

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

PPGMV/UFSM, RS

**Bianca Tessele**

TESSELE, Bianca

**LESÕES ENCONTRADAS EM BOVINOS ABATIDOS PARA  
CONSUMO**

Doutora 2016

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2016**

**Bianca Tessele**

**LESÕES ENCONTRADAS EM BOVINOS ABATIDOS PARA CONSUMO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia e Patologia Clínica Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária.**

**Orientador: Prof. Claudio S. L. Barros**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2016**

**Bianca Tessele**

**LESÕES ENCONTRADAS EM BOVINOS ABATIDOS PARA CONSUMO**

Tese Apresentada ao Curso de  
Doutorado do Programa de Pós-  
Graduação em Medicina Veterinária  
(PPGMV), da Universidade Federal de  
Santa Maria (UFSM, RS), como  
requisito parcial para obtenção do grau  
de **Doutor em Medicina Veterinária**

**Aprovada em 04 de março de 2016:**

---

**Claudio S L. Barros, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Ana Lúcia Schild, Dr<sup>a</sup> (UFPEL)**

---

**David Driemeier, Dr. (UFRGS)**

---

**Margarida Buss Raffi, Dr<sup>a</sup> (UFPEL)**

---

**Eliza Simone Viégas Sallis, Dr<sup>a</sup> (UFPEL)**

Santa Maria, RS

2016

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família, que sempre me incentivou a estudar e batalhar pelos meus objetivos.

Agradeço ao meu amor, Vinícius, pelo companheirismo e apoio.

Agradeço aos meus amigos e ex-colegas de laboratório, que tornaram o aprendizado e o dia-a-dia muito mais agradável.

Agradeço aos professores do LPV que contribuíram para minha formação profissional, desde 2009, quando ingressei no laboratório como bolsista de iniciação científica.

Agradeço aos veterinários Luiz Antônio Vielmo e Andréia Vielmo por toda ajuda nas coletas das lesões.

Agradeço, em especial, ao meu eterno orientador, mestre e amigo, Claudio Barros, pessoa incondicional, com quem tive a honra de conviver durante os cinco anos de LPV, e que será sempre minha referência profissional. Serei eternamente grata por todos os ensinamentos e por todo o apoio ao longo desses anos.

“O que prevemos raramente ocorre; o que menos esperamos geralmente acontece.”

Benjamin Disraeli

## **RESUMO**

### **LESÕES ENCONTRADAS EM BOVINOS ABATIDOS PARA CONSUMO**

AUTORA: Bianca Tessele  
ORIENTADOR: Claudio S. L. Barros

Esta tese envolveu o estudo das lesões macro e microscópicas encontradas em bovinos abatidos para consumo e é o resultado de colheita e interpretação de lesões iniciadas em 2011. Durante o período de mestrado (2012-2014) realizou-se o levantamento das lesões parasitárias, que foram abordadas na Dissertação. As demais lesões serão abordadas nesta tese. Esse estudo prospectivo (2011-2016) foi realizado no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM) e teve como objetivo descrever macro e microscopicamente as lesões de bovinos encontradas em abatedouros frigoríficos, a fim de auxiliar médicos veterinários responsáveis pelo serviço de inspeção, bem como patologistas veterinários, a identificar lesões encontradas em carcaças e vísceras dos bovinos abatidos. Durante esse período, 540 lesões foram observadas em bovinos de abatedouros frigoríficos de diferentes regiões do Rio Grande do Sul. Dessas, 17 foram lesões de origem tóxica; 65 neoplásicas; 117 parasitárias; 177 infecciosas e 164 foram classificadas como “outras lesões”, que incluíam lesões ocasionadas por falhas durante o abate (tecnopatias), lesões sem significado clínico importante, entre outras. Este estudo resultou em quatro trabalhos científicos: (1) Actinomicose atípica em bovinos; (2) Lesões granulomatosas encontradas em bovinos abatidos para consumo; (3) Mixed apocrine adenocarcinoma of the tail in a cow e (4) Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos. Esses quatro trabalhos estão anexados a esta tese.

**Palavras-chave:** Doenças de bovinos. Pesquisa em abatedouros. Neoplasmas. Doenças infecciosas.

# ABSTRACT

## LESIONS FOUND IN CATTLE SLAUGHTERED FOR CONSUMPTION

AUTHOR: Bianca Tessele

ADVISER: Claudio S. L. Barros

The data presented in this thesis resulted from the gross and histopathological interpretation of lesions found in cattle slaughtered for human consumption. The survey for lesions in slaughtered cattle was started in 2011. During the two years of the M.Sci. program the survey was focus in parasitic lesions, which were reported and discussed in the M.Sci. dissertation. The remaining lesions are included in the present thesis and were surveyed in a prospective study (2011-2016) carried out at the *Laboratório de Patologia Veterinária* at the *Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM)*. The purpose of the study describe the gross and microscopical morphology lesions found in cattle in slaughterhouses in order to help veterinary meat inspectors and pathologists alike in identifying lesions found in the carcass and viscera of cattle at meat inspection. During the survey, 540 lesions were observed in cattle at slaughterhouses from different locations in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. Seventeen of those were toxic lesions; 65 were neoplastic; 117 were parasitic and 164 were classified as sundry, which included, among others, lesions provoked by improper proceedings during the slaughter (so called “technopathies”), lesions with little or no clinical importance. The current study resulted in four scientific papers which are included in the thesis: (1) Atypical cases of actinomycosis in cattle; (2) Granulomatous lesions found in cattle slaughtered for meat production; (3) Mixed apocrine adenocarcinoma of the tail in a cow and (4) Tumors found in cattle from slaughterhouses.

**Keywords:** Diseases of cattle. Abattoir survey. Neoplasms. Infecicious diseases.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 ARTIGO 1- Casos atípicos de actinomicose em bovinos .....	11
3 ARTIGO 2 –Lesões granulomatosas encontradas em bovinos abatidos para consumo.....	22
4 ARTIGO 3 – Mixed apocrine adenocarcinoma of the tail in a cow .....	40
5 ARTIGO 4 – Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos.....	47
6 DISCUSSÃO .....	80
7 CONCLUSÕES .....	87
8 REFERÊNCIAS .....	89

# 1 INTRODUÇÃO

A pecuária bovina é um dos setores mais importantes do agronegócio brasileiro e consequentemente da economia nacional. O Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, é o maior exportador de carne bovina e o segundo maior produtor de carne (FAO, 2010; USDA 2015). O rebanho bovino efetivo do Brasil, ao final de 2012, foi estimado em 211,3 milhões de cabeças, sendo realizado, naquele ano, o abate de 31,118 milhões de cabeças e a produção de 7,351 toneladas de carne sob inspeção sanitária. Esses dados representam uma taxa de abate inspecionado de 14,7% sobre o efetivo de bovinos existentes em 31/12/2012 (IBGE 2012). Desde 1974, há um crescimento médio anual de 2,34% na bovinocultura brasileira (IBGE, 2011). Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC), a bovinocultura de corte representa a maior fatia do agronegócio nacional, gerando faturamento superior a R\$ 50 bilhões ao ano e oferecendo mais de 7,5 milhões de empregos (ABIEC, 2011).

O abate de bovinos no Brasil atingiu novo recorde histórico no 3º trimestre de 2013, com a marca de 8,913 milhões de cabeças abatidas, havendo uma queda nesse valor nos últimos dois anos, principalmente em 2015 (IBGE, 2015). Os bens de consumo resultantes do processo de abate de bovinos são carcaças e subprodutos. Os órgãos são subprodutos importantes economicamente, pois agregam valor à produção e são fontes potenciais de ingredientes alimentares relevantes para a população mundial em expansão (CHIBA, 2005; KALE et al., 2011).

O abatedouro frigorífico constitui relevante instrumento de diagnósticos de enfermidades, entre elas as de caráter zoonótico (UNGAR et al., 1990). Doenças como a tuberculose, cisticercose e hidatidose, além de acarretarem prejuízos econômicos à pecuária, têm importância em saúde pública (SCHENK & SCHENK, 1982). Em 2012, aproximadamente, um bilhão e meio de lesões foram diagnosticadas em carcaças e vísceras de bovinos destinados ao abate em frigoríficos sob inspeção federal, apenas no Rio Grande do Sul, as quais receberam diferentes destinos (BRASIL, 2012).

A inspeção nos abatedouros consiste em observar ou examinar a carcaça e os órgãos, à busca de condições anormais que, de alguma maneira, limitem ou impeçam o aproveitamento do produto ou matéria prima para o consumo humano (PRATA & FUKUDA, 2001). Além disso, com a inspeção procura-se proteger a indústria de perdas econômicas devido ao fornecimento de produtos de qualidade inferior (INFANTE GIL & COSTA DURÃO, 1990). As decisões sanitárias sobre estes alimentos tão perecíveis devem ser tomadas, frequentemente imediatamente. Isso exige uma aprendizagem complexa e uma longa experiência (INFANTE

GIL, 2000). A responsabilidade na realização desse objetivo é das autoridades responsáveis pela saúde pública, que consistem em veterinários e oficiais inspetores nos abatedouros frigoríficos. Em muitas regiões em desenvolvimento e em particular nos abatedouros rurais, os inspetores de carne, muitas vezes, não têm as informações e orientações necessárias para avaliar o status sanitário de carcaças, carnes e órgãos de animais destinados ao abate (HERENDA, 1994).

A existência de alta possibilidade de erro durante a inspeção *post-mortem* já foi constatada (NEVES, 1985). Na literatura, são encontrados poucos trabalhos científicos sobre a condenação de órgãos de bovinos pelo serviço de inspeção. Por isso, foi realizado um estudo que teve como objetivo verificar a ocorrência e as causas de condenação de fígados de bovinos em frigoríficos. Os resultados demonstraram que os inspetores, por desconhecimento de algumas lesões e do próprio regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, agiam com demasiado rigor condenando totalmente o órgão, levando a perdas econômicas, quando poderiam condená-lo parcialmente. Outra falha comum observada naquele estudo foi a denominação incorreta de lesões, o que pode levar ao armazenamento de dados errados que induzam a conclusões ou diagnósticos falsos sobre a prevalência das doenças (MENDES & PILATI, 2007). Em um estudo recente (FACCIN et al. 2015), estimou-se as perdas econômicas em abatedouros de bovinos devido à condenação de fígados pela ingestão de braquiária. Verificou-se que mais de 65% dos fígados sem alterações destinados ao consumo humano apresentaram, microscopicamente, infiltrado de macrófagos espumosos típicos da intoxicação por braquiária. Enquanto fígados com lesões crônicas macroscópicas eram totalmente condenados, quando poderiam ter sido condenadas apenas as partes com alterações macroscópicas. Isso porque as outras partes eram histologicamente sem alterações. Isso reduziria os prejuízos econômicos do frigorífico e dos produtores. Esses estudos demonstram a importância do exame histopatológico como um apoio na rotina da inspeção nos abatedouros frigoríficos.

O objetivo desse trabalho foi descrever, macro e microscopicamente, as lesões observadas em bovinos abatidos para consumo, excluindo-se as lesões parasitárias, as quais já foram abordadas em trabalho anterior, com a finalidade de orientar os funcionários da inspeção no seu reconhecimento e no destino adequado das carcaças e vísceras. Desse estudo resultaram quatro trabalhos científicos. A Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão obtidos desses quatro trabalhos são, na íntegra, apresentados a seguir.

## **2 ARTIGO 1- Casos atípicos de actinomicose em bovinos**

Bianca Tessele, Andréia Vielmo, Márcia Hammerschmitt e Claudio S. L. Barros

(Artigo publicado na revista *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(7):663-666, 2014)

## Casos atípicos de actinomicose em bovinos

Bianca Tessele<sup>1</sup>, Andréia Vielmo<sup>2</sup>, Márcia Hammerschmitt<sup>3</sup> e Claudio S.L. Barros<sup>3\*</sup>

**ABSTRACT.-** Tessele B., Vielmo A., Barros C.S.L. 2014. Casos atípicos de actinomicose em bovinos. [**Atypical cases of actinomycosis in cattle**]. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(7):663-666. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E-mail: [claudioslbarros@uol.com.br](mailto:claudioslbarros@uol.com.br)

Cases of actinomycosis with atypical presentation are described two oxen. In both cases there was a hard irregular and extensive lesions in the maxilla. The maxilla of both cattle became enlarged and honeycombed as a result of destructive rarefaction and regenerative bone proliferation. The cut surface of the lesions consisted of a white glistening fibrous tissues within which numerous yellow caseous granules could be seen. Sinus tracts could be demonstrated within the lesions. In hematoxylin-eosin stained sections the lesions consisted of island of pyogranulomatous inflammation within an extensive fibrous stroma. In the center of the granuloma there was a basophilic irregular shaped mass surrounded by a zone radially arranged eosinophilic projections (Splendore-Hoeppli material). Around the radiating mass there was a zone of neutrophils, surrounded by a layer of epithelioid macrophages and occasional multinucleated giant cells. An outer layer lymphocytes and plasma cells was present that limit the granuloma from the abundant fibrous tissue surrounding it. Up on Gram stain the central part of the colony revealed a tangled mass of rod shaped organisms morphologically consistent with *Actinomyces bovis*. Since the unusual presentation of this lesions misled the initial diagnosis the detailed description of these cases are reported here in the hopes it can help in the differential diagnosis by veterinary practitioners and meat inspectors.

INDEX TERMS: Actinomycosis, *Actinomyces bovis*, osteomyelitis, atypical presentation, diseases of cattle.

RESUMO.- Casos de actinomicose com apresentação atípica são descritos em dois bovinos. Em ambos os casos notou-se um aumento de volume extenso e duro na maxila. A maxila dos dois bovinos tomou um aspecto de favo de mel como resultado da rarefação destrutiva e da proliferação óssea regenerativa. Na superfície de corte as lesões consistiam de tecido fibroso branco e brilhante em meio ao qual numerosos grânulos amarelos podiam ser vistos. Tratos fistulosos podiam ser demonstrados em meio às lesões. Em cortes corados pela hematoxilina e eosina as lesões consistiam de ilhas de inflamação piogranulomatosa em meio a extenso estroma fibroso. No centro do granuloma havia uma massa basofílica de forma irregular cercada por uma zona com projeções eosinofílicas radiadas (reação de Splendore-Hoeppli). Ao redor da

---

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Camobi, Santa Maria, RS 97105- 900, Brasil.

<sup>2</sup> Bolsista do PROBIC, FAPERGS (AV) e CNPQ (MH) no Departamento de Patologia da UFSM

<sup>3</sup>Departamento de Patologia, LPV, UFSM, Santa Maria, RS, 97105- 900, Brasil, Pesquisador 1A do CNPq.

\*Autor para correspondência: [claudioslbarros@uol.com.br](mailto:claudioslbarros@uol.com.br)

massa radiada havia uma zona de neutrófilos cercada por uma camada de macrófagos epitelioides e ocasionais células gigantes multinucleadas. Uma camada externa de linfócitos e plasmócitos limitava o granuloma do extenso estroma conjuntivo que o cercava. Na coloração de Gram, a parte central da colônia revelava um aglomerado de micro-organismos em forma de bastonetes, com morfologia compatível com *Actinomyces bovis*. Uma vez que a apresentação pouco usual das lesões levou a má interpretação diagnóstica inicial nestes casos, as descrições detalhadas das lesões é feita aqui com o objetivo de ajudar no diagnóstico diferencial feito por veterinários clínicos e inspetores de carne.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Actinomicose, *Actinomyces bovis*, osteomielite, apresentação atípica, doença de bovinos.

## INTRODUÇÃO

Actinomicose é uma osteomielite piogranulomatosa, primariamente de bovinos causada pela bactéria gram-positiva *Actinomyces bovis* (Thompson 2007). Infecções ocasionais ocorrem em outras espécies, como porcos, veados, cães, ovinos, caprinos, cavalos (Smego & Foglia 1998, Seifi et al. 2003, Vos 2007, Thompson 2007). Em seres humanos a lesão é causada por *A. israeli* (Jones et al. 1997). O osso afetado fica espessado em decorrência de múltiplos piogranulomas que dão à superfície de corte do osso a aparência de um favo de mel (Grist 2008).

Actinomicose bovina já foi erroneamente interpretada como osteossarcoma e posteriormente como uma lesão micótica (McFadyean 1932). Como essas últimas incluíam lesões na língua e linfonodos supõe-se que muitas se tratavam de actinobacilose. Esses “fungos” teriam como habitat o solo, grãos e palhas, sendo transmitidos para os bovinos através da ingestão desses vegetais (Boström 1890). Atualmente, sabe-se que essas matérias vegetais não são as carreadoras do agente, mas sim as responsáveis pela inoculação dele na cavidade oral de bovinos devido às abrasões que provocam na gengiva. A inoculação do *A. bovis*, um agente comensal da cavidade oral de animais, pode ocorrer também por pedaços afiados de corpos estranhos ou por erupções dentárias e periodontites, presumivelmente via linfáticos que drenam para o osso mandibular (Radostits 2007, Thompson 2007).

Embora actinomicose já tenha sido descrita em diferentes regiões anatômicas de bovinos, como pênis e traqueia (Basile & Diniz 1979, Bertonce & Rebhun 1984), a lesão clássica dessa doença em bovinos é localizada na mandíbula, raramente ocorrendo o envolvimento da maxila (Wilson 2005, Thompson 2007). O objetivo desse trabalho é descrever os aspectos macro e microscópicos de actinomicose no osso maxilar de dois bovinos abatidos em matadouro frigorífico. Como essas lesões foram inicialmente interpretadas como carcinomas de células escamosas, é oportuno de orientar médicos veterinários e profissionais da inspeção para a apresentação e localização atípicas da doença.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram recebidas nos Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) duas cabeças de bovinos abatidos em matadouro-frigorífico sob Inspeção Federal. Esses dois casos são parte de um total de dez casos de actinomicose em bovinos de matadouros-frigoríficos recebidos no LPV em um período de 42 meses. Os dois bovinos eram oriundos de propriedades localizadas em diferentes regiões do Rio Grande do Sul. Dados referentes à idade, raça ou sexo não foram informados. As cabeças foram fotografadas, serradas transversalmente; fragmentos representativos das lesões foram descalcificados e processados rotineiramente para histopatologia. Adicionalmente à coloração por hematoxilina eosina (HE), várias secções foram coradas pela técnica de Gram MacCallum-Goodpasture.

## RESULTADOS

Ambas as cabeças estavam deformadas e aumentadas de volume por proliferação óssea do maxilar direito (Caso 1) e do maxilar esquerdo (Caso 2). No Caso 1 o aumento de volume da cabeça estendia-se lateral e cranialmente da região infraorbitária direita até a região nasal. No Caso 2, a lesão iniciava próxima à base da orelha (Fig.1) e apresentava ventralmente ao olho esquerdo, na região do masseter, uma cavidade óssea preenchida por material necrótico enegrecido, friável e fétido (Fig.2).

Ao serrar as cabeças na porção média da cavidade nasal, observou-se proliferação óssea com múltiplos nódulos amarelos com aspecto caseoso, circundados por finos septos de tecido ósseo (Fig.3). No centro dessas áreas foram observados pequenos grânulos amarelos duros (Fig.4). Outros nódulos estavam necróticos, evidenciados por áreas verdes escuras. Os tecidos moles sobrejacentes a essas áreas possuíam múltiplos trajetos fistulosos com material purulento, circundados por um tecido brancacento. Em ambos os casos as extensas áreas inflamatórias causavam destruição de parte dos cornetos nasais e obstrução quase que total da cavidade com desvio da cavidade nasal contralateral. Caudalmente, as lesões apresentavam maior proliferação de tecido ósseo e fibroso cicatricial com menos inflamação (Fig.5).

Microscopicamente, as lesões eram caracterizadas por múltiplos piogranulomas em meio a trabéculas ósseas bem definidas (Fig.6). No centro desses piogranulomas podiam-se observar estruturas constituídas por uma massa interna de bacilos filamentosos gram-positivos (corados em azul pela técnica de Gram) e uma periferia com clavas eosinofílicas radiais (reação de Splendore-Hoeppli), circundadas por neutrófilos, macrófagos e ocasionais células gigantes multinucleadas. Mineralização das reações de Splendore-Hoeppli foi observada ocasionalmente nos casos aqui descritos. Extensa reação fibrosa com infiltração por neutrófilos, linfócitos e plasmócitos circundava os piogranulomas e se estendia aos tecidos moles adjacentes. Em algumas secções coradas pela HE foram observados bacilos azuis-claros no interior de macrófagos epitelioides (Fig.7), células gigantes multinucleadas e em meio às clavas eosinofílicas. Fragmentos dessas clavas também foram fagocitados por células gigantes multinucleadas (Fig.8).

## DISCUSSÃO

A maioria dos autores afirma que o envolvimento da mandíbula nos casos de actinomicose é muito mais frequente, sendo rara a localização em outros ossos (Wilson 2005, Thompson 2007, Serakides 2011). Provavelmente esse maior acometimento da mandíbula ocorra porque as partículas vegetais tendem a serem forçadas para baixo pela mastigação, introduzindo-se entre o dente e a gengiva, proporcionando uma

porta de entrada para a bactéria (Boström 1890). Além disso, a própria troca dentária em bovinos, restrita à arcada inferior, favorece esse maior acometimento do osso mandibular (Radostits 2007). Em nenhum dos casos descritos aqui foram observadas lesões na cavidade oral; provavelmente, pelo tempo de evolução prolongado da lesão, feridas na mucosa oral superior, que poderiam ter servido de portas de entrada para a infecção, já estavam curadas no momento do abate.

Lesões de actinomicose podem aumentar rapidamente de tamanho em poucas semanas, porém normalmente crescem lentamente ao longo de meses (Radostits 2007). O envolvimento ósseo e muscular torna-se tão acentuado que a dificuldade de apreensão e mastigação com consequente perda progressiva de peso são comumente observadas nos bovinos afetados (Seifi et al. 2003, Serakides 2011). Nos casos onde há envolvimento acentuado da maxila pode ocorrer dificuldade respiratória (Radostits 2007). Apesar de não haver informações sobre os sinais clínicos dos bovinos deste relato, a gravidade das lesões faz supor que apresentassem dispneia em decorrência da obstrução parcial da cavidade nasal.

Na osteomielite por actinomicose, inicialmente se formam tratos supurativos nos espaços medulares levando a múltiplos focos de reabsorção e proliferação óssea. Sequestro ósseo não ocorre, mesmo quando o córtex é invadido, provavelmente devido à natureza lenta e progressiva da doença (Thompson 2007). As fístulas observadas nos tecidos moles desses casos são achados comuns na actinomicose, frequentemente ocorrendo comunicação desses trajetos fistulosos com a boca ou com a pele da região afetada (Wilson 2005).

Os pequenos grânulos amarelos duros observados no centro dos nódulos caseosos em ambas os casos são denominados coloquialmente de grânulos de enxofre devido à cor (Brewer 1956); representam as colônias bacterianas e não são específicos para a actinomicose (Miller & Haddad 1998). Microscopicamente, essas estruturas correspondem à reação de Splendore-Hoeppli. Agregados de filamentos gram-positivos aparecem associados à reação de Splendore-Hoeppli e a fragmentação desses filamentos produz as formas coco-bacilares, mais observadas nas áreas centrais dos grânulos, enquanto a natureza filamentosa da bactéria é mais aparente na periferia (Ginn et al. 2007).

Pouco se sabe sobre como os fatores de virulência, as interações ligante-receptor, as células-alvo, as toxinas, as moléculas anti-fagocíticas da cápsula bacteriana e outros fatores participam da patogenicidade de *A. bovis*. Porém, assim como *Actinobacillus lignieresii*, provavelmente, *A. bovis* também seja capaz de escapar à destruição por neutrófilos e macrófagos, colonizando os próprios abscessos nos tecidos. Essa resistência do agente à fagocitose leva à formação de agregados proteínáceos eosinofílicos de imunoglobulinas em sua superfície, que podem ser visualizados histologicamente como a reação de Splendore-Hoeppli (Zachary 2012). Os bacilos azuis-claros observados em algumas seções de HE no interior de macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas são morfologicamente semelhantes aos bacilos corados pela técnica de Gram em outras seções e sugerem que essas bactérias tenham sido fagocitadas.

Reações teciduais semelhantes ocorrem com outras bactérias, particularmente *Actinobacillus lignieresii*, porém as colônias na actinomicose são maiores e as clavas são menores e menos discretas do que na actinobacilose e, geralmente, localizadas na periferia das colônias (Till & Palmer 1960). Além disso, actinobacilose é uma doença de tecidos moles e os coco-bacilos, diferentemente dos da actinomicose, são gram-negativos (Grist 2008). Essa distribuição das clavas eosinofílicas perifericamente pode ser observada

na maioria das reações de Splendore-Hoeppli desses bovinos, porém, isoladamente, não parece ser uma característica morfológica confiável para estabelecer o diagnóstico. *Fusobacterium necrophorum* e outras bactérias não específicas podem causar osteomielite por extensão direta de periodontite, no entanto, as lesões são usualmente mais destrutivas e menos proliferativas (Thompson 2007).

Nos casos aqui descritos, devido a grande extensão e características invasivas das lesões, uma condição necessariamente incluída no diagnóstico diferencial macroscópico é o carcinoma de células escamosas intranasal, um dos neoplasmas da cavidade nasal mais comumente observado em ruminantes. A superfície de corte desses tumores pode apresentar pequenas estruturas amarelas, que representam as pérolas de ceratina (Wilson & Dungworth 2002), as quais em um exame macroscópico menos detalhado poderiam facilmente ser confundidas com os grânulos de enxofre da actinomicose.

### REFERÊNCIAS

- Basile J.R. & Diniz J.M.F. 1979. Actinomicose no pênis de bovino. *Semina*. 1:45-46.
- Bertonce A.L. & Rebhun W.C. 1984. Tracheal actinomycosis in a cow. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185:221-222.
- Boström. 1890. Untersuchungen über die Aktinomykose des Menschen. *Beitr. path. Anat. allg. Pathol.* 9:1-240.
- Brewer J.S. 1956. Discussion and case History: Actinomycosis. *Iowa Ste. Univ. Vet.* 18:145-208.
- Ginn P.E., Mansell J.E.K.L. & Rakich P.M. 2007. Skin and appendages, p.553-781. In: Maxie M.D. (Ed.) *Jubb, Kennedy & Palmer Pathology of Domestic Animals. Vol.1. 5th ed.* Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Grist A. 2008. Conditions encountered at bovine post mortem inspection (Non Parasitic), p.160-239. In: *Ibid (Eds) Bovine Meat Inspection. 2nd ed.* Nottingham University Press, Nottingham.
- McFadyean S.J. 1932. Actinomycosis & Actinobacillosis. *J. Comp. Pathol Therap.* 45:93-105.
- Jones T.C. Hunt R.D. & King N.W. 1997. Actinomycosis, p. 482-484. In: *Ibid (Eds) Veterinary Pathology. 6th ed.* Williams & Wilkin, Baltimore.
- Miller M. & Haddad A.J. 1998. Cervicofacial actinomycosis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 85:496-508.
- Serakides R. 2011. Ossos e Articulações, p.647-696. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds), *Patologia Veterinária*. Roca, São Paulo.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W. & Constable P.D. 2007. Diseases associated with bacteria, p.1007-1060. In: *Ibid (Eds) Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats. 10th ed.* Saunders Elsevier, Spain.
- Till D.H. & Palmer F.P.A. 1960. A review of actinobacillosis with a study of the causal organism. *Vet. Rec.* 72:527-543.
- Thompson K. 2007. Inflammatory diseases of bones, p.92-105. In: Maxie M.D. (Ed.) *Jubb, Kennedy & Palmer Pathology of Domestic Animals. Vol.1. 5th ed.* Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Zachary J.F. 2012. Mechanisms of microbial infections, p. 147-241. In: Zachary J.F. & McGavin M.D. (Eds) *Pathologic Basis of Veterinary Disease. 5th ed.* Elsevier, St. Louis.
- Wilson D.W. & Dungworth D.L. 2002. Tumors of the Respiratory Tract, p.365-399. In: Meuten D.J. (Ed.) *Tumors in Domestic Animal*. Iowa State Press, Ames.

Wilson W.G. 2005. Specific Diseases, p.112-136. In: Ibid (Ed.) Wilson's Practical Meat Inspection. 7th ed. Blackwell, Oxford.



Fig.1. Actinomicose em bovino (Caso 2). No lado esquerdo há uma protuberância que inicia próxima à base da orelha e estende-se ventralmente ao olho esquerdo. A lesão observada na região central do crânio corresponde à perfuração pelo dardo cativo usado no abate em matadouro-frigorífico.

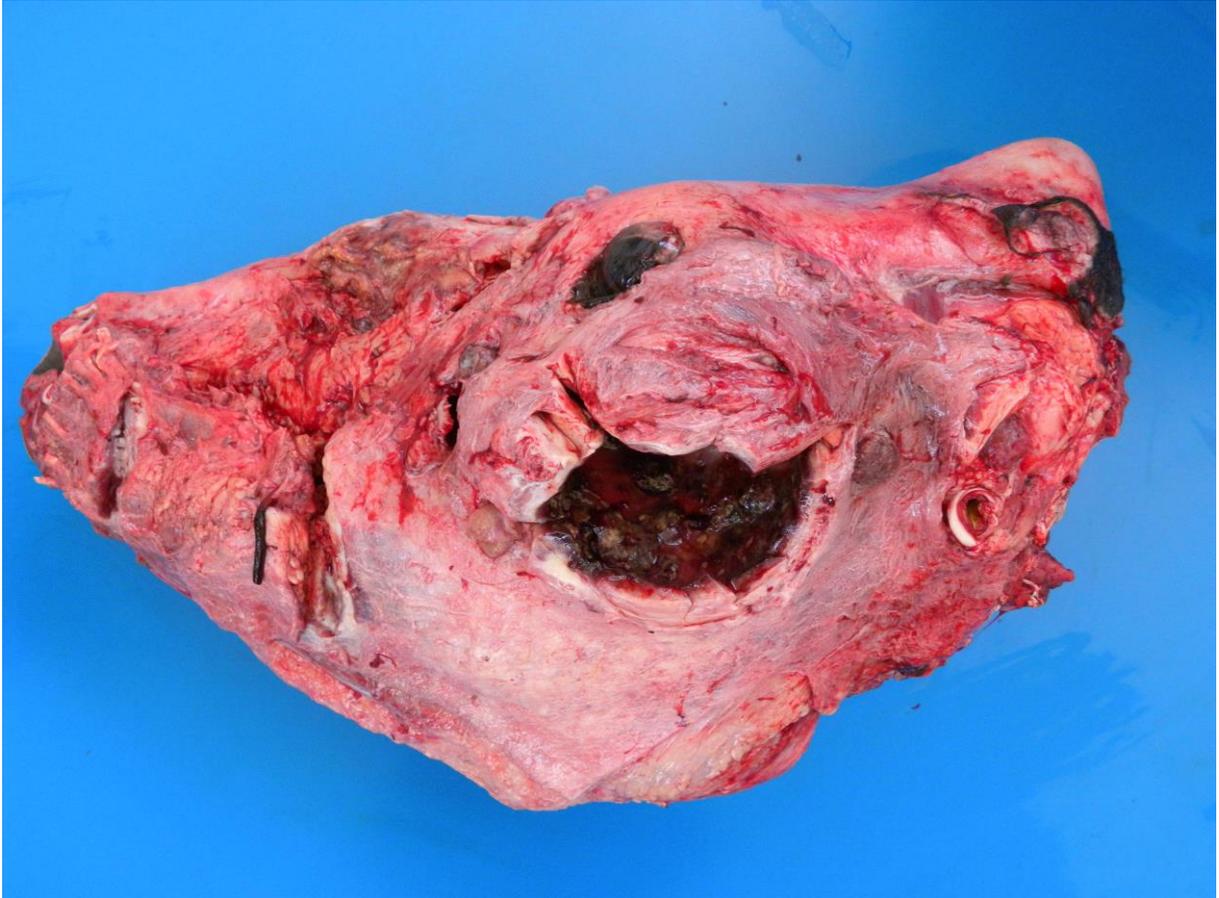


Fig.2. Actinomicose em bovino (Caso 2). Na região do masseter pode-se ver uma cavidade preenchida por material preto (necrose), friável e fétido.



