

ALTERAÇÕES MICROSCÓPICAS EM LINFONODOS DE BOVINOS SOROLOGICAMENTE POSITIVOS PARA BRUCELOSE

Dúnia Ibrahim Campos¹
Humberto Eustáquio Coelho²
Regis Kamimura³
Vânia Maria Arantes⁴

CAMPOS¹, D. I; COELHO², H. E; KAMIMURA³, R; ARANTES⁴, V. M. Alterações microscópicas em linfonodos de bovinos sorologicamente positivos para brucelose. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 12, n. 2, p. 123-127, jul./dez. 2009.

RESUMO: A Brucelose é uma doença infecto-contagiosa provocada por bactérias intracelulares facultativas do gênero *Brucella* spp., zoonose de distribuição mundial. As principais manifestações clínicas da doença provocam redução na produção dos animais, e suas implicações econômicas causam barreiras na comercialização. Objetivou-se pesquisar alterações microscópicas nos linfonodos de bovinos sorologicamente positivos para brucelose, relacionando à reação inflamatória ganglionar como achado indicativo para o diagnóstico histopatológico da doença. Foram colhidas amostras de linfonodos cervicais superiores em vinte bovinos fêmeas, 10 da raça Gir e 10 da raça Nelore, enviadas ao Laboratório de Patologia Animal da Universidade de Uberaba. Ao realizar o exame macroscópico dos linfonodos, verificou-se que todos se apresentavam reacionais, mesmo que discretamente. Na leitura das lâminas histopatológicas, diagnosticou-se em 100% deles linfadenite crônica, compatível com o quadro de brucelose. O impacto econômico e zoonótico da doença justificam a necessidade definitiva do estabelecimento de programas de controle e erradicação, sendo que o diagnóstico representa grande relevância neste processo, e o exame histopatológico perfaz importante auxílio na confirmação do diagnóstico sorológico.

PALAVRAS-CHAVE: Granuloma. Linfadenopatias. Lesões microscópicas de brucelose.

MICROSCOPIC CHANGES IN CATTLE LYMPH NODES SEROLOGICALLY POSITIVE FOR BRUCELLOSIS

ABSTRACT: Brucellosis is an infectious and contagious disease caused by intracellular bacteria of the genus *Brucella* spp., zoonosis of worldwide distribution. The main clinical manifestations of this disease cause reduction in the animals' production, and their economic implications provoke barriers in trade. The aim of this study is to find microscopic changes in cattle lymph nodes from animals serologically positive for brucellosis, associating the inflammatory reaction nodes as indicative findings for the histopathologic diagnosis of the disease. Samples were collected from upper cervical lymph nodes in twenty cows, ten from Gir breed, and ten, Nelore, sent to Laboratory of Animal Pathology at the University of Uberaba. In macroscopic examination of the lymph nodes, it was found that all had been reactive even if discretely. In reading the histopathological slides, it was diagnosed in 100% of cases, the same chronic lymphadenitis, compatible with the framework of brucellosis. The economic impact and the zoonotic characteristic of the disease justify the definitive need to establish programs of control and eradication, as the diagnosis is very relevant in this process, histopathological examination turns an important aid to confirm serological diagnosis.

KEYWORDS: Granuloma. Lymphadenopathy. Microscopic injuries of brucellosis.

CAMBIO MICROSCÓPICOS EN GANGLIOS LINFÁTICOS DE BOVINOS SEROLÓGICAMENTE POSITIVOS PARA BRUCELOSIS

RESUMEN: La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa causada por bacterias intracelulares facultativas del género *Brucella* spp, zoonosis de distribución mundial. Las principales manifestaciones clínicas de la enfermedad provocan reducción en la producción de los animales, y sus implicaciones económicas causan obstáculos en la comercialización. En esta investigación se buscó encontrar cambios microscópicos en los ganglios linfáticos de ganados sorológicamente positivos para brucelosis, listando la reacción inflamatoria de los ganglios linfáticos como indicativo para el diagnóstico histopatológico de la enfermedad. Las muestras fueron recolectadas en los ganglios linfáticos superiores del cuello de veinte vacas, diez de la raza Gir, y diez de la raza Nelore, y enviadas al Laboratorio de Patología Animal de la Universidad de Uberaba. Al realizar el examen macroscópico de los ganglios linfáticos, se comprobó que todos se presentaban reactivos, aunque discretamente. En la lectura de las diapositivas histopatológicas, se diagnosticó en 100% de ellos linfadenitis crónica, compatible con el cuadro de brucelosis. El impacto económico y zoonótico de la enfermedad justifican la necesidad definitiva de establecer programas de control y erradicación, siendo que el diagnóstico representa gran relevancia en este proceso, y el examen histopatológico se convierte en importante ayuda en la confirmación del diagnóstico serológico.

