

**Universidade Federal de Minas Gerais**  
**Escola de Veterinária**  
**Programa de Pós-graduação em Ciência Animal**

Carlos Eduardo Bastos Lopes

**ACHADOS ANATOMOPATOLÓGICOS DE LINFONODOS OBTIDOS DE  
BOVINOS DE ABATEDOURO: estudo retrospectivo e prospectivo**

Belo Horizonte

2023

Carlos Eduardo Bastos Lopes

**ACHADOS ANATOMOPATOLÓGICOS DE LINFONODOS OBTIDOS DE  
BOVINOS DE ABATEDOURO: estudo retrospectivo e prospectivo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Roselene Ecco

Coorientadora: Dra. Fabiana Galtarossa Xavier

Belo Horizonte

2023

L864a

Lopes, Carlos Eduardo Bastos, 1993-

Achados anatomopatológicos de linfonodos obtidos de bovinos de abatedouro: estudo retrospectivo e prospectivo / Carlos Eduardo Bastos Lopes - 2023.

149 f.:il

Orientadora: Roselene Ecco

Coorientadora: Fabiana Galtarossa Xavier

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Bibliografias: f. 124 a 146.

1. Bovino - Teses - 2. Patologia Animal - Teses - 3. Inspeção - Teses - I. Ecco, Rosilene. - II. Xavier, Fabiana Galtarossa. - III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - IV. Título.

**CDD - 636.089**

Bibliotecário responsável Marcio Alves dos Santos - CRB3589/0  
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

CARLOS EDUARDO BASTOS LOPES

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Patologia Animal.

Aprovado(a) em 15 de maio de 2023, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Roselene Ecco - Orientador(a)  
Dr.(a). Fabiana Galtarossa Xavier  
Dr.(a). David Driemeier  
Dr.(a). Rafael Romero Nicolino



Documento assinado eletronicamente por **Roselene Ecco, Professora do Magistério Superior**, em 16/05/2023, às 07:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabiana Galtarossa Xavier, Usuária Externa**, em 16/05/2023, às 08:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **David Driemeier, Usuário Externo**, em 16/05/2023, às 10:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Romero Nicolino, Professor do Magistério Superior**, em 19/05/2023, às 15:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2281041** e o código CRC **6276647B**.

Aos meus pais, Carlos e Elza,  
por todo incentivo e amor.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tudo o que me foi oportunizado nessa jornada. Por todas as vitórias e obstáculos, sendo ambos parte do meu aprendizado e crescimento pessoal e espiritual.

À Universidade Federal de Minas Gerais, pelo amparo necessário para o meu aprendizado, sendo referência na formação de excelentes profissionais. A todas as pessoas que direta ou indiretamente fizeram parte da minha caminhada mineira deixo aqui meus sinceros agradecimentos.

À Professora Roselene Ecco, orientadora e amiga, por ter contribuído tão consistentemente na minha formação. Uma pessoa que verdadeiramente lutou para me ver vencer. Levarei comigo aprendizados muito além da patologia. Impossível retribuir tamanha gentileza e solidariedade. Obrigado por toda a contribuição ao longo da minha formação, ainda tão incipiente na patologia.

À Dra. Fabiana Galtarossa Xavier, por sintetizar tantos bons adjetivos em uma única pessoa. Cheia de ânimo, empatia e conhecimento, você é um exemplo a ser seguido em qualquer instituição. Uma pessoa simples e de um enorme coração. Obrigado por todo o tempo e dedicação investidos na minha formação. Sem seu empenho e contribuição este trabalho não teria sido possível.

Ao Professor Rafael Nicolino, que por diversas vezes me acompanhou nas inesgotáveis análises de dados e tanto me ensinou a respeito. Este trabalho nem de longe seria o mesmo sem a sua preciosa ajuda e contribuição.

Ao Laboratório Federal de Defesa Agropecuária (LFDA) por haver possibilitado tamanha parceria e oportunizado todo este trabalho. Parabéns a todos os profissionais que dedicam o conhecimento e esforços em todos os seus segmentos. Vocês são de uma contribuição inestimável à nossa nação.

À toda a equipe do LPV/LFDA-MG, Leandro, Ivy e João, que há pouco se tornaram uma família e tanto para mim. Deixo aqui meu enorme agradecimento por todas as palavras de incentivo, gargalhadas e horas de dedicação à minha formação.

À equipe do LDDV/LFDA-MG e DDB/LDFA-MG, com especial menção aos excepcionais profissionais Marcelo, Carla, Amanda, Mateus, Antônio e Paulo, por terem

dedicado um tempo tão precioso às análises moleculares de todo o material. Asseguro que muito aprendi durante esse tempo com todos vocês.

À vasta equipe do Frigorífico Hipercarnes Indústria e Comércio, especialmente aos profissionais Tamer, Andrea e Célio, que prontamente me acolheram e tanto me ensinaram.

Aos colegas de pós-graduação e parceiros de equipe Eric, Marcelo, Maira, Dayse e Natália que comigo compartilharam a maior parte das conquistas e desafios diários. Aprendi bastante com todos vocês! Tenho a certeza de que estão traçando o caminho dos profissionais brilhantes!

À minha primeira aluna de iniciação científica Luana, que de maneira muito singular trouxe ânimo e encanto ao setor. Uma pessoa muito habilidosa e dedicada. Insisto em dizer que você ainda desconhece o seu enorme potencial. Uma verdadeira amiga, a quem eu pude muito compartilhar durante toda essa aventura.

Aos demais alunos de iniciação científica Rodrigo, Pedro e Yasmin, que tanto me auxiliaram e inspiraram durante todo o processo. Desejo a todos um futuro brilhante e bastante próspero.

Aos meus grandes amigos, companheiros nos momentos oportunos e nas desventuras tempestuosas: Sóstenes e Leonardo. O tempo não volta, mas as histórias que temos para contar serão eternas. Sei que posso contar com vocês!

À minha futura esposa Mariana Andrioli, que foi fundamental durante todo esse processo. Você é a minha injeção de ânimo e o meu grande incentivo. Não há como exprimir tudo aquilo que você representa para mim. Sei que posso contar com você para qualquer coisa. Te amo!

A cada uma das pessoas que comigo compartilharam essa caminhada, meus familiares, amigos e colegas de trabalho, dando-me força e ânimo para sempre seguir.

Ao órgão de fomento CAPES, que muito fez a todos os pós-graduandos, no ato de lutar pelos nossos direitos e acesso à educação de qualidade. Agradeço por todo o incentivo prestado aos programas de Pós-graduação do nosso Brasil.

Um agradecimento especial faço à banca examinadora, a qual, com grande carinho, prontamente aceitou o convite para avaliação deste humilde trabalho.

*“Quando você atravessar águas profundas, eu  
estarei ao seu lado, e você não se afogará  
[...].”*

*- Isaías 43:2.*



## Resumo

Atividades de inspeção em abatedouros desempenham papel crucial no controle sanitário de zoonoses e doenças transmissíveis por via alimentar. Portanto, objetivou-se identificar e analisar a frequência das doenças de linfonodos diagnosticadas em bovinos de abatedouro para consumo humano, em amostras encaminhadas ao serviço de diagnóstico anatomopatológico do LFDA-MG, de janeiro de 2015 a setembro de 2022. Um total de 2.000 amostras de linfonodos foram analisadas quanto à origem da propriedade e do SIF remetente, sexo, diagnóstico histopatológico, sítio linfático acometido, órgão concomitantemente afetado e suspeita macroscópica. Análises de padrão temporal e mapas temáticos foram utilizados para determinar padrões epidemiológicos de distribuição dos principais diagnósticos. Tecidos parafinados de casos de linfoma foram submetidos a imunofenotipagem com anti-CD3 e anti-CD79a. Tecidos congelados ou parafinados destes mesmos casos foram utilizados para identificação do retrovírus da leucose enzoótica bovina (LEB) por qPCR, o qual foi também utilizado, juntamente com isolamento bacteriano, em amostras de casos suspeitos para tuberculose. O ano de 2020 (29,3%) concentrou maior recebimento de amostras, sendo os meses de julho ( $\bar{x} = 60,5$ ) e novembro ( $\bar{x} = 58$ ) os mais representativos. Ao todo, 37 SIFs contribuíram para as análises, com ênfase nos estados de Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Um total de 12 estados e 428 municípios sediaram as propriedades de origem dos bovinos estudados. Casos de tuberculose contabilizaram 89,3% das amostras. Demais diagnósticos incluíram neoplasias (3,5%), causas variadas de linfadenopatias (2,8%), linfadenites idiopáticas (2,3%), actinogranulomas (1%), e casos de LEB (0,9%). Linfomas de células B e T contabilizaram 18 e 11 casos, com predomínio de linfomas de grandes células B e linfomas de células T periféricos, respectivamente. Os linfonodos torácicos foram associados a maioria dos diagnósticos. A sensibilidade da histopatologia superou a de outros testes complementares em casos de tuberculose. Valores de sensibilidade e especificidade das suspeitas macroscópicas para os diagnósticos definitivos de tuberculose e leucose enzoótica foram igualmente satisfatórios. Conclui-se que o estudo dos linfonodos é uma etapa fundamental no exame de inspeção e não deve ser subestimado. A associação da histopatologia com técnicas laboratoriais complementares é determinante para o sucesso diagnóstico, especialmente em casos complexos e de grande importância epidemiológica, econômica e zoossanitária, como leucose enzoótica e tuberculose.

Palavras-chave: Bovino. Matadouro. Lesões de abatedouro. Nodos linfoides. Saúde pública.

## Abstract

Inspection activities in slaughterhouses play a crucial role in the sanitary control of zoonoses and foodborne diseases. Therefore, the aim of this study was to identify and analyze the frequency of lymph node diseases diagnosed in cattle from slaughterhouses for human consumption, in samples sent to the anatomopathological diagnosis service of LFDA-MG, from January 2015 to September 2022. A total of 2,000 samples of lymph nodes were analyzed regarding the origin of the property and the Federal Inspection Service (FIS) responsible for the sending, gender, histopathological diagnosis, affected lymphatic site, concomitantly affected organ and gross interpretation. Time pattern analyzes and thematic maps were used to determine epidemiological distribution patterns of the main diagnoses. Paraffin-embedded tissues from cases of lymphoma were submitted to immunophenotyping with anti-CD3 and anti-CD79a. Frozen or paraffin-embedded tissues from the same cases were used to identify enzootic bovine leukosis retrovirus (EBL) by qPCR, which was also used, along with bacterial isolation, in samples of suspected cases of tuberculosis. The year of 2020 (29.3%) concentrated the highest number of samples, with the months of July ( $\bar{x} = 60.5$ ) and November ( $\bar{x} = 58$ ) being the most representative periods. Altogether, 37 FIS contributed to the analyses, with emphasis on the states of Minas Gerais and Rio Grande do Sul. A total of 12 states and 428 municipalities hosted the origin properties of the studied cattle. Cases of tuberculosis accounted for 89.3% of the samples. Other diagnoses included neoplasms (3.5%), varied lymphadenopathies (2.8%), idiopathic lymphadenitis (2.3%), actinogranulomas (1%), and cases of EBL (0.9%). B- and T-cell lymphomas accounted for 18 and 11 cases, with a predominance of large B-cell lymphomas and peripheral T-cell lymphomas, respectively. Thoracic lymph nodes were associated with most diagnoses. The sensitivity of histopathology surpassed that of other complementary tests in cases of tuberculosis. Sensitivity and specificity values of macroscopic suspicions for definitive diagnoses of tuberculosis and enzootic leukosis were equally satisfactory. It is concluded that the study of the lymph nodes is a fundamental step in the inspection process and should not be underestimated. The association of histopathology with complementary laboratory techniques is crucial for successful diagnosis, especially in complex cases of great epidemiological, economic and zoosanitary importance, such as enzootic leukosis and tuberculosis.

Keywords: Bovine. Slaughterhouse. Abattoir lesions. Lymph nodes. Public health.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação esquemática da estrutura interna do linfonodo bovino. Adaptado de König e Liebich, 2011.....32
- Figura 2 – Histologia do hemolinfonodo bovino. A. Secção longitudinal de hemolinfonodo pulmonar. Destaque para cápsula fibrosa (cabeça de seta) e seio subcapsular repleto de sangue (asterisco). HE, 40x. B. Secção transversal de hemolinfonodo. Destaque para folículos linfóides secundários intercalados por seios trabeculares espessos (asterisco), conferindo aspecto histológico de “polpas esplênicas”. HE, 40x.....32
- Figura 3 – Papel dos macrófagos na inflamação crônica. Adaptado de Kumar *et al.*, 2010...35
- Figura 4 – Interações macrófago-linfócito na inflamação crônica. Adaptado de Kumar *et al.*, 2010.....36
- Figura 5 – Achados anatomopatológicos em linfonodos mediastínicos de vacas com tuberculose. A. Granulomas coalescentes com necrose caseosa e mineralização, separados por septos de tecido conjuntivo fibroso. B. Granuloma de tuberculose em estado inicial, com acúmulo central de neutrófilos íntegros e degenerados, circundados por macrófagos epitelioides, células gigantes multinucleadas e linfócitos. Adaptado de Domingo *et al.*, 2014.....37
- Figura 6 – Lesões inflamatórias granulomatosas em bovinos. A. Tuberculose. Linfonodo traqueobrônquico, superfície de corte com completa perda da arquitetura linfática por acúmulo de material caseoso. Adaptado de Davies e Warren, 2017. B. Tuberculose. Nódulos granulomatosos branco-amarelados e parcialmente mineralizados (cabeças de seta), disseminados pelo parênquima linfoide. Adaptado de Valli *et al.*, 2016..... 40
- Figura 7 – Lesões hemorrágicas em bovinos. A. Linguatulose. Superfície de corte linfática com focos agudos de hemorragia (asterisco) e acúmulo difuso de pigmento (hematina parasitária) associados à presença de ninfas do parasita (seta). Adaptado de Hashemnia *et al.*, 2018. B. Salmonelose septicêmica. Superfície de corte linfática com focos de hemorragia e edema intersticial difuso. Adaptado de Valli

