas no matadouro não permitiam a distinção de lesões causadas por outras micobactérias. Da mesma forma, não foi observada diferença das lesões nas faixas etárias estudadas, havendo apenas uma tendência ao aparecimento de calcificações nos animais mais velhos, o que poderia indicar que se tratava de lesões antigas. As lesões encontradas na histopatologia indicaram regressão e estão de acordo com a prevalência dos dados referentes às faixas etárias afetadas. Segundo vários autores^{5,9}, as lesões de linfadenites tuberculóides em suínos tendem a ser regressivas, dificultando o isolamento do agente em lesões mais antigas. Os exames bacterioscópico e bacteriológico também indicaram que a fase mais crítica do problema ocorre entre seis e sete meses de idade, uma vez que nesta faixa etária encontrou-se o maior número de animais positivos (Quadro 1).

O isolamento da mesma micobactéria a partir da maravalha está de acordo com o descrito na literatura⁵, que indica esta como sendo a fonte de contaminação em criações que utilizam este tipo de cama. Segundo os autores, o problema seria a forma como esta maravalha é produzida e armazenada. Assim, partindo de uma contaminação inicial da madeira com terra (onde estariam

estas micobactérias), a maravalha produzida e armazenada em condições inadequadas (alta umidade, pouco ventilada, por longo tempo) favoreceria a multiplicação de micobactérias que aumentariam de número até o momento em que entrariam em contato com os animais. Também é descrito¹¹ um surto da doença em um rebanho composto por três unidades independentes, onde foi observado que nas unidades A e B, onde ocorreu o surto, utilizava-se maravalha como cama na maternidade, enquanto a C, que não apresentou o problema, empregava palha. Alguns autores⁵ sugerem que a maravalha ingerida pelos leitões poderia promover lesões mecânicas na mucosa do trato digestivo, favorecendo a penetração das micobactérias. Portanto, a maravalha deve ser vista como um fator de risco tanto como veiculador do agente, bem como facilitando a sua penetração. No presente trabalho, a maravalha foi apontada como fonte de infecção. A maravalha era adquirida e armazenada em local úmido, por períodos relativamente longos. Após a detecção deste problema, e frente à impossibilidade de substituí-la, recomendaram-se maiores cuidados referentes à higiene, diminuindo os riscos de contaminação da madeira e a umidade no local de armazenamento. Uma vez que a maravalha é a provável fonte de infecção e visto que é empregada somente nas instalações de maternidade, é de se supor que a contaminação dos leitões ocorra ainda na fase de aleitamento. Isto está de acordo com as observações do presente estudo, em que as lesões macroscópicas começam a ser identificadas somente a partir dos quatro meses de idade.

Além da pressão de infecção e da virulência dos agentes microbianos associados à maravalha, devem estar envolvidos na patogenia desta infecção outros fatores, como a maior predisposição de uma faixa etária, situações de estresse que envolvem os animais e as medidas de manejo do rebanho⁵. Entretanto, não há evidências de transmissão de animal para animal¹¹.

Além das medidas tomadas com relação à maravalha utilizada, foram empregadas com mais severidade normas gerais de limpeza e desinfecção. Estudos anteriores observaram que procedimentos de limpeza e desinfecção das instalações, associados à diminuição do plantel em aproximadamente 30% das fêmeas, eliminaram os problemas com linfadenites em uma propriedade¹⁰. No presente trabalho, no entanto, devido à superpopulação de matrizes da propriedade e ao tipo de instalações, não foi possível tomar todas as medidas necessárias a um programa de limpeza e desinfecção.

Com estas medidas adotadas, foi obtido controle do surto por um período de aproximadamente seis meses. Posteriormente o problema reapareceu, fato este que já havia também sido observado em outros estudos⁵. O reaparecimento das lesões possivelmente estaria relacionado com o descuido na preparação e armazenamento da maravalha, as falhas no programa de limpeza e desinfecção e a superpopulação de animais mantidos na granja.

SUMMARY

Macroscopic lesions suggestive of tuberculosis in swine lymph nodes caused by mycobacteria were already described in many countries, including Brazil. This survey was performed in a farm with previous diagnostic of tuberculosis: lymph nodes were obtained from 146 pigs, aged between 2.5 and > 14 months, and after macroscopic and microscopic examination they were cultured. Furthermore feed, water and sawdust were cultured. Macroscopic lesions were characterized as nodes with diameter between 1-2 mm, with a pale yellow, loose, caseous content. Lymph nodes from 12 pigs were positive for acid-fast bacteria. *Mycobacterium*-group III (Runyon) was isolated in four cases. The lesions occurred mainly in pigs aged between 6 and 7 months old. The same mycobacteria were isolated from sawdust. It is concluded that sawdust might be the source of infection.

UNITERMS: Lymph nodes; Swine; Straw; Tuberculosis; Mycobacterium.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- BORTOLOZZO, F.P.; CARDOSO, M.; FERNANDES, J.C.T.; FERNANDES, R.E.; FERREIRO, L. *Corynebacterium equi* em gânglios linfáticos de suínos. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, ano 8, n.44, p.13-17, 1988.
- 2- BROOKS, O.H. Observations on outbreaks of Battey type mycobacteriose in pigs raised on deep litter. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.47, n.9, p.424-7, 1971.
- 3- CARDOSO, M.; BENNEMANN, P.E.; WENTZ, I.; BOROWSKI, S.M.; MIGGLIACCA, F.; BORTOLOZZO, F.P.; FERNANDES, R.E. Surto de lesões em suínos causadas pelo *Mycobacterium* grupo III. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 6., Goiânia, 1993. **Anais**, Goiânia, 1993. p.88.
- 4- CARTER, G.R.; COLE, J.R. **Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and micology**. 5.ed. San Diego : IC Press, 1990. 620p.
- 5- DALCHON, W.; NASSAL, J. Mikobacteriose beim Schwein durch Saegemehleinstreu. **Tierärztliche Umschau**, Konstanz, v.34, n.4, p.253-61, 1979.
- 6- LANGENEGGER, C.H.; MENKE, L.G.; LANGENEGGER, J. Micobactérias isoladas de lesões tuberculóides de linfonodos cervicais de suínos do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.8, n.6, p.53-9, 1973.
- 7- OLIVEIRA, S.J.; BOROWSKI, S.M.; BARCELLOS, D.E.S.N.; RAMOS, E.T. Etiologia de lesões tuberculóides em suínos no Rio Grande do Sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v.23, p.112-6, 1995.
- 8- REZNIKOV, M.; LEGGO, J.H.; TUFFLEY, R.E. Further investigation of an outbreak of mycobacterial lymphadenitis at a deep-litter piggery. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.47, n.12, p.622-3, 1971.
- 9- TAMMEMMAGI, L.; SIMMONS, G.C. Pathogenicity of *Mycobacterium intracellulare* to pigs. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.47, n.7, p.337-9, 1971.
- 10- WENTZ, I.; WENTZ, M.D.; MALLMANN, C.A.; MAFESSONI, E.L.; BARLETTO, J. *Mycobacterium intracellulare* lymphadenitis: identification, evaluation and outbreak control. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 11., Lausanne, Suíça, 1990. **Anais**, Lausanne, Suíça, 1990. p.195.
- 11- WINDSOR, R.S.; DURRANT, D.S.; BURN, K.J. Avian tuberculosis in pigs: *Mycobacterium intracellulare* infection in a breeding herd. **Veterinary Record**, London, v.114, n.20, p.497-500, 1984.

Recebido para publicação: 21/02/1997
Aprovado para publicação: 07/01/2000