¹Médica Veterinária, Mestre em Ciências Veterinárias. email: duniacampos@hotmail.com

²Médico Veterinário, Doutor em Patologia, Professor na UNIUBE.

³Médico Veterinário, Mestre em Ciências Veterinárias, Professor na UNIUBE

⁴Médica Veterinária, Doutora em Zootecnia, Professora Adjunta na FAMEV-UFMT.

PALABRAS CLAVE: Granuloma. Linfadenopatias. Lesiones microscópicas de brucelosis.

Introdução

Brucelose é uma doença infectocontagiosa provocada por bactérias intracelulares facultativas pertencentes ao gênero *Brucella*. Produz infecção característica nos animais, pode infectar o homem, por se tratar de uma zoonose de distribuição universal, que acarreta problemas sanitários importantes e prejuízos econômicos vultosos. A importância da brucelose animal varia de um país a outro, dependendo da população animal exposta, da espécie de *Brucella* envolvida e das medidas tomadas para combatê-las (COSTA; MATHIAS, 2007).

As principais manifestações clínicas da doença nos animais contribuem para uma baixa na produção. Essas perdas são importantes na pecuária atual, pois promovem um declínio na produção de leite, diminuição da fertilidade, aumento do período entre partos, além de algumas mortes. Em rebanhos de corte há uma diminuição na produção de carne (PAULIN, 1990). Nos animais domésticos predominam, clinicamente, os abortos e as retenções de placenta (BEER, 1998).

A maioria dos países desenvolvidos adotou há mais de vinte anos, medidas sanitárias destinadas à sua erradicação, obtendo êxito (MOLNÁR et al., 2000), pois além da possível contaminação dos consumidores de produtos de origem animal, a brucelose pode causar até 20% de perda da produtividade em rebanho bovinos; Pode tornar a carne, leite e seus derivados vulneráveis a barreiras sanitárias no mercado nacional e internacional, além de perdas na indústria, desvalorização na comercialização, altos custos com programas de controle erradicação e pesquisas (JARDIM et al., 2006), além de causar um prejuízo de 32 milhões de dólares ao ano para a economia brasileira (POESTER; GONÇALVES; PEREIRA, 2002). Dado ao impacto econômico e zoonótico da doença existe uma necessidade definitiva do estabelecimento de programas de controle e erradicação. Até 1997, os EUA já haviam gastado mais de três milhões de dólares com o programa de erradicação (FERRAZ, 1999).

Por ser endêmica, apresenta disseminação simultânea entre zonas unidas por frequentes relações econômicas de transferência de animais possivelmente infectados introduzidos em rebanhos sadios. Está disseminada por todo território nacional, porém, a sua prevalência e distribuição regional, não estão bem caracterizadas. O último diagnóstico situacional da brucelose bovina em nível nacional foi realizado em 1975, e estimou a porcentagem de animais soropositivos em diversas regiões do país (BRASIL, 2006). Atualmente o Ministério da Agricultura não tem índices que comprovam a prevalência da brucelose em rebanhos brasileiros, pois existem apenas trabalhos isolados mostrando a prevalência em determinadas regiões (BRASIL, 2001). A estimativa de animais soropositivos no Brasil varia entre 2,5 e 7,5 % dependendo da região (POESTER; GONÇALVES; PEREIRA, 2002).