- et al.*, 2016.....41
- Figura 8 – Lesões hiperplásicas e neoplásicas em bovinos. A. Hiperplasia linfoide. Linfonodo íliaco medial, superfície de corte com evidenciação de folículos linfoides ao longo de todo o córtex linfático interno (cabeças de seta). Adaptado de Davies e Warren, 2017. B. Leucose enzoótica bovina. Superfície de corte de linfonodo com perda da arquitetura linfática por múltiplos nódulos esbranquiçados irregulares e coalescentes. Adaptado de Boes e Durham, 2017...43
- Figura 9 – Achados anatomopatológicos em linfonodos de bezerros causados por mucormicetos. A. Superfície de corte com focos de necrose caseosa multifocais a coalescentes. B. Células gigantes multinucleadas intimamente associadas a hifas fúngicas não septadas, com paredes não paralelas e irregularmente ramificadas. Ácido periódico de *Schiff*. Adaptado de Ortega *et al.*, 2010.....45
- Figura 10 – Achados anatomopatológicos de paratuberculose em bovinos. A. Enterite granulomatosa. Mucosa jejunal com dobras proeminentes, conferindo o clássico aspecto “cerebriforme”. B. Linfangite granulomatosa subserosa íliaca. Lúmen de vaso linfático repleto por linfócitos, macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas. Adaptado de Uzal *et al.*, 2016.....50
- Figura 11 – Etapas da conferência e clivagem de amostras no LPV-LFDA/MG. A. Caixa de isopor contendo amostras devidamente identificadas, enviadas por veterinário do Serviço de Inspeção Oficial. Detalhe: Sacola plástica propriamente identificada, com lacre do Serviço Oficial. B. Frasco plástico devidamente identificado e hermeticamente fechado, contendo amostra de linfonodo em solução de formalina à 10%. C. Amostras inapropriadamente acomodadas em frasco plástico. Notar quantidade insuficiente de solução fixadora dada à relativa repleção do recipiente por amostras teciduais. D. Fragmentos teciduais de amostra descrita em “C”, com destaque para o volume residual de solução fixadora no frasco plástico. E. Superfície de corte de linfonodo bovino em caso de actinomicose, linfadenite granulomatosa. F. Superfície de corte de pulmão bovino em caso de adenocarcinoma pulmonar metastático. G. Secções longitudinais de linfonodo traqueobrônquico em caso de tuberculose, linfadenite granulomatosa. Notar completa subversão da arquitetura linfoide com evidência de múltiplos focos coalescentes de necrose caseosa e mineralização. H. Secção longitudinal de

linfonodo mediastinal em caso de leucose enzoótica, linfoma de células B. Notar distorção da arquitetura linfoide por lesão tumoral branca, expansiva e não encapsulada.....	74
Figura 12 – Análise de padrão temporal do total de amostras recebidas por ano (janeiro de 2019 a setembro de 2022). Os valores acima das barras correspondem aos números absolutos de amostras recebidas durante o ano, enquanto que os valores dentro das barras correspondem às médias mensais por ano.....	75
Figura 13 – Análise de padrão temporal do total de amostras recebidas por mês (janeiro de 2019 a setembro de 2022). Os valores acima das barras correspondem aos números absolutos de amostras, enquanto que os valores dentro das barras correspondem às médias do recebimento mensal.....	76
Figura 14 – Mapa temático para identificação dos municípios de origem dos SIFs remetentes.....	77
Figura 15 – Mapa temático para identificação dos municípios de origem das propriedades remetentes.....	78
Figura 16 – Mapa temático para identificação dos municípios de origem das propriedades remetentes quanto aos casos registrados de tuberculose no Brasil.....	79
Figura 17 – Mapa temático para identificação dos municípios de origem das propriedades remetentes quanto aos casos registrados de tuberculose no estado de Minas Gerais.....	80
Figura 18 – Mapa temático para identificação dos municípios de origem das propriedades remetentes quanto aos casos registrados de leucose enzoótica.....	81
Figura 19 – Causas de alterações em linfonodos em bovinos de abatedouro com inspeção Federal durante o período do estudo.....	82
Figura 20 – Achados histopatológicos em casos de doenças de linfonodos de bovinos de abatedouro. A-B. Linfadenite granulomatosa em caso de actinomicose. A. Reação de Splendore-Hoeppli (asterisco) ao centro de piogranuloma. HE, 100x. B. Miríades de bactérias filamentosas Gram-positivas. Goodpasture, 400x. C-D. Linfadenite granulomatosa em caso de actinobacilose. C. Reação de Splendore-Hoeppli (centro) entremeada por neutrófilos degenerados e macrófagos	

epitelioides. HE, 400x. D. Miríades de bacilos bacterianos Gram-negativos. Goodpasture, 600x. E-F. Linfadenite granulomatosa em caso de tuberculose. E. Reação granulomatosa com extensa banda de necrose de caseificação (asterisco) e mineralização central (cabeça de seta). F. Bacilo álcool-ácido resistente (cabeça de seta) no citoplasma de célula gigante multinucleada em caso de resposta paucibacilar. Ziehl-Neelsen, 600x. Detalhe: Vista aproximada em caso de resposta pluribacilar. G. Depleção linfoide com linfangiectasia. Notar rarefação do córtex linfoide, com poucos folículos remanescentes e relativa expansão dos seios subcapsulares e corticomedulares por acúmulo de linfa. HE, 40x. H-I. Hiperplasia folicular linfoide. Notar relativa expansão dos folículos linfoides, com evidência dos centros germinativos (esquerda) e dos cordões corticomedulares (direita). HE, 40x. I. Enfoque nos folículos linfoides secundários (centros germinativos evidentes). HE, 100x. J. Drenagem eritrocitária. Notar distensão dos seios corticomedulares por acúmulo de hemácias. HE, 100x. K-L. Linfadenite eosinofílica. K. Expansão da cápsula linfática por acúmulo de eosinófilos. HE, 200x. L. Seios linfáticos repletos por eosinófilos, com raros plasmócitos e histiócitos. HE, 600x. M-O. Linfadenite granulomatosa tóxica. M. Seios linfáticos repletos por macrófagos espumosos. HE, 400x. N. Cordões linfáticos com acúmulo de macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas contendo cristais intracitoplasmáticos (cabeças de seta). HE, 400x. O. Birrefringência dos cristais observados em “N” (cabeças de seta) sob luz polarizada. HE, 400x.....85

Figura 21 – Mapa de calor entre grupos diagnósticos e sítios linfáticos acometidos dos bovinos examinados durante o período do estudo. Os números no mapa de calor indicam os valores absolutos e relativos para cada sítio linfático afetado por grupo diagnóstico (colunas). Os valores na base das colunas referem-se ao número absoluto de diagnósticos para cada um dos grupos listados. Cores mais quentes representam valores absolutos/relativos mais elevados. Os grupos diagnósticos devem ser analisados isoladamente.....87

Figura 22 – Distribuição anatômica dos sítios linfáticos afetados em casos de tuberculose bovina. Abreviações: Lnn., linfonodo. Créditos da imagem: Luana Ferreira Marques Cordeiro.....88

Figura 23 – Distribuição anatômica dos sítios linfáticos afetados em casos de leucose

	enzoótica bovina. Abreviações: Lnn., linfonodo. Créditos da imagem: Luana Ferreira Marques Cordeiro.....	88
Figura 24 –	Análise de correspondência múltipla para correlação entre casos de tuberculose e sítios linfáticos.....	89
Figura 25 –	Análise de correspondência múltipla para correlação entre casos de tuberculose e órgãos concomitantemente acometidos.....	90
Figura 26 –	Análise de correspondência múltipla para correlação entre casos de leucose enzoótica e sítios linfáticos.....	91
Figura 27 –	Análise de correspondência múltipla para correlação entre casos de leucose enzoótica e órgãos concomitantemente acometidos.....	92
Figura 28 –	Achados histopatológicos em casos de linfoma de células T de linfonodos de bovinos de abatedouro. A-C. Aspecto histológico e imuno-histoquímico normal do linfonodo bovino. A. Córtex linfoide. HE, 40x. B. Medular linfoide. HE, 40x. C. Padrão de distribuição de linfócitos T no espaço perifolicular e centros germinativos de folículos do córtex linfoide. Anti-CD3, 200x. D-F. PTCL, linfoma de células T periférico. D. Subversão da arquitetura corticomedular linfoide, com expansão dos cordões medulares por células neoplásicas (cabeça de seta). HE, 40x. E. População monomórfica de linfócitos neoplásicos uniformes. HE, 40x. F. Imunomarcação positiva em células neoplásicas. Anti-CD3, 400x. G-I. ALTCL, linfoma de grandes células T anaplásico. G. Neoplasia ricamente celularizada com compressão e atrofia da cápsula linfoide e dos septos corticomedulares. HE, 40x. H. População monomórfica de linfócitos neoplásicos com ampla variação de diâmetro e formato nucleares e múltiplas figuras mitóticas. HE, 400x. I. Imunomarcação positiva em células neoplásicas. Anti-CD3, 400x. J-L. SLTCL, linfoma linfocítico de pequenas células T. J. Subversão do córtex linfoide, com focos de infiltração extracapsular (cabeça de seta). HE, 40x. K. População monomórfica de pequenos linfócitos neoplásicos. HE, 400x. L. Imunomarcação positiva em células neoplásicas. Anti-CD3, 400x.....	98
Figura 29 –	Achados histopatológicos em casos de linfoma de células B de linfonodos de bovinos de abatedouro. A-C. Aspecto histológico e imuno-histoquímico normal do linfonodo bovino. A. Córtex linfoide. HE, 40x. B. Medular linfoide. HE, 40x.	

C. Padrão de distribuição de linfócitos B no manto folicular e nos centros germinativos de folículos do córtex linfoide. Anti-CD79a, 200x. D-F. DLBCL, linfoma difuso de grandes células B. D. Neoplasia ricamente celularizada com compressão e atrofia da cápsula linfoide. Notar múltiplos macrófagos contendo corpos apoptóticos, conferindo aspecto de “céu estrelado” (cabeças de seta). HE, 100x. E. População monomórfica de linfócitos neoplásicos com padrão centroblastico (núcleos de grandes dimensões, figuras mitóticas múltiplas e comportamento infiltrativo). HE, 400x. F. Imunomarcação positiva em células neoplásicas. Anti-CD79a, 400x. G-I. LPBCL, linfoma de células B linfoplasmocítico. G. Subversão da arquitetura corticomedular linfoide, com expansão dos cordões medulares por células neoplásicas. HE, 40x. H. População monomórfica de células com aspecto linfoplasmocitoide. HE, 400x. I. Imunomarcação positiva em células neoplásicas. Anti-CD79a, 400x. J-L. SLBCL, linfoma linfocítico de pequenas células B. J. Neoplasia ricamente celularizada, com padrão difuso de infiltração corticomedular. HE, 40x. K. População monomórfica de pequenos linfócitos neoplásicos. HE, 400x. L. Imunomarcação positiva em células neoplásicas. Anti-CD79a, 200x. M-O. ADLBCL, linfoma difuso de grandes células B anaplásico. M. Neoplasia ricamente celularizada com compressão e atrofia da cápsula linfoide e dos septos corticomedulares. HE, 40x. N. População monomórfica de linfócitos neoplásicos com ampla variação de diâmetro e formato nucleares e multinucleações (cabeça de seta). HE, 400x. O. Imunomarcação positiva em células neoplásicas. Anti-CD79a, 100x.....100

Figura 30 – Achados histopatológicos em casos de neoplasias não linfoides de linfonodos de bovinos de abatedouro. A-B. Metástase de carcinoma de células escamosas. A. Neoplasia epitelial não encapsulada e infiltrativa, com ilhas coalescentes de células tumorais. HE, 100x. B. Área extensa de comedonecrose, com focos de mineralização central. HE, 100x. C-D. Metástase de adenocarcinoma pulmonar. C. Neoplasia epitelial não encapsulada e infiltrativa, com células dispostas em arranjos alveolares contendo lúmen central. HE, 200x. D. Estrutura alveolar neoformada com evidência de cobertura ciliar no ápice de células neoplásicas. HE, 600x. E-G. Metástase de sarcoma indiferenciado. E. Neoplasia mesenquimal não encapsulada e infiltrativa. HE, 40x. F. Células neoplásicas pleomórficas, dispostas em matriz conjuntiva amorfa. Notar figura mitótica em telófase ao centro (seta).



HE, 400x. G. Invasão vascular. Notar trombo de fibrina central (asterisco). HE, 200x. H-I. Metástase de carcinoide hepático. H. Neoplasia epitelial bem delimitada, não encapsulada e expansiva, com células tumorais dispostas em pacotes. HE, 40x. I. Células neoplásicas cuboidais dispostas em pacotes densamente celulares. Notar íntima relação com vasos sanguíneos. HE, 400x. J. Metástase de mesotelioma. Células neoplásicas fusiformes dispostas em arranjos circunferenciais (asterisco). Notar raros cordões de células tumorais cuboidais, denotando aspecto mesotelial (setas). HE, 200x. K. Metástase de seminoma. Estruturas tubulares neoformadas contendo células germinativas tumorais pouco coesas, de citoplasma amplo e eosinofílico. HE, 100x. L. Metástase de meningioma. Neoplasia meningotelial não encapsulada e expansiva, com células tumorais dispostas em redemoinhos ou radialmente circundando vasos sanguíneos (detalhe). HE, 40x.....104

- Figura 31 – Média do total de abates bovinos por mês e ano (janeiro de 2015 a julho de 2022). Dados trabalhados retirados da plataforma SIGSIF (Brasil, 2022a).....110
- Figura 32 – Total de diagnósticos de tuberculose bovina por unidade federativa e ano (janeiro de 2015 a setembro de 2022). Dados trabalhados retirados da plataforma SIGSIF (Brasil, 2022a).....111
- Figura 33 – Total de diagnósticos de leucose enzoótica bovina por unidade federativa e ano (janeiro de 2015 a setembro de 2022). Dados trabalhados retirados da plataforma SIGSIF (Brasil, 2022a).....112

## LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 – Processamento histológico - Desidratação, clarificação e embebição em parafina. Banhos sequenciais dos cassetes histológicos, de acordo com o reagente/solução e o tempo de imersão.....61
- Quadro 2 – Processamento imuno-histoquímico - Desparafinização e reidratação. Banhos sequenciais das lâminas histológicas, de acordo com o reagente/solução e o tempo de imersão.....63
- Quadro 3 – Processamento imuno-histoquímico – Desidratação e imersão em xilol. Banhos sequenciais das lâminas histológicas, de acordo com o reagente/solução e o tempo de imersão.....64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – O papel das citocinas na inflamação. Adaptado de Kumar <i>et al.</i> , 2010.....	33
Tabela 2 – Papel dos mediadores nas diferentes reações da inflamação. Adaptado de Kumar <i>et al.</i> , 2010.....	34
Tabela 3 – Estadiamento de granulomas em linfonodos de vacas novilhas infectadas por <i>M. bovis</i> . Adaptado de Wangoo <i>et al.</i> , 2005.....	47
Tabela 4 – Sistema de classificação através da Working Formulation (WF) of Non-Hodgkin's Lymphomas for Clinical Usage (Adaptado de Ioachim 1994). Adaptado de Panziera <i>et al.</i> , 2016.....	53
Tabela 5 – Sistema de classificação através da Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms (REAL) (Adaptado de Valli <i>et al.</i> 2002). Adaptado de Panziera <i>et al.</i> , 2016.....	54
Tabela 6 – Sistema de classificação de neoplasias linfoides adotada pela WHO, aplicada para uso em animais. Adaptado de Valli <i>et al.</i> , 2016.....	55
Tabela 7 – Sequências iniciadoras e sondas utilizadas para os ensaios de qPCR de VLEB....	67
Tabela 8 – Sequências iniciadoras e sondas utilizadas para os ensaios de qPCR de <i>Mycobacterium</i> spp.....	68
Tabela 9 – Amostras de linfonodos recebidas durante o período do estudo (janeiro de 2015 a setembro de 2022).....	75
Tabela 10 – Grupos diagnósticos e suas respectivas subclassificações de amostras de linfonodos de bovinos de abatedouro com inspeção Federal obtidos durante o período do estudo.....	82
Tabela 11 – Casos confirmados de linfoma.....	94
Tabela 12 – Dados complementares para avaliação da qualidade das amostras em casos confirmados de linfoma.....	96
Tabela 13 – Neoplasias diagnosticadas em linfonodos de bovinos de abatedouro durante o período do estudo (janeiro de 2015 a setembro de 2022).....	101

Tabela 14 – Testes complementares em casos suspeitos de tuberculose em bovinos de abatedouro.....	105
Tabela 15 – Estimativas de sensibilidade e especificidade das técnicas diagnósticas comparadas com o isolamento bacteriano positivo em casos suspeitos de tuberculose em bovinos de abatedouro.....	107
Tabela 16 – Dados complementares para avaliação da qualidade das amostras em casos suspeitos de tuberculose em bovinos de abatedouro.....	108

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

AA	Ácido araquidônico
ACTB	Actina Beta
AGID	Imunodifusão em gel de agarose
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CD	Cluster of differentiation
DAB	3'3 diaminobenzidina
DCCV	Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária
DDB	Laboratório de Diagnóstico de Doenças Bacterianas
DIF	Departamento de Inspeção Final
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> - Ácido desoxirribonucleico
DTA	Doença transmitida por animais
EV-UFMG	Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais
FFPE	Fixado em formalina e embebido em parafina
FGF	Fator de crescimento de fibroblasto
GC	<i>Gomori-Grocott</i>
GP	<i>Goodpasture</i>
HE	Hematoxilina e eosina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN	Interferon
IL	Interleucina
DDB/LFDA-MG	Laboratório de Diagnóstico de Doenças Bacterianas do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais

LDDV/LFDA-MG	Laboratório de Diagnóstico de Doenças Virais do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais
LEB	Leucose enzoótica bovina
LFDA	Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais
LPV	Laboratório de Patologia Veterinária
MAP	<i>Mycobacterium avium</i> subespécie <i>paratuberculosis</i>
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
MF	Masson Fontana
MG	Minas Gerais
MULTILAB	Unidade Multidisciplinar de Pesquisa Animal
PAF	Fator de ativação plaquetária
PAS	<i>Periodic acid Schiff</i> - Ácido periódico de <i>Schiff</i>
PB	Pares de base
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PGA	Plataforma de Gestão Agropecuária
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal
PPD	Derivado Proteico Purificado
POA	Produto de origem animal
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real
RD4	Região de diferença 4
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal
SESC	<i>Catalan Slaughterhouse Support Network</i> – Rede Catalã de suporte ao

	abatedouro
SIGSIF	Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal
TB	Tuberculose
TGF- $\beta$	Fator de crescimento transformador beta
TNF	Fator de necrose tumoral
TM	Tricrômico de Masson
VLEB	Vírus da leucose enzoótica bovina
ZN	<i>Ziehl-Neelsen</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\alpha$	Alfa
B	Beta
$\delta$	Delta
$\gamma$	Gama
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$^{\circ}\text{GL}$	Graus Gay Lussac
h	Hora
=	Igual
$\kappa$	Kappa
$\bar{x}$	Média
$\mu\text{m}$	Micrômetro
$\mu\text{l}$	Micro litro
ml	Mililitro
min	Minuto
-	Negativo
$\eta\text{g}$	Nanograma
%	Porcentagem
+	Positivo
pH	Potencial hidrogeniônico
®	Marca registrada
s	Segundo
TM	<i>Trademark</i> - Marca comercial



