

## COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL EM  
UM SURTO DE PNEUMONIA ENZOÓTICA BOVINAM.V. Cardoso<sup>1</sup>, A.J. Sforsin<sup>2</sup>, E. Scarcelli<sup>1</sup>, S.R. Teixeira<sup>1</sup>, S. Miyashiro<sup>1</sup>, F.R. Campos<sup>1</sup>, M.E. Genovez<sup>1</sup><sup>1</sup>Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: marisvc@biologico.br

## RESUMO

A pneumonia enzoótica é uma doença infecciosa emergente que ocorre em bovinos jovens, geralmente, confinados em grupos. Esta enfermidade está associada aos modernos sistemas de manejo intensivo em rebanhos de corte e leite. *Mycoplasma dispar*, *M. bovis*, *Ureaplasma diversum*, *Pasteurella haemolytica* (*Mannheimia haemolytica*), *P. multocida*, *Haemophilus somnus*, vírus sincicial respiratório, vírus da parainfluenza 3 e herpesvírus bovino 1 são os principais microrganismos encontrados, muitas vezes em sinergismo. Um surto da enfermidade foi observado em quatro propriedades rurais no Estado de São Paulo em 2001 e o diagnóstico diferencial detalhado levou à resolução dos casos, colocando em evidência a sua necessidade.

PALAVRAS-CHAVE: *Mycoplasma bovis*, pneumonia enzoótica, bovino, diagnóstico.

## ABSTRACT

IMPORTANCE OF DIFFERENTIAL DIAGNOSIS IN AN OUTBREAK OF BOVINE ENZOOTIC PNEUMONIA. Enzootic pneumonia is an emergent infectious disease that occurs in young bovine, generally confined in groups. This illness is associated to the modern systems of intensive handling in milk and beef herds. *Mycoplasma dispar*, *M. bovis*, *Ureaplasma diversum*, *Pasteurella haemolytica* (*Mannheimia haemolytica*), *P. multocida*, *Haemophilus somnus*, bovine respiratory syncytial virus (BRSV), parainfluenza virus 3 and bovine herpesvirus 1 are the main microorganisms found, often in synergism. An outbreak of the illness was observed in four farms in São Paulo State in 2001 and the detailed led to the solution of these cases, clearly demonstrating the value of such diagnosis.

KEY WORDS: *Mycoplasma bovis*, enzootic pneumonia, bovine, diagnosis.

O sistema respiratório bovino está constantemente exposto a microrganismos potencialmente patogênicos porém, na maioria das vezes, os animais permanecem saudáveis devido às defesas pulmonares. Quando as funções pulmonares são prejudicadas e/ou o tecido pulmonar sofre alguma lesão, vários são os microrganismos que podem se estabelecer e iniciar um processo infeccioso. Desta forma, pneumonias bacterianas são as causas mais frequentes e sérias de mortalidades e perdas econômicas associadas à doenças respiratórias bovinas (MOSIER, 1997).

A pneumonia enzoótica é uma doença infecciosa emergente que ocorre em bovinos jovens, geralmente, confinados em grupos. Esta enfermidade está associada aos modernos sistemas de manejo intensivo em rebanhos de corte e leite. *Mycoplasma dispar*, *M. bovis*, *Ureaplasma diversum*, *Pasteurella haemolytica* (*Mannheimia haemolytica*), *P. multocida*, *Haemophilus somnus*, vírus sincicial respiratório, vírus da

parainfluenza 3 e herpesvírus bovino 1 são os principais microrganismos encontrados, muitas vezes em sinergismo (FRASER, 1991).

Em um surto da doença, ocorrido no inverno de 2001 em quatro propriedades localizadas no Estado de São Paulo, foi observada morbidade de 100% em animais com menos de um ano de idade, índice compatível com as características da enfermidade, sendo que quatro animais foram a óbito. Os sinais clínicos observados foram: tosse produtiva, polipnéia, anorexia com rápida perda de peso e prostração. Dados epidemiológicos revelaram que animais de todas as propriedades envolvidas haviam participado de uma mesma exposição agropecuária dias antes do aparecimento dos sinais clínicos.

Visando o diagnóstico, um dos bezerros acometidos foi sacrificado e à necropsia foi observada grande produção de secreção gelatinosa e purulenta ao longo de brônquios e bronquíolos, focos de necrose coagulativa e acúmulo de gás no tecido

(Figs. 1 e 2). Os lóbulos pulmonares e a traquéia foram encaminhados para pesquisa dos possíveis agentes envolvidos.