Antes de 2001, o controle da brucelose era regido pela Portaria nº 23 (BRASIL, 1976) e dependia, principalmente, de iniciativas individuais, o que não obteve os resultados esperados. O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Tuberculose e da Brucelose - PNCEBT (BRASIL,

2001) vigente caracteriza as propriedades como livres a monitoradas. Seu objetivo é obter a melhoria da saúde pública, a competitividade da produção pecuária nacional e a integração do serviço veterinário público, do privado, dos produtores e da agroindústria, com vistas à certificação da sanidade dos rebanhos, o qual gera credibilidade dos produtores e do setor agroindustrial em relação ao setor público. Para tanto, o objetivo específico do PNCEBT é baixar a prevalência da doença, combinando estratégias compulsórias que atinjam toda a população bovina, com medidas seletivas de adesão voluntária (BRASIL, 2001).

De acordo com Jardim et al.(2006) as medidas sanitárias são fundamentadas em dois focos principais: o diagnóstico e a vacinação, pelos quais é possível reduzir ou prevenir a exposição dos animais ao agente infeccioso e aumentar a resistência dos rebanhos. Somente é possível diagnosticar com segurança uma enfermidade infecciosa após o isolamento e identificação do agente. Contudo, no caso da brucelose, isso é um processo lento e muito oneroso. Desta forma, as provas sorológicas ocuparam lugar de destaque no diagnóstico da enfermidade.

Conforme Winkler (1982), a *Brucella* spp. em geral ingressa no organismo via digestiva em geral. Após invadir o corpo, os microrganismos atingem a corrente circulatória e são carregados para vários órgãos e tecidos onde multiplicam livremente. Onde quer que a *Brucella* spp. se encontre há formação de inflamação com modulação de macrófagos em células epitelióides, infiltração por linfócitos e plasmócitos, o centro dos focos pode então sofrer necrose de caseificação, enquanto ao seu redor o tecido conjuntivo começa a proliferar, o qual tende a desenvolver cápsula. Os órgãos e tecidos podem apresentar uma aparência normal ou necrose localizada (CORRÊA; CORRÊA, 1992).

Payne (1959); Meador et al. (1988) e Meador et al. (1989), observaram que em vacas, os linfonodos apresentam hiperplasia dos folículos linfóides, linfadenite multifocal caracterizada por infiltrado de neutrófilo, áreas de hemorragia e, com a cronificação do processo, desenvolviam-se focos de reação inflamatória do tipo granulomatosa. Coelho (2002) definiu granuloma como um processo inflamatório crônico, nodular específico, cujas células reagentes pertencem ao sistema monocítico fagocitário. A formação de um granuloma depende do número, da patogenicidade do germe; da resistência natural do organismo e da resistência adquirida. As principais células dos granulomas são histiócitos, células epitelióides e células gigantes.

Após a multiplicação da bactéria nos tecidos próximo ao sítio de entrada, a *Brucella* spp. é transportada livre ou por macrófagos para os linfonodos regionais, onde pode permanecer por meses. Poderá ocorrer disseminação para vários órgãos por via linfática ou hematogênica (BRASIL, 2005). Os linfonodos apresentam uma hiperplasia dos folículos linfóides e acúmulo de plasmócitos, macrófagos e focos de infiltração de neutrófilos e eosinófilos nos seios medulares. Podem ser observadas áreas focais com acúmulo de células gigantes e macrófagos epitelióides, que caracterizam uma linfadenite granulomatosa (ENRIGHT et al., 1984).

Segundo Carlton (1998), a lesão inicial é uma linfadenite que se torna crônica. As ondas bacterianas causam

a colonização no baço, linfonodos, glândulas mamárias, testículos, glândulas sexuais acessórias do macho e membranas sinoviais. As lesões consistem de edema e de infiltração de células mononucleares e alguns poucos neutrófilos. Granulomas microscópicos que incluem células epitelíoides, células gigantes multinucleadas podem ser encontrados em vários órgãos, como fígado, baço e linfonodos. As células gigantes são grandes células multinucleares que se formam pela fusão dos citoplasmas dos macrófagos e podem ter até duzentos núcleos. As células gigantes tipo Langerhans se assemelham à ferradura, onde os núcleos estão dispostos na periferia do citoplasma (COELHO, 2002).

Objetivou-se procurar alterações microscópicas nos linfonodos bovinos sorologicamente positivos para brucelose, relacionando a reação inflamatória ganglionar como um achado indicativo para o diagnóstico histopatológico da doença.