Fig.3. Actinomicose em bovino (Caso 1). Na maxila direita há extensa massa óssea com múltiplos nódulos amarelos com aspecto caseoso, circundados por finos septos de tecido ósseo (osteomielite piogranulomatosa). A reação inflamatória causou destruição de parte dos cornetos nasais e obstrução quase que total da cavidade com desvio do septo nasal contralateral.

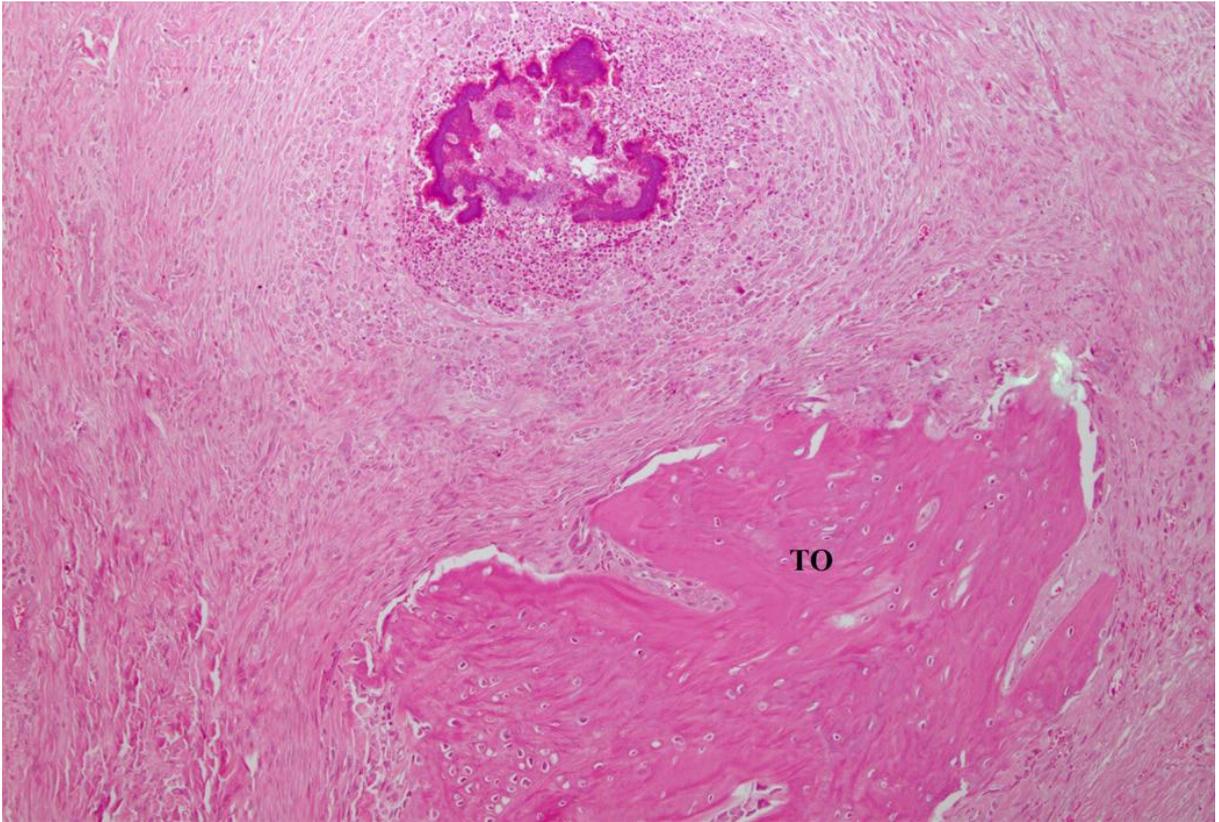


Fig.4. Actinomicose em bovino (Caso 1). Osteomielite piogranulomatosa. Piogranuloma em meio a trabéculas ósseas (TO). No centro desses piogranulomas (porção central superior da figura) podem ser observadas estruturas constituídas por uma massa interna de bacilos filamentosos que, na coloração de Gram, coravam-se de azul, e uma periferia com clavas eosinofílicas radiais (reação de Splendore-Hoeppli), circundadas por neutrófilos e macrófagos epitelioides. HE, obj.20x.

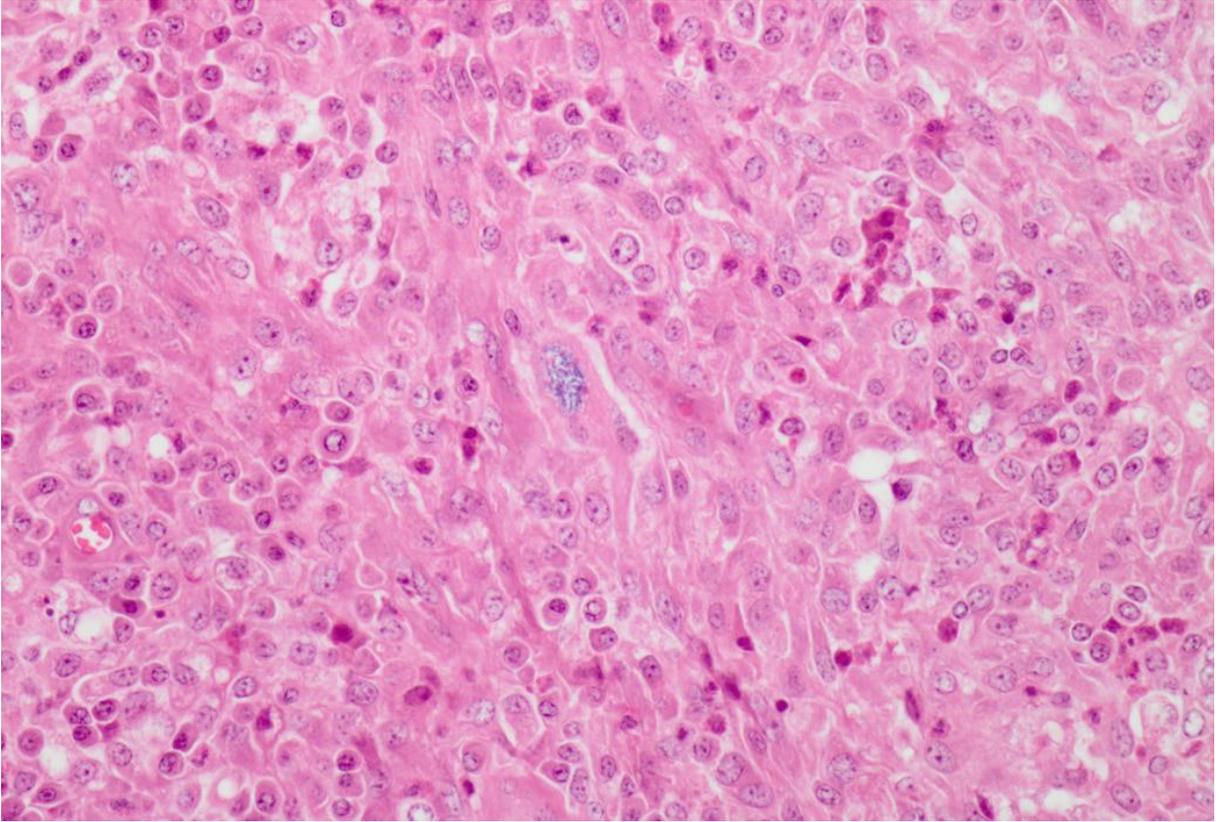


Figura 5. Actinomicose em bovino (Caso 1). Observam-se bacilos fracamente basofílicos no interior de grande macrófago epitelióide. HE, obj.40x.

### **3 ARTIGO 2 –Lesões granulomatosas encontradas em bovinos abatidos para consumo**

Bianca Tessele, Tessie Beck Martins, Andréia Vielmo e Claudio S. L. Barros

(Artigo publicado na revista *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(8):763-769, 2014)

## Lesões granulomatosas encontradas em bovinos abatidos para consumo<sup>1</sup>

Bianca Tessele<sup>2</sup>, Tessie Beck Martins<sup>2</sup>, Andréia Vielmo<sup>3</sup>e Claudio S.L. Barros<sup>4\*</sup>

**ABSTRACT.-** Tessele B., Martins T.B., Vielmo A. & Barros C.S.L. 2014. Lesões granulomatosas encontradas em bovinos abatidos para consumo. **[Granulomatous lesions found in cattle slaughtered for meat production]** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(8):763-769. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E-mail: [claudioslbarros@uol.com.br](mailto:claudioslbarros@uol.com.br)

In order to help professionals of veterinary medicine in recognizing bovine lesions found during meat inspection at slaughterhouses, three granulomatous conditions of cattle were researched and their morphological similarities and differences were assessed. These three granulomatous conditions were actinobacillosis (caused by *Actinobacillus lignieresii*), actinomycosis (caused by *Actinomyces bovis*) and staphylococcal mastitis (caused by *Staphylococcus aureus*). Out of 505 lesions found in cattle slaughtered for human consumption, 40 were one of the three granulomatous conditions: 24 were actinobacillosis, 10 were actinomycosis and six were staphylococcal mastitis. Overall the gross and histological features of these three diseases are quite similar but their location helps give away the etiology. *A. lignieresii* affected soft tissues, mainly those of tongue and lymphnodes of the head region; *A. bovis* affected bone tissue mainly that of the mandible; and *S. aureus* main targeted tissue was the mammary gland. Histologically the granuloma resulting from the infection with either one of these three causal agents contained centrally located amorphous, eosinophilic, club like structures surrounded by viable and dead neutrophils. These were surrounded by a mantle of epithelioid macrophages and occasional multinucleated giant cells. These macrophage mantles were irregularly infiltrate by lymphocytes and plasma cells which tended to accumulate to the periphery of the lesion which, in turn, was fenced by a fibrous connective capsule. Given the employment of adequate techniques the causative the agent could be seen within or surrounding the clublike structures in each the three types of granulomatous lesions. In the case of staphylococcal mastitis, intralesional cocci were observed both in HE and Gram stained preparations, in the latter as gram-positive cocci. The agent in actinobacillosis (gram-negative bacilli) and actinomycosis (gram-positive bacilli) could only be observed in Gram stained preparations. The differential diagnosis for these lesions is included in the discussion of this paper.

INDEX TERMS: Cattle, abattoir lesions, granulomatous inflammation, granulomas, *Actinobacillus lignieresii*, *Actinomyces bovis*, *Staphylococcus aureus*.

<sup>1</sup>Recebido em 31 de julho de 2014.

Aceito para publicação em 20 de agosto de 2014.

Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima 1000, Camobi, Santa Maria, RS 97105- 900, Brasil.

<sup>3</sup>Bolsista do PROBIC, FAPERGS, no Departamento de Patologia da UFSM, Santa Maria, RS.

<sup>4</sup>Departamento de Patologia, LPV- UFSM, Avenida Roraima 1000, Santa Maria, RS, 97105- 900, Brasil. Pesquisador 1A do CNPq.

\*Autor para correspondência: [claudioslbarros@uol.com.br](mailto:claudioslbarros@uol.com.br)

**RESUMO** - Com o objetivo de auxiliar profissionais médico veterinários no reconhecimento das lesões de bovinos encontradas na linha de inspeção de carnes em matadouros frigoríficos, três condições granulomatosas de bovinos foram pesquisadas e suas semelhanças e diferenças avaliadas. Essas três condições granulomatosas foram actinobacilose (causada por *Actinobacillus lignieresii*), actinomicose (causada por *Actinomyces bovis*) e mastite estafilocócica (causada por *Staphylococcus aureus*). Em 505 lesões encontradas em bovinos abatidos para consumo humano, 40 eram uma dessas três lesões granulomatosas: 24 eram actinobacilose, 10 eram actinomicose e seis eram mastite estafilocócica. De um modo geral, os aspectos macro e microscópicos dessas três lesões eram bastante semelhantes, mas suas localizações ajudavam a presumir sua etiologia. *A. lignieresii* afetou tecidos moles, principalmente língua e linfonodos da cabeça; *A. bovis* afetou o tecido ósseo, principalmente o da mandíbula; e *S. aureus* teve a glândula mamária como o tecido alvo. Histologicamente, os granulomas resultantes da infecção por qualquer um desses três agentes continham uma estrutura amorfa, eosinofílica, com clavas irradiadas, localizada centralmente; essa estrutura era rodeada por neutrófilos íntegros e degenerados, que, por sua vez, eram cercados por um manto de macrófagos epitelioides e ocasionais células gigantes multinucleadas. Esses mantos de macrófagos eram irregularmente infiltrados por linfócitos e plasmócitos que tendiam a se acumular na periferia da lesão, que era cercada por uma cápsula de tecido conjuntivo. Dependendo da aplicação do método de coloração adequado, o agente etiológico podia ser visto em cada um dos três tipos de lesão granulomatosa. No caso da mastite estafilocócica, cocos intralesionais foram observados tanto nas colorações por HE como nas de Gram, nessa última como cocos gram-positivos. O agente da actinobacilose (bacilos gram-negativos) e da actinomicose (bacilos gram-positivos) pôde ser observado somente nas colorações de Gram. Os diagnósticos diferenciais para essas três condições são discutidos.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Bovinos, lesões de matadouro, inflamação granulomatosa, granulomas, *Actinobacillus lignieresii*, *Actinomyces bovis*, *Staphylococcus aureus*.

## INTRODUÇÃO

Actinobacilose, actinomicose e mastite estafilocócica são doenças bacterianas infecciosas observadas comumente em bovinos destinados ao abate. Embora as lesões provocadas por esses agentes tenham localizações bem definidas, microscopicamente são virtualmente idênticas, caracterizadas por reação granulomatosa típica ao redor de estruturas conhecidas como fenômeno de Splendore-Hoeppli (Till & Palmer 1960; Schlafer & Miller 2007; Thompson 2007). Em 2012, apenas no estado do Rio Grande do Sul, foram documentadas pelo serviço de inspeção federal (SIF), mais de 12 mil condenações por actinobacilose e mais de 700 por actinomicose (Brasil 2012). Não há dados disponíveis em relação à mastite estafilocócica, pois no quadro de condenações do SIF as mastites não são classificadas separadamente por etiologia.

A actinobacilose é caracterizada por inflamação em tecidos moles, comumente língua e linfonodos da cabeça e pescoço (Gelberg 2012). Apresentações mais raras da doença em bovinos ocorrem na cavidade nasal, nas glândulas salivares, nos pulmões, na pele, no tecido subcutâneo da cabeça e pescoço, no esôfago, estômagos e omento (Till & Palmer 1960, Mortimer 1962, Campbell et al. 1975, Sheikh-Omar 1980, Rebhun et al. 1988, Radostits et al. 2007). Actinobacilose generalizada foi descrita envolvendo coração, fígado, rins e linfonodos cervicais (Franco 1970). A doença é causada por *Actinobacillus lignieresii*, cocobacilo gram-

negativo, comensal do trato digestório de bovinos. Alimentos fibrosos ou grosseiros e erupções ou abrasões dentárias possibilitam a invasão do agente e seu acesso aos linfonodos regionais ou outros órgãos por via linfática ou sanguínea. A infecção pode ocorrer, também, por via aerógena, ocasionando a forma pulmonar da doença (Méndez & Riet-Correa 2007), ou de modo iatrogênico (Rebhun et al. 1988).

Actinomicose em bovinos é uma osteomielite e, embora já tenha sido descrita em diferentes regiões anatômicas, como pênis e traqueia (Basile & Diniz 1979, Bertonce & Rebhun 1984), a lesão clássica é localizada na mandíbula e, mais raramente, na maxila (Wilson 2005, Thompson 2007, Tessele et al. 2014). É causada por *Actinomyces bovis*, bacilo filamentosos gram-positivo, comensal da cavidade oral, porém lesões da mucosa oral por corpos estranhos ou outros agentes proporcionam a invasão dos tecidos pelo micro-organismo. A osteomielite desenvolve-se por extensão direta por infecção na gengiva ou periodontal ou através dos vasos linfáticos (Thompson 2007).

*Staphylococcus aureus* é reconhecido como o patógeno frequentemente isolado em casos de mastite em muitas espécies, especialmente em porcas (Brown et al. 2007). Está relacionado entre os micro-organismos mais contagiosos e responsável por grandes prejuízos à pecuária leiteira (Fagundes & Oliveira 2004; Ferreira et al. 2006). *S. aureus* é um coco gram-positivo de aproximadamente 1µm de diâmetro, coagulase-positivo, que tende a formar agrupamentos em arranjos semelhantes a cachos de uva (Quinn et al. 2005). As cepas de *S. aureus* isoladas da glândula mamária bovina variam de não patogênicas a altamente patogênicas. A forma mais grave de mastite estafilocócica é a forma gangrenosa, normalmente observada logo após o parto. Na mastite estafilocócica crônica há formação de abscessos. Ocasionalmente nessa forma, os micro-organismos apresentam-se rodeados por rosetas de material claviforme (reação de Splendore-Hoeppli), nesses casos o termo botriomicose é aplicado às lesões (Foster 2013). *Staphylococcus* spp. produzem vários fatores de virulência que contribuem para que a bactéria rompa as defesas fagocíticas do hospedeiro, favorecendo a instalação e manutenção do micro-organismo nos tecidos (Coelho et al. 2011). Esses fatores de virulência incluem os polissacarídeos capsulares que bloqueiam a fagocitose por neutrófilos e macrófagos, levando à cronificação da inflamação com fibrose, que é uma manifestação comum da mastite provocada por *S. aureus* (Zachary 2012).

O objetivo deste trabalho é fazer uma descrição macro e microscópica das principais doenças granulomatosas bacterianas observadas em bovinos destinados a abatedouros-frigoríficos, avaliando meios de diagnóstico diferencial, com a finalidade de auxiliar profissionais da inspeção e médicos veterinários patologistas no seu reconhecimento.

## MATERIAL E MÉTODOS

De janeiro de 2011 a julho de 2014 amostras de lesões de bovinos destinados ao abate foram recebidas no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e visitas periódicas a diferentes abatedouros-frigoríficos foram realizadas para colher amostras das lesões observadas na linha de abate. O material foi fotografado e fragmentos dos tecidos foram colhidos, fixados em formol a 10%, clivados e processados para exame histológico de rotina. Os casos de lesões granulomatosas foram selecionados e, dessas lesões, adicionalmente à coloração por hematoxilina eosina (HE), várias secções foram coradas pela técnica de Gram MacCallum-Goodpasture.

## RESULTADOS

Durante 43 meses foram colhidas, em matadouros-frigoríficos, 505 amostras de lesões em tecidos de bovinos de diferentes regiões do Brasil. Dessas 505 amostras, 24 foram de actinobacilose (5%), 10 de actinomicose (2%) e seis de mastite estafilocócica (1%). Dos 24 casos de actinobacilose, oito afetaram apenas a língua; sete apenas os linfonodos retrofaríngeos; três as bochechas; um os pulmões; um o fígado; um a musculatura esquelética da região cervical; um afetou concomitantemente a língua e os linfonodos retrofaríngeos; um o fígado e os pulmões concomitantemente; e, em um caso, foram afetados vários locais da cabeça incluindo língua, linfonodos retrofaríngeos, músculos mastigatórios e lábios.

Os tecidos afetados por *A. lignieresii* apresentaram-se aumentados de volume com múltiplos nódulos de dimensões variadas e firmes, rodeados por tecido brancacento. Os nódulos eram constituídos por tecido marrom claro, macio e continham pequenos pontos amarelos que, quando pressionados, deixavam sobressair gotas de líquido viscoso amarelo. No centro dessas áreas, principalmente em lesões de linfonodos, observava-se pus amarelo espesso, brilhoso, com alta coesão (não se dissociava) e baixa adesividade (desprendia-se facilmente da parede do tecido inflamatório) (Fig.1). As lesões na língua eram tipicamente constituídas por múltiplos nódulos firmes (Fig.2) que ao corte apresentavam o mesmo aspecto que as lesões de outros locais, mas sem a presença abundante de pus no centro da lesão. Em um dos casos de actinobacilose hepática (Fig.3), em meio ao tecido inflamatório observava-se material necrótico enegrecido. Nos dois casos em que os pulmões foram afetados, os nódulos estavam restritos a apenas um dos lobos pulmonares.

Dos 10 casos de actinomicose, oito apresentaram a forma clássica da doença, com a lesão restrita ao osso mandibular, e dois casos tiveram uma apresentação atípica, em que a lesão envolvia o osso maxilar com invasão e obstrução quase completa da cavidade nasal. Esses dois casos de lesões atípicas foram relatados separadamente (Tessele et al. 2014). Em todos os casos, as lesões macroscópicas foram caracterizadas por osteomielite proliferativa unilateral com áreas piogranulomatosas circundadas por septos de tecido ósseo (Fig.4). Muitos nódulos estavam necróticos evidenciados por áreas verdes escuras. Frequentemente, observaram-se fístulas, que se estendiam até os tecidos moles e drenavam fluido espesso branco-amarelado e com grânulos amarelos.

Nos casos de mastite estafilocócica a glândula mamária estava aumentada de volume e firme devido à múltiplos nódulos amarelos de diferentes tamanhos circundados por bandas de tecido fibroso brancacento (Fig. 5). No centro desses nódulos foram observados pequenos pontos de material purulento.

Microscopicamente, as lesões dos casos de actinobacilose, actinomicose e mastite estafilocócica eram muito semelhantes. Foram caracterizadas por múltiplos piogranulomas constituídos por uma massa de estruturas eosinofílicas em forma de clavias dispostas radialmente (fenômeno de Splendore-Hoeppli). As clavias eram cercadas por quantidade variável de neutrófilos íntegros ou degenerados que, por sua vez, eram rodeados por macrófagos epitelioides, com ocasionais células gigantes multinucleadas (Fig.6). Ocasionalmente, fragmentos das clavias eosinofílicas eram observados no citoplasma de células gigantes. Infiltrado de linfócitos e plasmócitos ocorriam periféricamente associado ao tecido conjuntivo neoformado. Mineralização nas áreas centrais dos piogranulomas foi um achado frequente. Nos casos de mastite estafilocócica, os cocos bacterianos eram facilmente visíveis no centro dos piogranulomas pela coloração de HE (Fig. 7).

Pela técnica de Gram pôde-se evidenciar a morfologia bacteriana no centro dos piogranulomas. Todos os casos de actinobacilose foram caracterizados pela presença de pequena quantidade de cocobacilos gram-negativos (Fig. 8). Nos casos de actinomicose evidenciou-se grande quantidade de bacilos filamentosos gram-positivos (Fig.9). Nos casos de mastite estafilocócica os micro-organismos gram-positivos observados associados às lesões eram agrupamentos de cocos (Fig. 10).

## DISCUSSÃO

As lesões histológicas de actinobacilose, actinomicose e mastite estafilocócica são muito semelhantes, praticamente impossíveis de diferenciar pela coloração por HE, a não ser pelo conhecimento da localização anatômica de cada condição e, no caso da mastite, pela fácil visualização dos organismos cocoides no centro dos piogranulomas (Schlafer & Miller 2007). A actinobacilose é uma doença que afeta exclusivamente os tecidos moles, preferencialmente língua e linfonodos regionais (Wilson 2005), como se pôde perceber em nosso estudo, em que, dos 24 casos de actinobacilose, 16 estavam localizados nesses sítios anatômicos, perfazendo 67% de todos os casos. Já a actinomicose é caracterizada por causar osteomielite, principalmente no osso mandibular (Wilson 2005, Thompson 2007) e a mastite estafilocócica por afetar exclusivamente a glândula mamária, uma condição conhecida como botriomicose (Foster 2012).

Alguns autores afirmam que a diferenciação entre actinomicose e actinobacilose pode ser feita pela morfologia das colônias e da reação de Splendore-Hoeppli. Na actinomicose, as primeiras seriam maiores e a última apresentaria clavas menores e menos definidas, geralmente localizadas na periferia das colônias (Till & Palmer 1960). A morfologia dos micro-organismos em nossos casos pôde ser percebida após a coloração pela técnica de Gram, que evidenciou agrupamentos formados por numerosos bacilos filamentosos gram-positivos nos casos de actinomicose, diferentemente dos bacilos gram-negativos da actinobacilose, que eram pequenos e pouco numerosos em todos os casos. A distribuição das clavas eosinofílicas perifericamente foi observada na maioria das reações de Splendore-Hoeppli dos casos de actinomicose. Isoladamente, a morfologia dessa estrutura não parece ser uma característica confiável para definir o diagnóstico, uma vez que em alguns casos de actinobacilose e de mastite estafilocócica foi evidenciada distribuição semelhante.

Houve grande variação na quantidade de tecido conjuntivo fibroso nos diferentes casos desse estudo, porém isso não parece estar relacionado mais com uma ou outra condição, uma vez que a quantidade de tecido fibroso presente depende da duração do processo inflamatório e do edema (Gelberg 2012). É essa extensa proliferação de tecido conjuntivo fibroso que faz com que a língua de bovinos afetados por actinobacilose fique firme ou dura, muitas vezes contraída e imóvel, dificultando a apreensão de alimentos, motivo da denominação coloquial “língua de pau” para a condição (Radostits et al. 2007).

Os pequenos grânulos amarelos observados macroscopicamente nos tecidos afetados são denominados coloquialmente de “grãos de enxofre” devido à sua cor (Brewer 1956) e foram especialmente visíveis nos casos de actinobacilose e actinomicose. Esses grânulos representam as colônias bacterianas e, microscopicamente, correspondem à reação de Splendore-Hoeppli (Miller & Haddad 1998). Esse fenômeno, que corresponde a agregados proteínicos eosinofílicos de imunoglobulinas, embora seja comum nos casos de actinobacilose, actinomicose e mastite estafilocócica, não é exclusivo dessas condições. Exemplos menos comuns de lesões microscópicas similares incluem infecção por *Nocardia*, vários agentes associados com

micetomas (Brown et al. 2007) e granulomas produzidos por *Mannheimia granulomatis* (Ladeira 2007). Estruturas semelhantes à reação de Splendore-Hoeppli foram descritas em piogranulomas parasitários por *Oesophagostomum* em bovinos (Tessele et al. 2013).

Os casos de actinobacilose e actinomicose com localizações atípicas que alguns bovinos desse estudo apresentaram, como pulmão, musculatura esquelética, lábio e fígado e osso maxilar, podem dificultar o diagnóstico macroscópico por profissionais médicos veterinários durante a inspeção de carnes ou durante o exame clínico ou de necropsia. Algumas características são importantes e devem ser cuidadosamente avaliadas. Uma delas é a presença de pus amarelo espesso, brilhoso, com alta coesão e baixa adesividade frequentemente associado aos nódulos de actinobacilose, principalmente aos dos linfonodos (Jones et al. 1997). Esse material é mais brilhante do que o material caseoso observado em casos dos tubérculos. Nessa última condição, o material caseoso revela uma consistência arenosa quando a lesão é cortada com a faca. Essa consistência arenosa é dada pela mineralização da necrose central nos granulomas de tuberculose, aspecto que não ocorre na actinobacilose. Além disso, os nódulos na actinobacilose tendem a sobressair ao tecido adjacente, diferentemente das lesões tuberculosas, que são planas, quando não calcificadas. (Wilson 2005). Em nossos casos de actinobacilose hepática, os pequenos pontos de pus, que foram observados na periferia da lesão, auxiliaram no diagnóstico macroscópico dessa condição. Já nos dois casos de actinomicose no osso maxilar, devido à grande extensão das lesões e às características invasivas, o carcinoma de células escamosas intranasal foi incluído no diagnóstico diferencial (Wilson & Dungworth 2002, Tessele et al. 2014).

Concluindo, lesões com os aspectos macro e microscópicos descritos neste estudo devem ser consideradas da seguinte maneira: actinobacilose se foram encontradas nos tecidos moles, com exceção da mama, como actinomicose se forem encontradas no tecido ósseo e como mastite estafilocócica (botriomicose) se forme encontradas na glândula mamária. Em colorações de Gram no material histológico, esse diagnóstico inicial pode ser confirmado: na actinobacilose serão observados cocobacilos gram-negativos, na actinomicose bacilos filamentosos gram-positivos e na mastite estafilocócica cocos gram-positivos.

## REFERÊNCIAS

- Brasil 2012. Destino de matérias-primas e produtos por UF. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Brasília. 11p.
- Brown C.C., Baker D.C. & Barker I.K. 2007. Alimentary system. p.1-296. In: Maxie M.G. (Ed.) Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Vol. 23. 5th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Campbell S.G., Whitlock T.R.H., Timoney J.F. & Underwood A.M. 1975. An unusual epizootic of actinobacillosis in dairy heifers. J. Am. Vet. Med. Assoc. 166:604-606.
- Coelho S.M.O., Pereira I.A., Soares L.C., Pribul B.R. & Souza M.M.S. 2011. Profile of virulence factors of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in the state of Rio de Janeiro, Brazil. J. Dairy Sci. 94:3305-3310.
- Fagundes H. & Oliveira C.A.F 2004. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. Ciência Rural. 34:1315-1320.