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	27
2. OBJETIVOS .....	29
2.1 Objetivo geral .....	29
2.2 Objetivos específicos .....	29
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	30
3.1 Regulamentação da inspeção frigorífica no Brasil .....	30
3.2 Anatomia, histologia e fisiopatologia do linfonodo .....	31
3.3 Imunologia aplicada à patologia das vias linfáticas em bovinos .....	33
3.4 A importância do estudo do linfonodo durante a inspeção frigorífica .....	38
3.5 Classificação das doenças linfáticas .....	38
3.5.1 Lesões inflamatórias supurativas, abscedativas e granulomatosas.....	39
3.5.2 Lesões hemorrágicas.....	40
3.5.3 Lesões pigmentares.....	41
3.5.4 Lesões hiperplásicas e neoplásicas .....	42
3.6 Agentes infecciosos de importância à saúde pública com ênfase em linfonodos de bovinos de abatedouro .....	43
3.6.1 Miscelânea de agentes infecciosos .....	43
3.6.2 Bactérias pertencentes ao gênero <i>Mycobacterium</i> spp.....	46
3.6.3 Vírus da leucose enzoótica bovina .....	50
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	58
4.1 Casuística .....	58
4.2 Aspectos éticos .....	58
4.3 Coleta de dados .....	58
4.4 Rotina de abate e coleta de amostras no Frigorífico Hipercarnes Indústria e Comércio LTDA.....	60
4.5 Histopatologia.....	60
4.6 Imunofenotipagem de casos suspeitos de linfoma.....	62
4.7 Classificação de linfomas com base nos critérios atualizados da WHO adaptados para uso em espécies animais específicas .....	64
4.8 Extração de DNA a partir de tecidos não fixados congelados .....	65
4.9 Extração de DNA a partir de tecidos incluídos em parafina .....	66
4.10 qPCR para a identificação do retrovírus da leucose enzoótica bovina (LEB) ...	66
4.11 qPCR para a identificação de <i>Mycobacterium</i> spp. ....	67
4.12 Quantificação de DNA por espectrofotometria.....	69
4.13 Isolamento bacteriano em amostras de casos suspeitos de tuberculose.....	69

4.14	Perfis de abate, diagnóstico e distribuição geográfica das principais doenças de acordo com o SIGSIF .....	69
4.15	Análise dos resultados .....	70
4.16	Locais de execução das atividades .....	71
5.	RESULTADOS.....	73
5.1	Quantitativo de amostras e análises de padrão temporal .....	73
5.2	Distribuição geográfica espacial de origem das amostras e dos casos de tuberculose e leucose enzoótica .....	76
5.3	Análise das causas de acometimento linfático .....	81
5.4	Perfil de acometimento linfático dos principais diagnósticos .....	86
5.5	Análises de correspondência múltipla dos sítios linfáticos e dos órgãos concomitantemente acometidos relacionados aos casos de tuberculose e leucose enzoótica .....	89
5.6	Análise molecular, histopatológica e imuno-histoquímica dos casos suspeitos de linfoma .....	93
5.7	Análise histopatológica das neoplasias de origem não linfoide.....	101
5.8	Análise molecular, histopatológica e microbiológica de casos suspeitos de tuberculose.....	105
5.9	Perfil de abate e diagnóstico de casos de tuberculose e leucose pelo SIGSIF...	109
6.	DISCUSSÃO .....	113
7.	CONCLUSÃO .....	122
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	123
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	124
10.	ANEXOS .....	147

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil concentra um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, com mais de 224 milhões de cabeças de gado estimadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no ano de 2021 (IBGE, 2021), e essa enorme cadeia produtiva requer grande responsabilidade na capacidade de planejamento e gestão de recursos, bem como na garantia da sanidade e no controle de doenças nas etapas da produção animal. No Brasil, trabalhos de inspeção em abatedouros frigoríficos são de responsabilidade técnica privativa do médico veterinário (Brasil, 1968). Esses trabalhos demonstram sua importância no controle sanitário de diversas zoonoses e doenças transmissíveis por via alimentar, o que se traduz em uma importante atividade de vigilância epidemiológica, uma vez que é mandatória a condenação parcial ou total de carcaças de animais acometidos por determinadas condições (Brasil, 2017a). A importância de trabalhos de inspeção frigorífica reside ainda na identificação de doenças exóticas ou nunca antes notificadas na região, bem como nos programas nacionais de controle e erradicação de doenças (Brasil, 2006; Vaz e Sena, 2017), permitindo ainda estimar as perdas econômicas associadas a determinadas causas de condenação de carcaças (FAO, 2019; OIE, 2019).

Comum a muitos desses programas está o exame dos linfonodos, uma vez que estes configuram órgãos linfoides de drenagem (sentinelas), sendo alvos de grande parte dos processos patológicos em mamíferos, aumentando em várias vezes seu tamanho natural ao serem acometidos e tornando-se facilmente perceptíveis durante exames de inspeção em abatedouros frigoríficos (Valli *et al.*, 2016). Logo, a avaliação deste órgão linfoide em bovinos passa a ser especialmente importante durante o diagnóstico de doenças diversas (Tessele *et al.*, 2014; Vazquez *et al.*, 2014; Tessele e Barros, 2016; Neves *et al.*, 2017).

Nesse âmbito, diversos estudos têm demonstrado sua importância no território nacional (Tessele *et al.*, 2013; Tessele *et al.*, 2014; Vazquez *et al.*, 2014; Tessele e Barros, 2016; Neves *et al.*, 2017), incluindo trabalhos que consideram as perdas econômicas associadas a causas de condenação de carcaças bovinas em abatedouros no Estado de Minas Gerais (Souza *et al.*, 2017; Rezende *et al.*, 2018; Camba e Alves, 2020). Contudo, não há obrigatoriedade na coleta e exame complementar do órgão em muitos dos programas vigentes, carecendo de informações epidemiológicas sobre a ocorrência de determinadas doenças e sua correlação com a distribuição e forma de acometimento linfático, por exemplo. Em vista das muitas lacunas ainda existentes, visou-se perfazer uma análise abrangente e pormenorizada de linfonodos oriundos

de bovinos de abatedouro, com ênfase nos achados anatomopatológicos, moleculares, imunohistoquímicos e epidemiológicos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Identificar e analisar a frequência das doenças que cursam com acometimento linfático, diagnosticadas em bovinos de abatedouro para consumo humano, em amostras encaminhadas ao serviço de diagnóstico anatomopatológico do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais (LFDA-MG), no período de janeiro de 2015 a setembro de 2022.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Estabelecer a ocorrência e a frequência das doenças que cursam com acometimento linfático diagnosticadas em bovinos de abatedouro pelo Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) do LFDA-MG;
- Identificar e descrever os achados anatomopatológicos encontrados para as principais causas de acometimento dos nódulos linfóides examinados;
- Identificar e descrever os principais grupos etiológicos e/ou etiologia (quando possível) associados às causas infecciosas de acometimento dos nódulos linfóides examinados;
- Utilizar diferentes técnicas laboratoriais para confirmação da etiologia e estabelecimento do diagnóstico definitivo sempre que possível e necessário;
- Correlacionar procedência (unidade federativa e município de origem da propriedade e do serviço de inspeção solicitante), sexo, sítio linfático acometido, órgão concomitantemente acometido, suspeita macroscópica e idade aproximada dos bovinos de abatedouro acometidos com as principais doenças diagnosticadas sempre que possível.

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 Regulamentação da inspeção frigorífica no Brasil**

A aprovação do regulamento para reger o então “Serviço de Inspeção de Fábricas de Productos Animais” é considerada o marco histórico do início das atividades de inspeção federal, através do Decreto 11.462 em 1915 (Brasil, 1915), mas foi somente em 1950, por meio da Lei 1.283, que a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal (POAs) tornou-se obrigatória no país (Brasil, 1950), sendo esta regulamentada pouco depois pelo Decreto 30.691, em março de 1952, que instituiu o Regulamento de Inspeção Industrial de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (Brasil, 1952).

A tarefa de inspeção e fiscalização sob o ponto de vista sanitário foi incluída na lista de atividades de competência privativa do médico veterinário em 1968, quando outorgada a Lei 5.517, que dispõe sobre o exercício da profissão (Brasil, 1968). No entanto, a oferta de POAs sofria ainda naquela época graves inconstâncias quanto ao controle desses produtos e à garantia da segurança alimentar. Foi então que a denominada Lei da Federalização foi instituída, garantindo ao Ministério da Agricultura a competência exclusiva para a execução da fiscalização dos produtos de origem animal (Brasil, 1971). Não obstante, as atividades de inspeção foram redistribuídas para os níveis federal, estadual e municipal, com base na área de comercialização dos produtos fabricados pelos estabelecimentos industriais com a promulgação da Lei 7.889 de 1989 (Brasil, 1989).

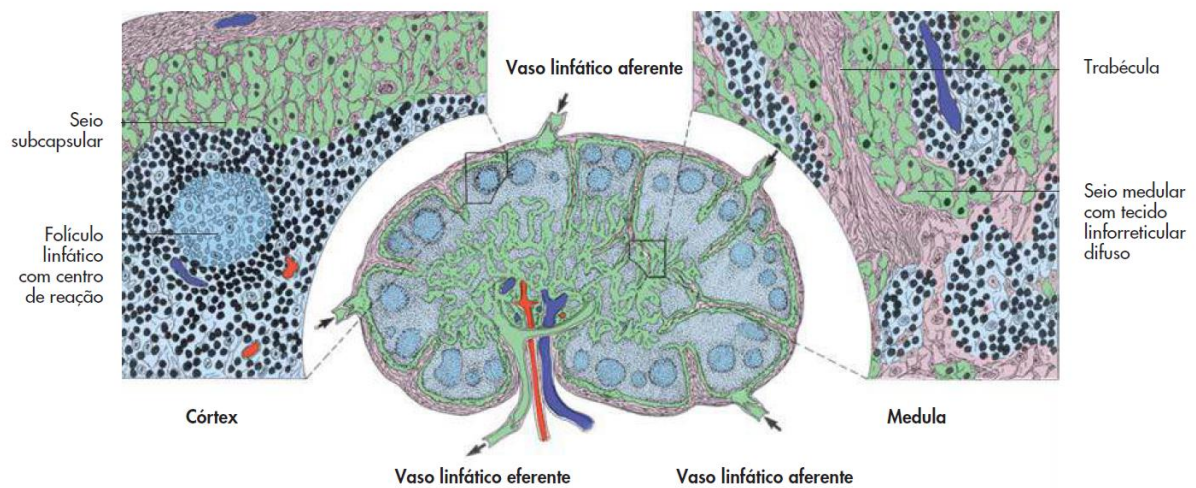
As atividades de inspeção veterinária passaram então a ser regulamentadas pelo Decreto nº 9.013 de 2017, que dispõe sobre o RIISPOA (Brasil, 2017a), visando maximamente reduzir os riscos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs). O Decreto nº 10.468 de 2020 trouxe, ainda, mudanças referentes principalmente à digitalização da informação, possibilitando maior controle e rastreabilidade dos registros de inspeção. Adicionalmente, o novo Decreto possibilitou maior autonomia e responsabilidade aos estabelecimentos pela qualidade dos POAs, atribuindo novas estratégias de fiscalização e penas mais duras aos estabelecimentos infratores (Brasil, 2020).

### 3.2 Anatomia, histologia e fisiopatologia do linfonodo

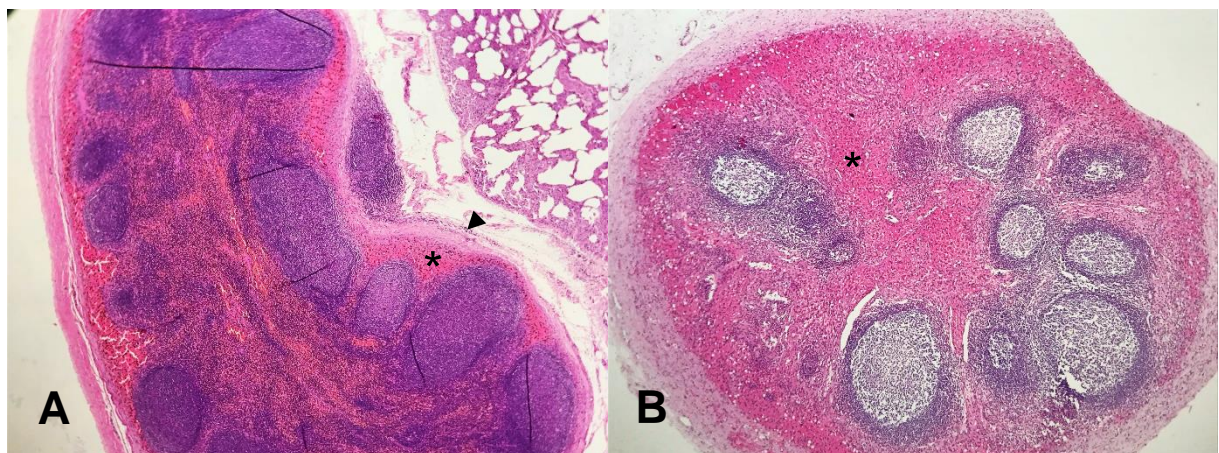
Os linfonodos são órgãos linfoides de drenagem intimamente associados à imunidade humoral (Gartner, 2007). Estes órgãos linfoides secundários (periféricos) são tipicamente encontrados na região cervical, axilar, inguinal, cavidades corpóreas e ao longo de grandes vasos (Gartner, 2007; König e Liebich, 2011).

Macroscopicamente, os linfonodos são ovais e encapsulados, frequentemente envoltos por tecido adiposo. Os nódulos linfoides interpõem o trajeto linfático e filtram a linfa recebida pelos vasos linfáticos aferentes (Gartner, 2007; König e Liebich, 2011), diferentemente dos nodos hemais ou hemolinfonodos, que possuem função hematopoética, sendo comumente encontrados em animais jovens e estruturalmente semelhantes a pequenos “baços acessórios” (Valli *et al.*, 2016).

Microscopicamente, são compostos por região cortical, paracortical e medular. A primeira abriga principalmente grupos de linfócitos B dispostos em estruturas foliculares (folículos primários e secundários), que diferem quanto ao grau de especialização na produção de imunoglobulinas; a segunda localiza-se entre o córtex e a medula e contém principalmente linfócitos T; enquanto que a terceira é marcada pela menor celularidade e pela presença de cordões anastomosantes de células linfoides em diferenciação (linfoblastos B e plasmócitos) e seios linfáticos tortuosos, os quais drenam a linfa em meio a células reticulares, linfócitos circulantes e macrófagos (Gartner, 2007). O arcabouço linfático é ainda sustentado por trabéculas de tecido conjuntivo que se projetam da cápsula linfática em direção ao centro ou hilo linfoide, porção côncava do nódulo linfoide onde conflui a entrada e a saída de vasos sanguíneos e o escoamento da linfa drenada pelo vaso linfático eferente (Gartner, 2007; König e Liebich, 2011). A Figura 1 esquematiza de maneira simplificada algumas das principais características histológicas descritas anteriormente, enquanto que a Figura 2 ilustra a histologia de hemolinfonodos bovinos.



**Figura 1.** Representação esquemática da estrutura interna do linfonodo bovino. Adaptado de König e Liebich, 2011.



**Figura 2.** Histologia do hemolinfonodo bovino. **A.** Seção longitudinal de hemolinfonodo pulmonar. Destaque para cápsula fibrosa (cabeça de seta) e seio subcapsular repleto de sangue (asterisco). HE, 40x. **B.** Seção transversal de hemolinfonodo. Destaque para folículos linfoides secundários intercalados por seios trabeculares espessos (asterisco), conferindo aspecto histológico de “polpas esplênicas”. HE, 40x.