Material e Método

O Serviço de Defesa Agropecuária (SDA) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) encaminharam os vinte bovinos, fêmeas, sendo dez da raça Nelore e dez da raça Gir, com diagnóstico sorológico positivo para Brucelose, o teste mais usual é a pesquisa de anticorpos no soro pela prova do antígeno acidificado tamponado, este procedimento é para triagem em decorrência de maior praticidade, menor custo e menor tempo para obter o resultado do teste, uma vez reagente, é realizado simultaneamente à prova de soroprecipitação em tubo (SAT), também conhecida como prova lenta ou Teste de Wright. O teste de fixação de complemento é uma opção de teste confirmatório quando permeia qualquer dúvida do resultado. Estes animais foram encaminhados para abate sanitário em estabelecimento sob Inspeção Veterinária, em cumprimento a Instrução Normativa nº 6 de 08/01/2004, do MAPA, na cidade de Uberaba – MG.

De acordo com o Programa Nacional Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose – PNCEBT (BRASIL, 2004), animais com diagnóstico sorológico positivo para brucelose, é obrigatório o abate em abatedouros sob o serviço de inspeção veterinária oficial.

Após exame *ante-mortem* dos animais no frigorífico, realizado pelos inspetores do Serviço de Inspeção Federal (SIF) e SDA, os animais foram encaminhados ao abate de emergência realizado ao final do abate dos demais animais programados para o dia, para evitar riscos de contaminação. Após a inspeção *post-mortem* foram colhidos fragmentos de linfonodos cervicais superficiais de todos os vinte animais submetidos ao abate, que foram fixados em solução de formol 10% e enviados ao Laboratório de Patologia da Escola de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba, no laboratório o médico veterinário patologista verificou discretas lesões macroscópicas em todos linfonodos. No prosseguimento da rotina histológica, os linfonodos foram desidratados em álcool, diafanizados em xilol, incluídos em parafina histológica, cortados a cinco micrometros de espessura, corados pela hematoxilina eosina e examinados à luz da microscopia óptica.

Resultado e Discussão

No exame *ante-mortem* dos animais realizados pelos inspetores do Serviço de Inspeção Federal (SIF) e DAS no frigorífico, não foi observado nenhum comportamento anormal, assim como, não se diagnosticou nenhum sinal clínico da doença. Da mesma forma no momento da inspeção *post-mortem*, também não se verificou nenhuma alteração nos linfonodos, ou lesões que chamassem a atenção dos inspetores. Além disso, não foram encontradas lesões em nenhum órgão da cavidade abdominal e torácica, assim como nenhuma lesão patognomônica da brucelose. Entretanto, no Laboratório de Patologia da Escola de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba, no exame macroscópico pelo patologista os linfonodos revelaram 100% reacionais.

Microscopicamente foi observado que todos os linfonodos apresentaram as mesmas alterações, porém de intensidade variada. Evidenciaram-se as seguintes alterações: hiperplasia de folículos, presença de neutrófilos, hemorragia, edema, aumento do número de macrófagos. Além da presença de células epitelíoides, células gigantes multinucleares tipo Langerhans, áreas de necrose do tipo coagulativas e caseosas, invasão de tecido conjuntivo fibroso, o que caracteriza um granuloma típico (Figuras 1 a 6). Essas alterações correlacionam com os linfonodos reacionais vistos macroscopicamente, o que respalda morfológicamente o quadro sorológico de brucelose, além de corroborar com Payne (1959); Meador et al. (1988); Meador et al. (1989); Corrêa; Corrêa (1992) e Coelho (2000).

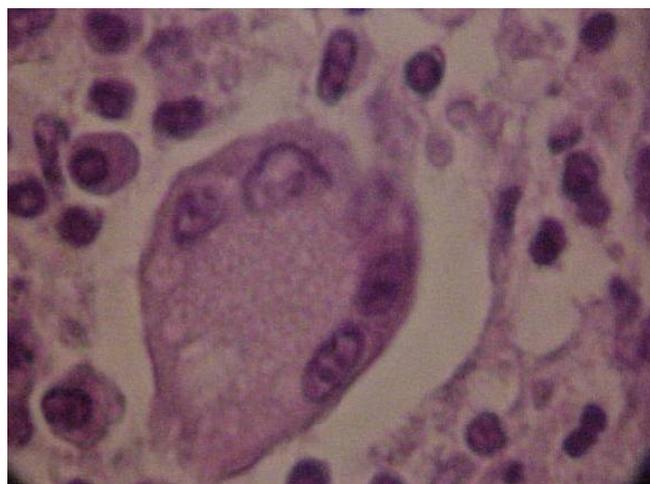


Figura 1. Microfotografia de linfonodo cervical superficial de bovino. Célula gigante tipo Langrhans. Objetiva 40X, HE.

