

MICOBACTÉRIAS ATÍPICAS ISOLADAS DE NÓDULOS DA ESOFAGOSTOMOSE BOVINA¹

PEDRO M. P. C. MOTA², JEROME LANGENEGGER³ e CHARLOTTE HUBINGER LANGENEGGER³

ABSTRACT.- Mota P.M.P.C., Langenegger J. & Langenegger C.H. 1986. [Atypical mycobacteria isolated from intestinal lesions of Bovine Oesophagostomosis.] Micobactérias atípicas isoladas de nódulos da esofagostomose bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(1):7-10. Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

It was found that 90% of 1 to 9 year old cattle from southwestern Brazil had nodular intestinal lesions of Oesophagostomosis in the final portion of the ileum and in the cecum. The number of nodules varied from 1 to 53 and their diameter from 1 to 19 mm. The cut surface of the larger nodules showed a dry yellowish caseous material, and some times fragments of *Oesophagostomum radiatum* larvae could be observed. Bacteriological examination of 400 samples taken from the intestinal wall with and without lesions resulted in isolation of 42 (5,2%) cultures of atypical mycobacteria. Thirty cultures originated (71,4%) from nodular material and 12 (28,6%) from the portion without lesion. Twenty three (54,8%) cultures belonged to the Runyon group IV and 19 (45,2%) to group II and III. There were 4 cultures of *Mycobacterium scrofulaceum*, 7 of the *M. terrae*-complex and 8 of *M. intracellulare*. Fifteen (78,9%) of these cultures were isolated from the nodular lesions and only 4 (21,0%) from the part without nodules. The present results suggest that the nodular lesion caused by *Oesophagostomum radiatum* larvae is a predisposing factor for the penetration and multiplication of atypical mycobacteria in the intestinal wall. Consequently inespecific allergic reactions to tuberculinization may develop.

INDEX TERMS: Mycobacteriosis, predisposition, Oesophagostomosis, cattle, inespecific allergic reactions.

SINOPSE.- Na região sudeste do Brasil foram encontrados nódulos de esofagostomose na mucosa intestinal da porção final do íleo e do ceco em 90% dos bovinos, variando a faixa etária de 1 a 9 anos de idade. O número de nódulos variou de 1 a 53, e o tamanho destes de 1 a 19 mm de diâmetro, tendo a maioria de 2 a 3 mm. Ao corte, os nódulos maiores continham massa caseosa, ressecada de coloração branco-amarelada, às vezes esverdeada. Em alguns foi observada a presença de larva de *Oesophagostomum radiatum*. A cultura de 400 materiais com nódulos e outros 400 sem, permitiram o isolamento de 42 (5,2%) culturas de micobactérias, sendo 30 (71,4%) oriundas de materiais com nódulos e 12 (28,6%) dos materiais sem nódulos. A identificação das culturas revelou que 23 (54,8%) pertenciam ao grupo IV de Runyon, consideradas saprófitas e 19 (45,2%) se enquadraram nos grupos II e III, consideradas facultativamente patogênicos, sendo 4 culturas *Mycobacterium scrofulaceum*, 7 do complexo *M. terrae* e 8 de *M. intracellulare*. Destas 19 culturas, 15 (78,9%) foram isoladas da porção da mucosa com nódulos e apenas 4 (21,0%) da mucosa sem nódulo. O presente resultado sugere que as larvas de *O. radiatum* predispõem a penetração e multiplicação de mico-

bactérias atípicas nos nódulos da esofagostomose e, consequentemente, estas provocam sensibilização alérgica inespecífica observada na tuberculização.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Micobacteriose, predisposição, esofagostomose, bovinos.

INTRODUÇÃO

A participação de micobactérias atípicas na sensibilização alérgica inespecífica no diagnóstico da tuberculose foi demonstrado experimentalmente com várias espécies e sorotipos de micobactérias isoladas do meio ambiente (Fodstad 1977, Pearson et al. 1977), bem como de germes isolados de animais (Kleeberg 1960, Karlson 1962, Pritchard et al. 1974, Corner & Catharine 1978a, 1978b, 1979, Corner 1981, Ketterer et al. 1981).