- Ferreira L.M., Nader Filho A., Oliveira E., Zafalon L.F. & Souza V. 2006. Variabilidades fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. *Ciência Rural* 36:1228-1234.
- Foster R.A. 2012. Female reproductive system and mammary gland, p. 10858-1126. In: Zachary J.F. & McGavin M.D. (Eds) *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5<sup>th</sup>ed. Elsevier, St Louis.
- Franco D.A. 1970. Generalized actinobacillosis in a Holstein cow (postmortem lesions). *Vet. Med. Sm. Anim. Clin.* 65:562.
- Gelberg H.B. 2012. Alimentary System and peritoneum, omentum, mesentery, and peritoneal cavity, p.322-404. In: Zachary J.F. & McGavin M.D. (Eds) *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5<sup>th</sup>ed. Elsevier, St Louis.
- Jones T.C. Hunt R.D. & King N.W. 1997. *Actinobacillus lignieresii*, p. 456-457. In: *Ibid* (Eds) *Veterinary Pathology*. 6<sup>th</sup> ed. Williams & Wilkin, Baltimore.
- Ladeira S.R.L. 2007. Lechiguana, p. 325-330. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. 2007. *Doenças de Ruminantes e Eqüídeos*. Vol.1. Pallotti, Santa Maria.
- Méndez M.C. & Riet-Correa F. 2007. Actinobacilose, p. 208-212. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. *Doenças de Ruminantes e Eqüídeos*. Vol.1. Pallotti, Santa Maria.
- Mortimer P. H. 1962. An extrathoracic oesophageal lesion, later attributed to actinobacillosis, causing unusual symptoms in a dairy cow. *Vet.Rec.* 74:392-394.
- Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J., Leonard F.C. 2005. Gênero *Staphylococcus*, p.55-60. In: *Ibid*. *Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas*. Artmed, Porto Alegre.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W. & Constable P.D. 2007. Diseases associated with bacteria, p. 1007-1060. In: *Ibid*. *Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. Saunders Elsevier, Spain.
- Rebhun W.C., King J.M. & Hillman R.B. 1988. Atypical actinobacillosis granulomas in cattle. *Cornell Vet.* 78:125-130.
- Schlafer D.H. & Miller R.B, 2007. Female genital system, p. 429-564. In: Maxie M.G. (Ed.) *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Vol.3. 5<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Sheikh-Omar A.R. 1980. Actinobacillosis of the omentum in a cow. *Pertanika*. 3:64-65.
- Tessele B., Brum J.S. & Barros C.S.L. 2013. Lesões parasitárias encontradas em bovinos abatidos para consumo humano. *Pesq. Vet. Bras.* 33:873-889.
- Tessele B., Vielmo A., Hammerschmitt M.E. & Barros C.S.L. 2014. Actinomicose atípica em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 34:663-666.
- Thompson K. 2007. Bones and joints, p. 1-184. In: Maxie M.G. (Ed.) *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Vol.1. 5<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Till D.H. & Palmer F.P. 1960. A review of actinobacillosis with a study of the causal organism. *Vet. Rec.* 72:527-534.
- Wilson D.W. & Dungworth D.L. 2002. Tumors of the respiratory tract, p.365-399. In: Meuten D.J. (Ed.) *Tumors in Domestic Animals*. Iowa State Press, Ames.
- Wilson W.G. 2005. Specific diseases, p.112-136. In: *Ibid* (Ed.) *Wilson's Practical Meat Inspection*. 7<sup>th</sup> ed. Blackwell, Oxford.

Zachary J.F. 2012. Mechanisms of microbial infection, p. 147-241. In: Zachary J.F. & McGavin M.D. (Eds) Pathologic Basis of Veterinary Disease. 5<sup>th</sup>ed. Elsevier, St Louis.

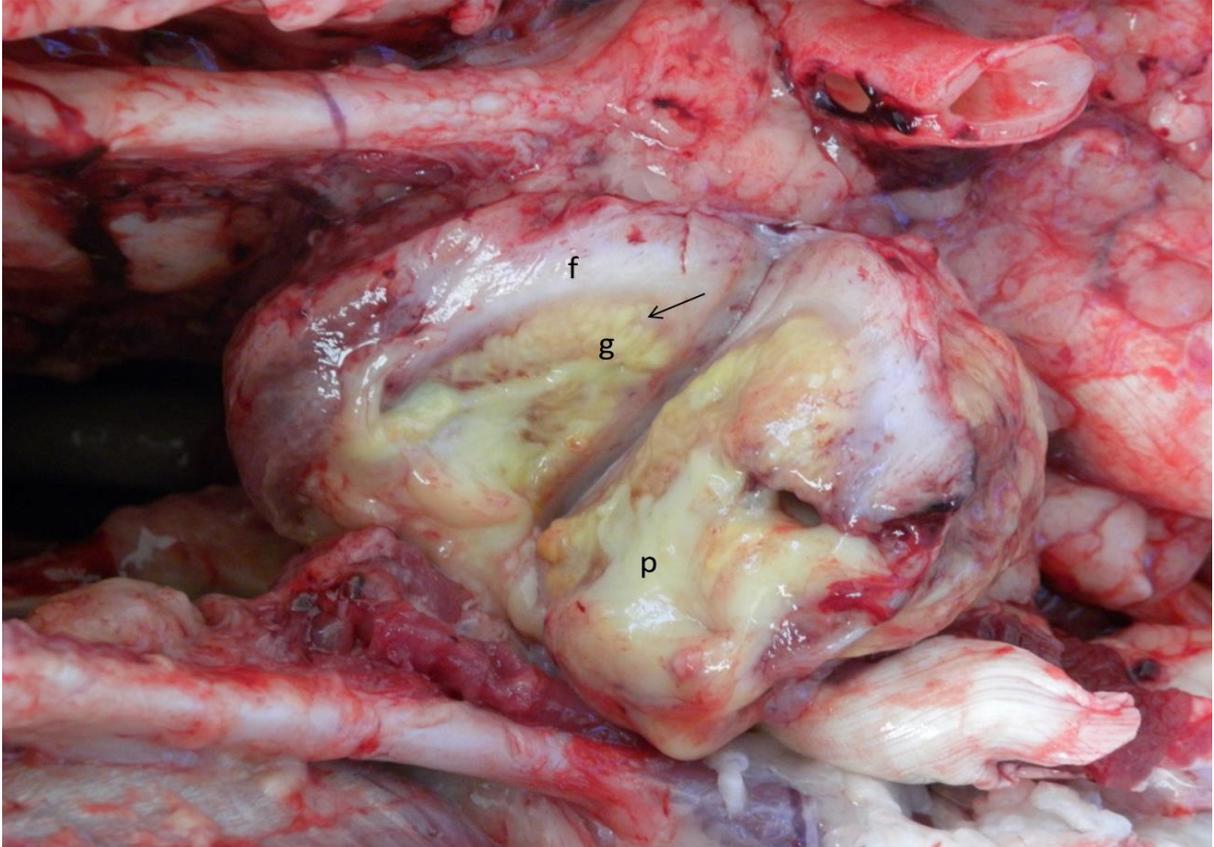


Fig.1. Lesão de actinobacilose no linfonodo retrofaríngeo de um bovino. Os piogranulomas encontram-se rodeados por tecido fibroso brancacento (f). Os nódulos piogranulomatosos são constituídos por tecido marrom claro, macio (g) e contêm pequenos pontos amarelos (seta) que, quando pressionados deixam fluir pequenas gotas de líquido amarelo viscoso. No centro dessas áreas observa-se pus amarelo espesso (p), brilhoso, com alta coesão e baixa adesividade.

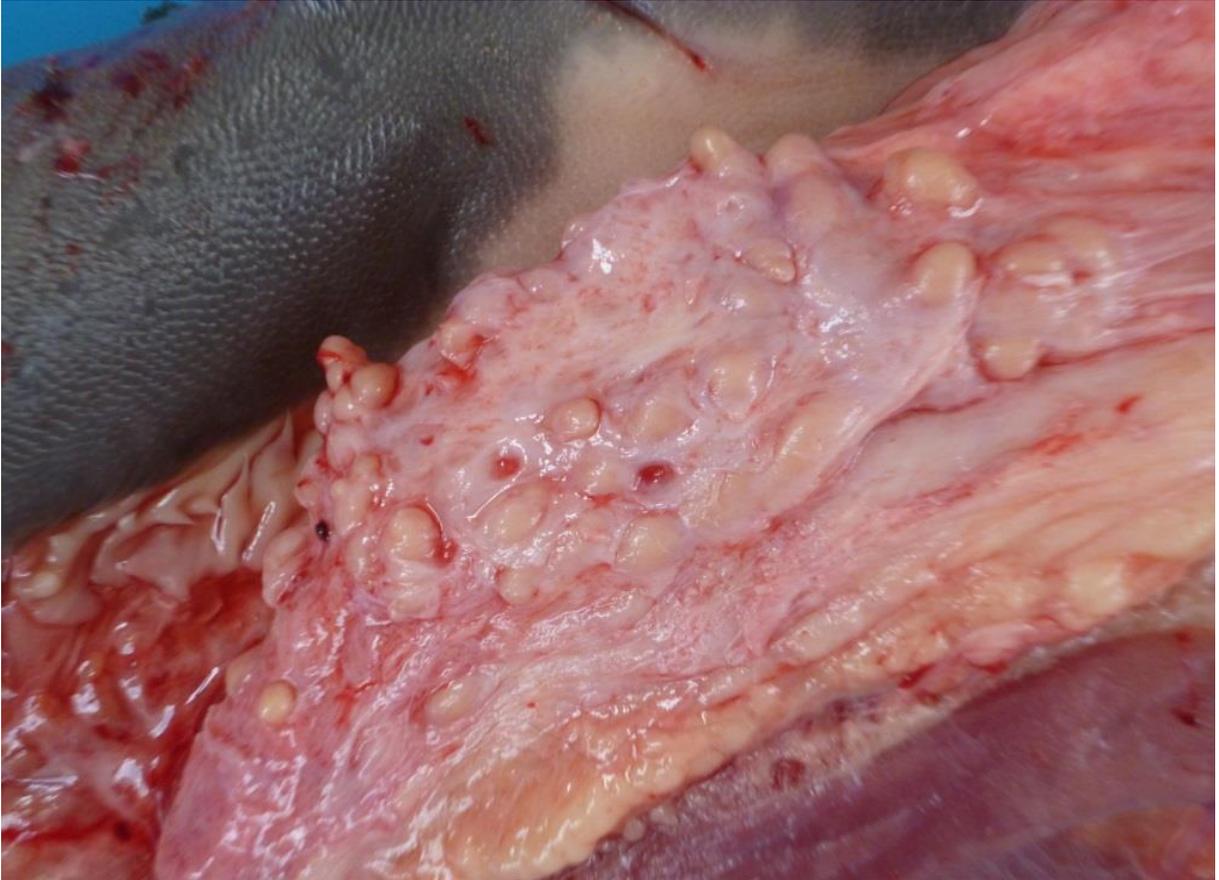


Fig.2. Lesão de actinobacilose na língua de um bovino. Múltiplos nódulos firmes são observados. Ao corte, esses nódulos apresentavam o mesmo aspecto que a lesão descrita na Fig.1, mas sem a presença abundante, no centro da lesão, de pus amarelo espesso, com alta coesão e baixa adesividade.

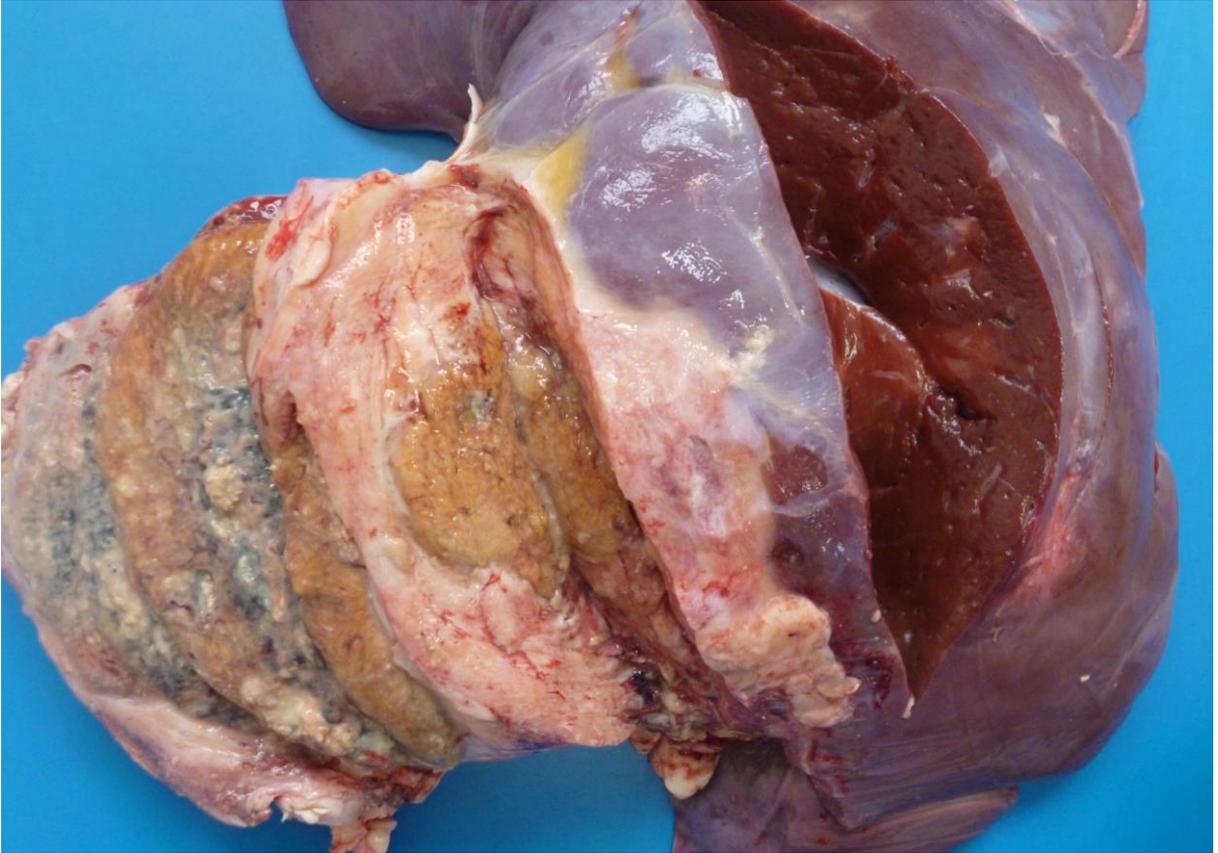


Fig.3. Lesão de actinobacilose no fígado de um bovino. Observe o tecido necrótico enegrecido.

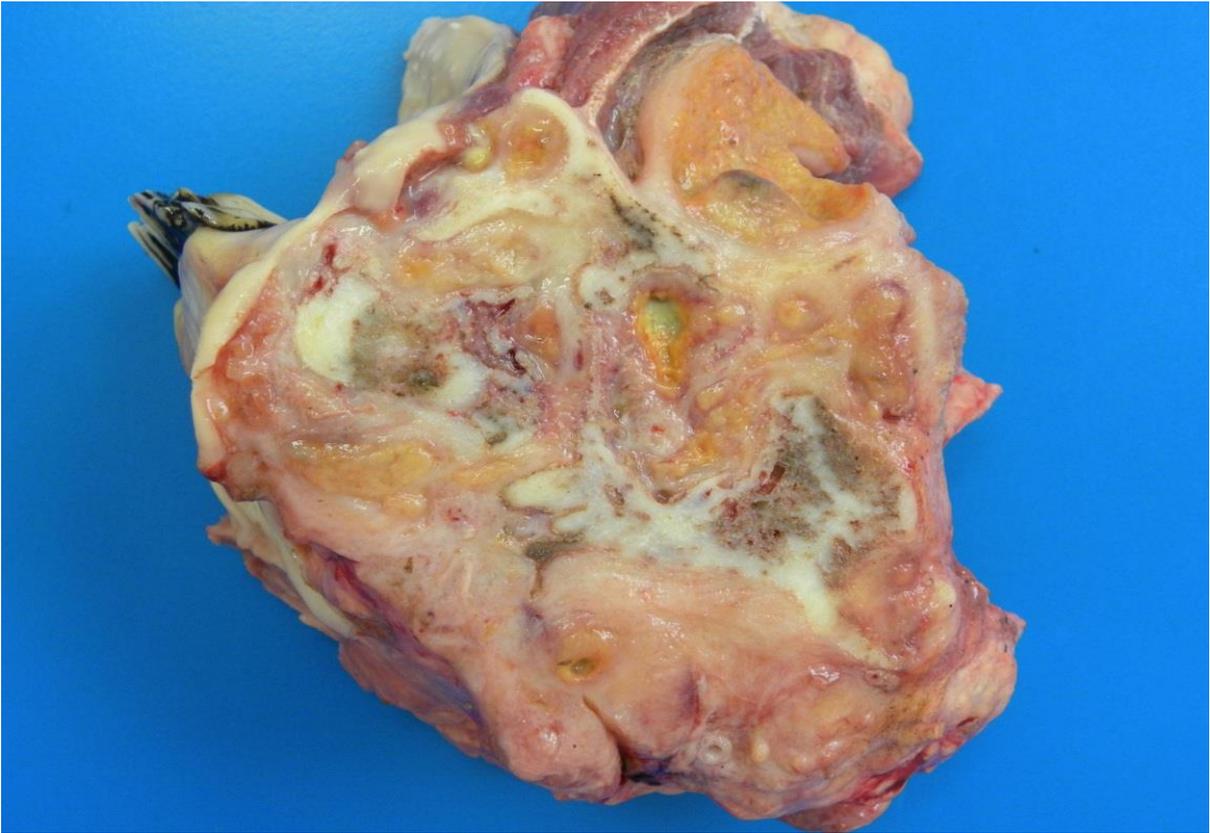


Fig.4. Actinomicose na mandíbula de um bovino. Múltiplos piogranulomas circundados por septos de tecido ósseo. A proliferação óssea associada à osteíte piogranulomatosa causa o aumento de volume da mandíbula.

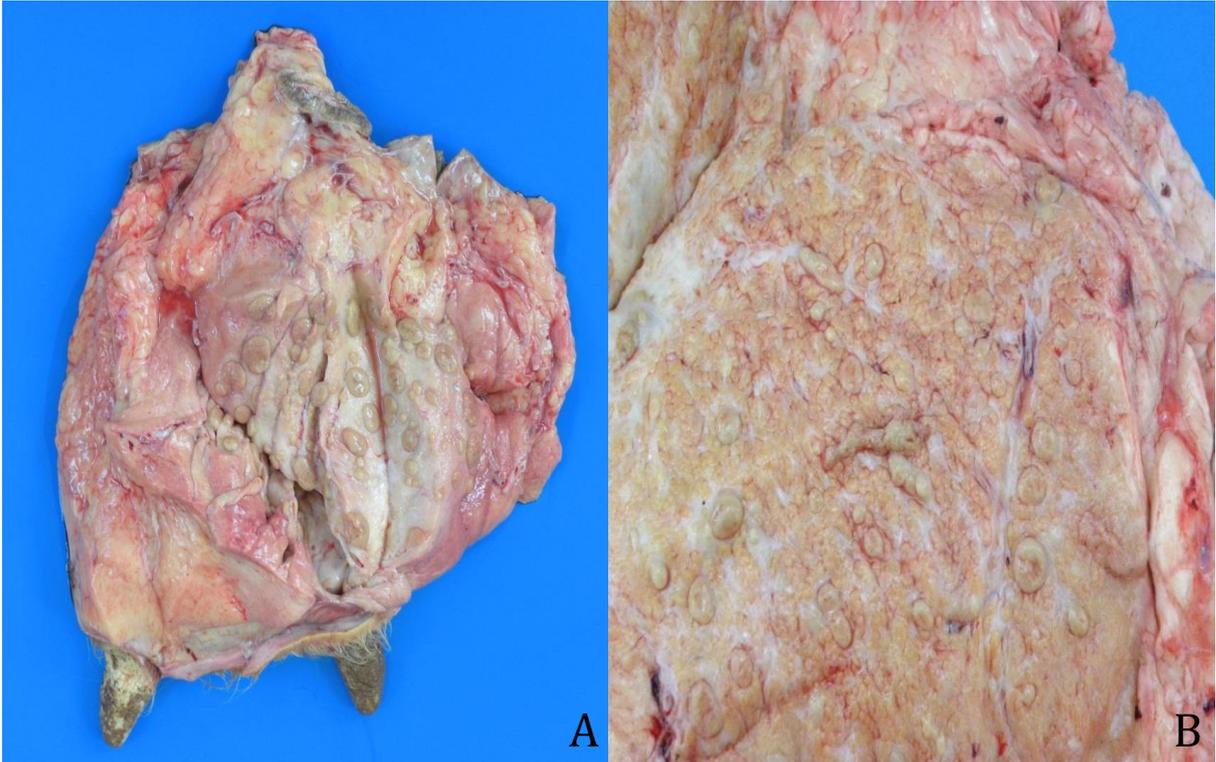


Fig.5 Mastite estafilocócica em bovino. (A) A glândula mamária esta aumentada de volume e firme. Observam-se múltiplos nódulos marrons claros de diferentes tamanhos circundadas por bandas de tecido fibroso brancacento. No centro desses nódulos podem ser observados pequenos pontos de material purulento, semelhantes aos encontrados nos casos de actinobacilose e actinomicose. (B) Maior aproximação mostrando os nódulos piogranulomatosos que se salientam do tecido mamário.

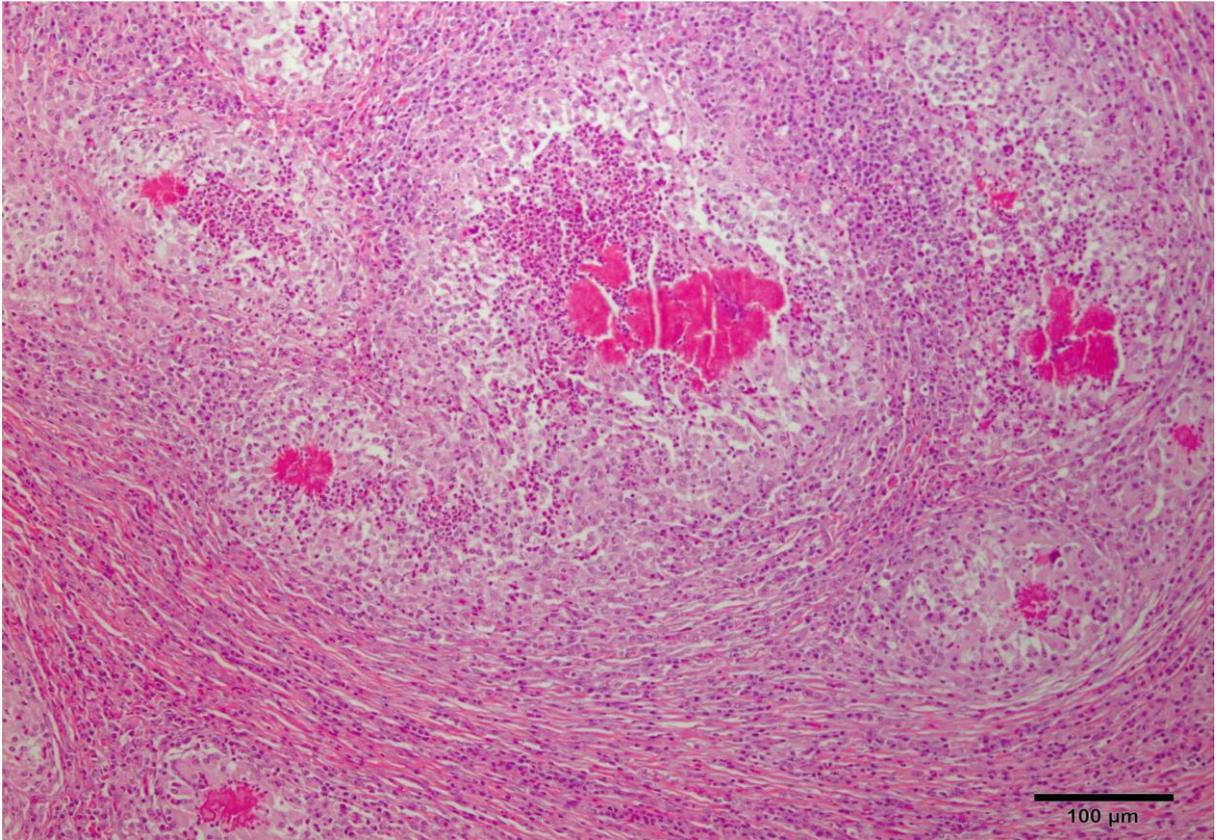


Fig. 6. Aspecto histológico da lesão de actinobacilose no músculo da região cervical de um bovino. Podem ser observados múltiplos piogranulomas (oito nesta ilustração) constituídos por estruturas eosinofílicas em forma de clavas, dispostas radialmente. Essas estruturas são conhecidas como fenômeno de Splendore Hoeppli (SP). As clavas são cercadas por quantidade variável de neutrófilos (N) que são rodeados por macrófagos epitelioides (E). Infiltrado de linfócitos e plasmócitos (LP) ocorria periféricamente associado ao tecido conjuntivo (TC) neoformado. HE. Obj.20.

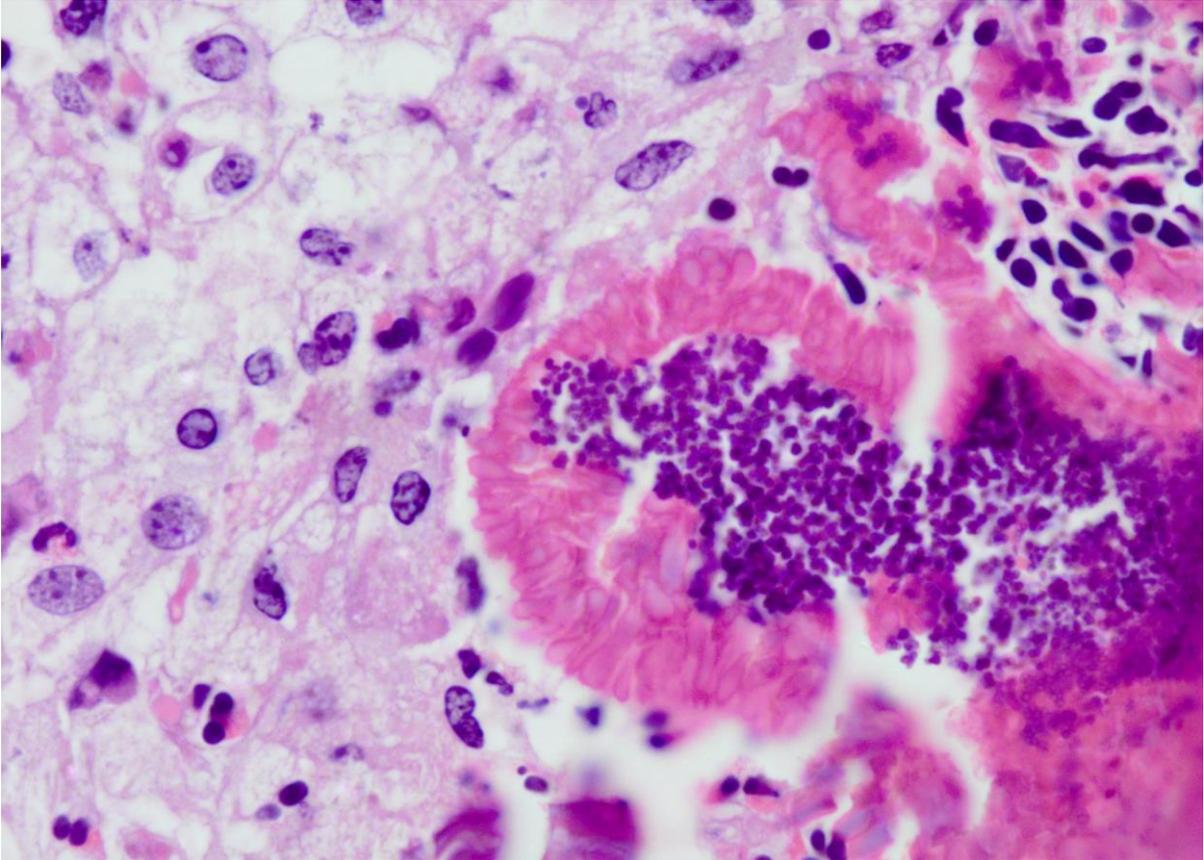


Fig. 7. Aspecto histológico da mastite estafilocócica em bovinos. Bactérias cocoides podem ser observadas em meio à estrutura eosinofílica em forma de clava (à direita). À esquerda observam-se macrófagos epitelioides. HE. Obj.40

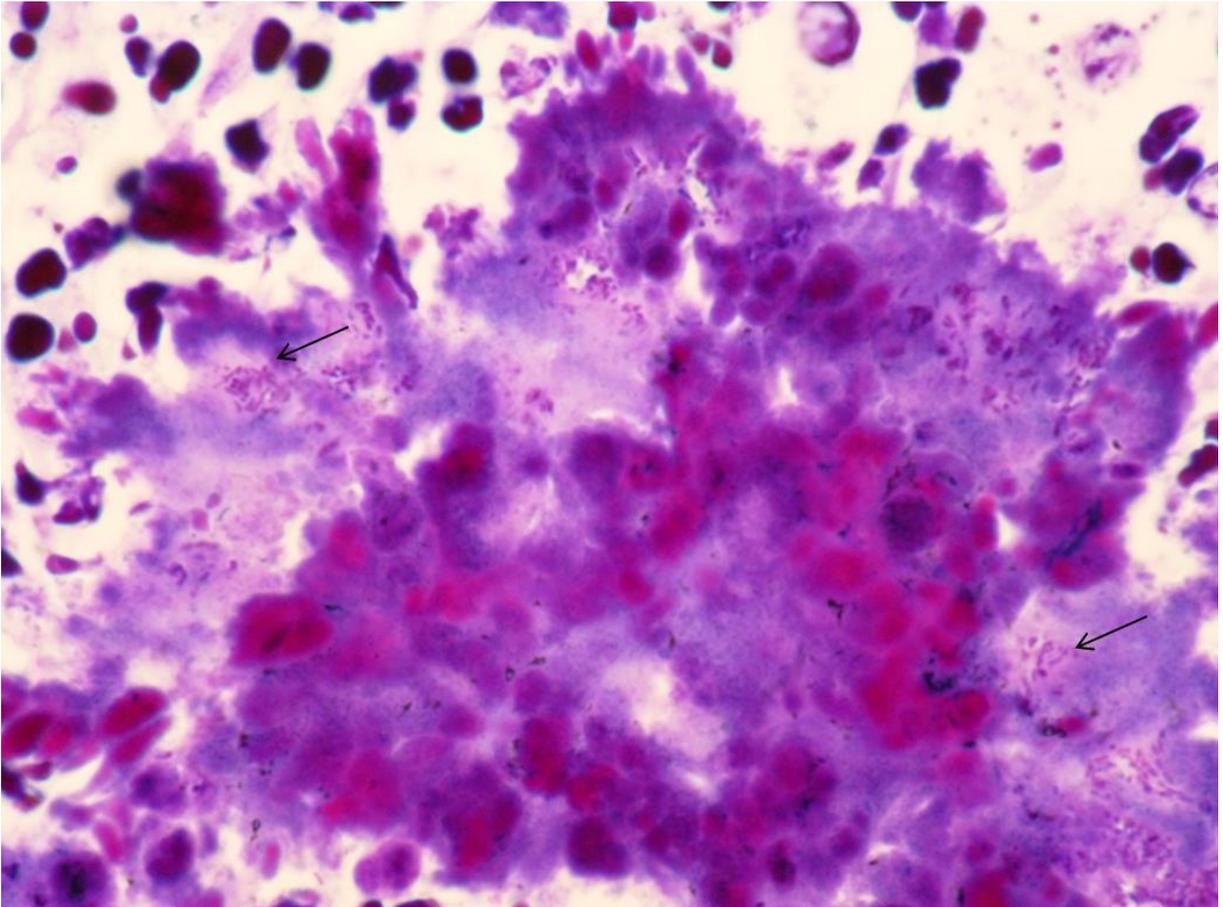


Fig. 8. Aspecto histológico da actinobacilose em bovino. As lesões estão associadas à pequena quantidade de cocobacilos gram-negativos (corados em vermelho [setas]). MacCallum-Goodpasture. Obj. 100 (imersão)

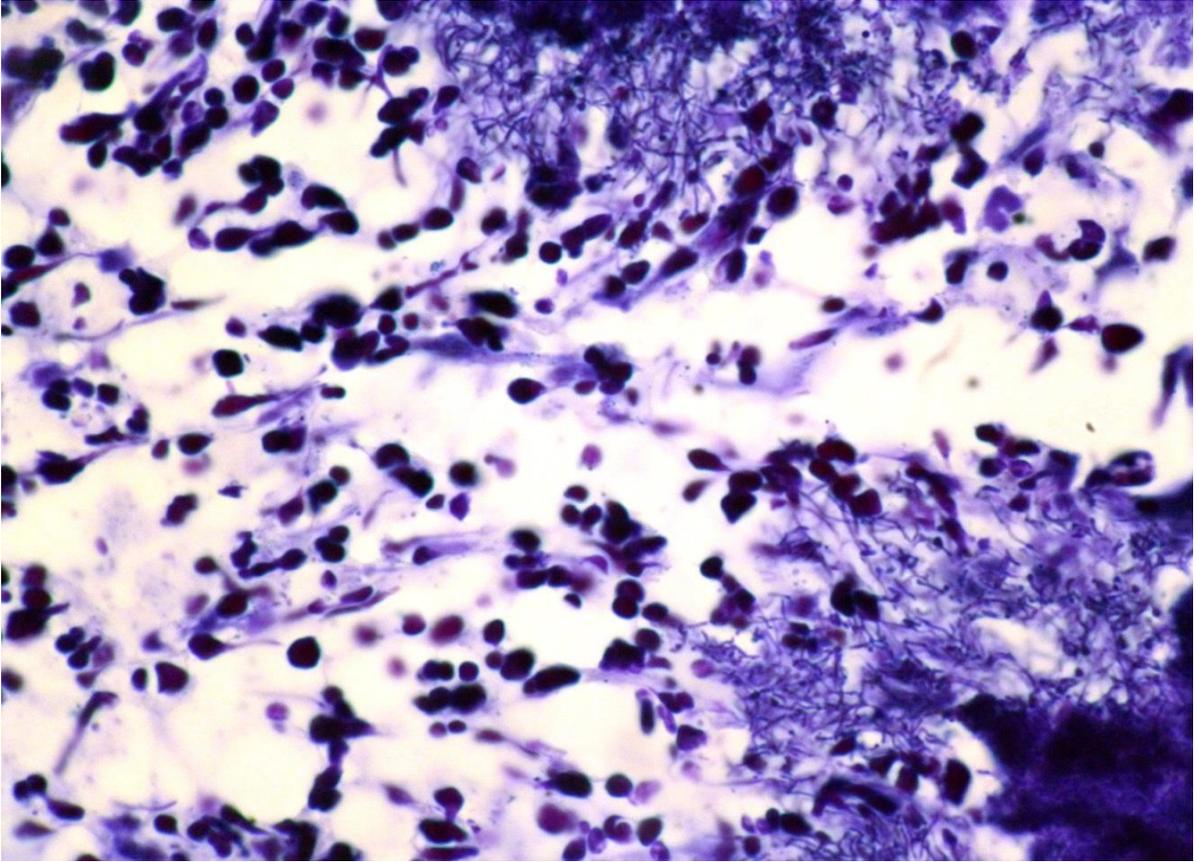


Fig. 9. Aspecto histológico da actinomicose em bovino. Aglomerados de bacilos filamentosos gram-positivos (corados em azul) podem ser observados nos cantos superior e inferior direitos da figura. MacCallum-Goodpasture. Obj. 100 (imersão).