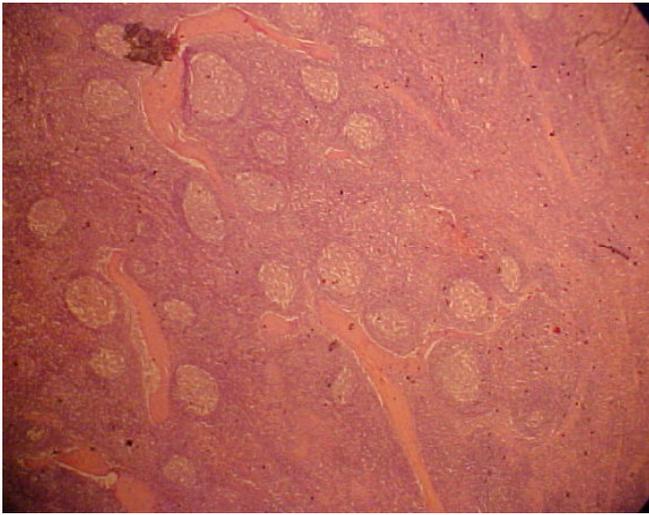


Figura 2. Microfotografia de linfonodo cervical superficial de bovino. Hiperplasia de Folículos Linfóides. Objetiva 40X, HE.

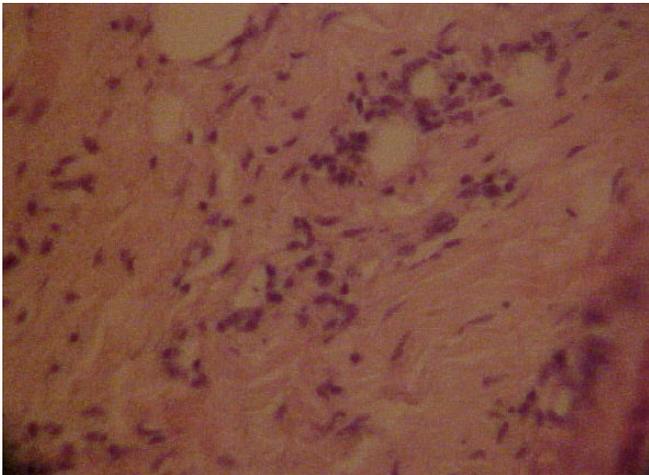


Figura 3. Microfotografia de linfonodo cervical superficial de bovino. Fibras de tecido conjuntivo. Objetiva 10X, HE.

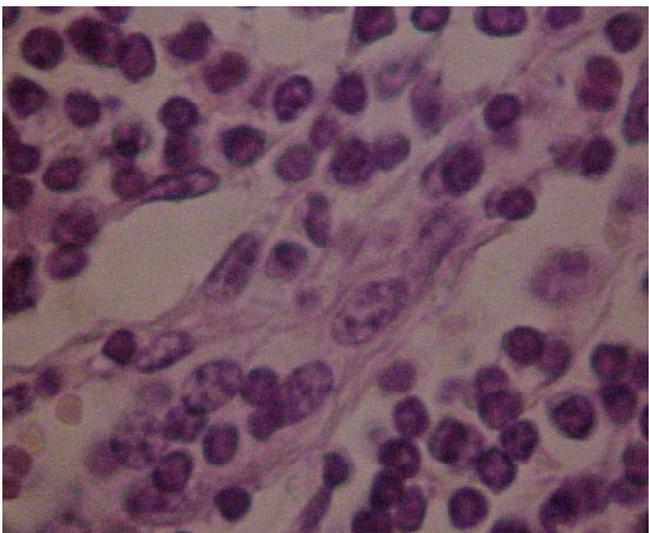


Figura 4. Microfotografia de linfonodo cervical superficial de bovino. Células eptelióides. Objetiva 40X, HE.