O contato de micobactérias atípicas com o homem e os animais estabelece-se, em diversas circunstâncias possivelmente em maior frequência através da água e de alimentos, podendo ser também através de aerossóis, pois, o solo se constitui no "habitat" natural destas micobactérias (Kubica et al. 1963, Wolinsky & Pyneerson 1968, George et al. 1980, Songer 1980, Ketterer et al. 1981).

Vários fatores, no entanto, podem contribuir para que as micobactérias atípicas penetrem e se instalem no organismo animal, provocando reações paralérgicas no diagnóstico alérgico da tuberculose.

¹Aceito para publicação em 17 de setembro de 1986.

Parte da tese de Mestrado do primeiro autor, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1986.

²Laboratório Nacional de Referência Animal, Pedro Leopoldo, Minas Gerais 33600.

³Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal, Embrapa, km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851.

Hejj et al. (1969) puderam demonstrar experimentalmente que a alta incidência de reações alérgicas inespecíficas no diagnóstico alérgico da tuberculose bovina estava relacionada com a fasciolose da região. A infestação por *Fasciola hepatica* tornou-se o fator circunstancial, pois as larvas deste parasita desenvolvem-se em locais úmidos onde também vivem micobactérias "atípicas". Neste ambiente as cercárias, carregando micobactérias, são ingeridas pelo bovino com a água e o alimento. No intestino delgado, com a migração das cercárias de *F. hepatica*, através da parede intestinal, peritônio e pelo parênquima hepático, também são levadas as micobactérias que podem implantar-se ao longo do trajeto migratório. A presença e colonização de micobactérias "atípicas" nesse trajeto produziram a sensibilização alérgica.

Lami et al. (1970) encontraram micobactérias "atípicas" em granulomas subcutâneos pós-vacinais de bovinos reagentes e com estes germes reproduziram experimentalmente reações inespecíficas em bezerros, demonstrando assim que vacinas contaminadas com micobactérias podem constituir-se em veículo de infecção e da sensibilização alérgica de animais do diagnóstico alérgico da tuberculose.

Langenegger et al. (1976), trabalhando com um rebanho de 327 bovinos portadores de reações inespecíficas, no Estado de São Paulo, observaram que as fezes de suínos, utilizadas para a adubação da capineira, procediam da criação de suínos cujos animais apresentavam alta incidência de linfadenites tuberculoides causadas por sorotipos de *Mycobacterium intracellulare*. Admitiram que os bovinos se contaminavam através da forragem da capineira suplementada durante o período seco, pois as reações alérgicas inespecíficas se manifestavam mais acentuadamente durante e após esta suplementação alimentar.

Partindo da observação de que ocorreram 9,7% de reações alérgicas inespecíficas encontradas na tuberculização de bovinos nas bacias leiteiras do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais (Langenegger et al. 1981), levantou-se a hipótese de que as larvas de *Oesophagostomum radiatum* pudessem, à semelhança das cercárias de *F. hepatica*, veicular micobactérias através da mucosa e ali se desenvolverem nos nódulos localizados principalmente no final do íleo e no ceco, a ponto de sensibilizarem os animais. Neste sentido, procurou-se demonstrar bacteriologicamente a presença de micobactérias atípicas nos nódulos da esofagostomose em bovinos infectados naturalmente.

MATERIAL E MÉTODOS

O material de exame foi colhido de bovinos, variando a faixa etária de 1 a 9 anos, a maioria vacas de descarte, procedentes de 19 municípios dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro e constou de 400 porções da parede intestinal com 2 cm de diâmetro, contendo nódulos de esofagostomose e 400 partes sem nódulos, cortadas logo ao lado daquelas e que serviram de testemunha.