Ao ser acometido por processos inflamatórios, neoplásicos ou infecciosos, o órgão pode aumentar em várias vezes seu tamanho natural, tornando-se firme e palpável, sendo facilmente perceptível durante o exame macroscópico (Gartner, 2007; Valli *et al.*, 2016). Ademais, pelo fato de estar localizado em cadeias, a linfa drenada de um linfonodo flui para o seguinte, facilitando por sua vez a disseminação de processos infecciosos ou neoplásicos entre linfonodos vizinhos (Gartner, 2007).



### 3.3 Imunologia aplicada à patologia das vias linfáticas em bovinos

De um modo geral, grande parte das reações teciduais observáveis à macroscopia são desencadeadas por processos microscópicos que muitas vezes envolvem reações inflamatórias agudas ou crônicas, em última análise determinadas pelo estímulo inicial e pela resposta do próprio indivíduo (Kumar *et al.*, 2010).

As reações da inflamação aguda podem ser deflagradas por diversos mecanismos, que incluem infecções por micro-organismos ou o efeito de suas toxinas, corpos estranhos, reações imunes e necrose tecidual por causas diversas (e.g. hipóxia e injúrias físicas ou químicas), e apresentam os seguintes componentes: aumento do fluxo sanguíneo por alterações no calibre vascular; mudanças estruturais na microvasculatura e; migração e ativação leucocitária (Kumar *et al.*, 2010).

A fase aguda da inflamação é ainda caracterizada pela presença do exsudato, fluido extracelular rico em proteínas, que contém alta gravidade específica e restos celulares, classificado de acordo com seus padrões morfológicos em: seroso; fibrinoso; supurativo/purulento; ou quaisquer combinações entre esses padrões (Kumar *et al.*, 2010). Os mecanismos responsáveis por desencadear a inflamação aguda dependem de vias de sinalização celular que incluem os mediadores derivados de células (aminas vasoativas, metabólitos do ácido araquidônico, fator ativador de plaquetas, espécies reativas de oxigênio, óxido nítrico, citocinas e quimiocinas, constituintes lisossômicos dos leucócitos e neuropeptídeos) e os mediadores derivados de proteínas plasmáticas (sistema complemento, sistema da coagulação e sistema das cininas) (Tabelas 1 e 2) (Kumar *et al.*, 2010).

**Tabela 1.** O papel das citocinas na inflamação. Adaptado de Kumar *et al.*, 2010.

Citocina	Principais fontes	Principais ações na inflamação
<b>Inflamação aguda</b>		
TNF	Macrófagos, mastócitos, linfócitos T	Estimula a expressão das moléculas de adesão endotelial e secreção de outras citocinas; efeitos sistêmicos
IL-1	Macrófagos, células endoteliais, algumas células epiteliais	Similar ao TNF; maior papel na febre
IL-6	Macrófagos, outras células	Efeitos sistêmicos (resposta de fase aguda)

Quimiocinas	Macrófagos, células endoteliais, linfócitos T, mastócitos, outros tipos de células	Recrutamento de leucócitos para os locais de inflamação, migração das células para os tecidos normais
<b>Inflamação crônica</b>		
IL-12	Células dendríticas, macrófagos	Produção aumentada de IFN- $\gamma$
IFN- $\gamma$	Linfócitos T, células NK	Ativação de macrófagos (habilidade aumentada para destruir micróbios e células tumorais)
IL-17	Linfócitos T	Recrutamento de neutrófilos e monócitos

Abreviações: IFN- $\gamma$ , interferon-gama; células NK, células assassinas naturais (*natural killer*); TNF, fator de necrose tumoral.

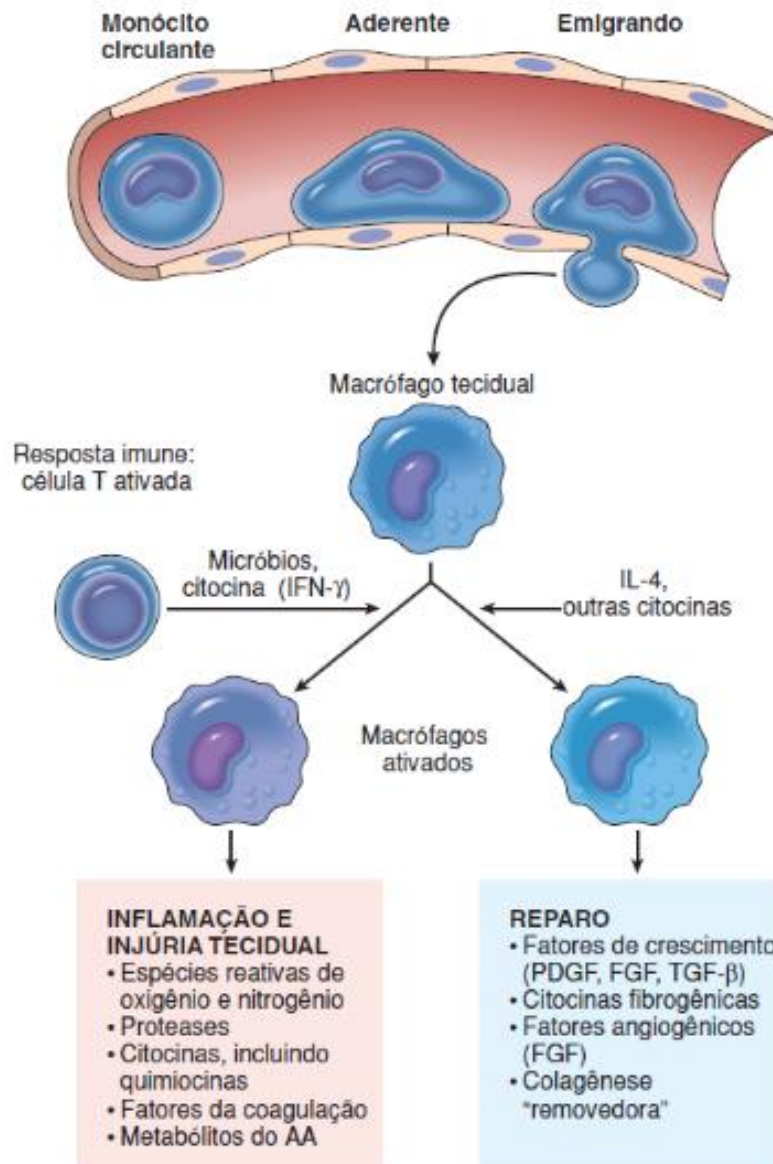
**Tabela 2.** Papel dos mediadores nas diferentes reações da inflamação. Adaptado de Kumar *et al.*, 2010.

<b>Papel na inflamação</b>	<b>Mediadores</b>
<b>Vasodilatação</b>	Prostaglandinas Óxido nítrico Histamina
<b>Permeabilidade vascular aumentada</b>	Histamina e serotonina C3a e C5a (pela liberação de aminas vasoativas dos macrófagos e outras células) Bradicinina Leucotrienos C4, D4, E4 PAF Substância P
<b>Quimiotaxia, recrutamento e ativação leucocitária</b>	TNF, IL-1 Quimiocinas C3a, C5a Leucotrieno B4 (produtos bacterianos)
<b>Febre</b>	IL-1, TNF
<b>Dor</b>	Prostaglandinas Prostaglandinas Bradicinina
<b>Dano tecidual</b>	Enzimas lisossômicas dos leucócitos Espécies reativas de oxigênio Óxido nítrico

Abreviações: IL-1, interleucina-1; PAF, fator de ativação plaquetária; TNF, fator de necrose tumoral.

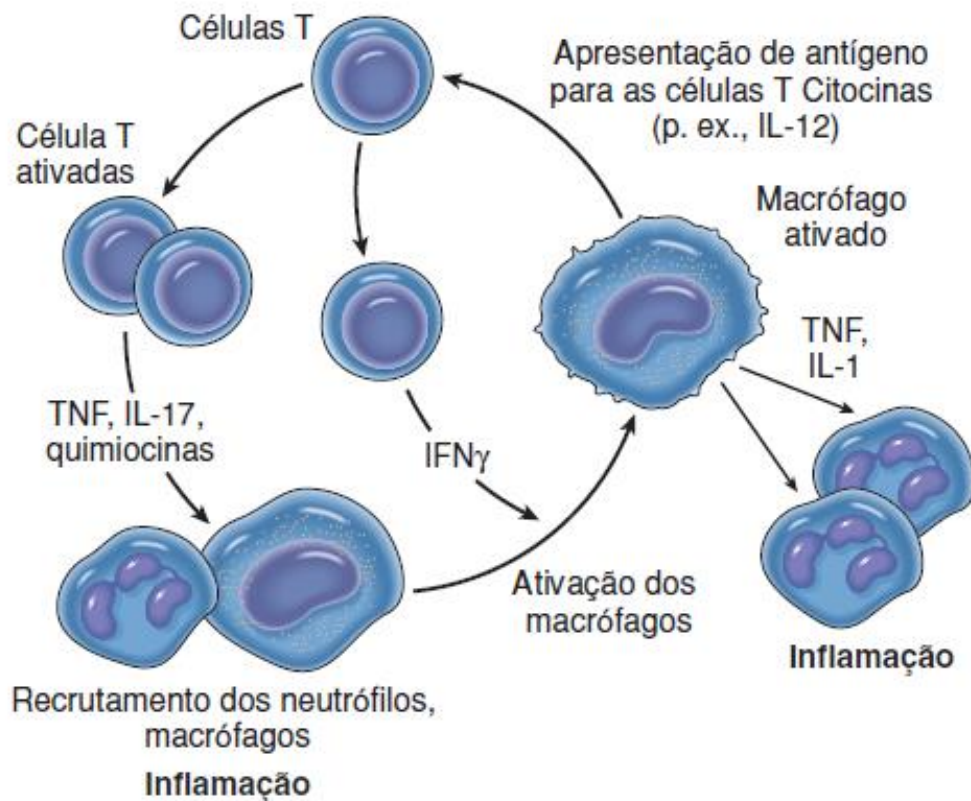
À medida que processos inflamatórios perduram por longos períodos, como em casos de infecções persistentes por micro-organismos difíceis de debelar (e.g. *Mycobacterium* spp.), doenças inflamatórias imunomediadas, ou ainda por exposição prolongada a agentes tóxicos (exógenos ou endógenos), elementos da inflamação ocorrem juntamente com a injúria tecidual e tentativas de reparo (Kumar *et al.*, 2010). Neste sentido, como alguns dos principais componentes do sistema mononuclear fagocítico, os macrófagos desempenham importantes

funções no processo inflamatório crônico, contribuindo diretamente para a inativação e morte microbiana, mediação de processos inflamatórios e reparo tecidual (Figura 3), com ressalva às importantes vias de interação com os linfócitos (Figura 4), que por vezes incitam reações granulomatosas (Kumar *et al.*, 2010).



**Figura 3.** Papel dos macrófagos na inflamação crônica. Adaptado de Kumar *et al.*, 2010.

Abreviações: AA, ácido araquidônico; FGF, fator de crescimento de fibroblasto; IFN- $\gamma$ , interferon-gama; IL-4, Interleucina-4; PDGF, fator de crescimento derivado de plaquetas.



**Figura 4.** Interações macrófago-linfócito na inflamação crônica. Adaptado de Kumar *et al.*, 2010.

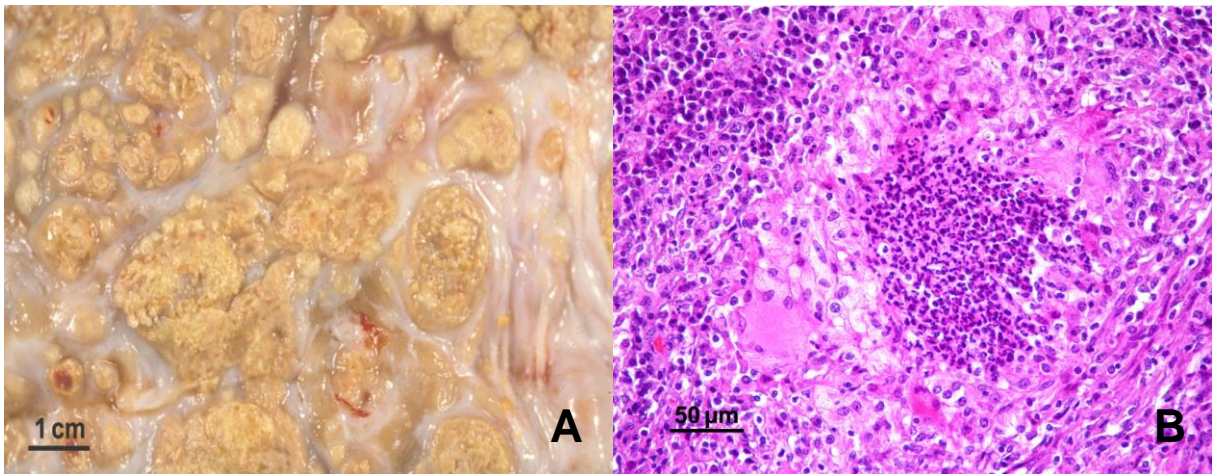
Abreviações: IFN- $\gamma$ , interferon-gama; IL-1, interleucina-1; IL-12, interleucina-12; IL-17, interleucina-17; TNF, fator de necrose tumoral.

Por sua vez, o granuloma pode ser entendido como uma reação antigênica crônica (hipersensibilidade tardia), na qual ocorre uma tentativa de isolamento de um processo patológico, caracterizada pelo acúmulo focal e circunscrito/encapsulado de células inflamatórias com predomínio de linfócitos e macrófagos (macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas do tipo Langhans ou do tipo corpo estranho), geralmente arranjados concentricamente em torno de um agente intralésional biológico ou não, responsável pelo estímulo antigênico inicial, por vezes associado a neutrófilos íntegros e degenerados e restos celulares necróticos eventualmente mineralizados, como ocorre em casos de tuberculose (Fuller *et al.*, 2003; Kumar *et al.*, 2010).

Nessa linha, a tuberculose apresenta como principal via de transmissão a via aérea através da inalação de bacilos viáveis entre animais ou pessoas infectadas (Paes e Franco, 2016). Ao serem captados por macrófagos teciduais, os bacilos podem permanecer inertes no sítio de infecção primária por longos períodos (estado de dormência), ao impedir a maturação de fagossomos e a fusão de fagolisossomos, além da apresentação antigênica e a própria apoptose

ou autofagia (Ottenhoff, 2012), sendo sucedido por uma resposta imune inata histiocitária por secreção do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), dentre outras citocinas com função quimiotática (Caswell e Williams, 2016). Então, ocorre a liberação de IL-12, que deflagra a secreção de interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) e IL-2 por linfócitos T CD4<sup>+</sup> auxiliares do tipo 1, iniciando sinergicamente o processo de resposta imune celular que leva à reação granulomatosa e, somente então, os macrófagos ativados por linfócitos especializados adquirem a capacidade de metabolizar os fagossomos nos quais se encontravam os bacilos, conferindo um aspecto epitelióide ou multinucleado (Caswell e Williams, 2016).

Durante esse processo, no entanto, uma resposta imune celular exacerbada pode ser deflagrada por macrófagos, em especial devido à liberação de metaloproteinases da matrix, levando ao clássico padrão de necrose liquefativa no centro dos granulomas tuberculoideos (Caswell e Williams, 2016). Algumas bactérias podem ainda escapar dos fagossomos e se multiplicar no citoplasma de macrófagos, levando à evasão celular por ruptura da membrana plasmática e perdurando a infecção (Ottenhoff, 2012). Após a infecção inicial, algumas dessas micobactérias podem ser carregadas por células fagocíticas até linfonodos de drenagem, onde estabelecem um novo foco de infecção (complexo primário) (Figura 5) (Domingo *et al.*, 2014).



**Figura 5.** Achados anatomopatológicos em linfonodos mediastínicos de vacas com tuberculose. **A.** Granulomas coalescentes com necrose caseosa e mineralização, separados por septos de tecido conjuntivo fibroso. **B.** Granuloma de tuberculose em estado inicial, com acúmulo central de neutrófilos íntegros e degenerados, circundados por macrófagos epitelióides, células gigantes multinucleadas e linfócitos. Adaptado de Domingo *et al.*, 2014.