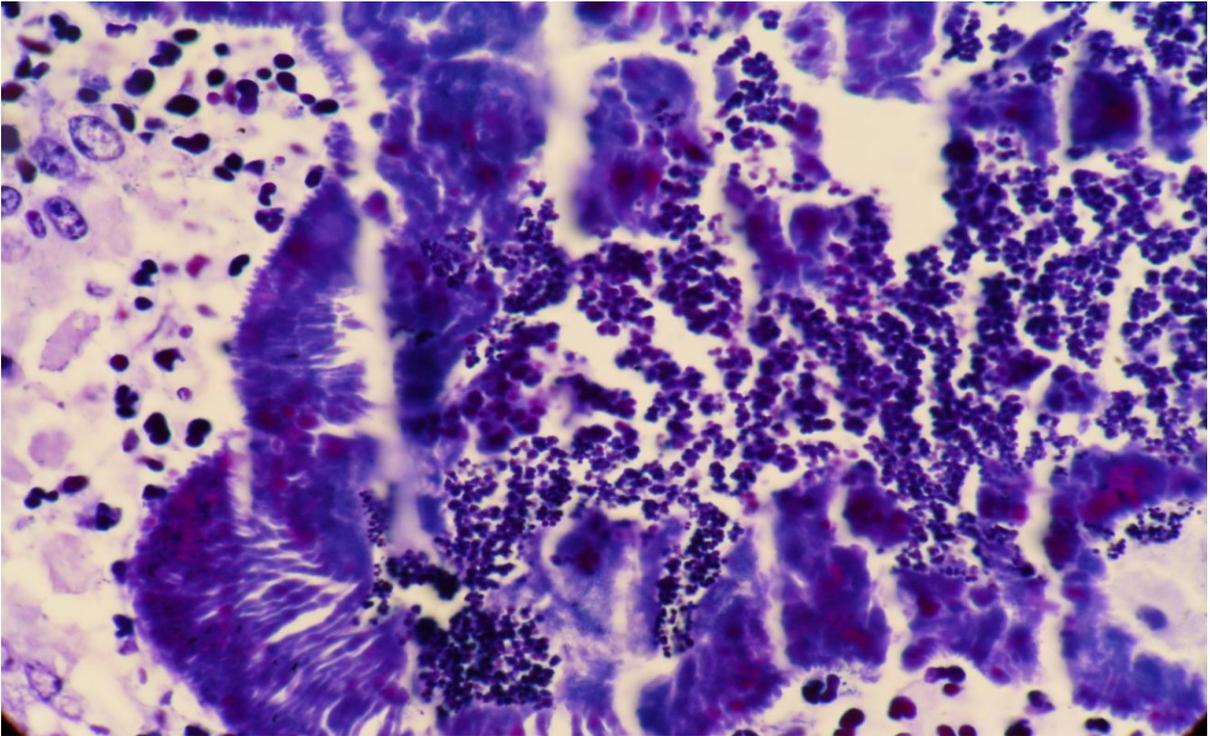


Fig. 10. Aspecto histológico da mastite estafilocócica em bovino. Micro-organismos gram-positivos cocoides podem ser observados em meio à lesão. MacCallum-Goodpasture. Obj. 100 (imersão).

#### **4 ARTIGO 3 – Mixed apocrine adenocarcinoma of the tail in a cow**

Bianca Tessele, Daniel R. Rissi, Ingeborg M. Langohr, Andréia Vielmo and Claudio S. L. Barros

(Artigo publicado na revista *Brazilian Journal Veterinary Pathology*, 8(2):72-75, 2015)

## Case report

# Mixed apocrine adenocarcinoma of the tail in a cow

Bianca Tessele<sup>1</sup>; Daniel Ricardo Rissi<sup>2</sup>; Ingeborg Maria Langohr<sup>3</sup>, Andréia Vielmo<sup>4</sup>; Claudio Severo Lombardo de Barros<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Graduate Program in Veterinary Medicine, Major in Patologia and Clinical Pathology, Centro de Ciências Rurais (CCR), Federal University of Santa Maria (UFSM), Bairro Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. <sup>2</sup>Department of Pathology, College of Veterinary Medicine, The University of Georgia, Athens, GA30602. <sup>3</sup>Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, Louisiana State University, Baton Rouge, LA 7080. <sup>4</sup>Veterinary Student, College of Veterinary Medicine, UFSM, CNPq, IC fellowship. <sup>5</sup>Visiting Professor (CAPES/FUNDECT) in the Anatomic Pathology Sector Anatomic Pathology, Sector FAMEZ/UFSM.

**Corresponding Author:** <sup>5</sup>Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Senador Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS79074-460, Brazil. claudioslbarros@uol.com.br

## Abstract

This report describes a uncommon case of neoplasm in domesticated animals, mixed apocrine adenocarcinoma (MAA). A cutaneous mass from the tail and anal region of an adult cow was detected during the routine *antemortem* examination of cattle in a slaughterhouse. The mass was ulcerated, firm, measured 23x20x20 cm and weighed 10 Kg. There were extensive areas of hemorrhage and necrosis admixed with irregular islands of bone. Histopathological examination revealed multiple cysts with papillary projections into lumen. Acid-Schiff (PAS) reaction revealed amorphous eosinophilic secretory material into luminal spaces and on the apical surface of neoplastic cells. Immunohistochemical investigation revealed strong cytoplasmic immunostaining of the epithelial neoplastic cells for cytokeratin 19 (CK19) and strong positive immunostaining of the myoepithelial cells for smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA) and S-100 protein. These gross and histopathological findings observed during this study led to a final diagnosis of MAA.

**Key words:** cattle; abattoir lesions; tumors; apocrine gland.

## Case report

Malignant neoplasms of the sweat gland tumors are, in general, infrequent (20). Apocrine adenocarcinoma is relatively common in dogs (4,13) and less so in cats (13). Reports in other species are infrequent and include one case in the skin of a mouflon (16), a case in the prepuce of a horse (3) and a case in the subcutis of the caudal abdomen of a rabbit (15). Apocrine adenocarcinomas are rare in human beings (22). This neoplasm consist of a mixed variant characterized by either condroid or osseous metaplasia of myoepithelial cells (9). Mixed apocrine adenocarcinomas (MAA) was described before in the tail region of cattle (6, 10, 18). Although adult animals are more likely to develop MAA, it seems that there is no predilection for sex or breed (10). This study describes a case of MAA in the tail of an adult cow of slaughterhouse.

A cutaneous mass from the tail and anal region of an adult cow was submitted for gross and histological evaluation at the Laboratory of Veterinary Pathology (LVP), Federal University of Santa Maria, Brazil. The mass was detected during the routine *antemortem* examination of cattle in a slaughterhouse. A physical examination performed by the official veterinarian at the slaughterhouse revealed that the cow was in poor body condition but otherwise normal. After slaughter the affected region was sectioned by the veterinarian and submitted to the LVP for examination. Grossly the mass was ulcerated, firm, measured 23 x 20 x 20 cm, and weighed 10 Kg. It was located subcutaneously at the insertion of the tail and extended caudoventrally, dislocating the anus (Figure 1). At cut surface the mass consisted of multiple cystic lobules containing dark-red, gelatinous material. These lobules were further subdivided by thick white septa of connective tissue. Multifocally, there were extensive areas of

hemorrhage and necrosis admixed with irregular islands of bone. The mass was encapsulated by a thick band of white and firm tissue. Multiple portions of the mass were fixed in 10% neutral buffered formalin, routinely processed for histology, and stained with hematoxylin and eosin. Histopathological examination revealed a malignant neoplasm consisting mainly of epithelial cells arranged in multiple acini and tubules that were occasionally cystic and had multiple papillary projections into an irregular lumen (Figure 2). Multifocally, the luminal spaces were filled with a mixed population of inflammatory cells and extensive areas of hemorrhage admixed with amorphous eosinophilic secretory material that was positive using periodic acid-Schiff (PAS) reaction. Similar material was observed on the apical surface of neoplastic cells (apocrine decapitation). The acini and tubules were lined by a mono- or bilayer of cuboidal or columnar neoplastic cells with finely granular cytoplasm and indistinct cellular borders. The nuclei were round to oval with condensed chromatin and inconspicuous nucleoli. Mitotic activity was observed only occasionally. Surrounding the neoplastic epithelial component there was abundant fibrovascular stroma with small foci of irregular, partially mineralized osteoid matrix that were occasionally bordered by multinucleated giant cells resembling osteoclasts. In addition, scant clusters of stellate myoepithelial cells were present in the areas surrounding the osteoid matrix. Extensive areas of necrosis and hemorrhage associated with a mixed inflammatory infiltrate that included hemosiderin-laden macrophages were multifocally distributed throughout the neoplastic tissue. Immunohistochemical investigation carried out in sections of the neoplasm revealed strong cytoplasmic immunostaining of the epithelial neoplastic cells for cytokeratin 19 (CK19) and strong positive immunostaining of the myoepithelial cells for smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA) and S-100 protein (Figure 2). Osteogenic cells and scattered fusiform cells observed within the neoplasm were positive for vimentin.

Although there are few reports of MMA in cattle (6, 10, 18), as in the case reported here all of them were localized at the same anatomical site, that is, skin and subcutis of the base of the tail. This strongly suggests a predisposition for the development of MMA in cattle at this site. Due to the limited number of cases it is not possible to determine based either age, sex, or breed a higher incidence for the tumor as was previously described (10). The growth rate of apocrine adenocarcinomas is variable, but their mixed variant tends to be slow growing and is usually less malignant, with metastasis occurring only occasionally to regional lymph nodes and less often other organs (9, 16). Information on the evolution of the tumor was unavailable from the cow of this report. In spite of the presence of ulceration and deviation of anatomical structures, such as the anus, the neoplasm in this case was well demarcated and encapsulated, with no metastases being reported during meat inspection at the abattoir. These findings are similar to those reported from previous cases of MAA in cattle (6, 10, 18).

Histologically, apocrine adenocarcinomas may be solid, tubular, or cystic (8). In the case of this report there was predominance of the tubular pattern over the cystic areas. There are controversies about the origin of cartilage and osteoid matrix in mixed tumors in general. Some authors suggest that these components are formed through metaplasia of epithelial cells or alternatively by metaplasia of the fibrous connective tissue stroma (2, 17). However, immunohistochemical investigation on mixed canine mammary tumors have demonstrated that myoepithelial cells likely undergo transformation to cartilage and bone (7). It has been suggested that the ectopic cartilage formation in these tumors is influenced by the expression of bone morphogenetic protein-6 and its receptors on myoepithelial cells (1, 19). A similar pattern of myoepithelial transformation may occur in apocrine tumors (8). Although the theory that myoepithelial transformation into cartilage or bone is widely accepted, a study carried out in a MAA from the tail of an ox suggested that the osseous component might have developed from undifferentiated stem cells. In this study the myoepithelial cells were abundant and considered to be an important component and considered an important stromal component of the tumor (10). In our case, scant amounts of myoepithelial cells were observed in the proximities of the osteoid matrix which could be circumstantial evidence that most of these cells are no more represented because they underwent metaplasia to originate the osseous component of the neoplasm. The low number of myoepithelial cells found in some of these tumors reportedly results from the destruction caused by neoplastic cells. When the myoepithelial cells are observed, they are considered as a residual component of the tumor. Loss of myoepithelial cells could indicate a higher capacity for invasiveness and metastasis (21).

The tumor reported here was considered of apocrine origin based on the histopathological, histochemical, and immunohistochemical features. Although CK19 have being used as well as a marker for keratinocytes in trichoblastomas and basal cells carcinomas (14) it is consider by several authors (10, 16) as a basic general marker for glandular marker differentiation in epithelial cutaneous tumors.

$\alpha$ SMA has been used to demonstrate evidence of myoepithelial differentiation in apocrine neoplasia in humans (21). In addition, bovine mammary myoepithelial cells are positive for  $\alpha$ SMA (12) and canine mammary myoepithelial cells are positive for S-100 protein (5). In the case reported here, myoepithelial cells were positive for both  $\alpha$ SMA and S-100 protein. Adding to these findings is the fact that the osteoid matrix had benign characteristics amidst the neoplastic parenchyma, which led to the final diagnosis of MAA.

## References

1. AKIYOSHI T., UCHIDA K., TATEYAMA S. Expression of bone morphogenetic protein-6 and bone morphogenetic protein receptors in myoepithelial cells of canine mammary gland tumors. **Vet Pathol**, 2004, 41, 154-163.
2. ALLEN A.C. So-called mixed tumors of the mammary gland of dog and man. **Archives of Pathology**, 1940, 29, 589-624.
3. ANDERSON W.I., SCOTT D.W., CRAMERI F.M. Two rare cutaneous neoplasms in horses: apocrine gland adenocarcinoma and carcinosarcoma. **Cornell Vet**, 1990, 80, 339-345.
4. BAHARAK A, REZA K., SHAHRIAR D., OMID A., DARUOOSH V., NASRIN A. Metastatic apocrine sweat gland adenocarcinoma in a terrier dog." **Asian Pac J Trop Biomed**, 2012, 2, 670-672.
5. FERRER L., RABANAL R.M., FONDEVILA D., PRATS N. Immunocytochemical demonstration of intermediate filament proteins, S-100 protein and CEA in apocrine sweat glands and apocrine gland derived lesions of the dog. **J Vet Med Ser A**, 1990, 37, 569-576.
6. GARMA-AVINA A., VALLI V.E. Mixed sweat gland tumor in a bull (a case report). **Vet Med Small Anim Clin**, 1981, 76, 557-559
7. GÄRTENR F., GERALDES M., CASSALI G., REMA A.& SCHMITT F. DNA Measurement and immunohistochemical characterization of epithelial and mesenchymal cells in canine mixed mammary tumours: Putative evidence for a common histogenesis. **Vet J**, 1999, 158, 39-47.
8. GINN P.E., MANSELL J.E.K.L., RAKICH P.M. Skin and appendages. In: **Maxie MG, ed. Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. v.1. 5th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007, 553-781
9. GOLDSCHMIDT M.H. & HENDRICK M.J. Tumors of the skin and soft tissues. In: **Meuten DJ, ed. Tumors in Domestic Animal**. 4<sup>th</sup>ed. Iowa: Iowa State Press, 2002, 45-118.
10. GULBAHAR M.Y., ALKAN I., ASLAN L. & GOLEN I. Mixed apocrine sweat gland tumor of the tail in a cow. **Vet Pathol**, 2002, 39, 281-285.
11. HAZIROGLU R., HALIGUR M., and KELES H. Histopathological and immunohistochemical studies of apocrine sweat gland adenocarcinomas in cats. **Vet Comp Oncology**, 2014, 12, 85-90.
12. HELLMEN E., ISAKSSON A. Immunohistochemical investigation into the distribution pattern of myoepithelial cells in the bovine mammary gland. **J Dairy Res**, 1997, 64, 197-205.
13. KALAHAR K.M., ANDERSON W.I., SCOTT D.W. Neoplasms of the apocrine sweat in 44 dogs and 10 cats. **Vet Rec**. 1990, 127, 400:403.
14. KURZEN H., ESPOSITO L., LANGBEIN L., HARTSCHUH W. Cytokeratins as Markers of Follicular Differentiation: An Immunohistochemical Study of Trichoblastoma and Basal Cell Carcinoma. **Am J Dermatopathol**, 2001, 23, 501-509
15. MIWA Y., MOCHIDUKI M., NAKAYAMA H., SHUBUYA N., OGAWA H., SASAKI N. Apocrine adenocarcinoma of possible sweat gland origin in a male rabbit. **J Small Anim Pract**, 2006, 47, 541-544.
16. MORANDI F., BENAZZI C., SIMONI P. Adenocarcinoma of apocrine sweat glands in a mouflon (*Ovis musimon*). **J Vet Diagn Invest**, 2005, 17, 389-392.
17. PALMER T.E. & MONLUX A.W. Acid mucopolysaccharides in mammary tumors of dog. **Vet Pathol**, 1979, 16, 493-509.
18. PIERCY D.W.T., CRANWELL M.P., COLLINS A.J. Mixed apocrine (sweat gland) adenocarcinoma in the tail of a cow. **Vet Rec**, 1994, 134, 473-474.
19. TATEYAMA S., UCHIDA K., HIDAHA T., HIRAO M., YAMAGUCHI R. Expression of bone morphogenetic protein-6 (BMP-6) in myoepithelial cells in canine mammary gland tumors. **Vet Pathol**, 2001, 38, 703-709.
20. GROSS T.L., IHRKE P.J., WALDER E.J., AFFOLTER V.K. Neoplasias Epiteliais e outros Tumores. In: *Doenças de Pele do Cão e do Gato*. 2<sup>nd</sup> ed. São Paulo: Roca Ltda, 2009, 543-691.
21. WACH F., HEIN R., KUHN A., LANDTHALER M., KRIEG T., ECKERT F. Immunohistochemical demonstration of myoepithelial cells in sweat gland carcinomas. **Br J Dermatol**, 1994, 130, 432-437.
22. YUGUEROS P., KANE W.J., GOELLNER J.R. Sweat gland carcinoma: a clinicopathologic analysis of an expanded series in a single institution. **Plast Reconstr Surg**, 1998, 102, 705-710.

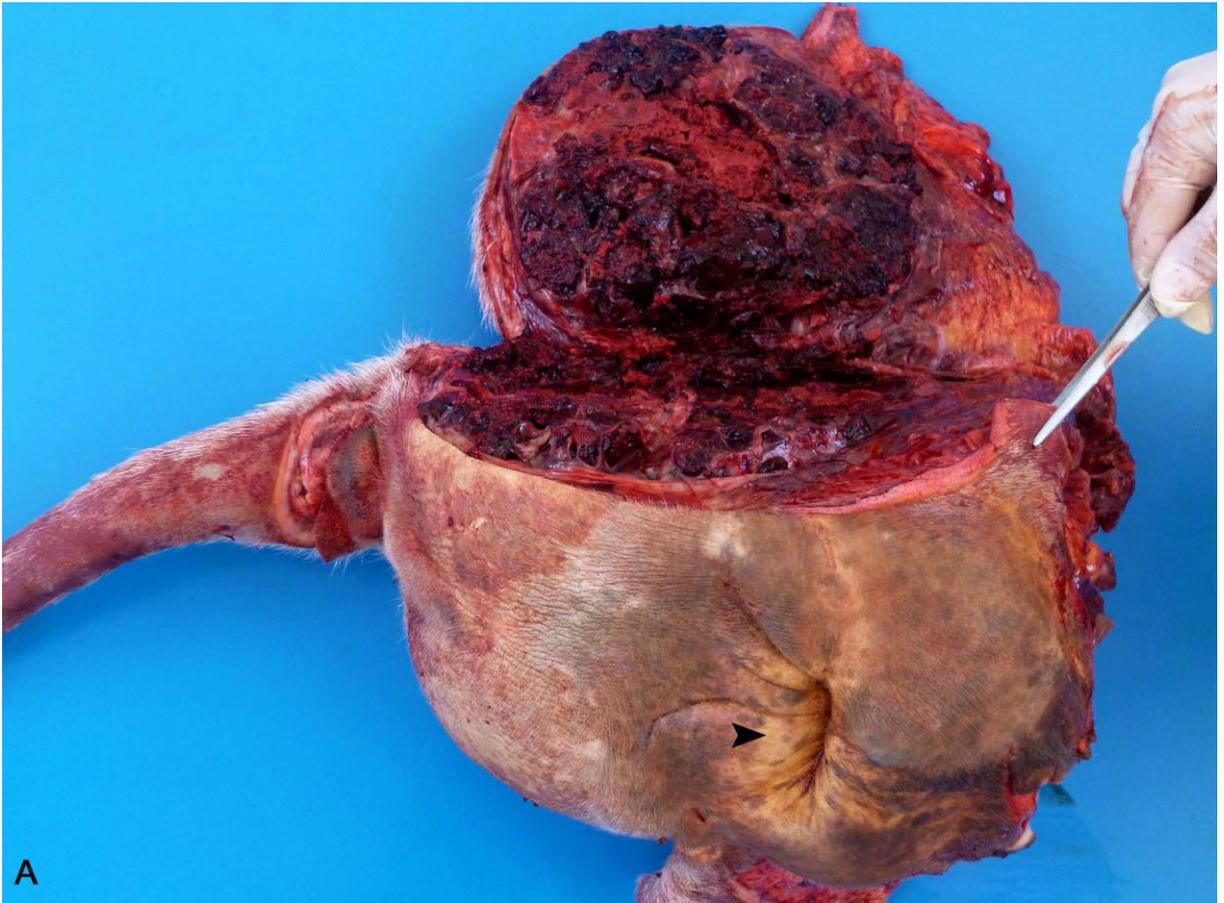




Figure 1—Photographs of the cutaneous mass from the tail and anal region of an adult cow detected during routine *antemortem* examination of cattle in a slaughterhouse. In panel A, the mass is located at the insertion of the tail and extends to the anus (A). In panel B, the cut surface of the mass reveals multiple cystic areas supported by thick white septa and containing dark-red gelatinous material, necrotic debris, and areas of hemorrhage. Bone fragments (arrow) can also be seen. The mass was encapsulated by a thick band of white and firm tissue.

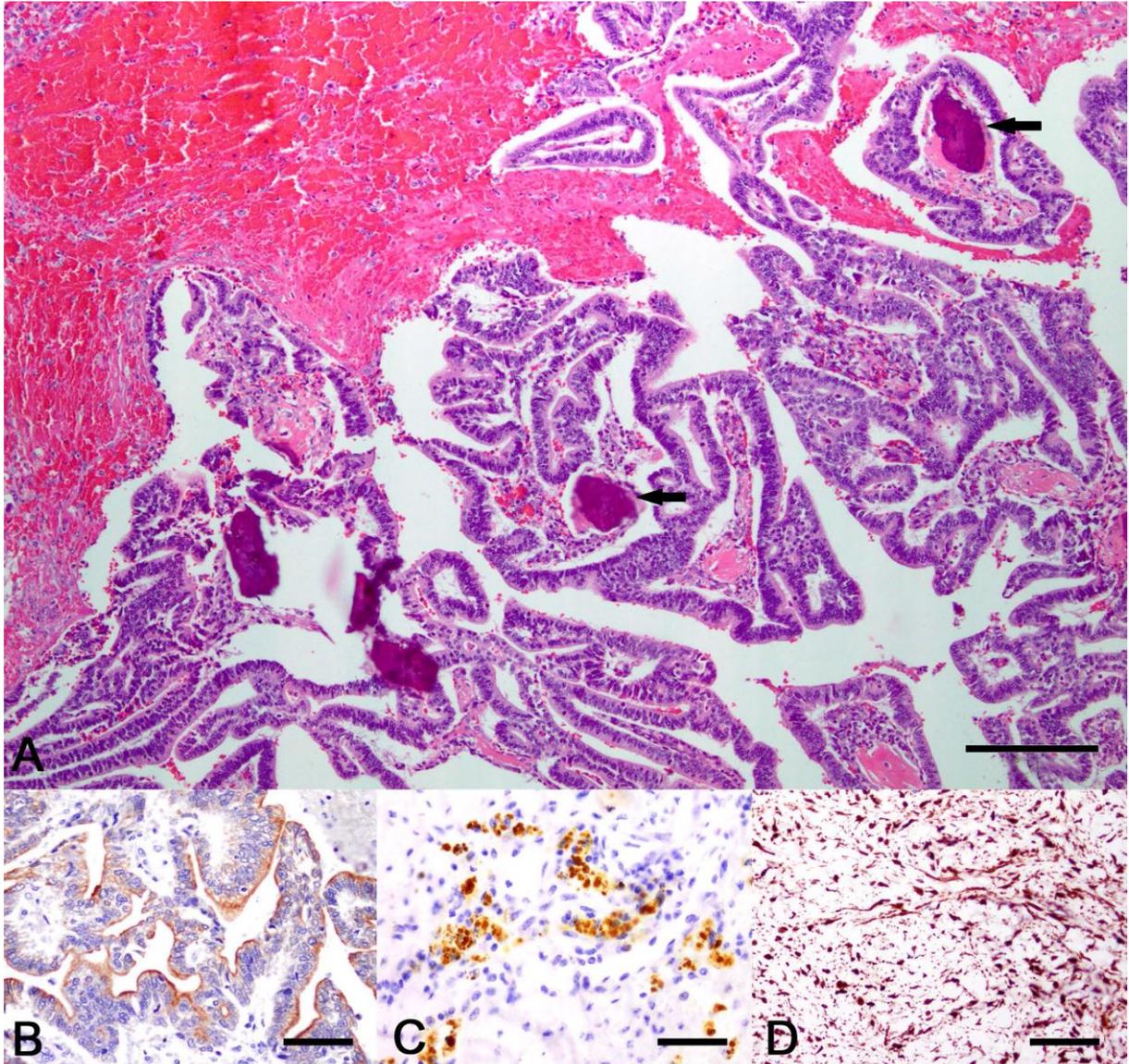


Figure 2—Photomicrograph of a mixed apocrine adenocarcinoma of the tail in a cow. A—The neoplasm is composed of multiple acini and tubules with papillary projections supported by fibrovascular tissue containing partially mineralized osteoid matrix (arrows). Extensive areas of hemorrhage are also observed (upper left). H&E stain; bar = 100  $\mu$ m. B—Neoplastic epithelial cells have cytoplasmic immunostaining for cytokeratin 19. Anti-CK19 antibody staining; bar = 50  $\mu$ m. C and D—Neoplastic myoepithelial cells show positive cytoplasmic immunostaining for smooth muscle actin (C) and S-100 protein (D). Anti-SMA antibody staining and Anti-S-100 antibody staining; bar = 25  $\mu$ m.

## **5 ARTIGO 4 – Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos**

Bianca Tessele & Claudio S. L. Barros

(Artigo aceito para publicação na revista *Pesquisa Veterinária Brasileira*)

## Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos<sup>1</sup>

Bianca Tessele<sup>2</sup>, e Claudio S.L. Barros<sup>3</sup> \*

**ABSTRACT.-** Tessele B. & Barros C.S.L. 2015. [Tumors found in cattle from slaughterhouses.] Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-000. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br

In a survey for lesions in cattle in abattoirs from January 2011 to July 2014, 540 lesions were found, of which 65 were neoplasms. Forty two percent of those were of mesenchymal origin; 37% were epithelial; 14,5% were neural crest derivatives; 5% were sex chord derived tumors and 1.5 was from the peripheral nervous system. The most common tumor found was lymphoma (28% of all tumors), most of them as part of the enzootic leukosis complex. Squamous cell carcinoma was the second most frequent tumor (15% of all tumors). Consideration is made on the frequency of these tumors and the importance of the differential diagnosis at gross examination at the slaughterhouse among them and other important lesions, including tuberculous granulomatous lesions. There was a significance occurrence (13% of all tumors) of the adrenal tumor, pheochromocytoma. Papillomatosis represented only 3% of all tumors; as those are common benign tumors in cattle; their low numbers in this review could be explained by the fact that these are not tumors usually detected in the postmortem examination (after the hide was stripped from the carcass) which was mostly the case of this study, but rather by antemortem inspection. Less common tumors found (each accounting for 1.5 to 3% of all tumors) included granulosa cell tumor, gastrointestinal stromal tumor, hemangiosarcoma, hepatic tumors, interdigital fibroma, lipoma, liposarcoma, mammary adenocarcinoma, melanocytic tumors, mesothelioma, mixed apocrine adenocarcinoma of the tail, neurofibroma, renal cell carcinoma, primary pulmonary tumors, uterine adenocarcinoma, and uterine leiomyoma. It is intended that the results of this survey would be helpful in the identification of lesions at in the official meat inspection at the slaughterhouses.