No local da matança eram separados o íleo e o ceco do resto do intestino e após abrir longitudinalmente, afastar as fezes e lavar a mucosa com água corrente, eram contados os nódulos. A parte da parede intestinal, com maior número de nódulos da esofagostomose era acondicionada em sacos plásticos e transportada ao laboratório em caixa isotérmica com gelo. No laboratório, o intestino era distendida sobre uma tábua com superfície lisa, limpa e desinfetada e com o auxílio de um vazador de couro com diâmetro de 2 cm, eram recortadas partes do intestino com e sem nódulos. As partes com nódulos recebiam números ímpares e as sem nódulos os números pares. Cada nódulo colhido era medido e descrito a sua aparência.

Cada material, antes de processá-lo bacteriologicamente, era mergulhado em álcool seguido de rápida flambagem para eliminar germes de contaminação externa e então triturado em gral e aréa estéreis. A descontaminação e a sementeira foram realizadas de acordo com a técnica adotada por Langenegger & Langenegger (1974). As culturas foram incubadas em es-

tufa bacteriológica a 37°C durante 2 meses, fazendo-se controles bi-semanais para registrar a velocidade de crescimento, forma e coloração de colônias suspeitas de micobactérias. Quando estas atingiam desenvolvimento adequado, era controlada a álcool-ácido-resistência através de esfregaços corados pelo método de Ziehl-Nielsen. Partindo-se de uma colônia suspeita, a identificação bioquímica e sorológica das micobactérias seguia à rotina adotada por Mota et al. 1982.

RESULTADOS

A infecção macroscópica da mucosa intestinal da porção final do íleo e do ceco de bovinos, procedentes de 19 municípios do Estado do Rio de Janeiro e do sul de Minas Gerais (Quadro 1), mostrou que 90% dos animais apresentavam pelo menos um nódulo na parede intestinal com as características da esofagostomose.

O número de nódulos variou de 1 a 53 e em 20% dos animais havia mais do que 20 nódulos, concentrados principalmente no final do íleo. O exame macroscópico mostrou que as lesões nodulares faziam nítida e pronunciada saliência para a luz intestinal, medindo entre 1 a 19 mm de diâmetro, tendo a maioria destes 2 e 3 mm de diâmetro. Ao corte, os nódulos maiores continham, em seu interior, massa caseosa, bastante ressecada, de coloração branco-amarelada, às vezes esverdeada. Em alguns nódulos pode ser observada, à vista desarmada, a presença de larva de *Oesophagostomum radiatum*. A relação do tamanho e freqüência dos nódulos, bem como de micobactérias isoladas, estão apresentadas no Quadro 2.

O exame bacteriológico, através da sementeira do triturado das partes com e sem nódulos, permitiu o isolamento de 42 (5,2%) culturas de micobactérias e destas 30 (71,4%) foram oriundas da porção do material com nódulos da esofagostomose enquanto que apenas 12 (28,6%) culturas puderam ser obtidas da porção intestinal sem nódulos (Quadro 3).

A identificação de 42 culturas revelou que 23 (54,8%) apresentavam crescimento rápido enquadrando-se no grupo IV de

Quadro 1. Procedência dos materiais coletados nos municípios dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro em 1983

Estado	Município	Número de materiais coletados	
		Com nódulo	Sem nódulo
Minas Gerais	Alto Rio Doce	18	18
	Barbacena	7	7
	Betim	23	23
	Bom Despacho	11	11
	Brumadinho	20	20
	Cruzília	24	24
	Igarapé	24	24
	Itajubá	6	6
	Itaúna	6	6
	Lagoa da Prata	12	12
	Pedro Leopoldo	18	18
	Santa Rita do Sapucaí	11	11
	São Gonçalo do Sapucaí	20	20
Rio de Janeiro	Barra Mansa	24	24
	Cantagalo	28	28
	Macaé	33	33
	Magé	24	24
	Miracema	44	44
	Paracambi	25	25
Total		400	400