Em última análise, a patogênese da tuberculose depende de três fatores: a capacidade do bacilo de reprogramar a resposta imune da célula hospedeira após a primo-infecção, prevenindo

sua eliminação; a formação de granulomas, nos quais o patógeno sobrevive em equilíbrio e previne sua eliminação, garantindo um estado de dormência até um momento de queda na imunidade; e a lentificação do controle e metabolismo central bacteriano, caracterizando um estado no qual a bactéria é resistente às defesas do hospedeiro e às tentativas terapêuticas (Miggiano *et al.*, 2020).

### **3.4 A importância do estudo do linfonodo durante a inspeção frigorífica**

A avaliação desse órgão linfoide é etapa obrigatória de acordo com o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT) (Brasil, 2006) e de acordo com o manual de Inspeção de Carnes, durante a inspeção pós-morte de rotina em abatedouros frigoríficos (Brasil, 2007). O estudo das vias linfáticas é também especialmente importante durante o diagnóstico de certas doenças granulomatosas, tais como actinomicose, actinobacilose e mastite estafilocócica (Tessele *et al.*, 2014), sendo ainda crucial durante a busca por sinais de tuberculose (Neves *et al.*, 2017), paratuberculose (Vazquez *et al.*, 2014) e doenças neoplásicas em geral (Tessele e Barros, 2016), podendo também ser aplicado em certos casos de lesões parasitárias (Alborzi *et al.*, 2013; Tessele *et al.*, 2013) ou tóxicas nesses animais, como as causadas por ingestão de *Brachiaria* spp. (Driemeier *et al.*, 1998), *Vicia villosa* (Sonne *et al.*, 2011) e polpa cítrica (Saunders *et al.*, 2000; Iizuka *et al.*, 2005).

Em alguns casos, no entanto, alterações linfáticas indicativas de lesão podem não ser evidentes à macroscopia, passando despercebidas durante a inspeção, especialmente quando relacionadas a lesões discretas ou incipientes, esta última frequentemente associada a quadros sépticos por *Salmonella* sp. (Webb *et al.*, 2017). Logo, a avaliação periódica de linfonodos de animais de abatedouro requer especial atenção frente à possibilidade de estes órgãos sediarem processos patológicos importantes em animais aparentemente saudáveis, muitas vezes com alterações macroscópicas mínimas ou inexistentes (Al-Sadi e Ridha, 1994).

### **3.5 Classificação das doenças linfáticas**

Nesta revisão, as lesões linfáticas serão didaticamente classificadas quanto ao seu aspecto morfológico macroscópico, visto que essas características são, sobretudo, determinantes para a conduta dos profissionais de inspeção frigorífica em todo o mundo.

Portanto, a classificação das doenças linfáticas seguirá da seguinte forma: lesões inflamatórias supurativas, abscedativas e granulomatosas; lesões hemorrágicas; lesões pigmentares; e lesões hiperplásicas e proliferativas.

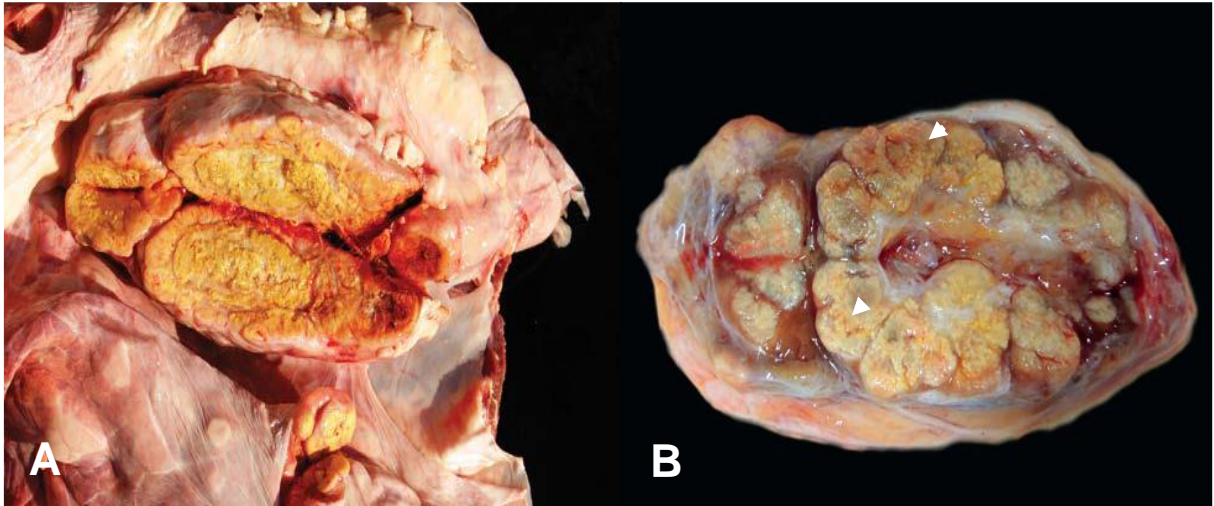
### 3.5.1 Lesões inflamatórias supurativas, abscedativas e granulomatosas

Define-se por linfadenite o processo reacional de inflamação do sítio nodal linfático frente a agentes infecciosos ou tóxicos (Valli *et al.*, 2016; Figuera, 2023). Sua classificação é determinada pelas características do próprio exsudato, que variam de acordo com a etiologia associada, resposta individual e cronicidade da lesão (Valli *et al.*, 2016; Boes e Durham, 2017).

De um modo geral, os agentes bacterianos destacam-se quanto à frequência de acometimento dos linfonodos, sendo comum observar processos supurativos e abscedativos em quadros agudos da infecção, resultado da presença massiva de piócitos no sítio linfático afetado (Valli *et al.*, 2016). Macroscopicamente, é possível notar um aumento do diâmetro do linfonodo (linfadenomegalia), com redução da consistência do órgão e adelgaçamento capsular, acompanhados de acúmulo de material viscoso, opaco, esverdeado ou amarelado e de odor fétido, quase sempre associado a áreas extensas de perda do parênquima linfoide (Valli *et al.*, 2016). Os agentes mais comumente associados com esse tipo de lesão em bovinos são *Streptococcus* spp. (Valli *et al.*, 2016), *Brucella* spp. (Valli *et al.*, 2016; Manrique-Ayala *et al.*, 2021) e *Trueperella pyogenes* (Ribeiro, 2016; Valli *et al.*, 2016).

Lesões inflamatórias granulomatosas, por outro lado, são representadas por linfadenomegalia e aumento da consistência do órgão linfoide, com acúmulo de exsudato majoritariamente seco, espessamento capsular e aderências fibrosas entre o linfonodo e estruturas circunjacentes (Tessele *et al.*, 2014; Valli *et al.*, 2016). O centro de alguns granulomas pode ainda albergar extensas áreas de necrose de caseificação (Figura 6A), ou mesmo de mineralização (Figura 6B), esta última, conferindo aspecto rangente ao corte (Tessele *et al.*, 2014; Valli *et al.*, 2016). Bactérias do gênero *Mycobacterium* spp., *Actinobacillus* sp. e *Actinomyces* sp. destacam-se por sua capacidade de incitar processos granulomatosos (Tessele *et al.*, 2014). Menos frequentemente, infecções por *Staphylococcus* spp. e *Nocardia* spp., ou por determinadas espécies de algas (e.g. *Prototheca zopfii*) e fungos (e.g. *Cryptococcus neoformans* e *Candida* spp.) (Valli *et al.*, 2016), ou mesmo a presença de corpos estranhos não biológicos, como em casos de inoculação acidental de veículos vacinais por falhas na

administração de vacinas (Folchini *et al.*, 2018), podem também estar associadas a processos granulomatosos no sítio linfático.

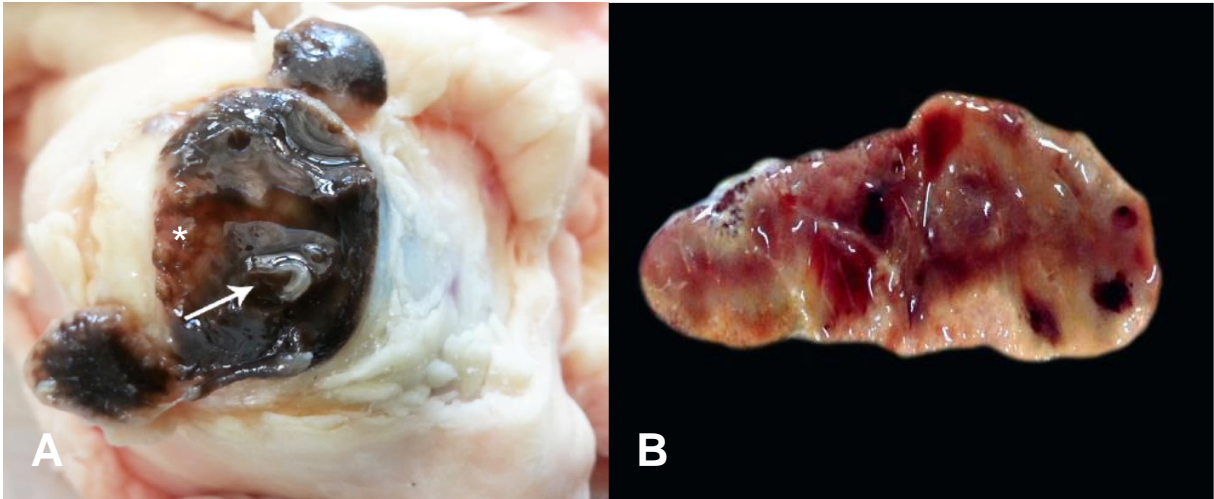


**Figura 6.** Lesões inflamatórias granulomatosas em bovinos. **A.** Tuberculose. Linfonodo traqueobrônquico, superfície de corte com completa perda da arquitetura linfática por acúmulo de material caseoso. Adaptado de Davies e Warren, 2017. **B.** Tuberculose. Nódulos granulomatosos branco-amarelados e parcialmente mineralizados (cabeças de seta), disseminados pelo parênquima linfoide. Adaptado de Valli *et al.*, 2016.

### 3.5.2 Lesões hemorrágicas

Macroscopicamente, processos que cursam com hemorragia linfática são notáveis por variações na coloração normal do linfonodo, conferindo uma tonalidade avermelhada ao órgão linfoide acometido. Nessa linha, lesões hemorrágicas linfáticas podem ocorrer isoladamente por ação de injúria tecidual local, como em episódios de migração parasitária (Figura 7A) (Azizi *et al.*, 2015), ou estar vinculadas à ocorrência de síndromes hemorrágicas sistêmicas, frequentemente associadas a quadros sépticos bacterianos (Figura 7B) (Herenda *et al.*, 1994), ou mesmo a quadros tóxicos com repercussões sistêmicas (DeHoogh, 1989; Oliveira, *et al.*, 2020). Dessa forma, hemorragias concentradas em sítios teciduais próximos aos de drenagem linfática estão associadas a quadros de hemorragia por drenagem linfática, que se traduzem histologicamente no acúmulo de hemácias em sinusoides corticomedulares linfáticos (eritrocitose sinusal e conseqüentemente eritrofagocitose) (Elmore, 2006), sendo macroscopicamente indistinguíveis de hemorragias linfóides primárias.





**Figura 7.** Lesões hemorrágicas em linfonodos bovinos. **A.** Linguatulose. Superfície de corte do linfonodo com focos agudos de hemorragia (asterisco) e acúmulo difuso de pigmento (hematina parasitária) associados à presença de ninfas do parasita (seta). Adaptado de Hashemnia *et al.*, 2018. **B.** Salmonelose septicêmica. Superfície de corte do linfonodo com focos de hemorragia e edema intersticial difuso no parênquima. Adaptado de Valli *et al.*, 2016.

### 3.5.3 Lesões pigmentares

As lesões pigmentares costumam ser facilmente perceptíveis durante as etapas de inspeção, visto que ocorre um destacamento do órgão linfoide perante as estruturas anatômicas adjacentes. Frequentemente, quadros de hemorragia progridem para uma lesão cromática ou pigmentar das estruturas linfáticas de drenagem durante suas etapas de resolução, com base na metabolização de elementos do próprio sangue, que incluem a transformação de hemoglobina em hemossiderina a partir de hemácias rompidas, conferindo uma tonalidade acastanhada ou marrom ao linfonodo afetado por acúmulo de hemossiderina, como ocorre nos linfonodos peri-hepáticos em casos de fasciolose (Rahko, 1969; Zafra *et al.*, 2009).

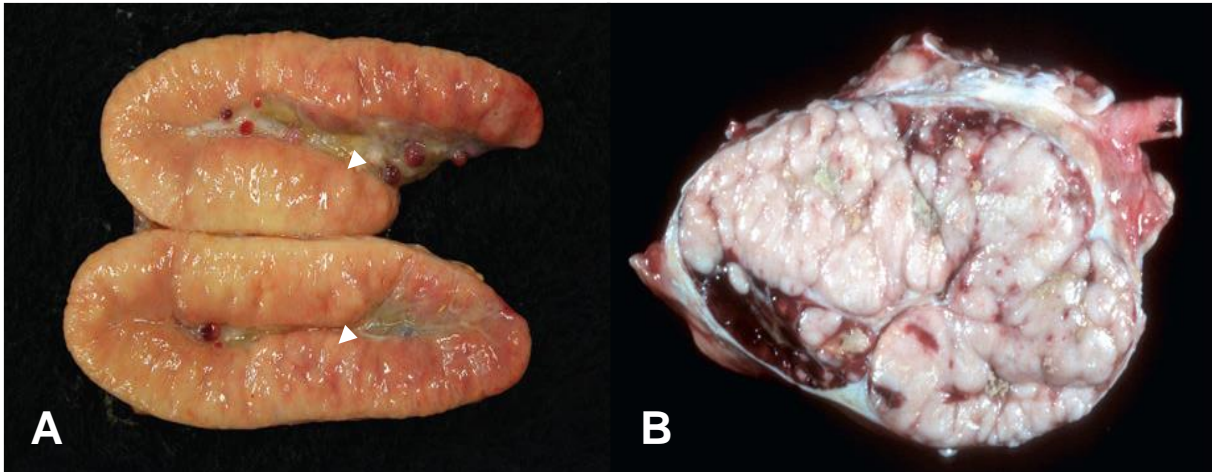
Esta mesma alteração de cor pode ser conferida pelo acúmulo direto de hematina parasitária quando da presença ativa de parasitas hematófagos no sítio linfático, como em casos de infecção por *Linguatula serrata* (Figura 7A) (Azizi *et al.*, 2015; Hashemnia *et al.*, 2018). Pigmentos enegrecidos ou esverdeados são geralmente observados em linfonodos que drenam sítios de antracose (Ozcan e Beytut, 2001) ou de tatuagem (Herenda e Dukes, 1988), respectivamente, embora casos de infecção pela alga pigmentada *Chlorella* sp. possam também

cursar com alterações de cor do sítio linfático, garantindo uma tonalidade verde-clara ao órgão acometido (Hafner *et al.*, 2012).

#### 3.5.4 Lesões hiperplásicas e neoplásicas

Comum a ambos os processos de hiperplasia e neoplasia linfoide está o aumento do linfonodo (Valli *et al.*, 2016). No entanto, a diferenciação macroscópica entre ambos os processos pode ser desafiadora, especialmente durante estágios iniciais de doenças linfoproliferativas (Conner *et al.*, 1966; Ohshima *et al.*, 1982). Uma parcela destes casos pode sequer ser notada macroscopicamente, seguindo para o consumo humano (Wright *et al.*, 1967). Logo, a confirmação histopatológica e imuno-histoquímica se faz necessária em casos suspeitos de acometimento neoplásico (Valli *et al.*, 2017).

Lesões hiperplásicas consistem em uma resposta reativa controlada e não neoplásica de células linfoides, podendo ocorrer de forma regional ou generalizada (Valli *et al.*, 2016). Neste processo, o aumento da população linfoide costuma respeitar as proporções naturais do órgão, mas o predomínio por linfócitos B nos folículos linfoides ou por linfócitos T no paracórtex pode predizer respostas do tipo humoral ou celular, respectivamente (Valli *et al.*, 2016). Embora tal achado seja geral ou pouco específico, fenômenos de hiperplasia linfoide generalizados acompanhados de intensa blastogênese paracortical são tipicamente observados nas fases iniciais da febre catarral maligna e da teileriose em bovinos (Hendera *et al.*, 1994; Valli *et al.*, 2016). Macroscopicamente, padrões de hiperplasia linfoide cursam com evidência do padrão folicular sob a forma de áreas esbranquiçadas micronodulares, multifocais a coalescentes e evidentes à superfície cortical linfoide, sem, contudo, comprometer a integridade da arquitetura normal linfática (Figura 8A) (Valli *et al.*, 2016; Boes e Durham, 2017).