INDEX TERMS: Diseases of cattle, neoplasia, slaughterhouse survey

**RESUMO.-** Numa pesquisa em abatedouros a procura de lesões em bovinos, realizada de janeiro de 2011 a julho de 2014, 540 foram encontradas, das quais 65 eram neoplasmas. Quarenta e dois por cento desses tumores eram de origem mesenquimal; 37% eram epiteliais; 14,5% eram derivados da crista neural; 5%

<sup>1</sup> Recebido em 07 de novembro de 2015

Aceito para publicação em 17 de dezembro de 2015

Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS 97105-900.

<sup>3</sup> PPGMV/UFMS, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E. Pesquisador 1A do CNPq. \*Autor para correspondência: claudioslbarros@uol.com.br

eram tumores do cordão sexual; e 1,5 eram tumores originários do sistema nervoso periférico. O tumor mais frequentemente encontrado foi o linfoma (28% de todos os tumores), a maioria dos casos como parte do complexo leucose bovina enzoótica. O carcinoma de células escamosas foi o segundo tumor mais frequente (15% de todos os tumores). É chamada a atenção para a frequência desses tumores e para a sua importância no diagnóstico diferencial no abatedouro frigorífico entre eles e outras lesões importantes, incluindo as lesões granulomatosas da tuberculose. Houve uma ocorrência significativa do feocromocitoma adrenal (13% de todos os tumores). Papilomatose representou apenas 3% de todos os tumores. Como papilomas são comuns em bovinos, seu baixo número nesse estudo pode ser explicado pelo fato de que eles não são usualmente diagnosticados no exame *post mortem* (quando o couro já foi retirado da carcaça), mas sim no exame *antemortem*, como ocorreu na maioria dos casos deste estudo. Tumores encontrados com menor frequência (cada um perfazendo entre 1.5 e 3% de todos os tumores) incluíram adenocarcinoma apócrino misto da cauda, adenocarcinoma mamário, adenocarcinoma uterino, carcinoma de células renais, fibroma interdigital, hemangiossarcoma, leiomioma uterino, lipoma, lipossarcoma, mesotelioma, neurofibroma, tumor de células da granulosa, tumor estromal gastrointestinal, tumores hepáticos, tumores melanocíticos, e tumores pulmonares primários. Pretende-se que os resultados dessa pesquisa possam ajudar na identificação das lesões na inspeção oficial em matadouros frigoríficos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doenças de bovinos, neoplasia, levantamento em abatedouro

## INTRODUÇÃO

Os abatedouros frigoríficos são importantes fontes de detecção de doenças em animais de produção e através de estudos retrospectivos e prospectivos nesses locais, patologistas contribuem para o conhecimento de uma determinada doença ou de doenças de todo um sistema orgânico (Maxie & Miller 2016). Dentre as lesões detectadas no exame *post mortem* e, eventualmente, no *ante mortem*, estão os neoplasmas. Segundo o Regulamento Industrial de Inspeção dos Produtos de Origem Animal (Ministério da Agricultura 1980), as carcaças, partes delas, ou órgãos afetados por tumores malignos devem ser condenados, independente da ocorrência de metástases. Uma dificuldade enfrentada pelos inspetores oficiais em estabelecimentos de abate é a falta de segurança em diagnosticar os diferentes neoplasmas para determinar o destino mais adequado das carcaças e vísceras. Consequências disso são as perdas econômicas geradas pela condenação de órgãos e carcaças que não precisariam ser totalmente condenados, além da denominação incorreta de lesões, que levam ao armazenamento de dados imprecisos e sem uniformidade entre os estabelecimentos de abate, comprometendo os dados de prevalência das doenças. O objetivo desse trabalho é proporcionar uma descrição macro e microscópica detalhada, com ilustrações dos principais neoplasmas de bovinos observados durante o abate em frigoríficos do sul do Brasil. A partir disso, espera-se auxiliar os médicos veterinários patologistas e os inspetores de frigoríficos a diagnosticarem corretamente as lesões e estabelecerem o destino mais apropriado para as carcaças e vísceras.

## MATERIAL E MÉTODOS

De janeiro de 2011 a julho de 2014, 540 amostras de lesões de bovinos destinados ao abate foram avaliadas no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria. Essas amostras eram

oriundas de visitas realizadas por um dos autores (BT) aos abatedouros ou enviadas pelo inspetor responsável de cada frigorífico. Das 540 amostras, 12% eram neoplasmas. Os abatedouros visitados localizavam-se em diferentes regiões do Rio Grande do Sul. Todos os neoplasmas foram fotografados e fragmentos de tecidos foram coletados, fixados em formol a 10%, e processados rotineiramente para exame histopatológico. Em casos onde houve dúvida quanto ao diagnóstico histológico do tumor na coloração rotineira de hematoxilina e eosina, recorreu-se ao exame por imuno-histoquímica.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foram encontrados 65 neoplasmas (Quadro 1), 42% dos quais eram de origem mesenquimal; 37% eram epiteliais; 14,5% eram derivados da crista neural; 5% eram tumores do cordão sexual e 1,5 eram tumores originários do sistema nervoso periférico (Quadro 2). O tumor mais frequentemente encontrado foi o linfoma (28% de todos os tumores), a maioria dos casos como parte do complexo leucose enzoótica. A classificação completa e número de tumores encontrados em cada categoria estão no Quadro 1. Os resultados referentes a cada um desses neoplasmas serão apresentados e discutidos separadamente.

### **Linfoma**

Como em outros levantamentos sobre lesões neoplásicas de bovinos abatidos em abatedouros-frigoríficos (Brandly & Migaki 1963, Dukes et al. 1982), neste estudo, o linfoma foi também o neoplasma mais frequentemente encontrado, perfazendo 28% dos tumores diagnosticados. O linfoma é uma enfermidade neoplásica de linfócitos e tem quatro tipos de apresentação em bovinos (Barros 2007): uma forma multicêntrica (vários órgãos envolvidos) de ocorrência enzoótica que afeta animais adultos de várias idades, mas predominantemente entre 4-8 anos (Valli et al. 2016); o padrão enzoótico refere-se a uma doença peculiar, a uma localidade ou região e cuja ocorrência constantemente nela se repete (Max 2007); a razão desse padrão enzoótico é que a forma multicêntrica do adulto tem natureza infecciosa, produzida por um retrovírus, o vírus da leucemia bovina (VLB). Essa forma é, por isso, conhecida como leucose bovina enzoótica (LBE). Nas outras três formas, casos individuais raros da doença ocorrem aleatoriamente e sua ocorrência não é associada à etiologia viral. O termo usado para definir esse padrão epidemiológico de doença é “esporádico” (Valli et al 2016). As três formas esporádicas são: multicêntrica do bezerro, que afeta bezerros de 3-6 meses de idade; forma tímica juvenil, que ocorre mais comumente em bovinos de 1-2 anos de idade e, a menos comum, a forma cutânea, que ocorre em bovinos de 2-3 anos de idade. Linfomas multicêntricos da LBE são constituídos por grandes células B, e os neoplasmas de ocorrência esporádica são constituídos por células T. Os principais aspectos dessas quatro formas estão resumidos no Quadro 3.

Dezessete dos 18 casos de linfoma relatados neste estudo eram em animais adultos e os tumores tinham distribuição multicêntrica. Os sítios afetados incluíam linfonodos, coração, abomaso, omaso, serosa intestinal, rim, músculo estriado (diafragma), espaço epidural de medula espinhal e mesentério. A idade e a distribuição das lesões sugerem que se tratasse de casos da forma multicêntrica do adulto (LBE). Um caso envolvia o timo; não se sabe a idade deste bovino, mas a lesão sugere que se trate da forma tímica juvenil. Para o controle da doença é importante a determinação de sua forma clínico-patológica, pois no caso da LBE o proprietário deve ser alertado para poder tomar as medidas adequadas para o controle.

Os achados macroscópicos do linfoma nos bovinos deste estudo eram bastante característicos, permitindo o diagnóstico. O neoplasma é macio, tem superfície de corte branco-amarelada homogênea, semelhante à gordura. Em casos de linfonodos, frequentemente a arquitetura do órgão ficava obliterada e não se observava distinção entre a cortical e a medular (Fig.1A), mas apresentações de nódulos brancos e macios no parênquima dos órgãos afetados podem também ocorrer, embora linfomas foliculares em bovinos sejam extremamente raros. Por vezes áreas vermelhas de hemorragias ou amolecidas e esverdeadas (necrose) eram observadas no parênquima tumoral. Histologicamente, aglomerados de linfócitos neoplásicos apresentavam-se distribuídos em diversos órgãos (Fig.1D). Já foi demonstrado que as células que compõem os tumores na LBE são grandes linfócitos B neoplásicos (Valli et al. 2016). A proliferação dessas células produz massas tumorais sólidas (linfomas = linfossarcomas) nas mais diversas localizações anatômicas (distribuição multicêntrica) em cerca de 1-5% dos bovinos infectados. A principal forma de disseminação do vírus da LBE é associada às práticas de manejo adotadas na propriedade. Ocorre também transmissão mecânica por tabanídeos nos meses com temperatura elevada; a infecção congênita pode ocorrer em 4-8% dos terneiros nascidos de vacas soropositivas em rebanhos naturalmente infectados (Valli et al. 2016).

Linfonodos são os órgãos mais afetados e os ilíacos internos e os mesentéricos os mais envolvidos na maioria dos bovinos; esses linfonodos tendem a ser firmes, com superfície de corte branco-amarelada homogênea, podendo ser discretamente lobulados, sem distinção entre a medular e a cortical (Barros 2007). Outros órgãos envolvidos na forma multicêntrica do adulto incluem coração, abomaso, rim, intestinos, tecidos retrobulbares do olho, útero, tecidos epidurais da medula espinhal e, raramente, o cérebro (Figuera & Barros 2004). Neste estudo, além dos linfonodos, coração (Fig.1C) e abomaso (Fig.1B), foram frequentemente afetados. Na localização cardíaca, a proliferação tumoral ocorria principalmente na base do coração, atingindo o átrio direito.

O aspecto macro e microscópico dos tumores das outras formas são semelhantes. Na forma tímica juvenil, o tumor transforma o timo numa massa volumosa, branca, firme, lobulada (Barros 2007). Dependendo do órgão afetado diferentes lesões devem ser consideradas nos diagnósticos diferenciais, como hepatite, linfadenites inespecíficas, lipomatose muscular ou miosite crônica e dermatofitose na forma cutânea da leucose. São condenadas as carcaças, partes da carcaça ou órgão que apresentem tumores malignos, com ou sem metástase (Ministério da Agricultura 1980).

### **Carcinoma de células escamosas**

Carcinoma de células escamosas (CCE) foi o segundo tumor mais frequentemente encontrado. CCE é um neoplasma relativamente comum, localmente invasivo e que afeta a maioria das espécies doméstica. Em bovinos, as raças Herford e Ayrshire são mais predispostas na face, pálpebras, orelhas, dorso e vulva (Mauldin & Peters-Kennedy 2016). Embora CCEs do trato digestivo sejam raros na maior parte das regiões do mundo (Uzal et al. 2016), eles são comuns em certas regiões como no Sul do Brasil, associados a ingestão de samambaia; nessa região, perfazem 3-4% das necropsias em bovinos (Gava et al. 2002). As metástases não são comuns e quando ocorrem geralmente atingem linfonodos regionais e pulmão (Gava et al. 2002). CCEs de pele são associados a mutações no gene p53 induzidas por radiação ultravioleta (Mauldin & Peters-Kennedy 2016).

Dez CCEs foram encontrados neste estudo, ou 15% do total de tumores. Cinco deles eram primários, três da pele que devem estar associados à exposição de raios UV e dois eram localizados no trato digestivo superior, e devem estar associados a intoxicação por samambaia. Os outros cinco eram metástases em linfonodos e/ou pulmão.

Os achados macroscópicos dos CCEs deste estudo podem ser classificados em dois tipos: produtivos ou erosivos. Os primeiros tinham crescimento papilar de tamanho variável e superfície ulcerada e sangravam com facilidade. Nos erosivos havia ulcerações que se tornam profundas e formavam crateras. Na superfície de corte desses tumores, frequentemente se observavam áreas irregulares de consistência firme, brancas ou com pontos amarelo-ouro que correspondiam a áreas de ceratinização (Fig.2A).

Microscopicamente os tumores eram formados por ninhos de células escamosas de abundante citoplasma rodeadas por extensa desmoplasia e infiltrado inflamatório. Alguns apresentavam pérolas de ceratina (as áreas amarelas observadas macroscopicamente) (Fig. 2B). Alguns tumores apresentavam pouca ceratinização restrita a ceratinócitos individuais.

Metástases de CCEs em linfonodos podem adquirir um aspecto semelhante ao da tuberculose caseocalcária; isso deve ser considerado no diagnóstico diferencial. Actinobacilose também deve ser considerada no diagnóstico diferencial. Em um dos nossos casos, em que havia lesão nos linfonodos da cabeça, o diagnóstico macroscópico inicial foi de actinobacilose (Tessele et al. 2014). Os focos amarelos de pus em meio aos granulomas da actinobacilose são facilmente confundíveis com os pontos amarelados de ceratina do CCE.

### **Feocromocitoma**

Feocromocitomas são tumores neuroendócrinos de células cromafins da adrenal (Wright & Conner 1968) que secretam catecolaminas (epinefrina, norepinefrina ou ambas). São os neoplasmas mais comuns da medular da adrenal de animais. Ocorrem com maior frequência em bovinos e cães e, infreqüentemente, em outras espécies (Rosol & Gröne 2016). Isso foi confirmado neste estudo onde os feocromocitomas representaram 12% de todos os tumores encontrados e 1,5% do total de 540 lesões.

Feocromocitomas malignos invadem a cápsula da adrenal e atravessam a parede da veia cava caudal formando um grande trombo que oclui parcialmente a parede da cava comprometendo o retorno sanguíneo das extremidades caudais. Metástases podem afetar o fígado, linfonodos regionais, baço e pulmões (Rosol & Gröne 2016). Em pelo menos três casos dos oito relatados neste estudo ocorreram metástases, duas no pulmão e uma em linfonodo ilíaco. Feocromocitomas podem ser unilaterais ou bilaterais e têm maior incidência na glândula do lado esquerdo (Wright & Conner 1968). Todos os casos deste estudo eram unilaterais, o que é o mais comum (Wright & Conner 1968). Não foi possível determinar se o lado esquerdo estava mais representado. Uma técnica simples para auxiliar no diagnóstico macroscópico de feocromocitomas é a reação cromafim de Henle, isto é, a aplicação de solução de Zenker na superfície de corte de um tumor fresco seccionado recentemente resulta em oxidação das catecolaminas formando um pigmento marrom em cerca de 20 minutos (Rosol & Gröne 2016). Todos os casos deste estudo foram achados incidentais. Isso era esperado, uma vez que feocromocitomas funcionais são raros em bovinos (Rosol & Gröne 2016).

Em todos os casos deste estudo o tumor apresentou-se como uma massa castanho-avermelhada com áreas de hemorragia e necrose, próxima ao rim (Fig.3A). Na dissecação do tecido tumoral observavam-se, na maioria dos casos, áreas com tecido ósseo, o que é esperado nesses tumores (Pereira et al. 2007). Microscopicamente, as células tumorais podem ser de três tipos: (1) células grandes com núcleo oval, lembrando células hiperplásicas da medular, (2) células fusiformes com núcleo pequeno alongado e hiper cromático e (3) células altamente pleomórficas com vários núcleos bizarros (Wright & Conner 1968). O citoplasma é fracamente eosinofílico, finamente granular e os limites citoplasmáticos são frequentemente indistintos devido à autólise precoce da medular da adrenal (Rosol & Gröne 2016). Frequentemente uma mistura desses tipos de células, incluindo células nervosas imaturas, é observada, embora usualmente com predominância de um dos tipos celulares. Independentemente do tipo celular, o arranjo da arquitetura consiste de cordões ou pacotes circundados por canais vasculares (Fig.3B), como observado em todos os casos deste estudo. Necrose e mineralização foram observadas com frequência.

A causa dos feocromocitomas em animais domésticos é desconhecida. A maioria dos tumores é esporádica, mas parece ocorrer uma predisposição familiar, especialmente em bovinos. Em ratos, a estimulação crônica da medular da adrenal por estresse e hipercalcemia aumenta a incidência de feocromocitomas. (Rosol & Gröne 2016)

Nos frigoríficos pesquisados neste estudo, esse tumor era, na rotina, incorretamente interpretado ou negligenciado. Após o surgimento dos primeiros casos e orientação dada aos inspetores veterinários sobre os aspectos macroscópicos do tumor, o índice de acerto passou a ser de 100%.

### **Carcinoma de células renais**

Três casos de carcinoma renal foram detectados, um deles com metástases para o pulmão. Tumores renais primários são pouco frequentes em qualquer das espécies domésticas. Dentro dessa baixa frequência, carcinomas de células renais (CCRs) são os mais comuns (Cianciolo & Mohr 2016). Num levantamento em abatedouros incluindo 1.300.000 e 13.500 bovinos de abatedouros, respectivamente, na Grã-Bretanha (Sandinson & Anderson 1968) e nos EUA (Kelley et al. 1996), apenas 0,06% na Grã Bretanha e 0,15% nos EUA eram carcinomas de células renais (CCRs). Neste levantamento, das 540 lesões diagnosticadas 0,6% eram CCRs, o que confirma que a prevalência desses tumores é uniformemente baixa em vários países. Ao contrário do que ocorre em cães, nos bovinos os CCRs são mais comuns em fêmeas do que em bovinos machos, provavelmente devido à vida mais longa das vacas quando comparadas aos machos dessa espécie (Cianciolo & Mohr 2016). Nos casos deste estudo, o sexo dos animais afetados não foi informado.

Em bovinos as metástases são raras e, quando ocorrem, afetam os pulmões (Cianciolo & Mohr 2016), semelhantemente ao que ocorreu em um dos nossos casos. Alguns CCRs de bovinos ocorrem bilateralmente sem metástases em outros órgãos – a chamada síndrome bilateral sincrônica – quando os tumores iniciam independentemente em cada um dos rins (Cianciolo & Mohr 2016). Nos três casos do presente estudo, apenas um rim de cada bovino foi afetado. Em todos os três bovinos afetados o rim estava aumentado de tamanho com parênquima substituído por áreas brancas firmes com focos amarelos e intercaladas por cistos. Num dos casos havia intensa necrose da gordura perirrenal (Fig.4). A maior parte da massa tumoral era localizada na cortical do rim e se estendia além da superfície capsular.

O padrão macroscópico e histológico dos três tumores descritos aqui são característicos de CCRs (Kelley et al. 1996, Cianciolo & Mohr 2016).

### **Lipoma**

Lipomas são neoplasmas benignos de adipócitos observados na maioria dos animais domésticos (Goldschmidt & Hendrick 2002). Neste estudo, foram observados três casos de lipoma, dois no tecido subcutâneo e outro de localização intracraniana. Lipomas são raros em bovinos e, geralmente, localizam-se em órgãos internos. Lipomas intracranianos são tumores ainda mais raros e, na maioria dos casos, envolvem o corpo caloso (Zettner & Netsky 1960). Lipoma do corpo caloso é uma malformação congênita que pode iniciar de uma anomalia na diferenciação dos tecidos embrionários primitivos, relacionados ao fechamento imperfeito do tubo neural (Zettner & Netsky 1960).

Acredita-se que lipomas intracranianos originam-se das células da gordura presentes nas leptomeninges ou nas células da pia primitiva devido a malformação durante o desenvolvimento (Peterman et al. 1984). O lipoma intracraniano do bovino deste caso apresentou aspecto semelhante ao descrito na literatura (Fig.5A-B). No osso frontal havia uma fenda, que foi interpretada como um defeito disráfico. Ao corte longitudinal da cabeça, observava-se que a massa, semelhante à gordura, se estendia cranialmente da região do corpo caloso para o exterior da cavidade craniana através da fenda. Os dois lipomas subcutâneos estavam localizados na região do flanco e na região lombar; esse último era pedunculado com pequeno fragmento de tecido cartilaginoso central (Fig.5C). Microscopicamente, as células possuíam o citoplasma vacuolizado e o núcleo periférico e alongado, semelhantes a lipócitos maduros (Fig.5D), o que é descrito para esse neoplasma (Gopal & Leipold 1979). Na lista de diagnósticos diferenciais do lipoma devem ser incluídos sua variante maligna (lipossarcoma), o cisto epidermoide, o teratoma, e o mielolipoma (Goldschmidt & Hendrick 2002).

### **Tumores hepáticos (adenoma, carcinoma hepatocelular e colangiocarcinoma)**

Os tumores hepáticos estão entre os neoplasmas mais comuns de bovinos (Cullen & Popp 2002). Tumores hepatocelulares (adenomas e carcinomas) e colangiocarcinomas são os mais frequentes (Kenny 1944, Anderson & Sandison 1967). Sua etiologia em animais domésticos é desconhecida.

Adenomas hepatocelulares são usualmente solitários, marrom-amarelados ou vermelho-escuros, com 2-8 cm de diâmetro e bem demarcados do tecido hepático adjacente; no entanto, não são encapsulados. Nunca são mais firmes que o parênquima normal, uma vez que não há aumento de tecido fibroso e raramente apresentam necrose ou hemorragia (Cullen & Popp 2002). Carcinomas hepatocelulares podem ser vistos como massas solitárias bem demarcadas no parênquima hepático (Anderson & Sandison 1967), mas em crescimentos avançados, quase todo o parênquima é substituído pelo tumor. Colangiocarcinomas podem ter uma aparência massiva ou multinodular e são frequentemente umbilicados. A superfície é branca, branco-acinzentada ou marrom-amarelada. Os colangiocarcinomas são firmes devido à desmoplasia acentuada (Cullen & Popp 2002). Pulmões, linfonodos abdominais e torácicos, e peritônio são frequentes sítios de metástases (Anderson & Sandison 1967). No caso desse estudo, metástases do colangiocarcinoma foram observadas nos pulmões. O adenoma, o carcinoma e o colangiocarcinoma observados no fígado apresentaram padrões macroscópicos semelhantes ao descrito na literatura (Cullen

& Popp 2002). Microscopicamente, adenomas hepatocelulares são bem demarcados do parênquima adjacente que sofre atrofia por pressão. Os hepatócitos apresentam uma aparência uniforme, e podem ser vacuolizados e maiores que os hepatócitos normais. Uma característica consistente dos adenomas é a ausência de uma veia centrolobular e de mais de uma tríade portal (Cullen & Popp 2002); esse aspecto foi observado no caso descrito aqui. Carcinomas hepatocelulares são arranjados em ilhas sólidas ou lóbulos ou em trabéculas bem definidas, separadas por sinusoides (Anderson & Sandison 1967). Em nosso caso, as células arranjaram-se em lóbulos e em torno deles, em algumas áreas, havia abundante tecido fibroso. Nos carcinomas hepatocelulares, as células tumorais mostram uma semelhança inconfundível com as células hepáticas normais, com grandes irregularidades na forma e no tamanho. O citoplasma das células tumorais é usualmente mais basofílico que o dos hepatócitos normais. O estroma geralmente é escasso e visto mais na periferia do crescimento (Kenny 1944). Raramente evidencia-se cirrose em bovinos com carcinomas hepatocelulares (Cullen & Popp 2002). Essencialmente, os colangiocarcinomas são compostos de pequenos ácinos de epitélio colunar ou cuboide baixo e algum grau de reação cirrótica está sempre presente (Anderson & Sandison 1967). Frequentemente há abundante proliferação de ductos biliares (Kenny 1944). No bovino deste caso, havia abundante proliferação de tecido conjuntivo fibroso em torno de ilhas de células neoplásicas, muitas delas formando estruturas semelhante a ácinos.

### **Tumor de células da granulosa**

O tumor de células da granulosa (TCG) é o tipo mais comum de tumor ovariano dos cordões sexuais sendo composto primariamente por células que relembram as células da granulosa do folículo (Santos et al. 2011). Alguns autores sugerem que o uso do termo “tumor do cordão sexual-estromal” é mais apropriado devido às incertezas sobre a origem embriológica e histogênica das células nesses tumores (Maclachlan & Kennedy 2002). Metástases de TCG malignos em vacas não são incomuns e tendem a ocorrer tardiamente por disseminação hematogênica ou, raramente, por implantação na cavidade peritoneal (Maclachlan & Kennedy 2002).

TCGs podem apresentar diversos tamanhos e pesos, podendo originar-se de qualquer dos ovários, porém raramente são bilaterais (Maclachlan & Kennedy 2002). Os três casos desse estudo foram observados afetando apenas um ovário e metástases não foram encontradas. Os tumores apresentaram-se como massas grandes (um deles possuía 25 cm de diâmetro), lobuladas, firmes e com a superfície de corte branca-amarelada, com áreas císticas dilatadas, algumas com coágulos sanguíneos, e necrose (Fig.6A), semelhante ao que é relatado na literatura (Maclachlan & Kennedy 2002, Santos et al. 2011).

Microscopicamente, observam-se acúmulos irregulares de células da granulosa neoplásicas, muitas vezes arranjadas em estruturas que lembram folículos, separadas por um estroma de células fusiformes (Maclachlan & Kennedy 2002). Corpúsculos de Call-Exner – que consistem de células tumorais agrupadas ao redor de espaços claros ou focos de material proteináceo – podem ocorrer em alguns TCG, principalmente naqueles com características microfoliculares (Maclachlan & Kennedy 2002, Santos et al. 2011). Esses corpúsculos foram observados nos três casos desse estudo, o que favoreceu o diagnóstico definitivo (Fig.6B). TCG deve ser diferenciado de outros tumores do cordão sexual-estromal, uma vez que esses neoplasmas frequentemente apresentam tipos celulares múltiplos no mesmo tumor (Maclachlan & Kennedy 2002).

### **Leiomioma uterino**

Leiomioma é um tumor benigno de músculo liso. Em bovinos, tanto leiomiomas quanto sua variante maligna (leiomiossarcoma) são comumente diagnosticados no trato genital feminino (Schlafer & Foster 2016). Leiomiomas uterinos originam-se do miométrio e são frequentemente achados incidentais ocorrendo em animais adultos, porém várias faixas etárias podem ser afetadas (Anderson & Sandison 1969). Em nossos casos não foi possível ter acesso aos dados referentes a idade das vacas. São tumores solitários ou múltiplos, bem circunscritos, ovoides e firmes. Nos dois casos encontrados neste estudo, a massa estava localizada no endométrio, na altura do corpo uterino, possuía aproximadamente 10 cm de diâmetro e era firme e brancacenta (Fig.7A). Conforme é descrito na literatura (Cooper & Valentine 2002), não eram encapsulados e ulceração e necrose são características ausentes. Microscopicamente, consistiam de uma população homogênea de células alongadas densamente arranjadas em fascículos interlaçados, mimetizando o tecido muscular normal (Fig.7B). Leiomiomas uterinos geralmente não são associados com sinais clínicos, embora possam interferir com a capacidade reprodutiva (Cooper & Valentine 2002).

Há evidências que leiomiomas no trato genital de fêmeas possuam uma base hormonal (Cooper & Valentine 2002). Em bovinos, leiomiomas devem ser diferenciados macroscopicamente de linfomas devido à aparência firme, branco-amarelada homogênea e discretamente lobulada.

### **Neurofibroma**

Neurofibroma é descrito (Cantile e Youssef 2016) como um tumor benigno composto de uma população mista de células neoplásicas, incluindo células de Schwann, células perineurais e fibroblastos, com uma proporção variável de fibras colágenas e matriz mucoide. Os núcleos das células neoplásicas são ovais ou fusiformes.

Em bovinos, a neurofibromatose é uma forma multicêntrica de schwannoma, comum em bovinos velhos em abatedouro, mas também tem sido observada em animais jovens. A pele pode ser afetada, mas as lesões são usualmente restritas aos nervos mais profundos da parede torácica das vísceras. Os sítios anatômicos mais frequentemente afetados incluem o plexo braquial, nervos intercostais, plexo hepático autonômico, plexo epicárdico e nervos autonômicos do mediastino. Os gânglios simpáticos, especialmente os gânglios estrelados e outros gânglios do tórax são também frequentemente envolvidos. Os nervos afetados são espessados, e podem apresentar nódulos firmes e cinzentos. Os gânglios afetados podem estar vários centímetros aumentados e ter, ao corte, um aspecto lobulado (Cantile e Youssef 2016).

Os casos de neurofibroma (ou schwannoma) deste estudo possuíam localização epicárdica e periauricular, que são alguns dos sítios de predileção para o desenvolvimento desse tipo de tumor. O neurofibroma epicárdico apresentou-se como um nódulo de 2 cm localizado no ápice do coração; já o da base da orelha possuía cerca de 20x20x10 cm. Em ambos os casos, as massas possuíam aspecto gelatinoso, eram brilhantes e se assemelhavam à gordura, às vezes apresentando um aspecto multilobulado, com áreas de hemorragia. A microscopia era semelhante à descrita na literatura. É muito provável que os dois neurofibromas aqui descritos sejam parte da neurofibromatose bovina, embora isso seja difícil confirmar, já que nem toda a carcaça foi examinada à procura de outros nódulos (Cantile e Youssef 2016).

## Papiloma

Papilomas são neoplasmas epiteliais benignos conhecidos como “verrugas”. Na grande maioria das vezes são causados pela infecção de um *Papillomavirus* (família Papillomaviridae) espécie-específico e, frequentemente, sítio anatômico-específico (Mauldin & Peters-Kennedy 2016). Treze *Papillomavirus* bovino (BPV) foram descritos nessa espécie como causa de papilomas e/ou fibropapilomas – uma variante que consiste na proliferação de tecido fibroso coberto por epitélio hiperplásico e hiperkeratótico – (Mauldin & Peters-Kennedy 2016). A papilomatose bovina pode ser um problema de rebanho, pois o vírus pode ser facilmente transmitido de animal para animal ou através de fômites. Dependendo do sítio anatômico de desenvolvimento e do tipo de papiloma envolvido o padrão biológico e morfológico das lesões pode variar (Quadro 4). Por exemplo, o BPV-1 tipicamente causa fibropapilomas nos tetos e no pênis, enquanto BPV-2 causa fibropapilomas na cabeça, barbela, pescoço, paleta e, ocasionalmente, membros e teto. Ambos os vírus produzem lesões múltiplas em bovinos com menos de 2 anos de idade e as lesões, frequentemente, regridem espontaneamente (Grist 2008). Em conjunto, com BPVs (BPV-1, BPV-2, e BPV-4), a ingestão de samambaia (*Pteridium aquilinum*) é associada com vários tipos de tumores na bexiga e no trato alimentar (Mauldin & Peters-Kennedy 2016). Bovinos que pastoreiam em áreas altamente infestadas por samambaia no Sul do Brasil, frequentemente, são acometidos por papilomatose alimentar e por carcinomas de células escamosas no trato alimentar superior (Gava et al 2002).