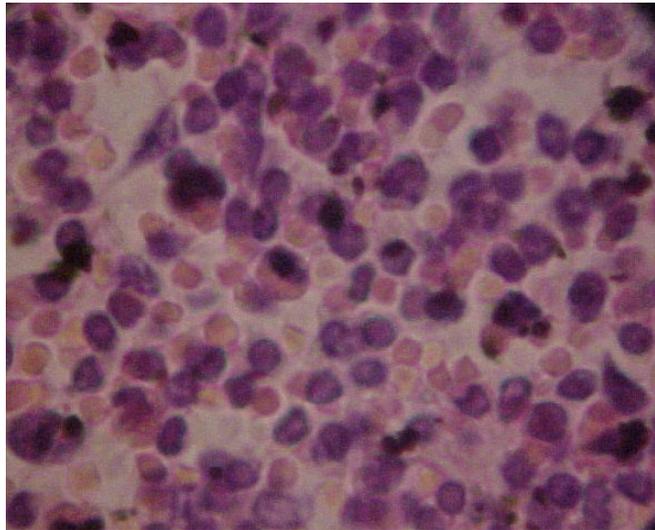


Figura 5. Microfotografia de linfonodo cervical superficial de bovino. Hemorragia e Infiltração de Linfócitos e Plasmócitos. Objetiva 40X, HE.

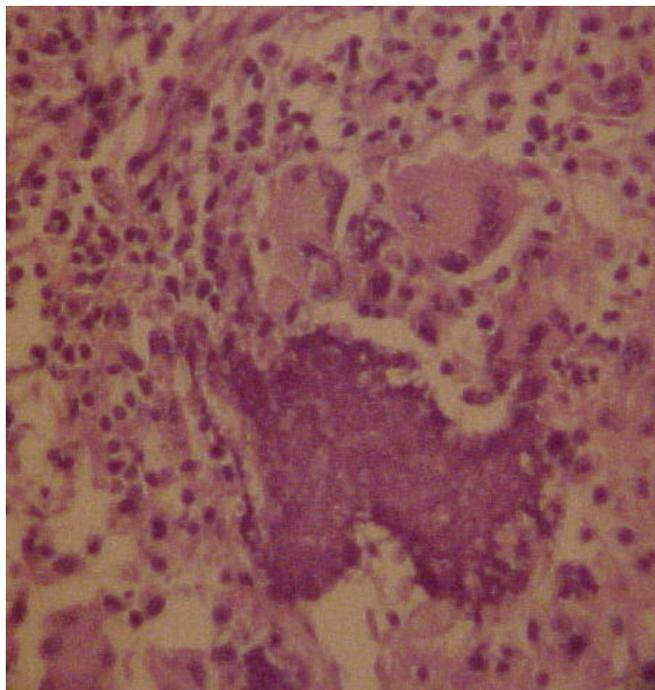


Figura 6. Microfotografia de linfonodo cervical superficial de bovino. Células gigantes, Áreas de necrose caseosa. Objetiva 10X, HE.

As alterações microscópicas observadas do tipo granulomatosas foram compatíveis com os linfonodos reacionais de bovinos, os quais foram observados macroscopicamente, o que respalda os resultados sorologicamente positivos para brucelose, nos vinte casos analisados. A *Brucella* ssp. resiste bem a inativação no ambiente, se as condições de temperatura, pH, atividade de água e luz forem favoráveis, podem resistir por vários meses em pastagem, água estagnada, fetos, restos placentários, fezes, lã, fômites, e em carnes a baixas temperaturas. Assim como no leite e derivados sua sobrevivência depende da quantidade de água, da temperatura, do pH e da presença de outros microrganismos.