**Figura 8.** Lesões hiperplásicas e neoplásicas em bovinos. **A.** Hiperplasia linfoide. Linfonodo íliaco medial, superfície de corte com evidenciação de folículos linfoides ao longo de todo o córtex linfático interno (cabeças de seta). Adaptado de Davies e Warren, 2017. **B.** Leucose enzoótica bovina. Superfície de corte de linfonodo com perda da arquitetura do linfonodo por múltiplos nódulos esbranquiçados irregulares e coalescentes. Adaptado de Boes e Durham, 2017.

Por outro lado, lesões linfoproliferativas geralmente cursam com o acometimento de múltiplas estruturas linfáticas, acompanhado de subversão da arquitetura do órgão por indistinção corticomedular, com superfície de corte difusamente branco-amarelada e homogênea, como observado na forma progressiva e generalizada da leucose enzoótica bovina (LEB) (Figura 8B) (Yoon *et al.*, 2005; Tessele e Barros, 2016). Em bovinos de produção, os linfonodos representam ainda sítios de metástase para carcinomas de células escamosas (Gava *et al.*, 2002; Tessele e Barros, 2016), neoplasias mamárias (Povey e Osborne, 1969; Piva *et al.*, 2017) e pulmonares (Zanoni *et al.*, 2014; Neto *et al.*, 2019).

### 3.6 Agentes infecciosos de importância à saúde pública com ênfase em linfonodos de bovinos de abatedouro

#### 3.6.1 Miscelânea de agentes infecciosos

Nesta seção, será discorrido acerca de diferentes agentes infecciosos relacionados direta ou indiretamente ao acometimento de linfonodos de bovinos com repercussões à saúde pública, incluindo as bactérias não pertencentes ao gênero *Mycobacterium*. Em vista da indiscutível

importância sanitária e econômica relacionadas às bactérias pertencentes a este gênero e ao vírus da leucose enzoótica bovina, estes serão tópicos aqui detalhados separadamente.

Conforme abordado nesta seção, diversos estudos têm apontado para a importância das doenças bacterianas no exame dos linfonodos. No estudo canadense de Herenda e Dukes (1988), foram avaliados 171.157 bovinos de abatedouro, dos quais 696 apresentaram lesões macroscópicas linforreticulares. Neste mesmo estudo, lesões bacterianas com formação de abscessos contabilizaram cerca de 40% dos casos analisados, e incluíram agentes como *Trueperella pyogenes*, *Rhodococcus equi*, *Bacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. e bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes, ao passo que as lesões granulomatosas foram estimadas em cerca de 27% dos casos, sendo resultantes da infecção por *Actinobacillus* sp. (Herenda e Dukes, 1988). Os autores descrevem ainda uma maior incidência de lesões nos períodos mais quentes do ano, particularmente em animais mais jovens (15-20 meses de idade) (Herenda e Dukes, 1988).

A bactéria *Listeria monocytogenes* foi também relacionada como causa esporádica de linfadenite mesentérica necro-hemorrágica e morte em vacas na Escócia (Thompson *et al.*, 2009). Neste trabalho, os autores ressaltam a importância da vigilância epidemiológica para a garantia da saúde pública a partir do estudo deste órgão. Casos semelhantes de linfadenite mesentérica fatal foram também notificados em vacas novilhas na América do Norte (Attleberger e Seibold, 1956). O mesmo agente foi também isolado em linfonodos retromamários de vacas com mastite (Gitter *et al.*, 1980, Bourry *et al.*, 1995, Winter *et al.*, 2004).

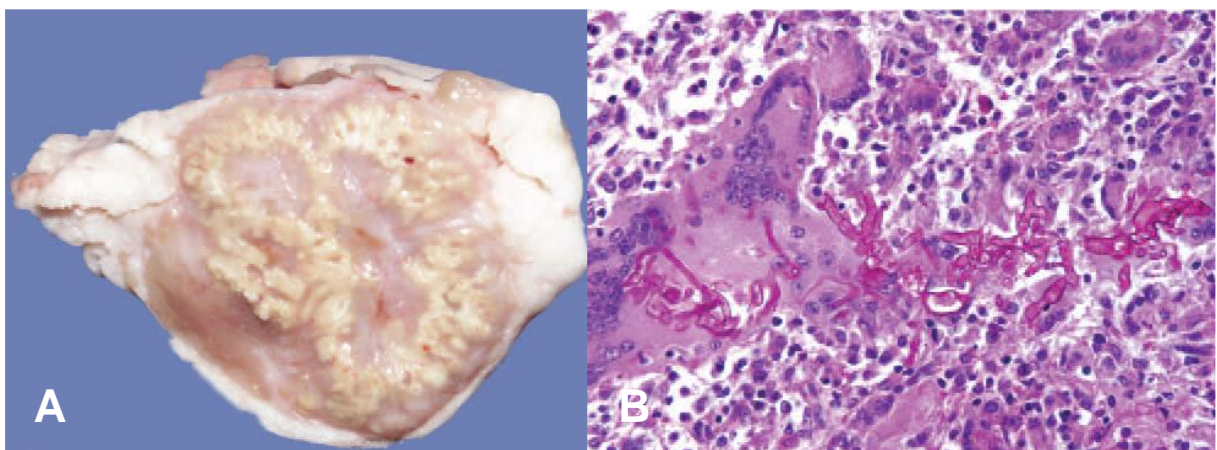
Não obstante, os estudos de Arthur *et al.* (2008) e Webb *et al.* (2017) apontam para os linfonodos como potenciais fontes de bactérias entéricas, como *Salmonella* spp. A disseminação linfática de um outro agente bacteriano foi também evidenciada por Grispoldi *et al.* (2020), ao demonstrar o potencial de contaminação de partes da carcaça, sobretudo de produtos cárneos utilizados para a fabricação de carne moída, por linfonodos ilíacos contaminados por *Escherichia coli*.

Contraditoriamente, em um levantamento que avaliou achados anatomopatológicos em vacas soropositivas para *Brucella* sp., alterações histológicas muitas vezes consideradas brandas ou de pouca importância, como a hiperplasia folicular e plasmocitose medular, foram evidenciadas nos linfonodos mamários de animais que desenvolveram mastite por *Brucella abortus* (Beytut *et al.*, 2009).

Em um estudo transversal com bovinos de abatedouro com linfadenomegalia na Etiópia foi também ressaltada a importância de técnicas diagnósticas complementares à histopatologia, como a citopatologia e a bacteriologia, utilizadas nesse trabalho para o diagnóstico de linfadenite caseosa nestes animais, doença causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*, um importante diferencial das micobacterioses ou de demais agentes relacionados com linfadenites purulentas (Mathewos e Fesseha, 2022).

Outros agentes têm demonstrado importância zoonosológica durante a inspeção de linfonodos de bovinos abatedouro. É o caso das algas pertencentes à família *Chlorellaceae*, como *Prototheca* sp. e *Chlorella* sp., caracterizadas pela capacidade de endosporulação, sendo a primeira desprovida de pigmentos (Migaki *et al.*, 1969; Jensen *et al.*, 1998), enquanto que a segunda é reconhecida pelo clássico padrão verde das lesões granulomatosas sistêmicas (Hafner *et al.*, 2012).

Neste cenário, os agentes fúngicos estão esporadicamente relacionados a perdas econômicas, sendo muitas vezes associados a organismos do gênero *Aspergillus* spp., que incitam processos granulomatosos sobretudo em estruturas do sistema respiratório inferior e linfonodos circunjacentes (Jensen *et al.*, 1990), estando também associados a lesões necro-hemorrágicas gastroentéricas (Jensen *et al.*, 1990; Jensen *et al.*, 1994). Outro grupo de importância consiste nos mucormicetos, do qual fungos dos gêneros *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus* e *Rhizomucor* fazem parte, causando lesões gastrointestinais com frequente acometimento dos linfonodos mesentéricos, mas também levantando dúvidas e questionamentos durante o processo de inspeção, particularmente quando relacionados a lesões caseonecroticas ou granulomatosas, semelhantes às causadas por tuberculose (Figura 9) (Ortega *et al.*, 2010).



**Figura 9.** Achados anatomopatológicos em linfonodos de bezerros causados por mucormicetos. **A.** Superfície de corte com focos de necrose caseosa multifocais a coalescentes. **B.** Células gigantes

multinucleadas intimamente associadas a hifas fúngicas não septadas, com paredes não paralelas e irregularmente ramificadas. Ácido periódico de *Schiff*. Adaptado de Ortega *et al.*, 2010.

### 3.6.2 Bactérias pertencentes ao gênero *Mycobacterium* spp.

O *Mycobacterium* é um gênero bacteriano de grande importância histórica, pertencente à ordem dos *Actinomycetales* e à família *Mycobacteriaceae* (Paes e Franco, 2016). Este gênero alberga uma ampla diversidade de espécies, com bactérias que divergem quanto às características patogênicas, fenotípicas e epidemiológicas, mas com notável semelhança genética entre si, o que permite a divisão em complexos, como o complexo *M. tuberculosis*, do qual o próprio *M. tuberculosis* é integrante, assim como o *M. bovis*, geralmente associados a lesões com padrão em “tubérculo” (Caswell e Williams, 2016; Paes e Franco, 2016). A bactéria é imóvel, aeróbica obrigatória, não encapsulada, não formadora de esporos, possuindo formato bacilar alongado e medindo cerca de 4 µm de comprimento, mas apresentando mínimo contraste histológico à coloração de Gram devido à grande quantidade de lipídios na parede celular, o que confere resistência e positividade aos corantes do tipo álcool-ácidos, como o *Ziehl-Neelsen* (Barletta e Steffen, 2022).

Conforme estabelecido pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) do Brasil, a tuberculose é uma doença de notificação compulsória para casos confirmados (Brasil, 2013), sendo frequentemente diagnosticada pelo serviço de inspeção em abatedouros frigoríficos de bovinos em todo o território nacional (Neves *et al.*, 2017; Severgnini *et al.*, 2019; Teixeira *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2020; Camba e Alves, 2020). De um modo geral, a prevalência da tuberculose bovina pode variar bastante entre países, visto que é uma doença negligenciada, apesar da sua gravidade e sérias repercussões econômicas (Herenda e Dukes, 1988; Bhembe *et al.*, 2017; Gong *et al.*, 2021).

De acordo com o Programa de Erradicação de Tuberculose Bovina regente na União Europeia, o controle de tuberculose bovina deve ocorrer a partir de testes de tuberculinização intradérmicos e titulação de interferon gama, seguidos por abate sanitário dos animais positivos e medidas restritivas de trânsito animal (EU, 2020). No Brasil, as diretrizes do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) estão em confluência com o Código Zoosanitário Internacional, recomendando o teste de tuberculinização (teste cervical simples ou teste da prega caudal, acrescido do teste cervical

comparativo para confirmação) com tuberculinas PPD (Derivado Proteico Purificado) bovina e aviária, considerado teste oficial para o diagnóstico indireto da condição (Brasil, 2017b). O PNCEBT discorre ainda sobre a conduta em casos de positividade aos testes listados anteriormente, referindo que os animais positivos devam ser propriamente marcados e eutanasiados ou encaminhados ao abate sanitário (Brasil, 2017b). Uma importante ressalva vale para animais considerados anérgicos, que não respondem adequadamente aos testes de tuberculinização intradérmicos, possivelmente devido a quadros graves e avançados da infecção somados a uma baixa resposta imune celular, contribuindo para a persistência da doença na propriedade (Rua-Domenech *et al.*, 2006).

Na espécie bovina, a tuberculose está geralmente associada a lesões granulomatosas em múltiplos órgãos e seus respectivos linfonodos de drenagem (Domingo, *et al.*, 2014; Tessele *et al.*, 2014; Uzal *et al.*, 2016). Em um estudo pioneiro, Wangoo *et al.* (2005) propuseram o estadiamento histopatológico de linfadenites granulomatosas em vacas novilhas experimentalmente infectadas por *Mycobacterium bovis*. Tal sistema de classificação leva em consideração o diâmetro médio da lesão, números de bacilos intralesionais, composição celular, necrose e mineralização, bem como a expressão do fator de crescimento TGF- $\beta$  e deposição de colágeno e fibrose para categorização do estágio da lesão (1-4), conforme demonstrado na Tabela 3.

**Tabela 3.** Estadiamento de granulomas em linfonodos de vacas novilhas infectadas por *M. bovis*. Adaptado de Wangoo *et al.* (2005).

<b>Estádio da lesão</b>	<b>Diâmetro médio da lesão e número de bacilos</b>	<b>Composição celular</b>	<b>Fator de crescimento TGF-<math>\beta</math>, colágeno e fibrose</b>	<b>Necrose e mineralização</b>
1 (Inicial)	0,49 $\pm$ 0,02 0-1 bacilo	Agregados de macrófagos epitelioides, incluindo células gigantes com linfócitos entremeados e circunjacentes, predominantemente T CD3 <sup>+</sup> , poucas células $\gamma\delta$ T e células B	Procolágeno mínimo, com fibrose periférica ausente; raras células expressando TGF- $\beta$ ( $\approx$ 10 células)	Necrose ausente
2 (Sólido)	0,68 $\pm$ 0,07 1-5 bacilos	Domínio de macrófagos epitelioides e células gigantes, com células T CD3 <sup>+</sup> amplamente	Expressão de procolágeno; encapsulação incompleta/fina; mais células TGF-	Necrose central ou hemorragia mínimas

		entremeadas, poucas células B (geralmente periféricas), escassas células $\gamma\delta$ T e neutrófilos ocasionais	$\beta$ , geralmente periféricas ( $\approx$ 40 células)	
3 (Necrose mínima)	$1,14 \pm 0,16$ 1-5 bacilos	Macrófagos epitelioides e células gigantes circundam áreas de necrose; células T CD3 <sup>+</sup> presentes, mas predominantemente periféricas; células $\gamma\delta$ T amplamente dispersas na periferia; células B periféricas, mas intensamente aglomeradas sobre cápsula fibrosa; neutrófilos escassos	Aumento da expressão de procolágeno; encapsulação completa; expressão de TGF- $\beta$ principalmente periféricamente no granuloma	Necrose caseosa central, geralmente com mineralização (mínima)
4 (Necrose e mineralização)	$3,49 \pm 0,76$ >5 bacilos	Macrófagos epitelioides e células gigantes circundam áreas de necrose; células $\gamma\delta$ T proeminentes entre células T CD3 <sup>+</sup> à periferia; células B aglomeradas multifocalmente fora da cápsula e nas margens do granuloma	Procolágeno presente no interior e na periferia; septação fibrosa espessa e encapsulação; aumento da expressão de TGF- $\beta$ na região capsular	Necrose caseosa multicêntrica extensiva com mineralização

---

Abreviações:  $\gamma\delta$ , gama delta; TGF- $\beta$ , fator de crescimento transformador beta.

A referida classificação histopatológica tem sido amplamente utilizada em estudos anatomopatológicos envolvendo linfadenites granulomatosas causadas por *Mycobacterium bovis* em bovinos (Menin *et al.*, 2013; Domingo *et al.*, 2014; Larenas-Muñoz *et al.*, 2022), incluindo seu uso em caprinos (Schinköthe *et al.*, 2016; Neila *et al.*, 2022), javalis selvagens (García-Jimenez *et al.*, 2013) e cervos ingleses (Johnson *et al.*, 2008). Apesar do real sucesso da classificação na medicina veterinária, a real precisão desse sistema de graduação tem sido questionada por outros autores, especialmente quando aplicada a bezerros naturalmente infectados pela bactéria (Carrisoza-Urbina *et al.*, 2019). Em vista desses entraves, um sistema de classificação minimamente diferente do anterior foi proposto a fim de contemplar as nuances observadas em tecidos de bezerros naturalmente infectados, quando comparados a tecidos de animais mais velhos (>1 ano de idade), como a tendência em bezerros pelo surgimento de um maior número de lesões e por lesões microscópicas de menor estágio, com maiores quantidades



de bacilos intralesionais, mas com menor número absoluto de células gigantes associadas (Carrisoza-Urbina *et al.*, 2019).