Os casos de papilomatose observados nesse estudo estavam localizados no rúmen (um caso) e nos tetos de uma vaca (um caso). A localização ruminal caracterizou-se pela formação de papilomas císticos (Fig.8C), enquanto os papilomas no teto formavam estruturas brancacentas, as quais se estendiam para a pele da região adjacente (Fig.8A-8B). Inicialmente há o crescimento lento de pequenos nódulos que se transformam em massas com aspecto de couve-flor. Histologicamente os neoplasmas consistiam de múltiplas projeções papilares de espessura variada, recobertas por epitélio escamoso estratificado acantótico com espessa camada córnea ortoceratótica (Fig.8D).

Paradoxalmente, os papilomas representaram apenas 3% de todos os tumores, pois se sabe que são tumores comuns em bovinos (Mauldin & Peters-Kennedy 2016). Sua baixa representação neste estudo pode ser explicada pelo fato de que esses tumores não são usualmente diagnosticados no exame *post mortem* – quando o couro já foi retirado da carcaça – o que foi o procedimento na maioria dos casos aqui observados, mas sim no exame *ante mortem*.

## Tumores pulmonares primários

Tumores epiteliais primários de pulmões de bovinos (Quadro 5) são usualmente observados como um achado incidental no abatedouro. Carcinomas são o neoplasma epitelial primário mais comuns em bovinos (Caswell & Williams 2016), especialmente adenocarcinomas e os carcinomas de células escamosas (Anderson & Sandison 1968). Adenocarcinomas pulmonares são derivados das células alveolares, das glândulas bronquiais ou do epitélio dos bronquíolos (Caswell & Williams 2016). A etiologia dos tumores pulmonares primários em bovinos é desconhecida.

Há poucos relatos de carcinoma de pequenas células (CPPCs) em bovinos (Caswell & Williams 2016). Podem apresentar-se como massas grandes e firmes, podendo ocupar até um terço da cavidade torácica (Piercy et al. 1993). Um dos tumores epiteliais primários do pulmão neste estudo era morfológicamente

compatível com CPPC, o outro era um adenocarcinoma. O CPPC apresentava múltiplos nódulos macios ao corte, amarelos ou vermelhos, distribuídos aleatoriamente por todo o parênquima pulmonar (Fig.9A). O adenocarcinoma apresentou-se como uma massa solitária afetando apenas um lobo pulmonar. Ao corte era firme, brancacento e com pequenos cistos (Fig.9C).

Os CPPC em animais são assim classificados baseados na similaridade histológica aos CPPC de humanos (Stünzi et al. 1974). São massas compostas por pequenas células neoplásicas com citoplasma escasso que pode ser redondo, fusiforme ou poligonal (Caswell & Williams 2016). Neste caso, as células eram redondas ou fusiformes formando um manto difuso e frouxo, sustentado por um escasso estroma fibrovascular (Fig.9B). Os adenocarcinomas podem ser divididos em quatro padrões histológicos distintos: papilar, acinar, sólido e misto; os padrões papilar e acinar são os mais frequentes (Caswell & Williams 2016). O adenocarcinoma desse caso foi classificado como papilar devido à formação de projeções papilíferas com múltiplas camadas para o interior de ácinos neoplásicos (Fig.9D). As células possuíam um citoplasma colunar e núcleo redondo a oval, com cromatina agregada e limites citoplasmáticos indistintos. Envolvendo essas áreas observavam-se feixes de tecido conjuntivo fibroso.

Algumas vezes pode ser difícil diferenciar, tanto no exame macro- quanto no microscópico, os tumores primários de pulmão de metástases pulmonares. Quando ilhotas maiores de células neoplásicas de CPPC apresentam necrose central, podem assemelhar-se a detritos ceratinizados, conduzindo a um falso diagnóstico de carcinoma de células escamosas.

### **Adenocarcinoma mamário**

Um caso deste estudo era de adenocarcinoma mamário. A mama estava aumentada de tamanho com múltiplas massas amareladas de, aproximadamente, 20 cm de diâmetro, com áreas hemorrágicas intercaladas por áreas esverdeadas (Fig.10A). Microscopicamente, observaram-se células neoplásicas redondas a cuboides, com alta taxa mitótica (até 15 mitoses por campo de grande aumento), arranjadas frouxamente e ocasionalmente formando ácinos com centro necrótico e hemorrágico (Fig.10B). Septos espessos de tecido conjuntivo dividiam o parênquima tumoral em lóbulos.

Embora comuns em cães e gatos (Schlafer & Foster 2016), neoplasmas da glândula mamária são raros em bovinos. Numa extensa revisão de tumores mamários na vaca, 22 tumores foram encontrados, dos quais apenas 5 eram adenocarcinomas (Povey & Osborne 1969). Numa outra revisão incluindo casos compilados desde 1902, encontraram-se 41 tumores, apenas 10 deles carcinomas (Ford et al. 1989). Na rotina de inspeção pós-abate nos EUA, em 13 milhões de úberes bovinos analisados nenhum tumor foi detectado (United States Department of Agriculture, 1945). Esses dados são intrigantes quando se considera que vacas leiteiras são mantidas em produção por muitos anos e vivem muito além do que é considerada a “idade do câncer”. Sugere-se que a lactação tenha efeito protetivo no desenvolvimento de tumores de mama em seres humanos (Lester 2015); a lactação quase constante em vacas poderia oferecer uma proteção semelhante. Metástases de neoplasmas mamários na vaca são raras, podendo ocorrer para linfonodos, pulmões, fígado, diafragma, pleura, pericárdio, rins e peritônio (Povey & Osborne 1969). No caso desse estudo, não foram observadas metástases.

Diagnósticos diferenciais para adenocarcinomas mamários devem incluir mastite, abscessos, hematomas, trauma seguido por cicatrizes, outros neoplasmas mamários epiteliais e mesenquimais e linfoma (Thibault et al. 1997).

### **Adenocarcinoma de endométrio**

Dentre as espécies domésticas, o adenocarcinoma uterino ocorre mais frequentemente em bovinos (Schlafer & Foster 2016), sendo encontrado incidentalmente durante a inspeção *post mortem* de vacas velhas, acima de seis anos de idade (Kenneth & Svend 1976). Neste estudo, foi observado um caso desse tumor, tendo sido submetida para exame histopatológico apenas sua metástase pulmonar. A etiologia dos adenocarcinomas uterinos em vacas é desconhecida. As taxas de metástases para pulmões e linfonodos são relativamente altas em bovinos (Schlafer & Foster 2016).

Esses tumores são nódulos, solitários ou múltiplos, duros, brancacentos e de tamanhos variáveis localizados na parede uterina. Há acentuada desmoplasia (Barros et al. 1978) que leva a formação de umbilicações na superfície serosa (Schlafer & Foster 2016). Muitas vezes, durante a inspeção no abatedouro, somente mínimas alterações macroscópicas são vistas no útero, o que pode explicar o fato do tumor primário deste caso ter passado despercebido na inspeção *post mortem*. A metástase era caracterizada por múltiplos nódulos amarelos de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro no parênquima pulmonar. Os septos interlobulares estavam distendidos por ar.

Histologicamente, adenocarcinoma uterino de bovinos é um tumor acentuadamente desmoplásico que invade difusamente todas as camadas da parede uterina (Barros et al. 1978). As células neoplásicas formam estruturas acinares e raramente projetam-se para o lúmen formando pequenas papilas (Kenneth & Svend 1976). Alguns ácinos podem assumir aspecto cístico, com restos necróticos, calcificados ou não, no seu interior (Barros et al. 1978). As células neoplásicas formam um epitélio cúbico ou colunar baixo, com limites citoplasmáticos distintos e quantidades moderadas de citoplasma eosinofílico (Barros et al. 1978).

Como muitas vezes o tumor primário passa despercebido à inspeção e apenas as metástases são observadas; elas apresentam a abundante desmoplasia que caracteristicamente acompanha os adenocarcinomas uterinos. Esse aspecto, observado neste caso, permitiu diferenciar adenocarcinoma uterino dos carcinomas primários de pulmão (Barros et al. 1978).

### **Fibroma interdigital**

Um caso de fibroma interdigital foi observado neste estudo. Os termos fibroma e hiperplasia interdigital referem-se à hiperplasia do tecido fibroso denso da pele interdigital e tecido subcutâneo que ocorrem em resposta à irritação crônica. Essa reação proliferativa também é chamada de tiloma ou gábarro; a prevalência varia de 0,5%- 80,92%. (Borges & Pitombo 2007).

A causa pode estar associada à irritação crônica decorrente de traumas ou acúmulo de dejetos e lama (Cruz et al. 2001). Além disso, a predisposição genética dos mestiços zebuínos parece estar ligada ao excesso de tecido adiposo interdigital. No caso do bovino deste estudo não há dados quanto à etiologia.

No exame macroscópico observou-se uma massa entre os dígitos dos membros pélvicos com 12x8x3 cm, recoberta por crostas (Fig.11A). Ao corte era dura e formada por feixes de um tecido brancacento. Microscopicamente, havia proliferação difusa de tecido conjuntivo fibroso bem diferenciado (Fig.11B).

No diagnóstico diferencial devem ser consideradas outras doenças digitais de bovinos que possam culminar com lesões proliferativas no espaço interdigital (Borges & Pitombo 2007).

### **Hemangiossarcoma**

Hemangiossarcomas são neoplasmas malignos que se originam do endotélio vascular sanguíneo (Goldschmidt & Hendrick 2002); são comuns em cães, mas apenas ocasionais em bovinos (Dukes et al. 1982), podendo afetar vários órgãos.

No caso deste estudo fragmentos de fígado, pulmão e baço foram encaminhados para análise. Macroscopicamente, o parênquima hepático estava marcadamente amarelo com áreas hemorrágicas multifocais. A cápsula hepática estava espessada, com áreas mineralizadas. Na pleura pulmonar havia áreas circulares de hemorragia com mineralização central. No baço havia nódulos vermelhos e friáveis de diferentes tamanhos, bem delimitados e envoltos por cápsula fibrosa. Foi concluído que o sítio anatômico primário deveria ter sido o fígado. As proliferações no baço e pulmão foram consideradas metástases, mas não se pode afastar uma origem multicêntrica. Histologicamente, as células neoplásicas eram marcadamente pleomórficas, poligonais ou ovais e, usualmente, formavam fendas ou canais vasculares. Outras lesões a serem consideradas no diagnóstico diferencial incluem fibrossarcomas, sarcomas pouco diferenciados (Goldschmidt & Hendrick 2002), hamartomas vasculares e telangiectasia.

### **Lipossarcoma**

Há poucos relatos da variante maligna dos lipomas (lipossarcomas) em bovinos, os quais têm a origem considerada como espontânea (Goldshmidt & Hendrick 2002). Sua aparência macroscópica varia conforme a quantidade de lipídeos produzidos pelas célula neoplásicas. Alguns mimetizam lipomas, enquanto outros, como o caso observado nesse bovino, são firmes, branco-acinzentados e infiltram os tecidos adjacentes (Goldshmidt & Hendrick 2002). Neste caso, a massa media cerca de 20x15x5 cm e estava aderida a uma das costelas, causando destruição óssea. Multifocalmente havia múltiplos fragmentos ósseos e áreas de hemorragia (Fig.12A). Microscopicamente, era caracterizado por uma proliferação de células redondas a fusiformes, arranjadas em ilhas ou feixes, que apresentavam vacúolos citoplasmáticos de diferentes tamanhos e núcleos pleomórficos comprimidos na periferia celular (Fig.12B). A classificação mais apropriada neste caso é de lipossarcoma pleomórfico (Goldschmidt & Hendrick 2002), uma vez que havia predominância de células altamente pleomórficas, associadas à presença de vacúolos intracitoplasmáticos. As células neoplásicas estavam sustentadas por um estroma fibroso e entre elas frequentemente se observavam lipócitos normais e áreas multifocais de necrose e hemorragia.

### **Mesotelioma**

Mesoteliomas são tumores do mesotélio, um tipo especial de células epiteliais que revestem as membranas serosas (Carter et al. 2007). Mesoteliomas são neoplasmas raros. Em bovinos, ocorrem mais frequentemente como um neoplasma congênito no feto ou em terneiros (Uzal et al. 2016). São frequentemente múltiplos e podem envolver as superfícies serosas, parietal e visceral, das cavidades pleural, pericárdica ou peritoneal (Carter et al. 2016). Em bovinos, ocorrem mais frequentemente na cavidade abdominal do que no tórax (Uzal et al. 2016). No caso encontrado em um bovino deste estudo

foram observados múltiplos nódulos e placas coalescentes amarelas, que variavam entre 0,1 a 3 cm de diâmetro sobre o omento e peritônio. Muitas vezes as placas formavam pequenos agregados com 4x2x0,2 cm, macios ao corte. Microscopicamente, mesoteliomas podem ser epitelioides, ou sarcomatoides, ou mais comumente apresentar um padrão bifásico (Carter et al. 2007). No caso deste estudo observaram-se células epiteliais proliferadas formando papilas, circundadas por abundante tecido conjuntivo fibroso e áreas de mineralização. As células epitelioides eram cúbicas ou colunares, com bordas distintas, citoplasma abundante e núcleo redondo a oval, com cromatina frouxa.

Macroscopicamente, mesoteliomas devem ser diferenciados de adenocarcinomas metastáticos, tuberculose, actinobacilose e outras infecções granulomatosas., como as causadas por actinobacilose e esofagostomose, ambas as lesões observadas previamente nesse estudo em outros bovinos abatidos. Embora muito semelhantes, essas três lesões possuem características que auxiliam na diferenciação. Na actinobacilose é comum a observação de pequenos pontos amarelos no centro da lesão, os quais quando pressionados deixam fluir pus (Tessele et al. 2014). A migração por larvas de *Oesophagostomum* sp. quando ocorre induz piogranulomas (Tessele et al. 2013).

### **Tumor estromal gastrointestinal**

A expressão “tumor estromal gastrointestinal” (GIST) tem sido usada para descrever um grupo específico de tumores mesenquimais não linfóides que possui origem na parede do trato gastrointestinal de humanos e no trato gastrointestinal de cães, macacos e cavalos. Não há relatos na literatura em ruminantes (Cooper & Valentine 2002).

GISTs não são distinguidos dos tumores de músculo liso em colorações de rotina como a hematoxilina e eosina. É proposto que os GISTs possuem origem das células intersticiais (miofibroblastos) de Cajal (Cooper & Valentine 2002, Uzal et al. 2016). Células intersticiais de Cajal são encontradas no trato gastrointestinal e são parte do sistema de marca-passo cardíaco na parede intestinal. Essas células são positivas para CD117 na imuno-histoquímica, enquanto as células musculares lisas são negativas.

GISTs podem afetar ceco, duodeno, estômago e mesentério. No caso deste estudo, uma massa de, aproximadamente, 15x10x5 cm, multilobulada, circundava a parede do intestino delgado e obstruía parte do lúmen intestinal (Fig.13A e 13B). Metástases não foram encontradas.

GISTs podem ser divididos em quatro padrões morfológicos básicos, que podem ser vistos tanto em humanos quanto em animais: (1) padrão estoriforme, caracterizado por células fusiformes em um padrão mais ou menos estoriforme conforme o grau de diferenciação celular; (2) padrão mixoide, caracterizado por células alongadas a poligonais proliferadas de forma escassa em uma matriz mixoide; (3) padrão fascicular, em que células fusiformes entrelaçam-se em feixes. Esses tumores são altamente vasculares, com áreas extensas de hemorragia e necrose. (4) E padrão epitelióide, que é caracterizado por ilhas de células redondas a poligonais, separadas por um estroma escasso (Head et al. 2003). As células neoplásicas do tumor do bovino deste estudo apresentaram-se como células fusiformes a ovoides, altamente pleomórficas, formando feixes que se entrelaçavam em diferentes direções, como em um padrão estoriforme (Fig13C).

GISTs devem ser diferenciados de tumores originários do músculo liso (leiomioma e leiomiossarcoma). A técnica de imuno-histoquímica (IHQ) é necessária para essa distinção. No presente caso houve forte marcação positiva para c-kit (CD117) (Fig.13D) – as células intersticiais de Cajal são

reativas para esse anticorpo enquanto as células musculares lisas não (Frost et al. 2003) - o que confirma nosso diagnóstico. Expressão de actina pode ocorrer em alguns GISTs que possuam diferenciação para músculo liso, enquanto que a reação para desmina é negativa. No caso aqui relatado, houve marcação positiva para actina de músculo liso e actina muscular, mas não para desmina.

Macroscopicamente esses tumores podem ser confundidos com linfoma intestinal, como ocorreu nesse caso, devido à aparência firme, branco-amarelada homogênea e discretamente lobulada que os linfomas apresentam (Barros 2007).

### **Tumores melanocíticos**

Tumores melanocíticos são neoplasmas de melanócitos originários da crista neural (Mauldin & Peters-Kennedy 2016). Podem ser divididos em lentigo (lentigo simplex), melanocitoma (melanoma benigno, nevo melanocítico), melanocitoma de células balanosas, melanocitoma-acantoma (melanoacantoma) e melanoma maligno (Mauldin & Peters-Kennedy 2016). Em bovinos, representam, aproximadamente, 6% de todos os tumores, ocorrendo mais comumente na pele e tecido subcutâneo, tendo uma maior tendência a serem benignos (Crowell et al. 1973, Miller et al. 1995).

A etiopatogênese dos tumores melanocíticos em bovinos, em grande parte, é desconhecida. Em bovinos, os tumores melanocíticos podem invadir o tecido subcutâneo e são, com frequência, marcadamente pigmentados, o que facilita o diagnóstico. Neoplasmas melanocíticos amelanóticos não foram relatados em bovinos. No bovino desse estudo havia uma massa de 9,5x7,5x7,5 cm na pele da região mamária, firme ao corte e com a superfície de corte lisa e preta (Fig. 14A). Cortes do neoplasma deste caso, foram descorados com peróxido de hidrogênio a 10% durante 10 dias, para visualização das células tumorais e possibilitando o diagnóstico da variante benigna (melanocitoma) do neoplasma (Fig.14B).

Embora a pigmentação de tumores melanocíticos facilite o diagnóstico, outros neoplasmas cutâneos, como sarcoma melânico, podem apresentar aparência semelhante, assim como a melanose cutânea (Infante Gil 2000).

### **REFERÊNCIAS.**

- Anderson L.J. & Sandison A.T. 1967. Tumors of the liver in cattle, sheep, and pigs. *Cancer* 21:289-301.
- Barros C.S.L. 2007. Doenças víricas: leucose bovina, p. 159-169. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R.J. Doenças de Ruminantes e Eqüídeos. vol. 1. 3ªed. Pallotti, Santa Maria.
- Barros C.S.L., Barros S.S., Santos M.N. & Abaid F. 1978. Adenocarcinoma de útero em bovino. *Rev. Cento de Ciência Rurais*. 8:277-281.
- Borges J.R.J. & Pitombo C.A. 2007. Doenças digitais de etiologia incerta ou secundárias: pododermatite do parágrafo, p.519-522. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), Doenças de Doenças de Ruminantes e Eqüídeos. vol. 2. 3ªed. Pallotti, Santa Maria.
- Brandly P.J. & Migaki G. 1963. Types of tumors found by federal meat inspectors in an eight year survey. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 108:1872-1879.
- Cantile C. & Youssef S. Nervous system, p. 250-406. In:Maxie M.G. (Ed.) Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals.Vol.2. 6th ed. Elsevier, St. Louis.

- Carter D., True L. & Otis C.N. 2007. Serous membranes, p.547-562. In: Mills S.E. (Ed.) *Histology for Pathologists*. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Caswell J.L. & Williams K.J. 2016. Respiratory system, p.465-591. In: Maxie M.G. (Ed.) *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Vol. 1. 6th ed. Elsevier, St. Louis.
- Cianciolo R. & Mohr F.C. 2016. Urinary system, p. 376-464. In: Maxie M.G. (Ed.) *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Vol. 2. 6th ed. Elsevier, St. Louis.
- Cooper B.J. & Valentine B.A. 2002. Tumors of muscle. p.319-363. In: Meuten D.J. (Ed.) *Tumors in Domestic Animals*. 4<sup>th</sup>. Iowa State Press, Ames.
- Crowell W.A., Chandler E.W. & Williams D.J. 1973. Melanoma in cattle: fine structure and report of two cases. *Am. J. Vet. Res.* 34:1591-1593.
- Cruz C.E.F., Driemeier D., Cerva C. & Corbellini L.G. 2001. Clinical and epidemiological aspects of bovine digital lesions in southern Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 53:654-657.
- Cullen J.M. & Popp J.A. 2002. Tumors of the liver and gall bladder. p.483-508. In: Meuten D.J. (Ed.), *Tumors in Domestic Animals*. 4<sup>th</sup>. Iowa State Press, Ames.
- Dukes T.W., Bundza A. & Corner A.H. 1982. Bovine neoplasms encountered in Canadian slaughterhouses: A summary. *Can. Vet. J.* 23:28-30.
- Figuera R.A. & Barros C.S.L. 2004. Linfossarcoma intracerebral em bovino. *Ciência Rural* 34:943-945.
- Ford T.S., Ross M.W., Acland H.M. & Madison J.B. 1989. Primary teat neoplasia in two yearling heifers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 195:238-239.
- Frost D., Lasota J. & Miettinen M. 2003. Gastrointestinal stromal tumors and leiomyomas in the dog: A histopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 50 cases. *Vet. Pathol.* 40:42-54.
- Gava A., Neves D.S., Gava D., Moura T.S., Schild A.L. & Riet-Correa F. 2002. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning in cattle in Southern Brazil. *Vet. Human Toxicol.* 44:362-365.
- Goldschmidt M.H. & Hendrick M.J. 2002. Tumors of skin and soft tissues, p.45-118. In: Meuten D.J. (Ed.), *Tumours in Domestic Animals*. 4th ed. Iowa State Press, Ames.
- Gopal T. & Leipold H.W. 1979. Lipomeningocele in a calf. *Vet. Pathol.* 16:610-612.
- Grist A. 2008. *Bovine Meat Inspection: Anatomy, Physiology and Disease Conditions*. 2<sup>nd</sup> ed. Nottingham University Press, Nottingham.
- Head K.W., Cullen J.M., Dubielzig R.R., Else R.W., Misdorp W., Patnaik A.K., Tateyama S. & Van der Gaag I. 2003. Histological classification of tumors of the alimentary system of domestic animals *World Health Organization International* vol. 10. Series Editor, Washington.
- Infante Gil J. 2000. *Manual de Inspeção Sanitária de Carnes*. 2<sup>a</sup> ed. Vol. 2. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
- Kelley L.C., Crowell W.A., Puette M., Langheinrich K.A. & Self A.D. 1996. A retrospective study of multicentric bovine renal cell tumors. *Vet. Pathol.* 33:133-141.
- Kenneth M. & Svend W.N. 1976. Tumours of the female genital tract. *Bull World Health Organ.* 53:217-226.
- Kenny J.E. 1944. Some observations on bovine neoplasia. *Vet Rec.* 56:69-71.
- Lester S.C. 2015. The breast. p. 1343-1070. In: Kumar V., Abbas A.K. & Aster J.C. *Robbins and Cotran Pathological Basis of Disease*, 9<sup>th</sup> ed., Elsevier Saunders, Philadelphia.

- Maclachlan N.J. & Kennedy P.C. 2002. Tumors of the genital systems. p. 547-573. In: Meuten D.J. (Ed.) *Tumors in Domestic Animals*. 4<sup>th</sup>. Iowa State Press, Ames.
- Mauldin E.A. & Peters-Kennedy J. 2016. Integumentary system, p. 509-736. In:Maxie M.G. (Ed.) Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*.Vol. 1. 6th ed. Elsevier, St. Louis.
- Max D.T. 2007.*The Family That Couldn't Sleep: A Medical Mystery*, p. 167. Random House, New York.
- Maxie M.G & Miller M.A. 2016. Introduction to the diagnostic process, p. 1-15. In:Maxie M.G. (Ed.) Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*.Vol. 1. 6th ed. Elsevier, St. Louis.
- Miller M.A., Weaver A.D., Stogsdill J.R., Fischer J.M., Kreeger S.L. & Turk J.R. 1995. Cutaneous melanocytomas in 10 young cattle. *Vet. Pathol.* 32:479-484.
- Ministério da Agricultura. 1980. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal(R.I.I.S.P.O.A). Aprovado pelo decreto no. 30690 de 20.03.52, alterado pelo decreto nº. 1255, de 25.06.52. Brasília. 66p.
- Pereira W.L.A., Silva A.W.C & Pinto M.N. 2007. Feocromocitoma em bovinos de abate: relatos de casos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59:301-305.
- Peterman S.B., Steiner R.E. & Bydder G.M. 1984. Magnetic resonance imaging of intracranial tumors in children and adolescents. *Amer. J. Neuroradiol.* 5:703-709.
- Piercy D.W., Cranwell M.P. & Wonnacott B.J. 1993. Anaplastic small cell carcinoma of the lung in a six-month-old Friesian calf. *Vet Rec.* 132:386-387.
- Povey R.C. & Osborne A.D. 1969. Mammary gland neoplasia in the cow. A Review of the literature and report of a fibrosarcoma. *Path. Vet.* 6:502-512.
- Rosol T.J. & Gröne A. 2016. Endocrine glands. p. 269-357. In:Maxie M.G. (Ed.) Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*.vol.3. 6th ed. Elsevier, St. Louis.
- Sandison A.T. & Anderson L.J. 1968. Tumors of the kidney in cattle, sheep, and pigs. *Cancer* 21:727-742.
- Santos R.L., Nascimento E.F. & Edwards J. 2011. Sistema reprodutivo feminino, 798-854. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Ed.) *Patologia Veterinária*. Roca, São Paulo.
- Schlafer D.H. & Foster R.A. 2016. Female genital system, p. 258-464. In:Maxie M.G. (Ed.) Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*.vol.3. 6th ed. Elsevier, St. Louis.
- Stünzi H., Head K.W. & Nielsen S.W. 1974. Tumours of lungs. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 50:9-19.
- Tessele B., Brum J.S. & Barros C.S.L. 2013. Lesões parasitárias encontradas em bovinos abatidos para consumo humano. *Pesq. Vet. Bras.* 33:873-889.
- Tessele B., Martins T.B.; Vielmo A. & Barros C.S.L. 2014. Lesões granulomatosas encontradas em bovinos abatidos para consumo. *Pesq. Vet. Bras.* 38:763-769.
- Tessele B., Rissi D.R., Langohr I.M., Vielmo A. & Barros C.S.L. 2015. Mixed apocrine adenocarcinoma of the tail in a cow. *Braz. J. Vet. Pathol.* 8:72-75.
- Thibault S., Mikaelian I., Dubreuil P., Drolet R. & Couture Y. 1997. Mammary fibroadenoma in a heifer. *Can Vet J.* 38: 785-786.
- United States Department ofAgriculture. 1945. Yearbook, United States Department of Agriculture.
- Uzal F.A., Plattner B.L. & Hostetter J.M. 2016 Alimentary system, p.1-257. In:Maxie M.G. (Ed.) Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*.vol.2. 6th ed. Elsevier, St. Louis.

Valli V.E.O. Kiupel M, & Benzle G. J.M. 2016. Hematopoietic system p.102-268. In:Maxie M.G. (ed.) Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals.vol.3. 6th ed. Elsevier, St. Louis.

Wright B.J. & Conner G.H. 1968. Adrenal neoplasms in slaughtered cattle. Cancer Res. 28:251-263.

Zettner A. & Netsky M. 1960. Lipoma of the corpus callosum. J. Neuropathol. Exper.Neurol. 19:305-319.

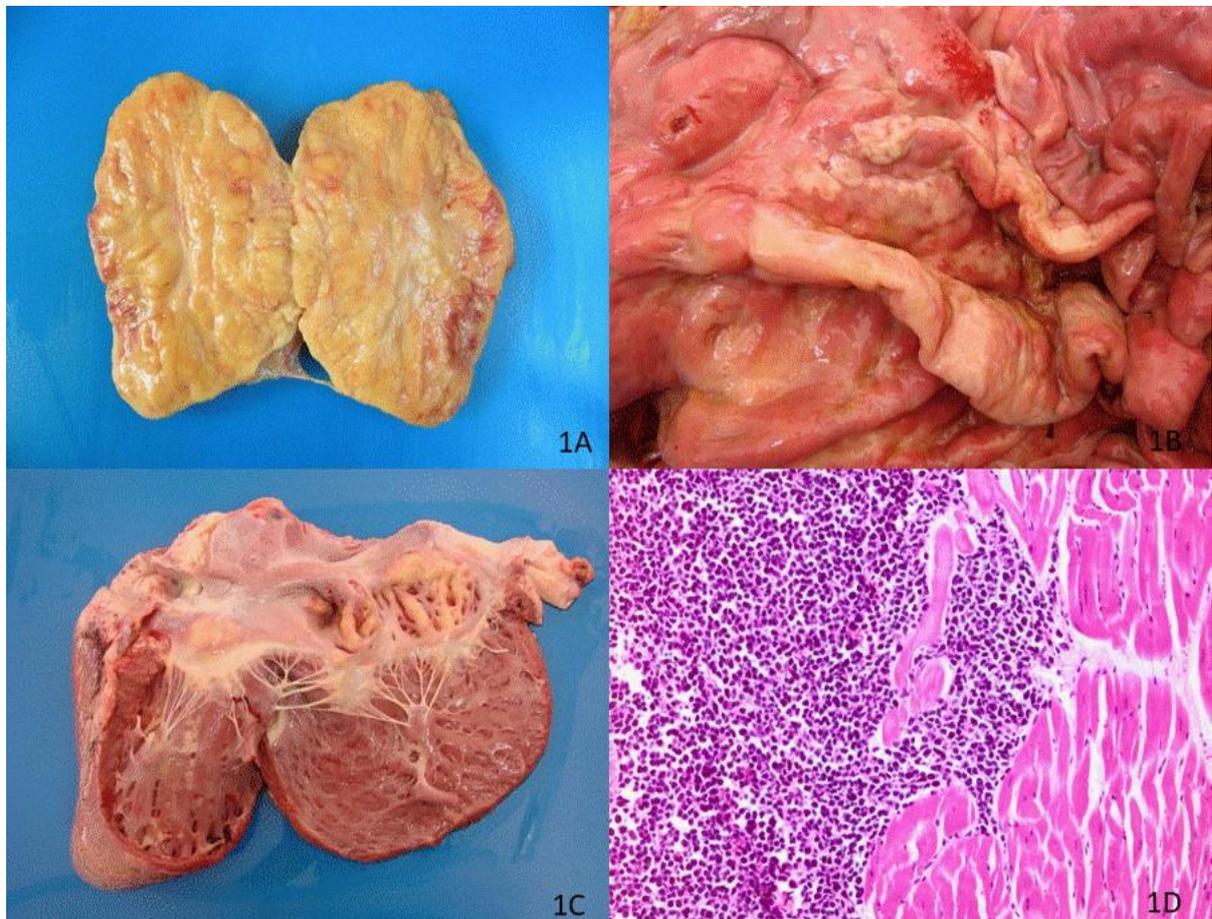


Fig.1. Linfoma. **(A)** Linfonodo afetado aumentado de volume e com arquitetura substituída, por uma massa branca-amarelada, com áreas vermelhas de hemorragia; não há distinção entre as camadas cortical e medular. **(B)** Abomaso com dobras da mucosa espessadas e brancacentas devido à infiltração tumoral. Observam-se também úlceras lineares multifocais. **(C)** As paredes do átrio e ventrículo direitos mostram áreas brancacentas que correspondem à infiltração tumoral. **(D)** Histopatologia do miocárdio. As miofibras cardíacas estão parcialmente substituídas por um manto de células redondas, pequenas e monomórficas que possuem limites citoplasmáticos distintos, citoplasma escasso e núcleo redondo e fortemente basofílico. HE, obj.20x.