Anteriormente ao diagnóstico laboratorial, a droga tilosina foi utilizada no tratamento, porém, não houve resolução dos casos.

Laboratorialmente, foram processados para a presença ou ausência de bactérias os seguintes materiais clínicos: secreção bronquial, secreção traqueal e macerado de fragmento pulmonar. Para a triagem bacteriológica foram utilizados os meios de cultura ágar brucela sangue, ágar BHI sangue e EMB-Levine (CARTER & CHENGAPPA, 1991), os quais foram incubados em aerobiose e microaerofilia. Hayflick e U<sub>10</sub> modificados (caldo e ágar) foram utilizados para isolamento de *Mycoplasma* spp. e *Ureaplasma diversum*, respectivamente, como preconizado por RUHNKE & ROSENDAL (1994). No diagnóstico complementar, a técnica de PCR foi utilizada para detecção de *Mycoplasma* spp., *Ureaplasma diversum*, *Haemophilus somnus* e Herpesvírus Bovino tipos 1 e 5 a partir do DNA extraído dos materiais clínicos. Outros possíveis agentes virais foram também pesquisados por cultivo celular.

Para a realização da PCR, o DNA foi primeiramente extraído pela técnica de fenol-clorofórmio (SAMBROOK *et al.*, 1989) que não apresentou bons resultados (Fig. 3), especialmente no processamento do macerado de fragmento pulmonar, e posteriormente pela técnica do CTAB (ROGERS & BENDICH, 1994).

Os microrganismos isolados foram *Mycoplasma* spp. (meio Hayflick modificado) e *Pasteurella haemolytica* (ágar brucela sangue).

Para a caracterização da estirpe de *Mycoplasma* isolada, foram realizadas as provas bioquímicas de fermentação de glicose, atividade de fosfatase, hidrólise de arginina e redução de tetrazólio (RAZIN &

TULLY, 1983), técnica de PCR (SUBRAMANIAN *et al.*, 1998), e Imunoperoxidase (KOTANI & MCGARRITY, 1985).

Estas técnicas possibilitaram a identificação de *Mycoplasma bovis*. A técnica de PCR confirmou a presença de *M. bovis* nos materiais clínicos e a ausência de *Haemophilus somnus* e Herpesvírus Bovino 1 e 5. O isolamento viral foi negativo.

Após o diagnóstico laboratorial, foi preconizado o tratamento com enrofloxacin comercial, já que esta é uma das possíveis drogas de escolha para tratamento das micoplasmoses (HANNAN *et al.*, 1997). Tendo os animais apresentado boa resposta à medicação, os casos clínicos foram resolvidos.

ROSSINI *et al.* (1978) descreveram pela primeira vez no país, o isolamento de *Mycoplasma* spp. a partir de tecido pulmonar de quatro bezerros que apresentavam quadro pneumônico e que foram a óbito. Posteriormente (ROSSINI *et al.*, 1981), uma das estirpes isolada foi caracterizada como *M. bovis*, sendo este o primeiro relato da espécie no Brasil.

A escassez de laboratórios veterinários que realizem exames para micoplasmoses dificulta o diagnóstico das pneumonias em animais domésticos e de produção, o que leva à utilização imprópria de antibióticos colaborando assim, na disseminação de resistência microbiana. Assim sendo, os técnicos devem ser alertados para a necessidade do diagnóstico diferencial rápido e eficiente nos casos de doenças multifatoriais, incluindo-se as pneumonias.

De posse destas informações, conclui-se que devido à variedade de agentes infecciosos possivelmente envolvidos no quadro, um diagnóstico diferencial rápido e eficiente pode auxiliar os clínicos veterinários para que o correto tratamento seja prontamente instituído.

