

MICOBACTÉRIAS ISOLADAS DE GÂNGLIOS LINFÁTICOS DE BOVINOS,  
TUBERCULINA POSITIVOS.

Mycobacteria isolated from lymph nodes of cattle with positive tuberculin reaction.

Terezinha M. B. Mota\*, Antonio J. D. de Albuquerque\*\* e Air F. dos Santos\*\*\*.

RESUMO

De 110 bovinos presumivelmente tuberculosos, em face de reação positiva a PPD, e constituindo um foco único em propriedade rural, foram colhidos 110 gânglios linfáticos com lesões tuberculóides e 15 amostras de músculos. Os animais foram abatidos na Cooperativa de Carnes de São Gabriel-RS., sob inspeção federal. O material, semeado em Stonebrink e Loewenstein-Jensen, permitiu o isolamento, a partir de gânglios linfáticos, de 95 amostras de micobactérias. A identificação bioquímica e inoculação em cobaia provou tratar-se, em todos os casos, de *M. bovis*. A bacterioscopia foi positiva em apenas 46 casos.

O crescimento foi melhor em meio de Stonebrink do que em meio de Loewenstein e 18,9% das culturas levaram mais de 60 dias para crescer.

SUMMARY

A series of 110 lymph nodes specimens and 15 muscles fragments taken from cattle with positive tuberculin reaction (PPD) were studied bacteriologically. The bovines, descending from a single herd in São Gabriel-Rio Grande do Sul, were slaughtered in an abattoir under government inspection.

Of the lymph nodes, presenting gross lesions resembling tuberculosis, 95 strains of *M. bovis* were isolated, characterized by its biochemical properties and pathogenicity. No mycobacteria were isolated from muscles.

Detection by bacterioscopy, with the Ziehl-Neelsen technique, gave positive findings in 46 samplings.

The culture was performed in Loewenstein-Jensen and Stonebrink's medium and the latter yielded better growth. 18,9% of the tubes showed

\* Prof.<sup>a</sup>. Tit. do Departamento de Patologia - UFSM.

\*\* Prof. Ass. do Departamento de Patologia - UFSM.

\*\*\* Prof. Ass. do Departamento de Clínicas Veterinárias - UFSM.

bacterial growth after a 60 days incubation period.

## INTRODUÇÃO

O bovino é susceptível à infecção por *M. bovis*, por micobactérias dos grupos II e III de Runyon (7) e ainda por micobactérias das espécies *M. tuberculosis*, *M. fortuitum* e *M. kansasii* (2,3). Qualquer uma das espécies citadas pode tornar positiva a reação à tuberculina de origem mamífera ou aviária (5, 8).

Tendo sido abatidos 100 animais com reação positiva à tuberculina (PPD) de mamíferos\*, foi tentado o isolamento e a identificação de micobactérias a partir de linfonodos e músculos. Os animais tiveram o abate sanitário no fim da safra de 1975, na Cooperativa de Carnes de São Gabriel-RS.

## MATERIAL E MÉTODO

Foram coletados 110 gânglios linfáticos de bovinos presumivelmente tuberculosos, oriundos de um foco único, em propriedade rural. Destes, 23 apresentavam sinais evidentes da doença na carcaça, 53 apresentavam lesões pulmonares localizadas ou generalizadas e os 34 restantes tinham evidência de lesões tuberculoides nos gânglios linfáticos da cabeça.

Os gânglios linfáticos coletados foram de localizações variadas, próximos às zonas das lesões e com aspecto evidentemente modificado. De 15 animais foram coletados pedaços de músculos.

O material foi coletado, transportado e tratado conforme LANGE NEgger (6). Da suspensão tratada pelo hidróxido de sódio e neutralizada por ácido sulfúrico, foi feita sementeira em meio de Loewenstein-Jensen (com glicerina na proporção de 0,6%) e em STONEBRINK (9). Os meios semeados foram incubados a 37° e observados, semanalmente, até 90 dias. Quando havia crescimento eram feitas subculturas e esfregaços para verificar a álcool-ácido-resistência.

As amostras isoladas foram identificadas no Setor de Microbiologia da EMBRAPA, no Rio de Janeiro.

## RESULTADOS

O exame bacteriológico de 110 gânglios permitiu o isolamento de 95 amostras de micobactérias. A bacterioscopia direta foi positiva em 46 casos. A identificação das culturas mostrou tratar-se, em

\* Tuberculinização feita com PPD importado, pelo Prof. Adj. Virgínio Teixeira dos Santos da Disciplina de Doenças Infecto-contagiosas do Departamento de Clínicas Veterinárias.

todos os casos, de *M. bovis*, com o seguinte comportamento bioquímico: Niacina-negativa; catalase a temperatura ambiente - positiva; catalase a 68° C - positiva e redução de nitratos - negativa. A inoculação em cobaia provocou tuberculose generalizada em todos os animais.