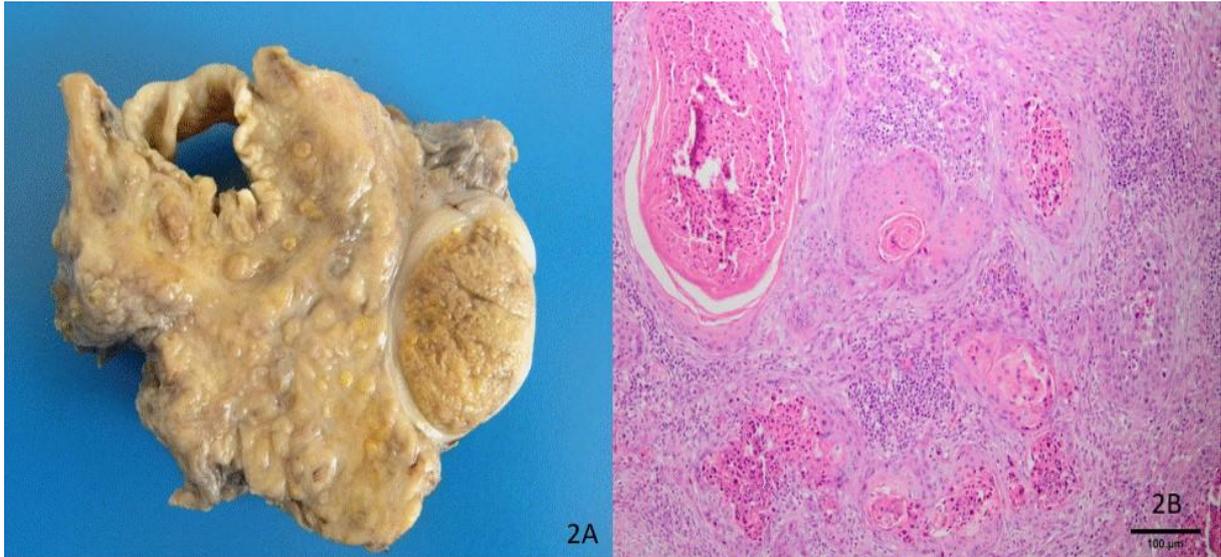


Fig.2. Carcinoma de células escamosas. **(A)** Esôfago, secção transversal. Massa irregular, branca-amarelada, lobulada envolvendo o esôfago (estrutura tubular localizada na porção superior esquerda da foto). Os focos amarelo-ouro dispersos na massa tumoral correspondem às áreas de ceratinização. **(B)** Histopatologia do tumor mostrado em **A**. Observam-se ninhos de células escamosas de citoplasma abundante, circundados por acentuada reação desmoplásica e células inflamatórias mononucleares e alguns neutrófilos. No centro dos ninhos observa-se ceratina produzida pelas células neoplásicas em diferentes estágios de desenvolvimento. Em alguns ninhos a ceratina forma camadas concêntricas fortemente eosinofílicas (pérolas de ceratina). HE, obj.20x.

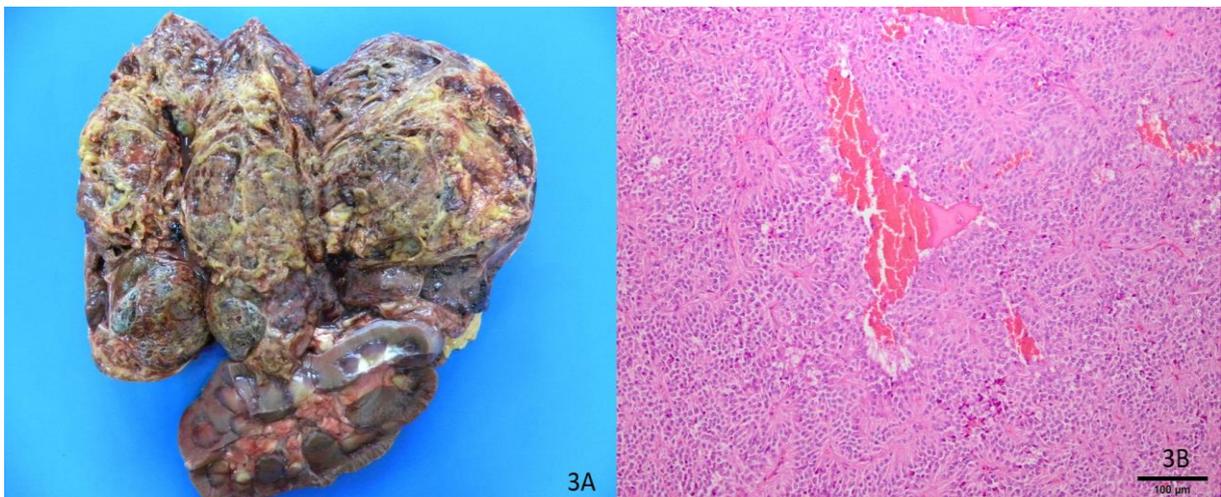


Fig.3. Feocromocitoma, adrenal. **(A)** Massa castanho-avermelhada, com áreas de necrose e hemorragia e cavitações multifocais localizada próxima ao rim. Essa massa tinha 20x17x7 cm pesava 1,5Kg. Ao corte a faca rangia devido ao tecido ósseo em meio ao tumor. **(B)** Histopatologia de **A**. Observam-se pacotes de células neoplásicas separados por finos septos de tecido conjuntivo fibroso e circundados por canais vasculares. As células possuem citoplasma alongado, com o núcleo pequeno, alongado e hiper cromático. HE, obj.20x.



Fig.4. Carcinoma de células renais. O parênquima renal foi substituído por tecido brancacento e firme em meio ao qual veem-se focos amarelos e cistos contendo material líquido marrom (pus). A gordura perirrenal está endurecida e apresenta-se parcialmente mineralizada (necrose da gordura).

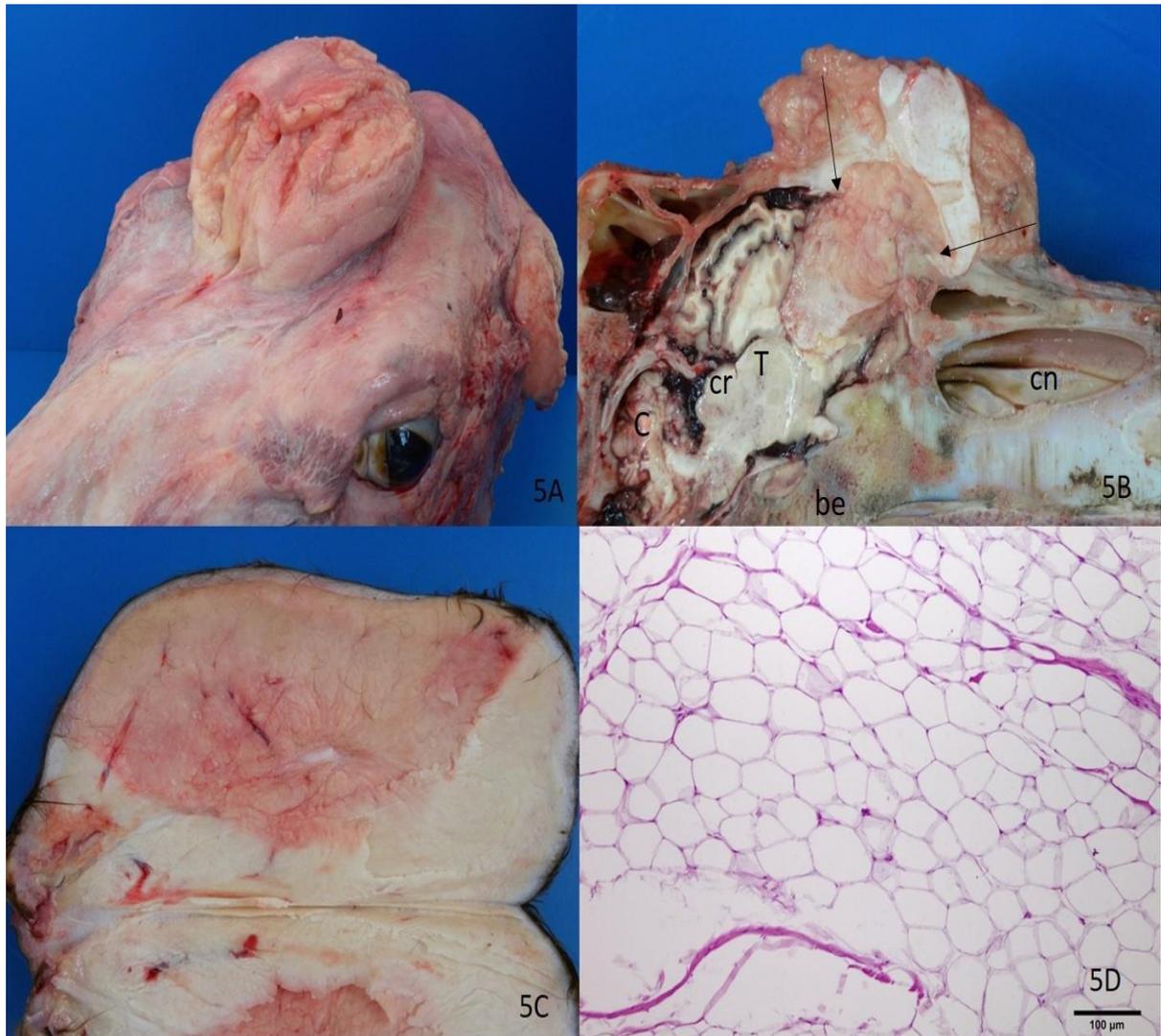


Fig.5. Lipoma. **(A)** Protraindo pelo osso frontal há uma massa de aproximadamente 15 cm de diâmetro de aspecto semelhante à gordura. **(B)** Ao corte longitudinal da cabeça, observa-se que a massa se estende da região do tálamo (*T*) até a superfície externa do osso frontal, passando por uma fenda (*setas*), interpretada como um defeito disráfico (craniósquise), e comprimindo o telencéfalo. No centro, a massa é constituída por material cartilaginoso. *Cn* = cavidade nasal; *Cr* = colículo rostral; *be* = osso basoesfenoide; *C* = cerebello. **(C)** Lipoma da região lombar de um bovino. Massa semelhante à gordura recoberta por pele. No centro da massa há um pequeno fragmento de tecido cartilaginoso. A diferença de coloração observada na fotografia é devido ao congelamento do material. **(D)** Histopatologia de **A-B**. Células neoplásicas com o citoplasma bem definido e vacuolizado, e núcleo deslocado para a periferia, semelhante a lipócitos maduros. HE, obj.20x.

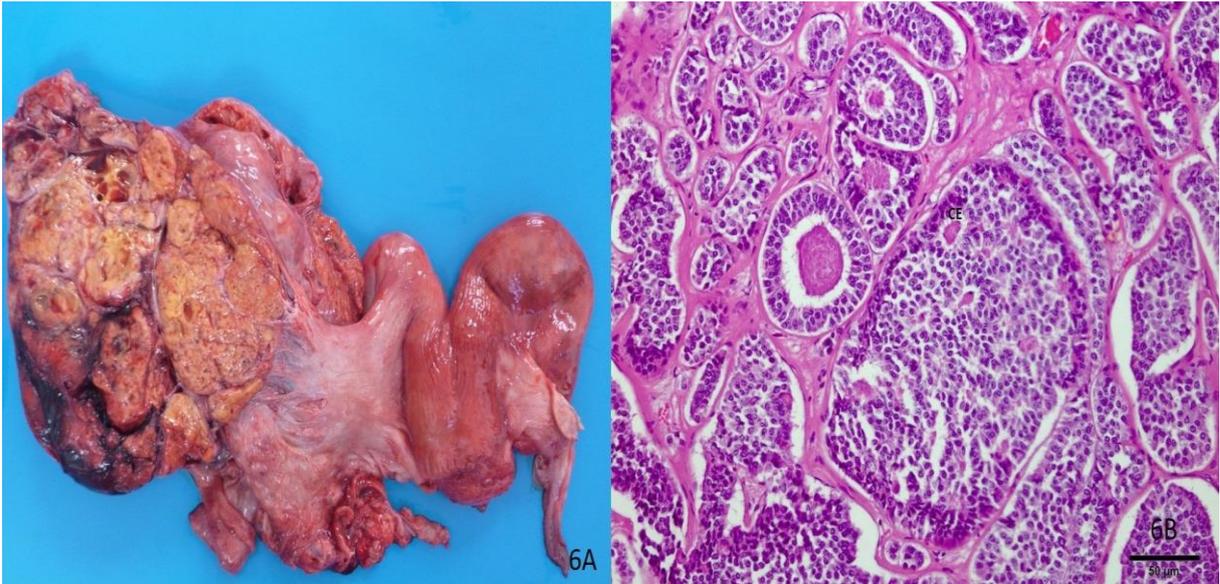


Fig.6. Ovário. Tumor de células da granulosa. **(A)** Há alteração da arquitetura ovariana por uma massa de, aproximadamente, 25 cm de diâmetro, com múltiplos nódulos amarelos, separados por finos septos de um tecido brancacento. No centro desses nódulos observam-se pequenos cistos preenchidos por líquido amarelo claro ou coágulos sanguíneos. **(B)** Histopatologia de **A**. As células da granulosa neoplásicas formam estruturas que lembram folículos ovarianos, separadas por finos septos de tecido conjuntivo fibroso, muitas delas contendo material proteináceo no centro, estruturas morfológicamente compatíveis com corpúsculos de Call-Exner (*CE*).

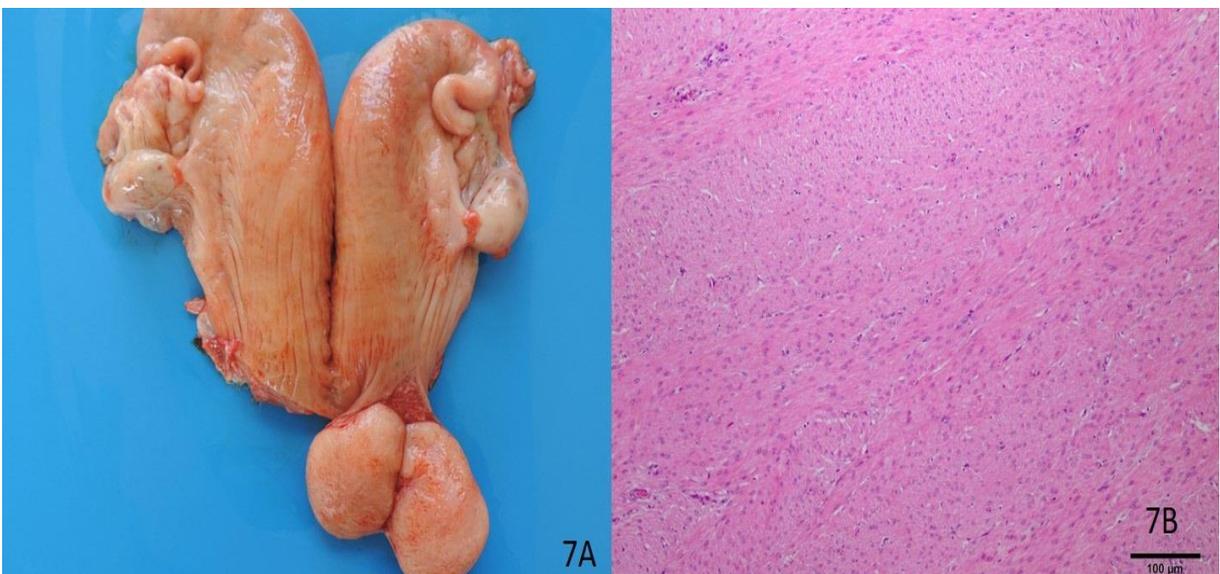


Fig.7. Leiomioma uterino **(A)** Útero. Há uma massa aderida de  $\cong 10$  cm de diâmetro, brancacenta e homogênea localizada no miométrio do corpo uterino. **(B)**. Histopatologia de **A**. População homogênea de células alongadas densamente arranjadas em fascículos interlaçados, mimetizando o tecido muscular normal. HE, obj.20x.

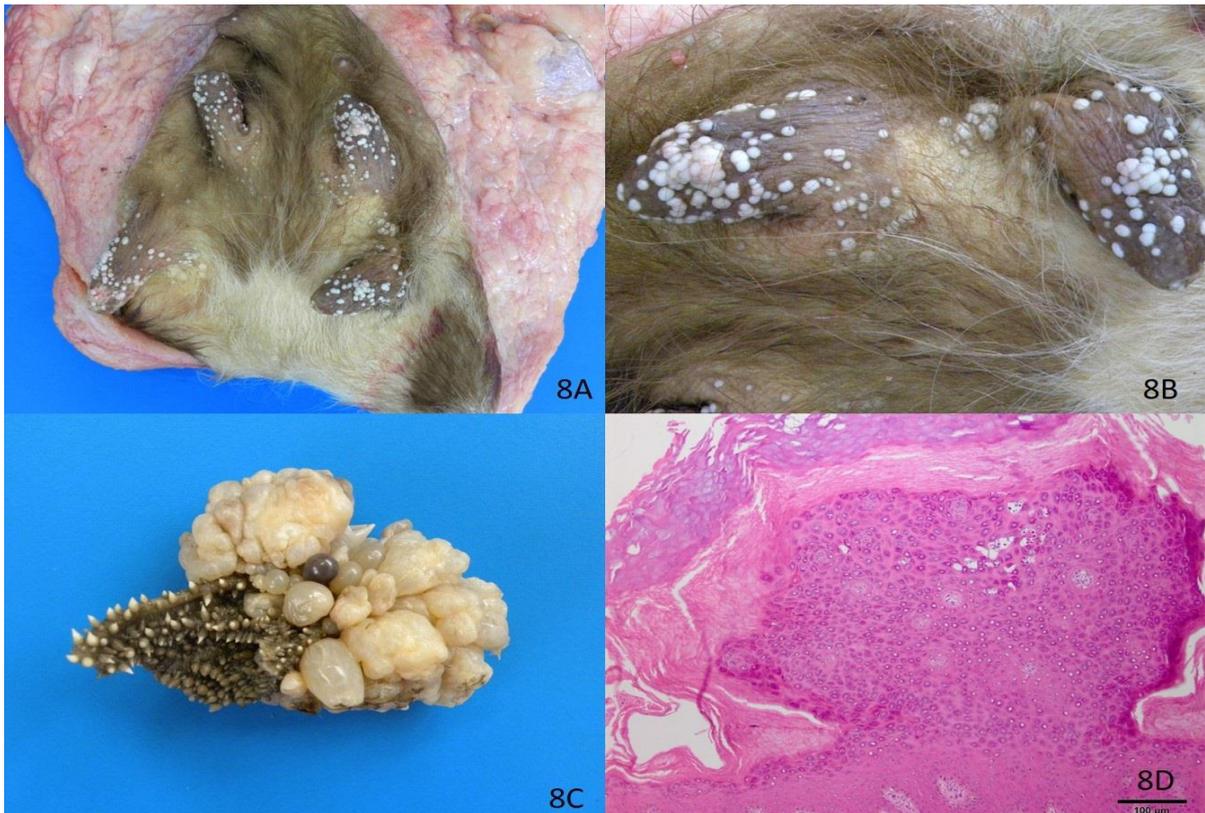


Fig.8. Papilomatose. (A e B) Tetos. (A) Há múltiplas estruturas papilares brancacentas, que se estendem para a pele adjacente. (B) Maior aproximação da lesão em A. (C) Rúmen. Papilomas císticos na mucosa. (D) Histopatologia de A. Projeção papilar de espessura variada, recoberta por epitélio escamoso estratificado acantótico com espessa camada córnea ortoceratótica. HE, obj.20x.

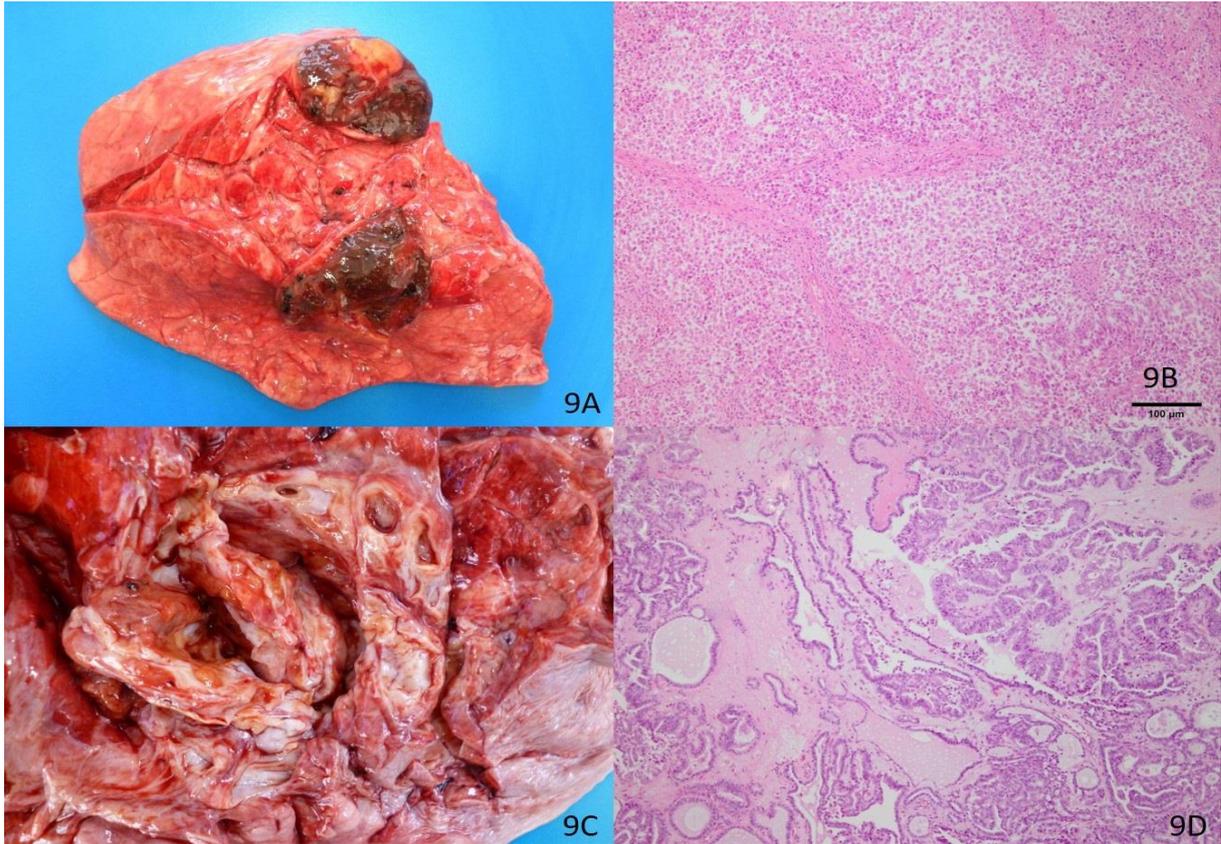


Fig.9. Tumores pulmonares primários. **(A)**. Carcinoma pulmonar de pequenas células (CPPC). Nódulos amarelos recobertos por coágulos sanguíneos, distribuídos aleatoriamente por todo parênquima pulmonar. **(B)** Histopatologia de **A** mostrando células redondas ou fusiformes formando um manto difuso e frouxo, sustentado por um escasso estroma fibrovascular. HE, obj.10x. **(C)** Adenocarcinoma pulmonar. A massa afetava apenas um lobo pulmonar e apresentava múltiplos cistos ao corte. **(D)** Histopatologia de **C**. Observam-se células neoplásicas formando projeções papilíferas circundadas por um estroma fibroso. Há ácinos pulmonares dilatados multifocalmente. HE, obj.20x.

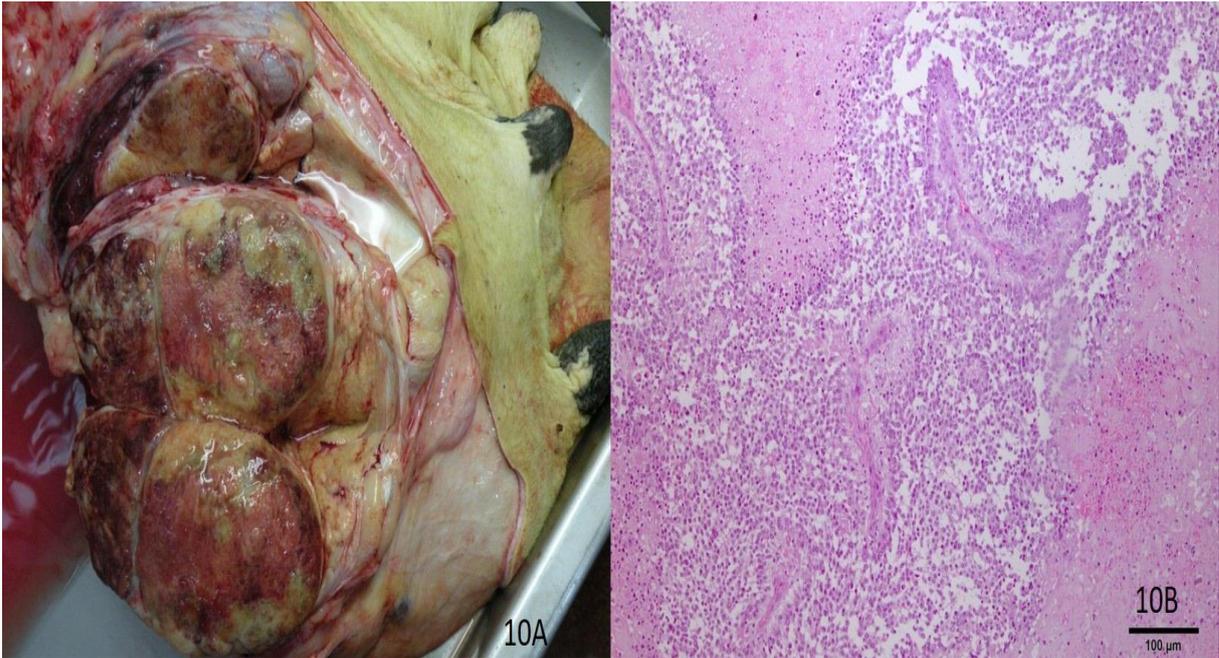


Fig.10. Adenocarcinoma da glândula mamária (A). Múltiplas massas amareladas de, aproximadamente, 20 cm de diâmetro, com áreas hemorrágicas intercaladas por áreas esverdeadas (necrose). (B) Histopatologia de A. As células neoplásicas formam um manto frouxo e, ocasionalmente, ácinos com necrose e hemorragia central. HE, obj.20x.

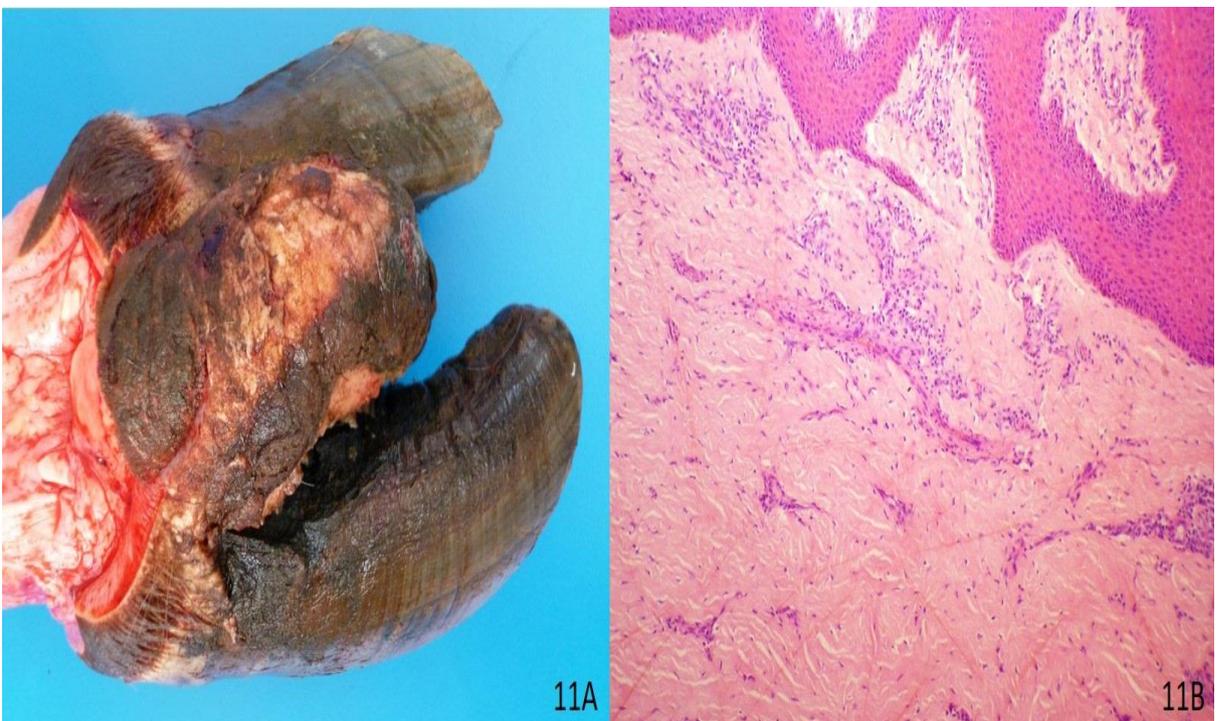


Fig.11. Fibroma interdigital. (A) Observa-se uma massa 12x8x3 cm, recoberta por crostas entre os dígitos de um membro pélvico. (B). Histopatologia de A. A massa é constituída por uma proliferação difusa de tecido conjuntivo fibroso bem diferenciado. HE, obj.10x.