Quadro 2. Diâmetro, número de nódulos e micobactérias isoladas em fragmentos da parede do intestino de bovinos dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro em 1983

Diâmetros dos nódulos (mm)	Nº de materiais com nódulo	Nº de materiais sem nódulo	Culturas de micobactérias isoladas de materiais com nódulo	Culturas de micobactérias isoladas de materiais sem nódulo
1	28	-	-	-
2	137	-	12	-
3	94	-	7	-
4	54	-	6	-
5	26	-	3	-
6	19	-	-	-
7	5	-	-	-
8	20	-	-	-
9	3	-	-	-
10	10	-	1	-
15	2	-	1	-
18	1	-	-	-
19	1	-	-	-
Total	400	400	30	12

Quadro 3. Frequência de micobactérias isoladas em fragmentos com e sem nódulo da parede do intestino de bovinos dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro em 1983

Tipo de material	Positivo	Negativo	Total
Com nódulo	30 (7,5%)	370 (92,5%)	400
Sem nódulo	12 (3,0%)	388 (97%)	400
Total	42 (5,2%)	758 (94,8%)	800

Quadro 4. Distribuição das micobactérias isoladas em bovinos dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, em 1983, segundo sua velocidade de crescimento

Velocidade de crescimento	Nº de micobactérias isoladas	Nº de micobactérias em materiais com nódulo	Nº de micobactérias em materiais sem nódulo
Rápida	23 (54,8%)	15 (65,2%)	8 (34,8%)
Lenta	19 (45,2%)	15 (78,9%)	4 (21,1%)
Total	42	30	12

Runyon e consideradas saprófitas. As outras 19 (45,2%) demonstraram desenvolvimento lento, característica cultural das micobactérias dos grupos II e III de Runyon, cujas espécies e sorotipos apresentam certa patogenicidade para o homem e para os animais. A grande maioria (78,9%) destas 19 micobactérias de crescimento lento foi isolada de materiais com nódulos (Quadro 4). As características culturais, bioquímicas e sorológicas das 19 culturas de crescimento lento permitiram reconhecer 8 (42,1%) como *Mycobacterium intracellulare*, 7 (36,8%) pertencentes ao complexo *M. terrae* e 4 (21,1%) como sendo *M. scrofulaceum* (Quadro 5).

Baseado ainda na classificação de Runyon (1959), as 42 culturas de micobactérias atípicas isoladas tiveram a seguinte distribuição em relação às partes do intestino com e sem nódulos: das 4 culturas de *M. scrofulaceum* (grupo II de Runyon) duas foram isoladas de material com nódulos da esofagostomose; das 8 cul-

Quadro 5. Características culturais, bioquímicas e sorológicas das micobactérias de crescimento lento isoladas de bovinos dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro em 1983

Nº da amostra	Pigmento	Catalase		Nitrito	Tween 80		Arlisulfatase		Espécies	Sorotipos
		T.A. ^a	68°C		21 dias	80	3	14 dias		
231	b	++	++	-	+	++	++	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**c
244	-	+++	+	+++	+	++	++	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**
269	-	+++	+	-	+	++	++	++	<i>M. intracellulare</i>	9
291	-	+++	+	-	+	+	+	+	<i>M. intracellulare</i>	6
457	-	+++	++	-	+	++	++	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**
487	-	+++	++	-	+	++	++	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**
489	-	+++	++	-	+	++	++	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**
491	-	+++	+	-	+	++	++	++	<i>M. scrofulaceum</i>	*
493	+	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	<i>M. scrofulaceum</i>	*
479	-	+++	+	+++	+	++	++	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**
514	-	+++	+	-	+	++	++	++	<i>M. intracellulare</i>	*
519	-	+++	+	-	+	++	++	++	<i>M. intracellulare</i>	*
531	-	+++	++	+++	+	++	++	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**
705	-	+++	++	+++	-	++	++	++	<i>M. intracellulare</i>	16
706	-	+++	+	-	-	++	++	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**
713	-	+++	+	-	-	++	++	++	<i>M. intracellulare</i>	15
715	-	+++	++	+	-	++	++	++	<i>M. scrofulaceum</i>	*
722	-	+++	++	-	-	++	++	++	<i>M. intracellulare</i>	9
729	+	+++	++	-	-	++	++	++	<i>M. scrofulaceum</i>	*
	-	+++	++	-	-	++	++	++	<i>M. intracellulare</i>	8