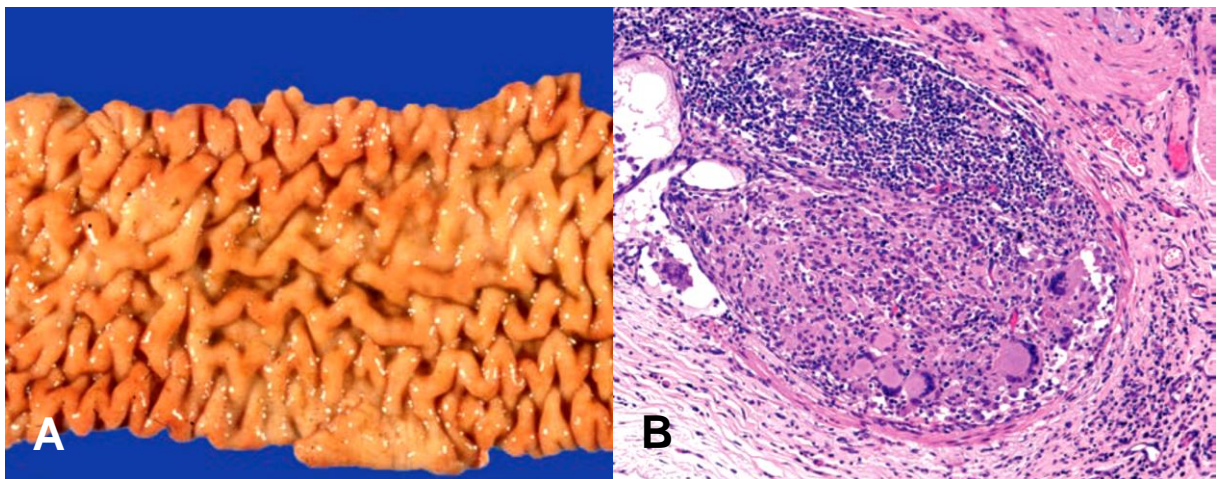
Ambos os trabalhos indicam os linfonodos mediastínicos como os mais comumente afetados pela condição, ressaltando a importância da via respiratória como principal porta de entrada na patogênese dessa condição (Wangoo *et al.*, 2005; Carrisoza-Urbina *et al.*, 2019), apesar de que a via digestiva é também relevante para a patogênese da doença em bovinos, dada à relativa resistência do agente a certas condições ambientais (Bhembe *et al.*, 2017), justificando o acometimento de linfonodos abdominais, estruturas gastrointestinais e hepatoesplênicas (Domingo *et al.*, 2014). Contudo, em casos onde linfonodos de diferentes cadeias linfáticas estão acometidos concomitantemente, pode ser desafiador determinar se as lesões digestivas da tuberculose foram decorrentes da ingestão por via oral de bacilos viáveis ou se houve a disseminação do agente bacteriano sistemicamente, em particular nos casos crônicos de infecção (Domingo *et al.*, 2014), visto que o próprio exsudato contaminado proveniente dos pulmões pode ser ingerido e direcionado a vísceras abdominais (Caswell e Williams, 2016).

Outro importante desafio diagnóstico enfrentado consiste na própria escolha da técnica laboratorial utilizada. No estudo de Larenas-Muñoz, carcaças de 230 bovinos destinadas ao consumo humano foram avaliadas por diferentes técnicas diagnósticas para fins de confirmação laboratorial de infecção por bactérias do complexo *Mycobacterium* (Larenas-Muñoz *et al.*, 2022). Neste trabalho, a sensibilidade e a especificidade da técnica histopatológica foram comparadas às obtidas para a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real ou PCR quantitativo (qPCR) de tecidos não fixados (87,5% e 84,1%, respectivamente) e cultura bacteriana (74,6% e 84,2%, respectivamente), esta última considerada padrão-ouro para o diagnóstico pós-morte de micobacteriose na espécie bovina no Brasil (Ramos *et al.*, 2015), ressaltando a importância da microscopia no diagnóstico da doença.

O estudo de Hernandez-Jarguín *et al.* (2020) ressaltou a importância de outras espécies de micobactérias em programas de controle da tuberculose bovina no México, considerando que algumas destas espécies são capazes de causar linfadenites granulomatosas, estando inclusive relacionadas à falsa positividade em testes de tuberculinização, sendo somente possível sua diferenciação de bactérias do complexo *M. tuberculosis* através do isolamento bacteriano ou de testes moleculares específicos (e.g. qPCR). Neste mesmo estudo, cerca de 46% dos isolados bacterianos obtidos de linfonodos de bovinos condenados durante o abate corresponderam a espécies de micobactérias distintas das encontradas no complexo *M.*

*tuberculosis*, dentre as quais *M. scrofulaceum*, *M. triviale*, *M. terrae*, *M. szulgai*, *M. kansasii*, *M. phlei* e *M. scrofulaceum* estiveram relacionadas a lesões granulomatosas e/ou piogranulomatosas, embora as mesmas espécies *M. szulgai*, *M. phlei*, *M. scrofulaceum* e *M. kansasii*, em adição das espécies *M. chelonae* e *M. fortuitum*, tenham sido relacionadas a linfonodos sem alterações histológicas aparentes (Hernandez-Jarguín *et al.*, 2020).

O complexo *Mycobacterium avium* trata-se de outro grupo de micobactérias bastante associado a doenças em bovídeos, sobretudo a lesões ileocecais resultantes da infecção por *M. avium* subespécie *paratuberculosis* (MAP) (Figura 10), com miríades de bacilos álcool-ácido resistentes intralésionais (Driemeier *et al.*, 1999; Dalto *et al.*, 2012; Valli *et al.*, 2016). Em casos crônicos, bactérias desse complexo têm sido esporadicamente associadas ao acometimento de linfonodos ileocecais ou mesentéricos em bovinos de abatedouro (Herenda e Dukes, 1988; Sweeney *et al.*, 1992; Wells *et al.*, 2009; Uzal *et al.*, 2016).



**Figura 10.** Achados anatomopatológicos de paratuberculose em bovinos. **A.** Enterite granulomatosa. Mucosa jejunal com dobras proeminentes, conferindo o clássico aspecto “cerebriforme”. **B.** Linfangite granulomatosa subserosa ílica. Lúmen de vaso linfático repleto por linfócitos, macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas. Adaptado de Uzal *et al.*, 2016.

### 3.6.3 Vírus da leucose enzoótica bovina

A leucose enzoótica bovina (LEB) consiste em uma doença linfoproliferativa associada à infecção por um retrovírus oncogênico do gênero *Deltaretrovirus* (ICTV, 2020). Embora infecções experimentais em diversas espécies já tenham sido relatadas, a infecção natural ocorre em bovinos (*Bos taurus* e *Bos indicus*), búfalos domésticos (*Bubalus bubalis*) e capivaras

(*Hydrochoerus hydrochaeris*) (OIE, 2018). A infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (VLEB) em subpopulações de células B do tipo CD5+ IGM+ pode desencadear o aparecimento de linfomas de células B em bovinos, embora tenha sido comprovada a infecção de outros tipos celulares, incluindo outras subpopulações de células B, células T, monócitos e granulócitos, conforme citado por Polat *et al.* (2017).

Até o momento, foram identificados pelo menos dez diferentes tipos de genótipos do VLEB, a partir de diferenças observadas em determinadas estruturas do genoma viral (LTR, Gag, Pro, Pol, Tax, Rex, R3, G4, e regiões codificantes de miRNA) (Polat *et al.*, 2016). No entanto, estudos adicionais são necessários a fim de conhecer as repercussões de cada um desses genótipos quanto a sua transmissibilidade e patogenicidade (Polat *et al.*, 2017).

Nas etapas da produção animal, a transmissão está geralmente ligada a práticas deficitárias de manejo, por via iatrogênica, não havendo tratamento curativo específico ou qualquer vacinação comercial que possa ser utilizada na prevenção da doença (OIE, 2018). Em um estudo abrangente realizado em Minas Gerais, a soroprevalência de bovinos para a leucose enzoótica atingiu valores tão altos quanto 38,7% para bovinos de leite e 2,5% para bovinos de corte (Camargos *et al.*, 2002).

A maioria dos bovinos infectados pelo VLEB não apresenta qualquer sinal clínico ou alterações hematológicas, ao passo que em cerca de 30% dos casos há o desenvolvimento de um quadro de linfocitose persistente por linfócitos B CD5+ IgM+ não neoplásicos (Ferrer *et al.*, 1978). Menos de 5% dos animais infectados evoluem para a forma maligna da doença, sendo geralmente diagnosticado em animais acima de 3 anos de idade, ou após longos períodos de latência, com pico de incidência variando entre 4-8 anos (Marshak *et al.* 1962; Ferrer *et al.*, 1978; Vernau *et al.* 1992).

Contudo, é válido lembrar que o linfoma bovino pode ser classificado como de ocorrência enzoótica ou esporádica, esta última, não relacionada à infecção pelo VLEB (Valli *et al.*, 2016; Valli *et al.*, 2017). A forma esporádica é caracterizada por acometer animais mais jovens (<3 anos) e é subdividida em outras três formas: juvenil (multicêntrica), que acomete sistemicamente animais com até 6 meses de idade; tímica, com acometimento massivo do timo e tecidos circunjacentes em animais entre 6-24 meses; e cutânea, sob a forma de placas cutâneas multifocais em animais com idade entre 1-3 anos (Grimshaw *et al.*, 1979), embora casos atípicos de cada uma das três formas tenham sido relatados em animais mais velhos (Grünberg e Eisenberg, 2013).

Na forma enzoótica, por outro lado, virtualmente qualquer órgão pode ser afetado, no entanto, algumas estruturas estão mais comumente relacionadas com a doença, a exemplo do coração, abomaso, útero, linfonodos e cordão espinhal (Mello *et al.*, 2019; OIE, 2018). A sintomatologia da leucose enzoótica bovina pode variar bastante (Aida *et al.*, 2013), acarretando importantes perdas econômicas relacionadas a quedas na produção leiteira, ineficiência reprodutiva e maior susceptibilidade a doenças infecciosas (Polat *et al.*, 2017).

O diagnóstico confirmatório do vírus da LEB parte de técnicas indiretas (detecção da resposta imune) e diretas (detecção do agente) (OIE, 2018). Os exames sorológicos (e.g. imunodifusão em gel de agarose – AGID, *enzyme-linked immunosorbent assay* - ELISA) têm sua importância justificada pela utilização de amostras de fácil obtenção, como soro sanguíneo ou leite, favorecendo uma metodologia de baixo custo e menor complexidade, possibilitando ainda a testagem em massa de animais suspeitos de um mesmo rebanho, com ressalvas quanto aos resultados falso positivos em animais menores que 6 meses (reação cruzada com anticorpos maternos), ou falso negativos (fases iniciais da infecção) (Polat *et al.*, 2017). Os exames moleculares, por outro lado, são apontados como testes altamente sensíveis e específicos, capazes de identificar o DNA viral mesmo em casos recentes de infecção ou em animais com idade inferior ao período de eliminação de anticorpos maternos, ainda que sejam exames mais onerosos se comparados aos testes sorológicos (Polat *et al.*, 2017). O uso da PCR em tempo real (qPCR) foi validado para o diagnóstico molecular do VLEB (Dias *et al.*, 2012), sendo considerado desde então como um dos métodos de diagnóstico oficial da doença nos laboratórios federais do Brasil.

Esquemas de classificação histológicos baseados em evidências têm sido amplamente utilizados em casos de neoplasias linfoides para acessar o prognóstico tumoral, possibilitando tratamentos mais específicos e a antecipação de informações acerca do tempo de sobrevivência do paciente (Alaggio *et al.*, 2022).

Neste sentido, humanos e animais compartilham de algumas semelhanças na apresentação e no prognóstico de neoplasias de origem linfóide, sendo as classificações propostas para animais muitas vezes derivadas de esquemas sedimentados na medicina humana (Valli *et al.*, 2016; Valli *et al.*, 2017).

Em um estudo histológico retrospectivo bastante amplo foi realizada a classificação de 1.198 casos de linfoma bovinos a partir do esquema de classificação disponível no *National Cancer Institute Working Formulation of Non-Hodgkin's Lymphomas* (NCI WF) (Vernau *et*

*al.*, 1992). De acordo com o estudo, cerca de 90% dos animais apresentaram tumores de alto grau, com diferenças consideráveis entre os tipos celulares e índices mitóticos observados entre linfomas enzoóticos e esporádicos, onde a variante clivada do linfoma difuso de grandes células com alto índice mitótico esteve altamente correlacionada à forma enzoótica da neoplasia (Vernau *et al.*, 1992). Os autores ainda especulam que a relativa baixa frequência de linfomas foliculares possa ocorrer em razão da maior indiferenciação em linfomas bovinos relacionados à infecção pelo VLEB (Vernau *et al.*, 1992).

Resultados semelhantes foram obtidos por Panziera *et al.* (2016), ao utilizar a classificação proposta pela NCI WF e a classificação da *Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms* (REAL) em 86 casos de linfomas bovinos no Brasil. Semelhantemente ao observado por Vernau *et al.* (1992), o linfoma difuso de grandes células foi o tipo neoplásico mais frequente, embora a variante clivada tenha ocorrido em apenas cerca de 37% dos casos do estudo e o grau intermediário tenha sido o predominante, em contraste com o alto grau observado no primeiro estudo (Panziera *et al.*, 2016). Neste trabalho, os critérios utilizados para a classificação NCI WF estavam restritos ao padrão de distribuição, índice mitótico, dimensão das células neoplásicas e formato do núcleo, enquanto que a classificação REAL se utilizou de caracterizações imunofenotípicas com os anticorpos anti-CD79 $\alpha$ cy e anti-CD3 (Panziera *et al.*, 2016). As Tabelas 4 e 5 representam as primeiras classificações histológicas disponíveis para linfomas em bovinos, ao passo que a Tabela 6 remonta a classificação mais atual de neoplasias linfoides aplicada a espécies animais, adaptada da Organização Mundial de Saúde (WHO).

**Tabela 4.** Sistema de classificação através da *Working Formulation (WF) of Non-Hodgkin's Lymphomas for Clinical Usage* (Adaptado de Ioachim 1994). Adaptado de Panziera *et al.*, 2016.

<b>Gradação</b>	<b>Classificação</b>
<b>Baixo Grau</b>	Difuso de pequenas células não clivadas
	Difuso de pequenas células não clivadas tipo plasmocitoide
	Difuso de pequenas células não clivadas tipo intermediário
	Folicular de pequenas células
	Folicular de pequenas e grandes células (misto)
<b>Grau Intermediário</b>	Folicular de grandes células
	Difuso de pequenas células clivadas
	Difuso de grandes células não clivadas
	Difuso de grandes células clivadas
	Difuso de pequenas e grandes células (misto)
<b>Alto Grau</b>	Imunoblástico
	Linfoblástico
	Difuso de pequenas células não clivadas

---

 Difuso de pequenas células não clivadas – tipo Burkitt
 

---

**Tabela 5.** Sistema de classificação através da Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms (REAL) (Adaptado de Valli *et al.* 2002). Adaptado de Panziera *et al.*, 2016.

<b>Origem</b>	<b>Classificação</b>
<b>Neoplasias de células B precursoras</b>	Linfoma linfoblástico de células B
<b>Neoplasias de células T precursoras</b>	Linfoma linfoblástico de células T
<b>Neoplasias de células B maduras</b>	Linfoma linfocítico crônico de células B Linfoma linfocítico de células B tipo intermediário Linfoma linfoplasmocítico Linfomas foliculares Linfoma centrofolicular (graus I, II e III) Linfoma de células do manto Linfoma da zona marginal nodal Linfoma da zona marginal esplênico Linfoma da zona marginal extranodal Linfoma de grandes células B Linfoma de células B rico em células T Linfoma imunoblástico de grandes células Linfoma difuso de grandes células B Linfoma tímico de célula B Linfoma intravascular de grandes células B Linfoma tipo Burkitt Linfoma semelhante ao tipo Burkitt Linfoma linfoplasmocítico Linfomas foliculares Linfoma centrofolicular (graus I, II e III) Linfoma de células do manto Linfoma da zona marginal nodal
<b>Neoplasias de células T maduras e de células nulas</b>	Linfoma de grandes linfócitos T granulares Linfomas cutâneos de células T Linfoma cutâneo não epiteliotrópico Linfomas cutâneos epiteliotrópicos Tipo micose fungoide/síndrome de Sézary Tipo reticulose pagetoide Linfoma extranodal de células T periféricas Tipo linfoide misto Tipo inflamatório misto Linfoma angioimunoblástico Linfoma angiotrópico Linfoma angiocêntrico Linfoma angioinvasivo Linfoma intestinal de células T Linfoma hepatoesplênico Linfoma anaplásico de grandes células T Linfoma semelhante ao de células T do adulto

---

**Tabela 6.** Sistema de classificação de neoplasias linfoides adotada pela WHO, aplicada para uso em animais. Adaptado de Valli *et al.*, 2016.

