

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *Mycobacterium* sp. EM SUÍNOS ABATIDOS NO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA (MG)¹

Cleusely Matias de Souza², Albenones José de Mesquita² e Lilian de Souza²

ABSTRACT

Isolation and Identification of *Mycobacterium* sp. from Swine Slaughtered in Uberlândia (MG).

In this present study 103 samples of pigs from Uberlândia area were submitted to bacteriological analyses. Tissues with abscess were present in 12 samples; lymphonodes without lesions in 20 samples and 71 of them were lymphonodes with lesions "tuberculosis-like infection". The bacteriological analyses of the 103 samples have permitted the isolation of 12 mycobacterias strains, all of them from the 71 lymphonodes with lesions. The mycobacterias strains were identified as belonging to *Mycobacterium avium-intracellulare* Complex (MAI).

KEY WORDS: *Mycobacterium*, swine, pig, slaughter, tuberculosis.

RESUMO

No presente trabalho foram analisadas bacteriologicamente 103 amostras de suínos, provenientes da região de Uberlândia (MG), sendo 12 de tecidos com abscessos, 20 de linfonodos sem lesões e 71 de linfonodos com lesões tuberculóides. O exame bacteriológico das 103 amostras permitiu o isolamento de 12 cepas de micobactérias, sendo todas oriundas dos 71 linfonodos com lesões (12/71). As 12 cepas de micobactérias foram identificadas como pertencentes ao complexo *M. avium-intracellulare* (MAI).

PALAVRAS-CHAVE: *Mycobacterium*, suíno, porco, abate, tuberculose.

1 - Entregue para publicação em junho de 1998.

2 - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. C. P. 131, CEP.74001-970, Goiânia - GO.

INTRODUÇÃO

A possibilidade da transmissão de várias zoonoses através da ingestão de produtos de origem animal, tais como a carne suína, permite refletir sobre o diagnóstico *post-mortem* de tuberculose conferido pelo Serviço de Inspeção Sanitária dos órgãos oficiais, baseado nas lesões caseosas macroscópicas observadas nos animais abatidos.

Os suínos são suscetíveis à infecção pelas espécies de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* e *Mycobacterium avium*, que produzem lesões granulomatosas específicas de tuberculose (Langenegger *et al.* 1973), reveladoras da presença de micobactérias causadoras da tuberculose e de micobacterioses de uma região (Ferreira Neto *et al.* 1989).

A contaminação dos animais e do homem pelas micobactérias se estabelece através das vias aerógena e digestiva (Langenegger *et al.* 1976, Brown & Neunan 1979), sendo freqüentemente encontradas lesões em linfonodos cervicais e mesentéricos de suínos (Langenegger *et al.* 1974, 1981).

A tuberculose causada por *M. tuberculosis* e *M. bovis* em suínos, segundo Kleeberg & Nel. (1969), vem diminuindo bastante com a erradicação da tuberculose bovina. Pavlas *et al.* (1985) comentam também que a diminuição da taxa desta doença se deve ao controle da tuberculose aviária.

As micobactérias atípicas do complexo *M. avium - intracellulare - scrofulaceum* (MAIS) não cromogênicas vêm predominando nas infecções dos suínos (Thoen *et al.* 1975, Langenegger *et al.* 1981), produzindo lesões semelhantes às da tuberculose (Nemoto *et al.* 1975). Vale ressaltar que é impossível a diferenciação macroscópica da lesão tuberculosa ou simplesmente tuberculóide (Ginsberg *et al.* 1950).

As micobactérias atípicas, principalmente as do complexo MAIS, podem causar nos suínos a chamada linfadenite tuberculóide caseosa (Everitt *et al.* 1982). A infecção causada pelas micobactérias atípicas denomina-se micobacteriose. Usa-se o termo para diferenciar da tuberculose (Langenegger *et al.* 1975), porém são erroneamente chamadas de tuberculose as infecções micobacterianas dos suínos (Thoen *et al.* 1975, Brown & Neuman 1979, Payeur *et al.* 1981, Everitt *et al.* 1982, Hird *et al.* 1983).

Considerando a relevância do tema, este trabalho teve como objetivo isolar e identificar bactérias do gênero *Mycobacterium* de linfonodos de suínos com ou sem lesões e de tecidos com abscessos, além de verificar a ocorrência da lesão tuberculóide em suínos abatidos na cidade de Uberlândia (MG).

MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho foram colhidas e analisadas bacteriologicamente 103 amostras de suínos, provenientes da região de Uberlândia (MG), sendo 12 de tecidos

com abscessos (peritônio, região lombar, inguinal, mamária, da paleta e umbilical), 20 de linfonodos sem lesões e 71 de linfonodos com lesões tuberculóides (linfonodo cervical, mesentérico, pulmonar, inguinal e superficial), durante o período compreendido entre 13 de novembro de 1995 e 13 de janeiro de 1996. Os suínos abatidos eram mestiços, com idade variando entre 75 e 204 dias (92,23%) – o restante (7,77%) acima de 204 dias – e apresentando peso corporal variável.

As amostras foram retiradas à faca, circundando com cuidado a área a ser removida para evitar dilacerações. Após a colheita foram acondicionadas em sacos plásticos e colocadas em caixa de material isotérmico do tipo "isopor" com gelo e transportadas para o Laboratório de Doenças da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), onde foram processadas. A maioria das amostras foi colhida e processada no mesmo dia, sendo submetidas ao congelamento a -20°C durante uma semana (Langenegger *et al.* 1975). Após esse período, as amostras congeladas foram submetidas ao descongelamento lento para posterior processamento.

As amostras foram maceradas em grau esterilizado, juntando-se no ato 5 ml de solução fisiológica a 0,85%. A descontaminação foi realizada por dois métodos, o de Petroff, segundo Petroff (1915), e o do Lauril Sulfato de Sódio, descrito por Tison & Carbonelle (1972). Após a adição dos descontaminantes, centrifugou-se o material por 30 minutos a 3.000rpm e desprezou-se o sobrenadante. Em seguida fez-se a determinação do pH. Após a descontaminação, a amostra foi semeada em tubos contendo o meio de Lowenstein-Jensen (L-J) (Merck 1990) com glicerina e sem glicerina (Langenegger *et al.* 1975, 1981). As culturas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Após a incubação, os tubos foram transportados para o Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTESP) da Universidade Federal de Goiás, onde foram incubados por 60 dias. Durante este período foram realizadas leituras semanais, para acompanhar o crescimento bacteriano. Quando atingiam crescimento abundante, fazia-se o esfregaço para o controle da álcool-ácido resistência. As amostras positivas para micobactérias foram enviadas para o Setor de Micobactérias do Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo (SP), para a identificação das espécies. Para identificação das espécies foram realizadas as provas de crescimento em diferentes temperaturas, de produção de pigmentos, de crescimento em meios contendo inibidores e de provas bioquímicas, segundo Tsukamura (1984) e Brasil (1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados nas Tabelas 1 e 2 mostram que, das 103 amostras de suínos, 12 originaram-se de tecidos com abscessos localizados em várias regiões anatômicas, 20 de linfonodos sem lesões e 71 de linfonodos com lesões.

Tabela 1. Distribuição quantitativa das amostras de tecidos com abscessos, segundo a localização na carcaça de suínos.

Amostras	Tecidos com abscessos
Diafragma	02
Pulmão	01
Peritônio	02
Região inguinal	02
Região lombar	01
Região mamária	02
Região paleta	01
Região umbilical	01
Total	12

Das 20 (21, 98%) amostras de linfonodos sem lesões, cinco (25%) eram de linfonodos cervicais, seis (30%) de pulmonares e nove (45%) de mesentéricos (Tabela 2). As amostras de linfonodos aparentemente normais foram colhidas, segundo Langenegger *et al.* (1981), Ferreira Neto *et al.* (1989) e Corrêa (1974), respectivamente, dos linfonodos pulmonares, cervicais e mesentéricos. A literatura registra o isolamento de micobactérias em linfonodo sem lesões (Castro & Nemoto 1972; Langenegger *et al.* 1976, Castro *et al.* 1978, Langenegger *et al.* 1981, Hird *et al.* 1983, Pavlas *et al.* 1985, Ferreira Neto *et al.* 1989). Nenhuma cepa do gênero *Mycobacterium* foi isolada dos linfonodos sem lesões, não proporcionando também nenhuma amostra álcool-ácido resistente (AAR) positiva pela coloração de Ziehl-Neelsen.

Tabela 2. Distribuição quantitativa das amostras de linfonodos, segundo a localização na carcaça de suínos.

Amostras	Linfonodos com Lesões (%) ¹	Linfonodos sem Lesões	Total
Cervical	8 (11,27 %)	5 (25 %)	13
Inguinal Superficial	7 (9,86 %)	-	07
Mesentérico	55 (77,46 %)	9 (45 %)	64
Pulmonar	1 (1,41 %)	6 (30 %)	07
TOTAL	71 (78,02 %)	20 (21,98 %)	91

1 - Percentagem obtida através do total de número de amostras na vertical.