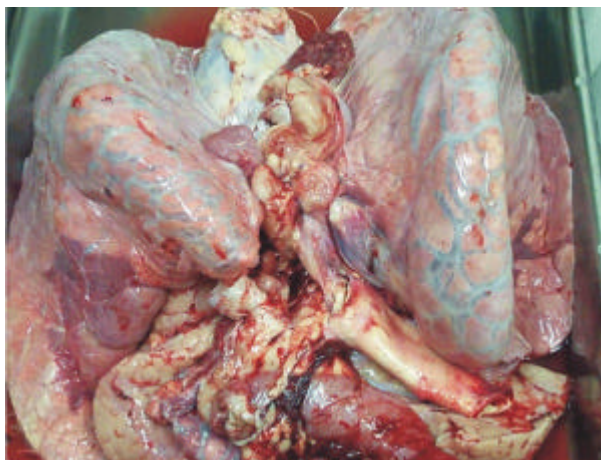


Fig. 1 - Pulmão de bezerro - aproximadamente um ano de idade apresentando acúmulo generalizado de ar nas vias respiratórias inferiores, focos de necrose coagulativa e presença de secreção purulenta.



Fig. 2 - Lóbulos pulmonares - acúmulo de gás e lesões macroscópicas de necrose coagulativa.

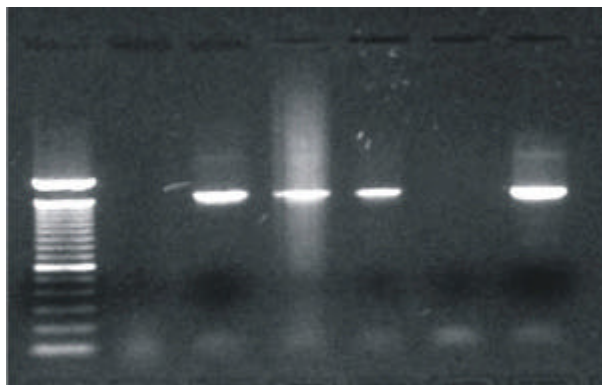


Fig. 3 - Linha 1- marcador de peso molecular 100 bp; Linha 2- macerado de fragmento pulmonar; Linha 3- cultivo de fragmento pulmonar; Linha 4- muco traqueal; Linha 5- cultivo de muco traqueal; Linha 6- controle negativo; Linha 7- controle positivo (*Mycoplasma bovis* ATCC 25025).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARTER, R.G. & CHENGAPPA, M.M. *Essential of veterinary bacteriology and mycology*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. 284p.

FRASER, C.M. Manual Merck de veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário. 6. ed. São Paulo: Roca, 1991. 1803 p.

HANNAN, P.C.T.; WINDSOR, G.D.; JUNG, A.; SCHMEER, N.; STEGEMANN, M. Comparative susceptibilities of various animal-pathogenic mycoplasmas to fluoroquinones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.41, n.9, p.2037-2040, 1997.

KOTANI, H. & MCGARRITY, G. Rapid and simple identification of *Mycoplasma* by Immunobinding. *J. Immunol. Methods*, v.85, p.257-267, 1985.

MOISER, D.A. Bacterial Pneumonia. *Vet. Clin. North Am. Food An. Pract.*, v.13, n.3, p.483-493, 1997.

RAZIN, S & TULLY, J.C. *Methods in mycoplasmology*. Londres: Academic Press, 1983. v.1, p.506.

ROGERS, S.O. & BENDICH, A.J. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. In: GELVIN, B. & SCHILPERROOT, R.A. (Eds.) *Plant Molecular Biology Manual*. Belgium: Kluwer Academic Publishers, 1994. v.D1, p.1-8.

ROSSINI, A.J.; JULY, J.R.; JEREZ, J.A. *Mycoplasma* sp. isoladas do tecido pulmonar de bezerros acometidos de pneumonia. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.45, n.4, p.213-214, 1978.

ROSSINI, A.J.; ZELANTE, F.; JULY, J.R.; OLIVEIRA JR., B.S. *Mycoplasma* bovine: isolamento de *Mycoplasma bovis* de bezerros acometidos de pneumonia. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.48, n.1/4, p.5-10, 1981.

RUHNKE, H.L. & ROSENDAL, S. Useful protocols for diagnosis of animal mycoplasmas. In: WHITFORD, H.W.; ROSENBUSCH, R.F.; LAUERMAN, L., (Eds.) *Mycoplasmosis in Animals: laboratory diagnosis*. Iowa: Iowa State University Press, 1994. p.141-155.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2. ed., New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, 957p.

SUBRAMANIAN, S.; BERGONIER, D.; POUMARAT, F.; CAPAUL, S.; SCHLATTER, Y.; NICOLET, J.; FREY, J. Specie identification of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* based on the *uvrC* gene by PCR. *Mol. Cell. Probes*, v.12, p.161-169, 1998.

Recebido em 14/3/02

Aceito em 30/4/02