As culturas de fragmentos de músculos foram negativas.

Na Tabela 1 é apresentada a relação dos gânglios semeados e a positividade das culturas em relação ao local onde se evidenciou a infecção.

Tabela 1. Gânglios linfáticos semeados, culturas positivas e local da infecção.

GÂNGLIO EXTRAÍDO	NÚMERO DE AMOSTRAS SEMEADAS	EVIDÊNCIA DE DOENÇA						Nº TOTAL DE AMOSTRAS	
		Carcaça		Pulmão		Cabeça		Pos.	Neg.
		Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.		
Retrofa ríngeo	27	6	1	3	3	11	3	20	7
Parotídeo	5	1	0	1	0	3	0	5	0
Sub-lingual	2	1	0	1	0	0	0	2	0
Mediastíni co	36	15	0	18	2	0	1	33	3
Traqueobrônq. esq.	13	7	0	5	1	0	0	12	1
Brônquico	3	2	0	1	0	0	0	3	0
Apical	1	0	0	1	0	0	0	1	0
Peitoral	5	4	0	1	0	0	0	5	0
Pré-escapu lar	5	5	0	0	0	0	0	5	0
Pré-crural	6	5	1	0	0	0	0	5	1
Ilíaco	4	3	1	0	0	0	0	3	1
Proplíteo	2	0	2	0	0	0	0	0	2
Hepático *	1	0	0	1	0	0	0	1	0
Total	110	49	5	32	6	14	4	95	15

\* Retirado por haver evidência de tuberculose no fígado.

A comparação entre o crescimento obtido nos dois meios e o tempo de incubação é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Culturas positivas em Loewenstein e Stonebrink e tempo de crescimento.

MEIO USADO	ANTES DE 30 DIAS	ENTRE 30 E 60 DIAS	MAIS DE 60 DIAS	TOTAL
Em Stonebrink	5	62	18	85
Em Loewenstein	3	47	21	71
Total nos 2 meios	5	72	18	95

## DISCUSSÃO

A reação à tuberculina de mamíferos pode originar respostas mínimas e mesmo falta de resposta em animais infetados (1) ou ser positiva em animais não doentes (13). Não constitui, assim, método suficientemente seguro para diagnosticar tuberculose bovina. Por outro lado, as reações paraespecíficas são frequentes, principalmente em países onde a tuberculose bovina foi praticamente erradicada. Na República Federal Alemã somente 1/4 dos casos nos quais a reação à tuberculina é positiva são devidos a *M. bovis* (12).

No grupo de animais em estudo, provenientes de um mesmo rebanho, houve uma relação bastante estreita entre o resultado da prova tuberculínica e a cultura, a qual foi positiva para *M. bovis* em 86,3% dos casos. A predominância de *M. bovis* em lesões ganglionares de bovinos no Rio Grande do Sul foi também verificada por OLIVEIRA et alii (11) em animais abatidos em municípios diversos.

Em lesões suspeitas e linfonodos da cavidade torácica, TAMMEMAGI et alii (14) conseguiram 90% de culturas positivas, isolando somente *M. bovis*. Em nosso estudo, 53 dos 110 gânglios eram torácicos havendo diferença significativa entre a positividade destes e dos provenientes de outras localizações (92,4 e 59,6%, respectivamente).

Dos gânglios com cultura positiva apenas 38,1% evidenciaram bacilos álcool-ácido resistentes pela coloração de Ziehl-Neelsen, provando a ineficiência de bacterioscopia como método diagnóstico, mesmo em se tratando de gânglios completamente alterados. O mesmo acontece em humanos, conforme MARCHESINI (10), que em biopsia ganglionar de crianças doentes encontrou apenas 1/3 de exames bacterioscópicos positivos em relação à cultura.

A cultura de músculos foi feita em 15 casos, sendo negativos em todos eles. Dos mesmos animais a cultura de gânglios foi positiva em 14 casos.

A comparação entre o rendimento dos dois meios usados foi favorável ao meio de Stonebrink, no qual conseguiu-se 89,4% dos isolamen

tos, enquanto em Loewenstein obteve-se 74,7%. Esta diferença não foi tão acentuada como a obtida por KANTOR e LESSLIE (4). A maioria das culturas (75,7%) cresceu entre 30 e 60 dias. Entretanto, as 18,9% crescidas após este tempo, justificam as recomendações de observar as culturas até 90 dias, como deve ser feito em casos humano (15).