Das 71 (78,02%) amostras de linfonodos com lesões, oito (11,27%) eram de linfonodos cervicais, sete (9,86%) de inguinal superficial, 55 (77,46%) de mesentérico e uma (1,41%) de pulmonar (Tabela 2). Verifica-se que mais de 50% das amostras com lesões foram observadas nos linfonodos mesentéricos. Os dados da Tabela 3 revelam que das 71 amostras de linfonodos com lesões, através da baciloscopia, pelo método de Ziehl-Neelsen, obtiveram-se 10 (9,71%) amostras com resultado positivo e 61 (59,22%) com baciloscopia negativa. Das 71 amostras de linfonodos com lesões foram obtidas 12 (11,65%) culturas positivas para *Mycobacterium* em linfonodos mesentéricos e 59 (57,28%) culturas negativas, como pode ser observado na Tabela 4. Um maior número de cultura positivas já era esperado, uma vez que o cultivo é um procedimento mais sensível do que a baciloscopia. Quando comparados estatisticamente pelo teste do Q-quadrado (Siegel 1979), os resultados da baciloscopia e da cultura foram significativos ($P \leq 0,01$), ou seja, a baciloscopia e a cultura negativas aparecem mais do que a baciloscopia e a cultura positivas.

As 12 amostras positivas para micobactérias foram identificadas como pertencentes ao complexo *M. avium-intracellulare* (MAI) (Tabela 5) O complexo MAI vem sendo freqüentemente isolado de linfonodos cervicais e mesentéricos de suínos com lesões tuberculóides (Corrêa 1974, Thoen *et al.* 1975, Langenegger *et al.* 1974, 1981) e de linfonodos normais, ou seja, sem lesões (Langenegger *et al.* 1976). As lesões encontradas nos linfonodos utilizados no presente trabalho estão em acordo com aquelas descritas por Everitt *et al.* (1982), ou seja, lesões *granulomatosas geralmente miliares*, focos caseo-calcificados, caseosa em linfonodos mesentéricos. Ferreira Neto *et al.* (1989) analisaram 196 linfonodos mesentéricos de suínos com lesões e isolaram 99 culturas de micobactérias, sendo todas identificadas como pertencentes ao complexo MAI, o que vem comprovar o nossos resultados.

As micobactérias não cromogênicas, principalmente as dos complexos MAI, são as principais causadoras da linfadenite tuberculóide caseosa dos suínos (Everitt *et al.* 1982), que vem diminuindo com a queda da tuberculose em galinhas (Windsor *et al.* 1984, Dey *et al.* 1993).

As micobactérias atípicas, principalmente as dos complexos MAI, produzem nos suínos lesões tuberculóides, sendo impossível a diferenciação macroscópica da lesão tuberculosa (Ginsberg *et al.* 1950). Segundo Payeur *et al.* (1981), 213 das carcaças de suínos consumidas provavelmente estão infectadas com micobactérias e até hoje não se constatou nenhum transtorno à saúde humana. Ferreira Neto *et al.* (1989) afirmam que o papel das carcaças dos suínos sem lesões visíveis macroscopicamente, porém infectadas, na veiculação de micobacterioses para o ser humano através da ingestão é ainda controvertida dentro da literatura mundial

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que, das 71 amostras de linfonodos com lesões, 12 (11,65%) foram positivas para micobactérias