^aT.A. = Temperatura ambiente.
b - Sem alteração, + alteração fraca, ++ média, +++ forte, ++++ muito forte.
c * Não tipáveis sorologicamente, ** não identificadas sorologicamente.

Quadro 6. Distribuição das micobactérias isoladas em bovinos dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro em 1983, segundo classificação de Runyon (1959)

Grupos	Nº de micobactérias em materiais com nódulo	Nº de micobactérias em materiais sem nódulo	Total de micobactérias isoladas
I	-	-	-
II	2	2	4
III	13	2	15
IV	15	8	23
Total	30	12	42

turas de *M. intracellulare* (sorotipos 6, 8, 9, 15 e 16) e das 7 do complexo *M. terrae* (grupo III de Runyon), 13 foram isoladas da parte do material com nódulos e apenas duas do sem nódulos; das 23 culturas de crescimento rápido (grupo IV de Runyon) 15 foram oriundas do material com nódulos e 8 do material sem nódulos da esofagostomose (Quadro 6).

DISCUSSÃO

A presente pesquisa veio fortalecer a hipótese de que as larvas L₃ de *Oesophagostomum radiatum* abrem caminho para a penetração de micobactérias atípicas presentes na luz intestinal, através da mucosa lesada, para o interior dos nódulos onde podem se multiplicar e permanecer viáveis. O maior número de culturas isoladas da porção da mucosa com nódulos (71,4%) e a grande maioria (78,9%) de micobactérias facultativamente patogênicas encontrada nos nódulos mostra que as larvas de *O. radiatum* podem constituir-se em fatores predisponentes da sensibilização alérgica inespecífica que interfere no diagnóstico alérgico da tuberculose. Esta circunstância assemelha-se à descoberta de Hejj et al. (1969) em que o fator predisponente eram as cercárias de *Fasciola hepatica* que, em seu trajeto migratório, carreava e implantava micobactérias atípicas responsáveis pelas falsas reações alérgicas na tuberculização.

O número relativamente pequeno de nódulos portadores de micobactérias (5,2%), na realidade seria muito maior se fossem examinados bacteriologicamente todos os nódulos presentes na mucosa intestinal de um animal. Por isto, independentemente de outras possíveis vias de infecção por micobactérias atípicas como a das amígdalas (Langenegger & Langenegger 1976), o resultado da presente pesquisa permite admitir que a esofagostomose contribui como fator predisponente e justifica a ocorrência de 9,7% de reações alérgicas inespecíficas na tuberculinização de bovinos na Região Sudeste (Langenegger et al. 1981).