#### CONCLUSÕES

1. *Micobacterium bovis* foi a única espécie isolada, em bovinos tuerculina positivos, a partir de gânglios.
2. Não se obteve resultados positivos, a partir de músculos.
3. A bacterioscopia revelou-se insuficiente para mostrar a presença de micobactérias.
4. Nas tentativas de cultura para *Micobacterium bovis*, deve ser usado preferencialmente o meio de Stonebrink.
5. As culturas não podem ser abandonadas como negativas em menos de 90 dias.

#### AGRADECIMENTOS

Consignamos nosso agradecimento a Dra. Charlotte Hubinger Lange negger, Veterinária do Setor de Microbiologia da EMBRAPA, pela identificação das culturas.

#### LITERATURA CITADA

1. AMARAL, L. B.; PENHA, A. M.; VALENTE, F. A. T.; ALENCAR FILHO, R. e RODRIGUES, F. M. - Estudos sobre a anergia em tuberculose. *Anais do XIII Cong. Bras. Med. Vet. Brasília.* 289, 1972.
2. CORRÊA, C. N. M. e CORRÊA, W. M. - Micobactérias isoladas de bovinos e suínos em São Paulo, Brasil. *Arq. Inst. Biol. São Paulo.* 40:205-208, 1973.
3. GARCIA-RODRIGUES, J. A.; MARTIN, L. F.; SAENZ, G. M. C. e MARRERO, S. M. - Isolation of atypical mycobacteria from the lymph nodes of apparently healthy cattle and pigs. *Revue d'Épidemiologie Med. Soc. et Santé Publ.* 23:269-276, 1975.
4. KANTOR, I. N. e LESSLIE, I. W. - Aislamiento y clasificación de micobacterias de ganglios de cerdos en la Argentina. *Bol. de la Oficina Sanitaria Panamericana.* 77:495-499, 1974.
5. KOCULA, K. - Effect of infection due to scotochromogenic mycobacteria on the incidence of non-specific tuberculin reactions in cattle. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrodawiu. Wetwrynaria,* 32:37-54, 1975.

6. LANGENEGGER, G. H.; MENKE, L. G. e LANGENNEGER, J. - Micobac  
terias isoladas de lesões tuberculóides de linfonodos cer  
vicais de suínos do Paraná. Pesq. Agropec. Bras. Ser.Vet.  
8:53-59, 1973.
7. LANGENEGGER, C. H. e LANGENEGGER, J. - Micobactérias atípi  
cas isoladas de bovinos e testes de patogenicidade. Anais  
do VI Congresso Brasileiro de Microbiol. Bahia. 271,1975.
8. LANGENEGGER, J.; LANGENEGGER, C. H. e RAMOS, A. A. - Reações  
alérgicas inespecíficas para a tuberculose em bovinos cau  
sadas por M. intracellulare. VI Congresso Bras.Microbiol.  
Bahia. 270, 1975.
9. LESSLIE, I. V. - Diagnosis de laboratorio de la tuberculosis  
animal. Nota Técnica nº 16, Centro Panamericano de Zoono  
sis. Buenos Aires, 1972.
10. MARCHESINI, L. S. e CENTRANGOLO, A. - Diagnostic bacteriolo  
gico de la tuberculosis infantil. Boletín de la Oficina  
Sanitaria Panamericana, 79:131-135, 1975.
11. OLIVEIRA, S. J.; CROCCO, A. e WOLMAN, W. - Estudos prelimina  
res sobre a ocorrência de M. bovis em bovinos abatidos em  
frigoríficos no Rio Grande do Sul. Bol. IPBDF, Porto Ale  
gre, 3:83-89, 1975.
12. SCHLIESSER, T. - Atypische Mykobakterien und unspezifische  
Tuberkulinreaktionen. Schweizer. Arch. Tierheilk, 11:328-  
337, 1969.
13. SUTHER, D. E.; FRANTI, C. E. e PAGE, H. H. - Evaluation of  
a Comparative Intradermal Tuberculin Test in California  
Dairy Cattle. Am. J. Vet. Res. 35:379-387, 1974.
14. TAMMEMAGI, L.; SIMMONS, G. C.; KELMAN, R. e HALL, W. T. K. -  
A study of tuberculosis like lesions in cattle slaughte  
red in Queensland meatworks. Austr. Vet. J. 49:507-511,  
1973.