que, submetidas à prova de identificação, mostraram pertencer ao complexo *Mycobacterium avium-intracellulare* (MAI). As lesões tuberculóides macroscópicas, tidas como tuberculose nos matadouros, eram na verdade uma micobacteriose, ou seja, uma linfadenite micobacteriana dos suínos. Nenhuma cepa do gênero *Mycobacterium* foi isolada dos linfonodos sem lesões, que não proporcionaram também nenhuma amostra BAAR positiva pela coloração de Ziehl-Neelsen. Quando comparados estatisticamente pelo teste do Q-quadrado, os resultados da baciloscopia e da cultura foram significativos ($P < 0,01$), ou seja, a baciloscopia e a cultura negativas apareceram mais do que a baciloscopia e cultura positivas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Ações Especiais de Saúde. Divisão Nacional de Pneumologia Sanitária. 1994.** Manual de bacteriologia da tuberculose. 2 ed. rev. Rio de Janeiro: M.S. 115 p.
- Brown, J. & A. M. Neuman. 1979.** Lesions of swine lymph nodes as a diagnostic test to determine mycobacterial infection. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37(4) : 740-3 .
- Castro, A. F .P., O. Campedelli Filho & E. Waisbich. 1978.** Opportunist mycobacterias isolated from the mesenteric lymph nodes of apparently healthy pigs in São Paulo, Brasil. *Rev. Microbiol.*, 5 (3) : 59-2.
- Castro, A. F. P. & H. Nemoto. 1972.** Occurrence of atypical mycobacteria in the lymph nodes of apparently healthy slaughtered cattle in São Paulo, Brazil. *Rev. Microbiol.*, 3 (2) : 75-8.
- Corrêa, C. N. M. 1974.** A tuberculose é ainda um grave perigo para os animais. *Atualidades Veterinárias*, 3 (17) : 22-1.
- Dey, B. P. & G. L. Parham. 1993.** Incidence and economics of tuberculosis in swine slaughtered from 1976 to 1988. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 203 (4) :516-19.
- Everitt, J., H. M. Acland. & R. H. Whitlock. 1982.** Mycobacterial infections in swine. *Calif. Vet.*, 36 (3) : 16-8.
- Ferreira Neto, J. S., J. A. Cortes & J. L. Sinhorini. 1989.** A lesão tuberculóide macroscópica como critério diagnóstico da infecção micobacteriana em suínos abatidos em matadouros. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo.*, 26 (1) : 21-33.
- Ginsberg, A. & M. J. Fitzpatrick. 1950.** Tuberculosis-like lesions in the pig. *The Vet. Rec.*, 62 (51) : 808-11.
- Hird, D. W., C. A. Lamb & R. V. Lewis. 1983.** Isolation of mycobacteria from California slaughter swine. *Procced. U. S. Anim. Healt Ass.*, 87 : 559-65.
- Kleeberg, H. H. & E. E. Nel. 1969.** Porcine mycobacterial lymphadenitis. *J. S. Afr. Vet. Med. Ass.* 40: 233-50.

- Langenegger, C. H. & J. Langenegger.** 1974. Linfadenites cervicais tuberculosas e pseudotuberculosas em suínos de abate de Pernambuco. *Pesq. Agrop. Bras., Sér. Vet.*, p. 33-0.
- Langenegger, C. H., R. C. Leite & J. Langenegger et al.** 1975. Linfadenites tuberculóides em suínos de abate da região de Brasília. *Pesq. Agrop. Bras, Sér. Vet.*, 10 : 61-4.
- Langenegger, C. H. & J. Langenegger.** 1976. Micobactérias atípicas isoladas de amígdalas e linfonodos de bovinos. *Pesq. Agrop. Bras. Sér. Vet.*, 11 : 37-2.
- Langenegger, C. H. & J. Langenegger.** 1981. Prevalência e distribuição dos sorotipos de micobactérias do complexo MAIS isoladas de suínos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, 1 (3) : 75-0.
- Merck.** 1990. Manual de médios de cultivo. São Paulo: E. Merck, Darmstadt. 355p.
- Nemoto, H., H. Yugi & M. Tsukamura.** 1975. Serotype of *Mycobacterium avium* - *Mycobacterium intracellulare* complex that caused lung disease in Japan. *Jap. J. Microb.*, 19 : 69-1.
- Pavlas, M., V. Patloková & E. Mesáros.** 1985. Tuberculous lesions in slaughter pigs from the viewpoint of food hygiene. *Acta Vet. Brno*, 54 (314) : 217-2.
- Payeur, J. B., J. Brown & A. P. Higginbotham.** 1981. Mycobacterial isolation from swine tissues. *Procced. U. S. Anim. Healt Ass.*, 85 : 475-4.
- Petroff, S. A.** 1915. A new rapid method for the isolation and cultivation of tubercle bacille directly from sputuns and feces. *J. Exp. Med.*, 21, p. 38.
- Siegel, S.** 1979. Estatística não paramétrica para as ciências do comportamento. McGrawhill. São Paulo. 350 p.
- Thoen, C. O., J. L. Jarnagin & W. D. Richards.** 1975. Isolation and identification of mycobacterias from porcine tissues: a three-year summary. *Am. J. Vet. Res.*, 36 (9) : 1383-6.
- Tison, F. & B. R. Carbonelle.** 1972. Isolement et étude du bacille tuberculeux et des autres mycobactéries em pratique courant. Crouan et Roques, Sille.
- Tsukamura, M.** 1984. Identification of mycobacteria. Oby Aichi: National Chubi Hospital. 90 p.
- Windsor, R. S., D. S. Durrant & K. L. Burn.** 1984. Avian tuberculosis in pigs: miliary lesions in bacon pigs. *J. Hyg. Camb.*, 92 (2) : 129-8.