REFERÊNCIAS

- Corner L.A. 1981. The duration of the response of cattle to inoculation with atypical mycobacteria. *Aust. Vet. J.* 57(5):216-219.
- Corner L.A. & Catherine W.P. 1978a. Pathogenicity of cattle of atypical mycobacteria isolated from feral pigs and cattle and the correlation of lesions with tuberculin sensitivity. *Aust. Vet. J.* 54(6):280-286.
- Corner L.A. & Catherine W.P. 1978b. Response of cattle to inoculation with atypical mycobacteria of bovine origin. *Aust. Vet. J.* 54(8):379-382.
- Corner L.A. & Catherine W.P. 1979. Response of cattle to inoculation with atypical mycobacteria of bovine origin. *Aust. Vet. J.* 55(1):6-9.
- Fodstad F.H. 1977. Tuberculin reaction in bulls and boars sensitized with atypical mycobacteria from sawdust. *Acta Vet. Scand.* 18(3):374-383.
- George K.L., Parker B.C., Gruft & Falkinham J.O. 1980. Epidemiology of infection by non tuberculous mycobacteria. II. Growth and survival in natural waters. *Am. Rev. Resp. Dis.* 122(1):89-94.
- Hejj L., Nyredy I. & Tuboly S. 1969. Ueber die Rolle Leberegel in der Ausbildung der Tuberkulinallergie bei Rindern. *Zentralbl. Bakteriol., I. Orig.*, 210:387-396.
- Karlson A.G. 1962. Nonspecific or cross-sensitivity reactions to tuberculin in cattle. *Adv. Vet. Sci.* 7:147-181.
- Ketterer P.J., Rogers R.J. & Donald B. 1981. Pathology and tuberculin sensitivity in cattle inoculated with *Mycobacterium avium* complex, serotypes 6, 14 and 18. *Aust. Vet. J.* 57(2):61-65.
- Kleeberg H.H. 1960. The tuberculin test in cattle. *J.S. Afr. Vet. Med. Assoc.* 31(2):213-225.
- Kubica G.P., Beam R.E. & Palmer J.W. 1963. A method of the isolation of unclassified acid fast bacilli from soil and water. *Am. Rev. Resp. Dis.* 88:718-720.
- Lami G., Kardevan A., Ivanyi T.S., Gonye S. & Tuboly S. 1970. Settlement of mycobacteria in albuminium hydroxide-induced cutaneous granuloma of cattle. *Acta. Vet. Acad. Sci., Budapest*, 20:91-102.
- Langenegger C.H. & Langenegger J. 1974. Linfadenites cervicais tuberculosas e pseudotuberculosas em suínos de abate de Pernambuco. *Pesq. Agropec. Bras., Ser. Vet.* 9(7):33-40.
- Langenegger C.H. & Langenegger J. 1976. Micobactérias atípicas isoladas de amígdalas e linfonodos de bovinos. *Pesq. Agropec. Bras., Ser. Vet.* 11(9):37-42.
- Langenegger J., Langenegger C.H., Mota P.M.P.C. & Leite R.C. 1981. Reações inespecíficas no diagnóstico alérgico da tuberculose bovina. *Pesq. Vet. Bras.* 4(1):145-149.
- Langenegger J., Langenegger C.H., Ramos A.A. 1976. Reações inespecíficas no diagnóstico da tuberculose em bovinos causados por *Mycobacterium intracellulare*. *Pesq. Agropec. Bras., Ser. Vet.* 11(9):65-71.
- Mota P.M.P.C., Langenegger C.H., Leite R.C. & Langenegger, J. 1980. Micobactérias isoladas de suínos do Estado de Minas Gerais. *Revta Microbiol., S. Paulo*, 11:29-33.
- Pearson C.W., Corner C.A. & Lepper A.W.D. 1977. Tuberculin sensitivity of cattle inoculated with atypical mycobacteria isolated from cattle, pigs and trough water. *Aust. Vet. J.* 53(2):67-71.
- Pritchard D.G., Stanford J.C. & Paul R.C.A. 1974. A preliminary study of delayed hypersensitivity to *Mycobacterium chelonae*, *M. fortuitum*. (RANAE) and *Mycobacterium gordonae* in cattle from two areas in Uganda. *Br. J. Exp. Pathol.* 55(4):374-383.
- Runyon E.H. 1959. Anonymus mycobacteria in pulmonary disease. *Med. Clin. North Am., Philadelphia*, 43:273-290.
- Songer J.G. 1980. Environmental sources of *Mycobacterium avium* for infection of animals and man. *Proc. M. S. Anim. Health Assoc., Richmond*, 84:528-535.
- Wolinsky E. & Ryneerson T.K. 1968. Mycobacteria in soil and their relation to disease associated strains. *Am. Rev. Resp. Dis.* 97(1):1032-1037.