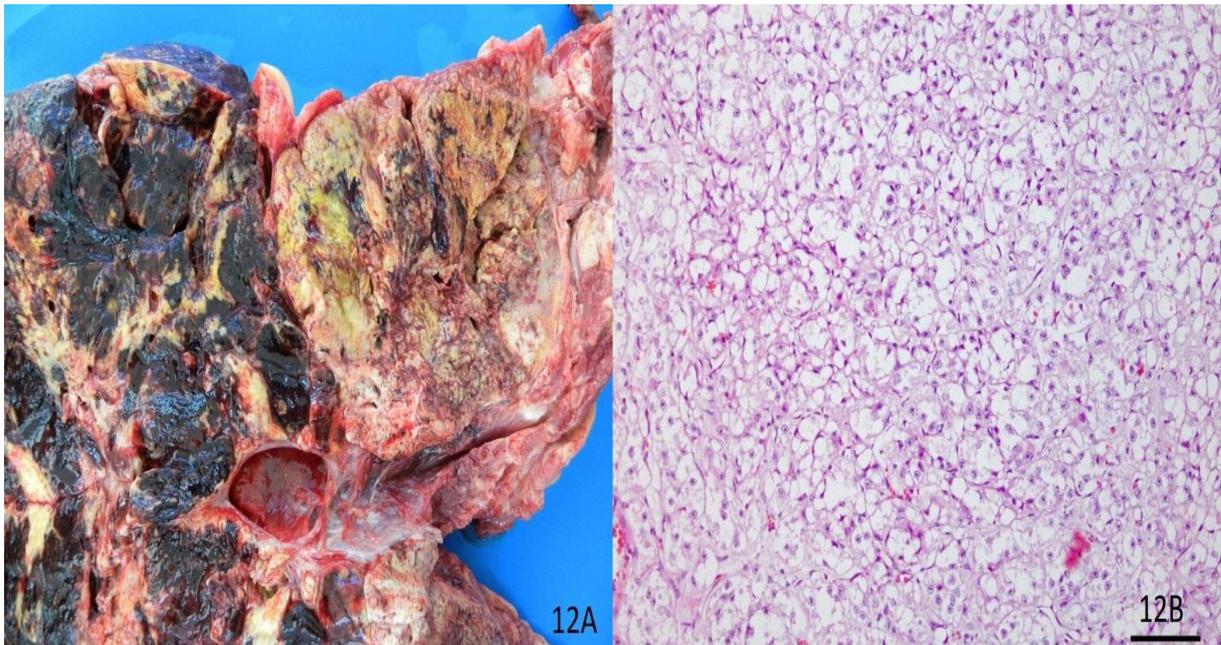


Fig.12. Lipossarcoma. **(A)** Massa na cavidade pleural fixada em uma das costelas, medindo cerca de 20x15x5 cm, amarela, com áreas de hemorragia e com múltiplos cistos. Ao corte possui fragmentos ósseos. **(B)** Histopatologia de A. Células redondas ou fusiformes proliferadas desorganizadamente ou arranjadas em ilhas ou feixes. As células apresentam vacúolos citoplasmáticos de diferentes tamanhos e núcleos pleomórficos comprimidos na periferia celular. HE, obj.20x.

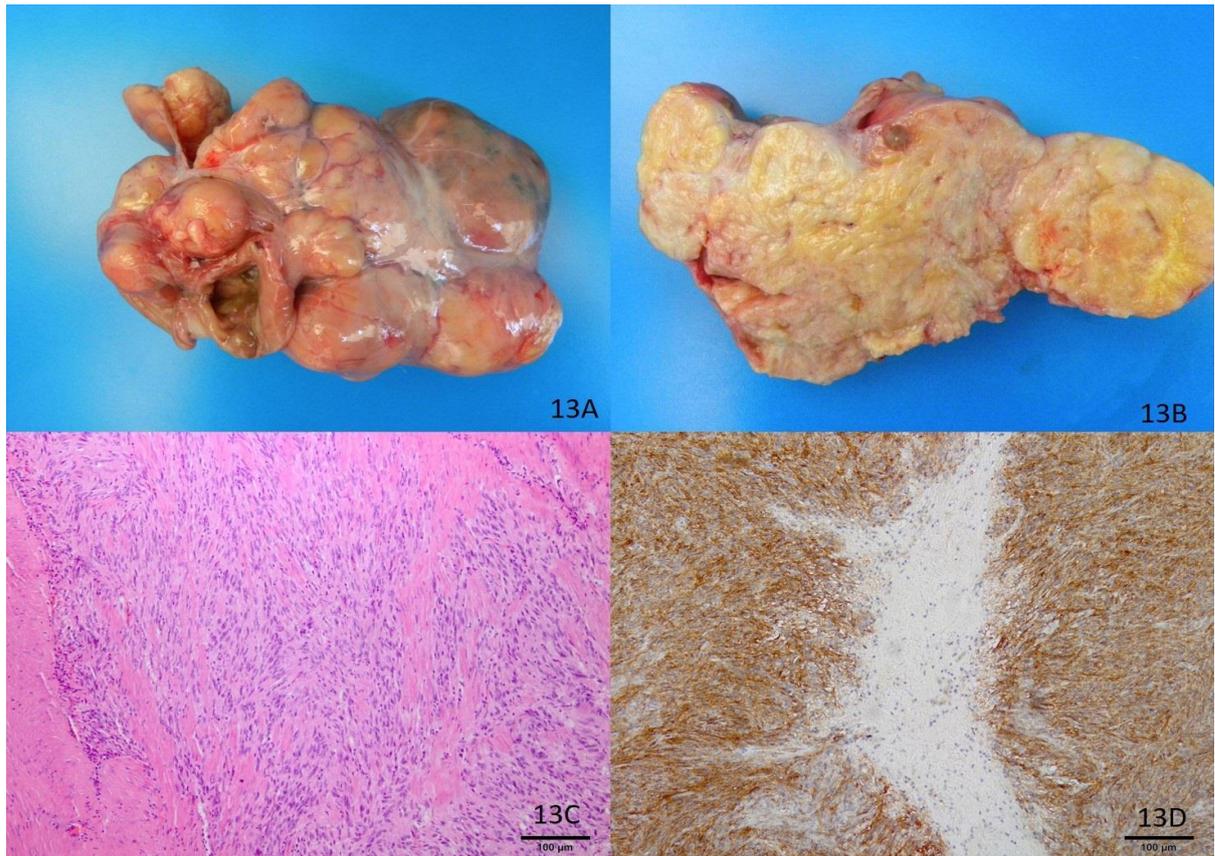


Fig.13. Tumor estromal gastrointestinal em um bovino. **(A)** Há uma massa de, aproximadamente, 15x10x5 cm, multilobulada, circundando a parede do intestino delgado (um corte transversal da luz do intestino é visto na porção inferior esquerda da foto) e obstruindo parte do lúmen intestinal. **(B)** Corte longitudinal da massa tumoral mostrando a superfície de corte brancacenta com estrias amarelas. **(C)** Histopatologia de **A-B**. Células fusiformes ou ovoides proliferadas, altamente pleomórficas, formando feixes que se entrelaçam em diferentes direções. HE, obj.10x. **(D)** Imuno-histoquímica de **A-B**. Forte marcação positiva das células intersticiais de Cajal para c-kit (CD117). Células intersticiais de Cajal são encontradas no trato gastrointestinal e são parte do sistema de marca-passo cardíaco na parede intestinal. Essas células são positivas para CD117 na imuno-histoquímica, enquanto as células musculares lisas são negativas. IHQ, obj.10x.



Fig.14. Tumor melanocítico em um bovino. **(A)** Nódulo no tegumento da região mamária. Massa de 9,5x7,5x7,5 cm firme ao corte e com a superfície de corte lisa e preta. **(B)** Histopatologia de **A**. Observam-se células redondas ou fusiformes proliferadas formando um manto na derme superficial e profunda. Lâmina tratada com peróxido de hidrogênio durante 10 dias para retirada da melanina. HE, obj.20x.

**Quadro 1. Classificação dos 65 tumores encontrados em 540 lesões de bovinos pesquisadas em abatedouro frigorífico**

Tipo de tumor	Localização (ões)	Número de casos
Linfoma	Multicêntrica, timo	18
Carcinoma de células escamosas	Pele, trato alimentar, linfonodos, pulmão	10
Feocromocitoma	Adrenal	8
Carcinoma de células renais	Rim	3
Lipoma	Tecido subcutâneo e corpo caloso	3
Tumores hepáticos	Fígado	3
adenoma		1
carcinoma hepatocelular		1
colangiocarcinoma		1
Tumor de células da granulosa	Ovário	3
Leiomioma uterino	Útero	2
Neurofibroma	Coração e integumento	2
Papilomatose	Tetos e mucosa do rúmen	2
Tumores pulmonares primários	Pulmão	2
Adenocarcinoma apócrino misto <sup>a</sup>	Integumento	1
Adenocarcinoma mamário	Mama	1
Adenocarcinoma uterino	Metástase pulmonar	1
Fibroma interdigital	Integumento	1
Hemangiossarcoma	Pulmão, fígado e baço	1
Lipossarcoma	Pleura parietal	1
Mesotelioma	Peritônio	1
Tumor estromal gastrointestinal	Intestino	1
Tumores melanocíticos	Integumento	1

<sup>a</sup>Este tumor foi relatado separadamente (Tessele, et al. 2015)

**Quadro 2. Classificação dos 65 tumores deste estudo segundo o tecido de origem**

Tecido de origem	Número de casos
<b>Mesenquimais</b>	
Linfoma	18
Lipoma	3
Leiomioma uterino	2
Fibroma interdigital	1
Hemangiossarcoma	1
Lipossarcoma	1
Tumor estromal gastrointestinal	1
<b>Epiteliais</b>	
Carcinoma de células escamosas	10
Carcinoma de células renais	3
Tumores hepáticos	3
Tumores pulmonares primários	2
Papiloma	2
Adenocarcinoma apócrino misto	1
Adenocarcinoma mamário	1
Adenocarcinoma uterino	1
Mesotelioma	1
<b>Tumores originários da crista neural</b>	
Feocromocitoma	8
Tumores melanocíticos	1
<b>Tumor do cordão sexual</b>	
Tumor de células da granulosa	3
<b>Tumor da bainha de nervos periféricos</b>	
Neurofibroma	2

**Quadro 3. Leucose bovina. Formas de apresentação em relação ao(s) órgão(s) afetado(s), idade de aparecimento dos tumores, frequência de ocorrência, presença (+) ou ausência (-) da infecção pelo vírus da leucemia bovina (VLB) e tipo de linfócito neoplásico**

Distribuição anatômica	Faixa etária	Frequência	VLB	Tipo celular
Multicêntrica	Adulto (4-8 anos)	Enzoótica	+	Grandes células B
Multicêntrica	Bezerro (3-6 meses)	Esporádica	-	Célula T precursora (linfoblástica)
Tímica	Juvenil (<2 anos)	Esporádica	-	Célula T precursora (linfoblástica)
Cutânea	Adultos (2-3 anos)	Esporádica	-	Células T epiteliotrópicas

**Quadro 4. Tipos de papilomavírus (BPV) da papilomatose bovina (segundo Maulding & Peters-Kennedy 2016)**

Vírus	Localização e tipo do tumor
BPV-1	Fibropapiloma da pele, tetos, rúmen, genital e bexiga. Papiloma de bexiga e sarcoide equino
BPV-2	Fibropapiloma da pele, tetos, rúmen, Papiloma do rúmen, neoplasia de bexiga, sarcoide equino
BPV-3	Papiloma cutâneo
BPV-4	Papiloma da cavidade oral, esôfago, rúmen. Neoplasia bexiga
BPV-5	Fibropapiloma de tetos e rúmen. Papiloma de rúmen
BPV-6	Papiloma de teto
BPV-7	Papiloma de teto
BPV-8	Papiloma e fibropapiloma cutâneos
BPV-9	Papiloma de teto
BPV-10	Papilomas de teto e língua
BPV-11	Papiloma cutâneo
BPV-12	Papiloma da língua
BPV-13	Papiloma da orelha, sarcoide equino

**Quadro 5. Classificação dos tumores epiteliais primários do pulmão de bovinos (Caswell & Williams 2016)**

Tumores epiteliais benignos
Papiloma
Adenoma
Tumores epiteliais malignos
Adenocarcinoma
Carcinoma de células escamosas
Carcinoma adenoescamoso
Carcinoma de glândulas bronquiais
Carcinoma de grandes células
Carcinoma de pequenas células
Tumor neuroendócrino
Blastoma pulmonar
Carcinoma combinado
Carcinossarcoma

## 6 DISCUSSÃO

Nesta tese são incluídos quatro artigos referentes às descrições macro e microscópicas de diferentes lesões encontradas em bovinos destinados ao abate. Esses artigos incluem casos de actinomicose atípica; lesões granulomatosas; um caso de adenocarcinoma apócrino misto na cauda de um bovino e lesões neoplásicas. As demais lesões que não foram abordadas nestes artigos, foram incluídas no quadro 1.

Esses artigos são parte de uma série de pesquisas realizadas pelo LPV-UFSM sobre lesões encontradas em bovinos abatidos para consumo em abatedouros-frigoríficos, com o intuito de auxiliar médicos veterinários responsáveis pelos serviços de inspeção nos frigoríficos de bovinos a identificarem as lesões encontradas em carcaças e vísceras de animais abatidos. Uma vez que estudos desenvolvidos em diversos países demonstraram que a falta de acurácia na linha de inspeção tem elevado os custos de produção dos frigoríficos (ALBERTON, 2000). Uma dificuldade enfrentada pelos inspetores oficiais em estabelecimentos de abate tem sido relacionada à falta de segurança em diagnosticar as diversas enfermidades e, em seguida, estabelecer o destino apropriado e confiável para as carcaças e vísceras desses animais (FREITAS, 1999).

As coletas dessas lesões iniciaram em 2011 e se estenderam durante o desenvolvimento do mestrado, que englobou apenas as lesões parasitárias observadas, e o doutorado. As demais lesões coletadas foram incluídas na elaboração dessa tese. Em um período de 43 meses (janeiro de 2011 a julho de 2014) observaram-se 544 casos, a partir dos quais foram diagnosticadas 17 lesões tóxicas, 65 lesões neoplásicas, 117 lesões parasitárias, 177 lesões infecciosas e 164 foram classificadas como outras lesões. Quatro casos foram classificados como “sem alterações”. No quadro 1 estão compiladas todas as lesões e não lesões observadas, o número de cada uma e suas respectivas porcentagens. Os casos sem alterações não foram incluídos na contagem total do quadro, porém estão incluídos dentro dos 544 casos, pois macroscopicamente foram considerados como lesões pelo veterinário responsável pelo abate, levando a condenação de parte do órgão ou do órgão inteiro.

O primeiro artigo científico foi elaborado com o intuito de descrever dois casos de actinomicose atípica observados em bovinos de abatedouros. Actinomicose é uma condição infecciosa que possui localização clássica na mandíbula, raramente ocorrendo o envolvimento maxilar. Nos casos descritos nesse trabalho, houve o envolvimento da maxila, que levou ao aumento de volume e deformação de ambas as cabeças, levando ao diagnóstico macroscópico inicial de carcinoma de células escamosas. Devido a esse diagnóstico diferencial, considerou-

se oportuno orientar médicos veterinários e profissionais da inspeção para a apresentação e localização atípicas da doença, através de descrições macro e microscópicas detalhadas da condição.

O segundo artigo científico é referente a três lesões granulomatosas observadas em bovinos de abatedouros, que foram descritas macro e microscopicamente e suas semelhanças e diferenças avaliadas. Essas três condições incluem a actinobacilose (causada por *Actinobacillus lignieresii*), a actinomicose (causada por *Actinomyces bovis*) e a mastite estafilocócica (causada por *Staphylococcus aureus*). Os aspectos morfológicos dessas lesões eram muito semelhantes, porém suas localizações diversas auxiliaram a presumir sua etiologia. *A. lignieresii* afetou tecidos moles, principalmente língua e linfonodos da cabeça; *A. bovis* afetou o tecido ósseo, principalmente o da mandíbula; e *S. aureus* teve a glândula mamária como tecido alvo. Além da coloração de HE de rotina, foi aplicada a coloração de Gram em cortes histológicos, o que possibilitou a observação da morfologia bacteriana no centro dos piogranulomas, auxiliando no diagnóstico definitivo. Todos os casos de actinobacilose foram caracterizados pela presença de pequena quantidade de cocobacilos gram-negativos. Nos casos de actinomicose evidenciou-se grande quantidade de bacilos filamentosos gram-positivos. Nos casos de mastite estafilocócica os micro-organismos gram-positivos observados associados às lesões eram agrupamentos de cocos.

O terceiro artigo descreveu um caso raro de adenocarcinoma apócrino misto localizado na região da cola de um bovino. A massa foi detectada durante o exame *antemortem* de rotina no abatedouro, media 23x20x20 cm, pesava em torno de 10 Kg e era ulcerada. Ao corte era formada por múltiplos lóbulos císticos, os quais continham material vermelho escuro gelatinoso, áreas extensas de necrose e hemorragia e ilhas irregulares de tecido ósseo. O exame histopatológico revelou um neoplasma maligno o qual foi diagnosticado como adenocarcinoma apócrino misto devido a apresentação das células epiteliais arranjadas em ácinos e túbulos e, ocasionalmente, cistos, com projeções papilares no lúmen, circundadas por ilhas de células mioepiteliais e matriz osteoide parcialmente mineralizada. Material secretório no lúmen e na porção apical das células neoplásicas foi positivo na coloração de PAS. O exame imunohistoquímico auxiliou no diagnóstico definitivo, revelando forte marcação das células epiteliais neoplásicas para CK19 e células mioepiteliais para actina de músculo liso e proteína S-100.

Por fim, o último artigo científico publicado englobou as lesões neoplásicas observadas nos bovinos desse estudo. Quarenta e dois por cento desses tumores foram de origem mesenquimal; 37% foram epiteliais; 14,5% foram derivados da crista neural; 5% foram tumores do cordão sexual; e 1,5 foram tumores originários do sistema nervoso periférico. Os neoplasmas

mais prevalentes foram o linfoma, seguido do carcinoma de células escamosas e feocromocitoma.

**Quadro 1. Lesões e não lesões diagnosticadas em bovinos abatidos para consumo em abatedouros-frigoríficos, número de casos e suas porcentagens em relação ao total de lesões.**

Lesões e não lesões	Número de casos/porcentagens
<i>Infeciosas (n=177)</i>	
Abscessos	32 / 6%
Actinobacilose	30 / 5,6%
Tuberculose	25 / 5%
Nefrite intersticial mononuclear	21 / 4%
Actinomicose	10 / 2%
Linfadenite	09 / 1,7%
Mastite	07 / 1,3%
Periepatite	07 / 1,3%
Pielonefrite cônica	06 / 1,1%
Broncopneumonia	06 / 1,1%
Pericardite	06 / 1,1%
Peritonite	04 / 0,7%
Pneumonia intersticial	03 / 0,5%
Dermatite inespecífica	02 / 0,3%
Pleurite	02 / 0,3%
Bronquite	01 / 0,2%
Osteomielite com fratura patológica	01 / 0,2%
Endocardite	01 / 0,2%
Cistite fibrinonecrótica e hemorrágica ascendente	01 / 0,2%
Miosite	01 / 0,2%
Pneumonia abscedativa	01 / 0,2%
Dermatite granulomatosa por <i>Mannheimya granulomatis</i> (Lechiguana)	01 / 0,2%
<i>Parasitárias (n=117)</i>	
Hidatidose	44 / 8%
Fasciolose	30 / 5,6%
Cisticercose	30 / 5,6%

Esofagostomose	10 / 2%
Euritematose	2 / 0,3%
Paranfistomíase	1 / 0,2%
<i>Neoplásicas (n=65)</i>	
Linfoma	18 / 3%
Carcinoma de células escamosas	10 / 2%
Feocromocitoma	08 / 1,5%
Carcinoma Renal	03 / 0,5%
Tumor de células da granulosa	03 / 0,5%
Lipoma	03 / 0,5%
Papilomatose	02 / 0,3%
Leiomioma uterino	02 / 0,3%
Neurofibroma	02 / 0,3%
Lipossarcoma	01 / 0,2%
Adenocarcinoma papilar pulmonar	01 / 0,2%
Carcinoma pulmonar de pequenas células	01 / 0,2%
Mesotelioma	01 / 0,2%
Adenocarcinoma Apócrino Misto	01 / 0,2%
Tumor estromal gastrointestinal	01 / 0,2%
Melanocitoma cutâneo	01 / 0,2%
Adenocarcinoma mamário	01 / 0,2%
Adenocarcinoma uterino	01 / 0,2%
Carcinoma hepatocelular	01 / 0,2%
Adenoma hepatocelular	01 / 0,2%
Colangiocarcinoma	01 / 0,2%
Hemangiossarcoma	01 / 0,2%
<i>Tóxicas (n=17)</i>	
Fibrose hepática – Intoxicação por <i>Brachiaria</i> sp.	07 / 1,3%
Fibrose hepática – Intoxicação por <i>Senecio</i> sp.	06 / 1,1%

Mineralização aórtica e cardíaca – Intoxicação por <i>Solanum malacoxylon</i>	03 / 0,5%
Nefrite granulomatosa – Intoxicação por <i>Vicia Villosa</i>	01 / 0,2%
<i>Outras lesões (n=164)</i>	
Cistos renais	24 / 4,5%
Contusão muscular	10 / 2%
Reação vacinal	10 / 2%
Necrose da gordura	09 / 1,7%
Telangiectasia	08 / 1,5%
Fígado de noz moscada	06 / 1,1%
Hiperplasia linfoide nodal	06 / 1,1%
Aspiração de sangue agônica	05 / 1%
Enfisema pulmonar	05 / 1%
Melanose	05 / 1%
Alterações fetais	04 / 0,7%
Glossite por corpo estranho	04 / 0,7%
Cálculo renal	04 / 0,7%
Contaminação por conteúdo ruminal	03 / 0,5%
Infarto renal	03 / 0,5%
Congestão renal	03 / 0,5%
Coração, hemorragia agônica	03 / 0,5%
Pulmão e pleura, metaplasia cartilaginosa	03 / 0,5%
Cistos congênitos hepáticos	03 / 0,5%
Autólise hepática	03 / 0,5%
Glândula mamária, hemorragia	02 / 0,3%
Fibrose cardíaca focal	02 / 0,3%
Mifase	02 / 0,3%
Congestão hepática	02 / 0,3%
Corpos lúteos ovarianos	02 / 0,3%
Rúmen, cisto epidermoide	02 / 0,3%
Congestão nodal	02 / 0,3%

Cisto linfático valvular	02 / 0,3%
Fratura óssea	01 / 0,2%
Esôfago, tecido de granulação	01 / 0,2%
Mineralização endocardial	01 / 0,2%
Tricobenzoar	01 / 0,2%
Lábio, cisto glandular	01 / 0,2%
Cistos ovarianos	01 / 0,2%
Degeneração muscular	01 / 0,2%
Bronquiectasia	01 / 0,2%
Hemorragia peritesticular	01 / 0,2%
Esteatose muscular	01 / 0,2%
Chifre ectópico	01 / 0,2%
Cisto pilonidal	01 / 0,2%
Hidroureter e hidronefrose	01 / 0,2%
Língua, hiperkeratose	01 / 0,2%
Involução uterina	01 / 0,2%
Hiperkeratose da cérvis	01 / 0,2%
Útero, corpo estranho	01 / 0,2%
Hematoma renal	01 / 0,2%
Hemocromatose	01 / 0,2%
Hemossiderose renal	01 / 0,2%
Gordura normal na cápsula esplênica	01 / 0,2%
Reticulite traumática	01 / 0,2%
Aspiração de conteúdo ruminal	01 / 0,2%
Atrofia parda do coração	01 / 0,2%
Calo ósseo	01 / 0,2%
Adipoxantose	01 / 0,2%
Alteração da coloração mamária	01 / 0,2%
<b>Total</b>	<b>540 / 100%</b>

## 7 CONCLUSÕES

### Artigo 1:

- A maioria dos casos de actinomicose em bovinos se restringe a região da mandíbula e os casos de actinomicose na maxila são raros, mas com lesões semelhantes aos casos de actinomicose mandibular.
- Microscopicamente, com a coloração de HE, é possível observar bacilos fracamente basofílicos no interior de macrófagos nas lesões de actinomicose.
- A coloração de Gram auxilia no diagnóstico de actinomicose.
- Casos de actinomicose atípica devem ser considerados no diagnóstico diferencial macroscópico de lesões extensas e invasivas na região mandibular e maxilar de bovinos.
- Carcinoma de células escamosas intranasal é o principal diagnóstico diferencial de casos de actinomicose maxilar.

### Artigo 2:

- Lesões histológicas de actinobacilose, actinomicose e mastite estafilocócica são muito semelhantes em bovinos, sendo praticamente impossível diferenciá-las pela coloração de HE, a não ser pela fácil visualização dos organismos cocoides na mastite estafilocócica e pela localização anatômica distinta de cada condição: (1) A actinobacilose afeta exclusivamente os tecidos moles, preferencialmente língua e linfonodos da cabeça. (2) A actinomicose é caracterizada pela formação de osteomielite, preferencialmente no osso mandibular. (3) A mastite estafilocócica afeta exclusivamente o tecido mamário.
- A morfologia da reação de Splendore-Hoeppli, na coloração de HE, não é um método confiável para realizar a diferenciação entre actinomicose e actinobacilose.
- A morfologia das colônias pela técnica de Gram é um método que pode ser usado para diferenciação entre as três condições, já que cada uma possui colônias morfológicamente distintas.
- Existe grande variação na quantidade de tecido conjuntivo fibroso entre os casos de actinobacilose, actinomicose e mastite estafilocócica, porém isso não parece estar relacionado mais com uma ou outra condição.
- Pus amarelo, espesso, brilhoso, com alta coesão e baixa adesividade é característico dos casos de actinobacilose e auxilia na sua diferenciação de tuberculose.

#### Artigo 3:

- Adenocarcinoma apócrino misto é um neoplasma raro em bovinos.
- A coloração de PAS pode ser útil para evidenciar material secretório produzido pelas células neoplásicas.
- A coloração de imuno-histoquímica utilizando anticorpos anti-CK19, anti-actina de músculo liso e anti-proteína S-100 auxilia no diagnóstico definitivo.
- A localização deste neoplasma na região da cauda, associada as características macroscópicas, as quais incluem a formação de cavidades císticas com conteúdo hemorrágico intercaladas por áreas de tecido ósseo, e as características histopatológicas, as quais incluem os resultados imuno-histoquímicos, possibilitam o diagnóstico definitivo de adenocarcinoma apócrino misto.

#### Artigo 4:

- Linfoma é o neoplasma mais frequente em bovinos de abatedouros-frigoríficos.
- O exame histopatológico deve ser um aliado para o diagnóstico de neoplasmas em abatedouros-frigoríficos.

## 8 REFERÊNCIAS

- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Exportações de carne bovina do Brasil 2011**. Disponível em: [http://www.abiec.com.br/41\\_exportacao\\_ano.asp](http://www.abiec.com.br/41_exportacao_ano.asp). Acesso em: 06 ago. 2015.
- ALBERTON, G.C. **Estudo anatomopatológico, microbiológico, citológico e físico das articulações com artrite no abatedouro**. 2000. 81f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- BRASIL. **Destino de matérias-primas e produtos por UF**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Brasília. 2012. 11p.
- CHIBA, L.I. **By-Product Feeds: Animal Origin**. In: Encyclopedia of Animal Science. 2 ed. Alabama, USA: DEKKER, M., 2005. v.1, p. 169-174.
- FACCIN, T.C.; BRUMATTI, R.C.; LIMA, S.C.; MADUREIRA, R.C.; FERNANDES, C.E.S.; KOMMERS, G.D. & LEMOS R.A.A. Perdas econômicas pela condenação em matadouro frigorífico de fígados de bovino por fibrose causada por ingestão de Braquiaria spp. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.6 , p.447-551, 2015.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food and Agricultural commodities production in 2010**. Disponível em: <http://www.fao.org/economic/ess/ess-publications/ess-yearbook/es/>. Acesso em: 08 jun. 2015.
- FREITAS, M.R. **Caracterização anatomopatológica de bursites cervicais de bovinos abatidos sob Inspeção Federal no estado de Goiás**. 1999. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- HERENDA, D. **Manual on meat inspection for developing countries**. Roma, Itália: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1994. p. 357.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da Produção Pecuária Dezembro de 2011: banco de dados**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> Acesso em: 06 ago. 2015.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da Produção Pecuária Setembro de 2015: banco de dados**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> Acesso em: 10 nov. 2015.
- IBGE. Produção da Pecuária Municipal. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. v. 40, 2012.
- INFANTE GIL, J. & COSTA DURÃO, J. Introduction. In:\_\_\_\_\_ **A colour atlas of meat inspection**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990. p. 453.
- INFANTE GIL, J. Nota Histórica. In:\_\_\_\_\_. **Manual de Inspeção Sanitária de Carnes**. vol 1. 2ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2000. p. 485.

KALE, M.C.; ARAL, Y.; AYDIN, E.; CEVGER, Y.; SAKARYA, E.; GÜLOGLU, S.C. Determination of By-Product Economic Values for Slaughtered Cattle and Sheep. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**. v.17, n.4, p.551-556, 2011.

MENDES, R.E. & PILATI, C. Estudo morfológico de fígado de bovinos abatidos em frigoríficos industriais sob inspeção estadual no Oeste e no Planalto de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**. v.37, n.6, p.1728-1734, 2007.

NEVES, D.S. **Patologia renal de suínos abatidos para consumo**. 1985. 69f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária da Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte.

PRATA, L.F.; FUKUDA, R.T. **Fundamentos de Higiene e Inspeção de carnes**. São Paulo, Jaboticabal: Funep, 2001. p. 5-11.

SCHENK, M.A.M. & SCHENK, J.A.P. Prevalência de Tuberculose, Cisticercose e Hidatidose em bovinos abatidos nos matadouros-frigoríficos do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil (1974/1979). **Comunicado Técnico – EMBRAPA**. 1982.

UNGAR, M.L.; GERMANO, M.I.S.; BIGGI, G.S.; GERMANO, P.M.L. O valor dos registros de estabelecimentos de abate para Saúde Pública. **Revista científica da Faculdade de Veterinária da USP**. v. 14, p. 91-97, 1990.

USDA. **USDA Foreign Agricultural Service**. Disponível em <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>. Acesso em: 08 jun. 2015.