Devido essas características e o fato de ser uma zoonose, é salutar para evitar a doença nos humanos e por aten-

der a legislação que por meio de teste sorológicos positivos obriga o abate em abatedouros credenciados, o respaldo do diagnóstico histopatológico reforça e atesta que o programa de controle e erradicação é totalmente viável, uma vez cumprido com seriedade e rigor a vacinação das fêmeas bovinas e bubalinas dos 3-8 meses de idade e a eliminação de todos os animais reagentes. Além da questão zoonótica da doença aos entraves comerciais atribuídos pelos produtos e animais com brucelose deixarão de existir, com isso terão ganhos em produtividade, sanidade animal, eliminação de riscos com os trabalhadores rurais e das agroindústrias de produtos de origem animal e maior segurança alimentar.

Conclusões

A falta de conhecimentos das características das lesões e dos achados *post-mortem*, muitos diagnósticos deixam de ser oficializados, portanto é de grande importância os conhecimentos das lesões macro e microscópicas das principais doenças monitoradas e pesquisadas, para o correto diagnóstico e destino das carcaças dos animais abatidos.

Referências

- BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: Roca 1998. 457 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Programa nacional de controle e erradicação da brucelose e da tuberculose animal (PNCEBT)/. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2006. 188 p.
- _____. Instrução normativa nº 06/04. Regulamento técnico do programa nacional de controle e erradicação da brucelose e tuberculose animal. Brasília: MAPA, 2004. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, p. 6, 12 jan. 2004. Seção 1.
- _____. Instrução Normativa nº 02/01. Programa nacional de controle e erradicação da brucelose e tuberculose animal. Brasília: MAPA, 2001. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, p. 5, 11 jan. 2001. Seção 1.
- _____. Portaria nº 23/76. Aprova as normas de profilaxia da brucelose animal. Brasília: MAPA, 1976. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, p. 266, 16 fev. 1976. Seção 1.
- CARLTON, W. W. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 2. ed. Porto Alegre: ARTMED, 1998. p. 555-556.
- COELHO, H. E. **Patologia veterinária**. Barueri: Manole, 2002. 222 p.
- _____. **Patologia geral veterinária**. Uberlândia: Impresso, 2000. 150 p.
- COSTA, M.; MATHIAS, L. A. Brucelose bovina e eqüina. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3. ed. Pelos: Pallotti. 2007. 722 p.
- CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2. ed.. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p. 202.
- ENRIGHT, F. M. et al. Cellular and humoral responses of *Brucella abortus* infected bovine fetuses. **Am J Res.** v. 45, p. 424-430, 1984.
- FERRAZ, I. B. F. Novos métodos de controle e diagnóstico da brucelose bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v. 23, p. 504-508, out./dez. 1999.
- JARDIM, G. C. et al. Diagnóstico sorológico da brucelose bovina em animais adultos vacinados com dose reduzida da cepa 19 de *Brucella abortus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 3, p.177-182, jul./set. 2006.
- MEADOR, V. P.; DEYOE, B. L.; CHEVILLE, N. F. Pathogenesis of *Brucella Abortus* infection of mammary gland and supramammary lymph node of the goat. **Veterinary Pathology**. v. 26, n. 5, p. 357-368, 1989.
- MEADOR, V. P.; HAGEMOSER, W. A.; DEYOE, B. L. Histopathologic findings in *Brucella Abortus* infected, pregnant goats. **Am J.Vet. Res.** v. 49, n. 2, p. 274-280, 1988.
- MOLNÁR, E. et al. Ocorrência de brucelose bovina no Estado do Pará confirmada por métodos sorológicos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 22, n. 3, p. 117-121. 2000.
- PAULIN, L. M.; Saúde animal: artigo técnico: Brucelose. Disponível em: <<http://www.fundepec.org.br/saudeanimal/artigo/brucelose>>. Acesso em: 02 out. 2006.
- PAYNE, J. M. The pathogenesis of experimental brucellosis in the pregnant cow. **J. Pathol. Bacteriol.** v. 78, p. 447-463, 1959.
- POESTER, F. P.; GONÇALVES. V. S. P.; PEREIRA, L. A. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 90, n. 1-4, p. 55-62, Dec. 2002.
- WINKLER, J. K. Farm animal health and diseases control. 2. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1982.

Recebido em: 10/07/2007
Aceito em: 12/11/2009

MAC

Management Accounting Consulting



**A Consultoria Júnior do Curso
de Ciências Contábeis!**



CIÊNCIAS CONTÁBEIS