<b>Origem</b>	<b>Subtipo</b>	<b>Classificação</b>	<b>Subclassificação</b>	<b>Subclassificação</b>
<b>Neoplasias de células B</b>	<b>Neoplasias de células B precursoras</b>	Leucemia linfoblástica de células B/linfoma linfoblástico de células B		
	<b>Neoplasias de células B maduras (periféricas)</b>	Leucemia linfocítica crônica de células B/linfoma linfocítico de pequenas células B <b>Linfoma difuso de grandes células B</b>	Centroblástico Imunoblástico Anaplásico Rico em células T Granulomatose linfomatoide Graus I, II e III	
<b>Neoplasias de células T e células NK</b>	<b>Neoplasias de células T precursoras</b>	Linfoma folicular de células B <b>Linfoma de células B da zona marginal</b>	Linfoma da zona marginal nodal Linfoma da zona marginal esplênico MALT	
	<b>Neoplasias de células T maduras (periféricas)</b>	Linfoma de células do manto Linfoma de Burkitt-símile Plasmocitoma extramedular Mieloma múltiplo Leucemia linfoblástica de células T/linfoma linfoblástico de células T <b>Linfoma de células T nodal</b>	Linfoma de zona T	Linfoma de células T periférico, inespecífico Linfoma de grandes células T anaplásico Linfoma de células T angioimunoblástico

<b>Linfoma de células T associado a enteropatia (EATL)</b>	Tipo de grandes células: EATL tipo 1 Tipo de pequenas células: EATL tipo 2	
<b>Linfoma de células T extranodal</b>	Linfoma de células T hepatoesplênico Linfoma de células T hepatocitotrópico Linfoma de células T periférico, inespecífico	
<b>Linfoma cutâneo de células T</b>	Linfoma cutâneo epiteliotrópico de células T	Micose fungoide
		Reticulose pagetoide Síndrome de Sézary
	<b>Linfoma cutâneo não epiteliotrópico de células T</b>	Linfoma de células T periférico, inespecífico
		Linfoma de células T, do tipo paniculite subcutânea
<b>Leucemia linfocítica de grandes células T granulares</b>	Leucemia linfocítica de grandes células T granulares aguda Leucemia linfocítica de grandes células T granulares crônica	

---

Abreviações: MALT, tecido linfoide associado a mucosa; NK, *natural killer*; WHO, Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization*).

Um ensaio de classificação muito semelhante a esta última foi realizado por Kiser e Lohr (2017) em amostras de cabras, obtendo resultados promissores ao associar dados de distribuição topográfica/submacroscópica, imunofenotipagem e morfologia celular de acordo com o sistema de classificação da WHO para tumores hematopoiéticos do sistema hemolinfático (Valli *et al.*, 2002). Nesse mesmo trabalho, o linfoma de células T multicêntrico foi o tipo neoplásico mais frequente (11/15 = 73%), do qual o subtipo periférico/maduro



contabilizou 36% dos casos analisados no estudo (Kiser e Lohr, 2017). A referida classificação tem sido utilizada também na espécie bovina (Mello *et al.*, 2019).

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Casuística**

Os casos incluídos neste estudo restringiram-se a linfonodos de bovinos de abatedouro para consumo humano. Neste trabalho, foram utilizadas amostras oriundas da rotina diagnóstica de histopatologia do Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais (LPV/LFDA-MG), sediado no município de Pedro Leopoldo, a partir da livre demanda de profissionais do serviço oficial de inspeção. Para a etapa de estudo retrospectivo foram incluídas amostras de casos arquivados e diagnosticados entre janeiro de 2015 e setembro de 2021, enquanto que para a etapa de estudo prospectivo foram incluídas amostras de casos diagnosticados entre outubro de 2021 a setembro de 2022.

### **4.2 Aspectos éticos**

Os procedimentos realizados neste estudo foram avaliados e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais, sob o número de protocolo CEUA 222/2021 (Anexo 1).

### **4.3 Coleta de dados**

Os dados foram recuperados do arquivo do LPV/LFDA-MG dentre todos os relatórios anatomopatológicos de bovinos de abatedouro para consumo humano que continham nódulos linfóides como espécime analisado, independentemente da raça, idade ou sexo do animal. Foram considerados casos todos aqueles diagnosticados no âmbito das doenças de linfonodos por meio da histopatologia de rotina, ou por sua confirmação por meio de técnicas histoquímicas, imuno-histoquímicas e/ou moleculares. Sempre que possível e necessário, exames auxiliares foram realizados a fim de estabelecer o diagnóstico definitivo.

Durante o período de levantamento dos dados pré-existentes e aquisição de novas amostras, a identificação das peças anatomopatológicas foi realizada com base na atribuição de

um número de registro único e exclusivo para cada caso, compilando informações acerca da data de entrada no LPV, procedência (unidade federativa e município de origem da propriedade e do serviço de inspeção solicitante), sexo e idade aproximada (se disponível) de cada animal. Informações acerca dos sítios linfáticos acometidos, bem como de outros órgãos concomitantemente acometidos, foram igualmente listadas individualmente sempre que disponíveis.

Os critérios de aceitabilidade das amostras recebidas para análise obedeceram aos seguintes pontos: amostras acompanhadas de ofício de encaminhamento (ou equivalente) e formulários oficiais de encaminhamento de amostras (Anexo 2) devidamente preenchidos, assinados e carimbados pelo médico veterinário solicitante; possuir código de registro da origem e código de recebimento da recepção de amostras do LFDA; estar devidamente acomodada em recipiente hermético contendo solução fixadora. Em caso de volume insuficiente de formol, houve complementação do volume com solução de formalina neutra tamponada à 10%.

A avaliação macroscópica dos espécimes submetidos ocorreu mediante a clivagem e fotodocumentação das amostras em cabine de segurança biológica classe II B2, seguido da acomodação dos fragmentos teciduais em cassetes histológicos. Esta etapa considerou os principais aspectos da descrição macroscópica (cor, dimensões, textura, etc.) para escolha dos sítios de clivagem, conforme recomendado por Stromberg *et al.* (2019). Nesta etapa foi também indicada a localização anatômica e o número de linfonodos acometidos por sítio listado, caso especificado. Para a nomenclatura dos linfonodos, foi utilizada a denominação aplicada à linha de inspeção pelo serviço veterinário oficial de inspeção.

A avaliação microscópica contemplou o tipo de processo patológico envolvido (infeccioso, neoplásico ou reacional) e suas respectivas subclassificações (e.g. linfadenites bacterianas, fúngicas, virais, protozoárias, causas tóxicas, linfomas e hiperplasias). A caracterização pormenorizada da distribuição (focal, multifocal, multifocal a coalescente, focalmente extensa, segmentar ou difusa), intensidade (discreta/leve, moderada ou acentuada/intensa) e cronicidade (aguda, subaguda ou crônica) das lesões de cada processo, ficaram restritas à descrição das amostras e não foram incluídas no presente estudo. Nos casos em que não foi possível o diagnóstico definitivo do processo patológico principal (e.g. etiologia ou tipo neoplásico), este foi classificado como “indeterminado”, ou ainda “indiferenciado”.

Durante todo o período do estudo, os diagnósticos definitivos foram elaborados individualmente para cada amostra e os valores absolutos e relativos para cada diagnóstico foram contabilizados. Os casos foram ainda subclassificados em categorias diagnósticas amplas a fim de favorecer uma visão abrangente da problemática.

#### **4.4 Rotina de abate e coleta de amostras no Frigorífico Hiper Carnes Indústria e Comércio LTDA**

O acompanhamento da linha de abate e do Departamento de Inspeção Final (DIF) de bovinos foi realizado de maneira esporádica no Frigorífico Hiper Carnes Indústria e Comércio LTDA durante o período prospectivo do estudo, sob supervisão de veterinários do serviço oficial de inspeção, obedecendo com rigor as diretrizes da empresa e todas as normas e recomendações do serviço oficial. Foi realizado o acompanhamento da maioria das etapas do processo de inspeção junto aos veterinários do serviço oficial. Durante este período, foi também realizada a coleta e a identificação de outras cinco amostras para inclusão no estudo prospectivo.

#### **4.5 Histopatologia**

O processamento histológico ocorreu a partir de amostras previamente fixadas em solução de formalina neutra tamponada a 10%. As etapas deste processo foram realizadas no LPV/LFDA-MG, seguindo metodologia implementada no próprio serviço laboratorial, adaptada de Luna (1968).

As etapas iniciais do procedimento (desidratação, clarificação/diafanização e embebição em parafina) foram realizadas no histotécnico (processador automático de tecidos) Leica, modelo TP1020, ajustado conforme o Quadro 1.

**Quadro 1.** Processamento histológico - Desidratação, clarificação e embebição em parafina. Banhos sequenciais dos cassetes histológicos, de acordo com o reagente/solução e o tempo de imersão.

<b>Recipiente</b>	<b>Reagente/Solução</b>	<b>Tempo de imersão</b>
Copo 1	Solução de etanol 95 °GL	1:00 hora
Copo 2	Solução de etanol 95 °GL	1:00 hora
Copo 3	Etanol absoluto	1:30 horas
Copo 4	Etanol absoluto	1:30 horas
Copo 5	Etanol absoluto	1:30 horas
Copo 6	Etanol absoluto	1:30 horas
Copo 7	Etanol absoluto	1:30 horas
Copo 8	Xilol	1:00 hora
Copo 9	Xilol	1:00 hora
Copo 10	Xilol	1:00 hora
Copo 11	Parafina	1:30 horas
Copo 12	Parafina	3:00 horas

Abreviações: °GL, graus Gay Lussac.

A etapa de inclusão em parafina ocorreu com o uso de uma central modular de inclusão Leica, modelo EG 1150 H, acoplada a uma placa fria Leica, modelo EG 1150C. Nesta etapa, os fragmentos teciduais previamente aquecidos a 60-65 °C foram individualmente inseridos em moldes de aço inoxidável, os quais foram gradualmente preenchidos com parafina líquida aquecida à mesma temperatura, sendo então acomodado o verso do respectivo cassete histológico sobre o conjunto até a completa solidificação em placa fria.

Para a etapa de microtomia foram utilizadas navalhas descartáveis de alto perfil acopladas a um micrótomo rotativo semi-motorizado Leica, modelo RM2245. Os blocos parafinados previamente resfriados em placa fria foram acoplados ao micrótomo e desbastados com cortes de 15-20 µm de espessura. Em seguida, foram mantidos na placa fria ou em banho de água e gelo por cerca de 1 h antes da realização de por cortes ultrafinos de 3-5 µm com espessura.

As secções teciduais foram suspensas em banho-maria histológico Leica, modelo HI 1210, aproximadamente a 45 °C, e dispostas em lâminas de vidro para microscopia. Na sequência, as lâminas foram incubadas em estufa a 60 °C, por 60 min, respeitando o processo de secagem. Após este período, foram transferidas para a central de coloração Leica, composta pelo corador automático modelo ST 5010 e montador automático modelo CV 5030, onde foram realizadas as etapas de desparafinização, reidratação, coloração pela hematoxilina e eosina (HE)

e montagem, utilizando meio de montagem histológico não aquoso e lamínula de vidro para microscopia.

As lâminas coradas em HE foram encaminhadas para análise em microscópio óptico trinocular Zeiss, modelo Axio Lab, após secagem ao ar. A etapa de fotodocumentação ocorreu em microscópio óptico trinocular Opticam, modelo O500R, acoplado a câmera microscópica Opticam, modelo LOPT14003. A fim de contribuir com a conduta diagnóstica, técnicas histoquímicas complementares foram implementadas quando necessário, conforme preconizado por Luna (1968), incluindo as seguintes colorações especiais: *Ziehl-Neelsen* (ZN), *Gomori-Grocott* (GC), Ácido Periódico de *Schiff* (PAS) e *Goodpasture* (GP), Tricrômico de Masson (TM) e Masson Fontana (MF).

#### **4.6 Imunofenotipagem de casos suspeitos de linfoma**

O processamento imuno-histoquímico ocorreu a partir de tecidos parafinados de amostras previamente fixadas em solução de formalina neutra tamponada a 10%. As etapas deste processo foram realizadas na Unidade Laboratorial de Histopatologia e Imuno-histoquímica da Unidade Multidisciplinar de Pesquisa Animal (MULTILAB), localizado no Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária (DCCV) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG). Ao todo, 45 casos suspeitos de linfoma pela histopatologia foram analisados nesta etapa do estudo. Os referidos casos foram testados individualmente para marcadores imunofenotípicos específicos para linfócitos B e linfócitos T, conforme metodologia modificada de Mello *et al.* (2019).

O procedimento teve início com a etapa de desparafinização de secções histológicas dispostas em lâminas silanizadas (Triethoxysilane, Sigma-Aldrich®, USA). O conjunto de lâminas foi incubado em estufa a 37 °C por 24 h, seguido por incubação a 75 °C por 25 min e, então, encaminhado para imersões sequenciais em soluções de xilol e álcool, conforme detalhado no Quadro 2.

**Quadro 2.** Processamento imuno-histoquímico - Desparafinização e reidratação. Banhos sequenciais das lâminas histológicas, de acordo com o reagente/solução e o tempo de imersão.

Recipiente	Reagente/Solução	Tempo de imersão
Copo 1	Xilol	15:00 minutos
Copo 2	Xilol	15:00 minutos
Copo 3	Etanol absoluto	5:00 minutos
Copo 5	Solução de etanol 90 °GL	5:00 minutos
Copo 6	Solução de etanol 80 °GL	5:00 minutos
Copo 7	Solução de etanol 70 °GL	5:00 minutos
Copo 8	Água destilada	10:00 minutos

Abreviações: °GL, graus Gay Lussac.

A etapa de recuperação antigênica foi realizada em panela de vapor (96 °C, 60 min) com solução tampão citrato (pH 6,0). Ao término do processo, lavagens sequenciais com solução tampão fosfato-salino (PBS) foram realizadas para remover o excesso de tampão citrato. A etapa de bloqueio da peroxidase endógena ocorreu mediante uso de solução de peróxido de hidrogênio a 10% por 40 min, seguida pela a etapa de bloqueio de reações inespecíficas com o uso de leite em pó desnatado Molico<sup>®</sup>, homogeneizado em solução de PBS por 30 min, ambas realizadas em câmara úmida EasyPath<sup>®</sup>.

A incubação com o anticorpo primário se deu isoladamente para cada um dos anticorpos testados, de modo que apenas um único tipo de anticorpo primário fosse aplicado por secção histológica da amostra testada. A reação ocorreu com o uso de anticorpos anti-CD79a (RA0071-C.5, clone JCB117 e HM47/A9; ScyTek<sup>®</sup>; 1:300) para linfócitos B e anti-CD3 (C7930; Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, 1:1000) para linfócitos T, incubados separadamente por período *overnight* (18 h) à 4 °C.

A amplificação da reação foi realizada com o polímero comercial EnVision<sup>™</sup> Flex/HRP (K800221-2, Dako<sup>®</sup>), conforme recomendado pelo fabricante (incubação em câmara úmida por 1 h). Ao término do processo, lavagens sequenciais com solução de PBS foram realizadas para remover o excesso de polímero.

A visualização da imunorreação foi realizada através do cromógeno DAB (3'-diaminobenzininda) (ACB, ScyTek<sup>®</sup>), conforme instruções de uso do fabricante (incubação em câmara úmida por 10 min), seguido por lavagem em água destilada por 10 min.

Para a etapa de contracoloração, foi utilizada Hematoxilina de Harris por 25 segundos, seguido por lavagem em água corrente por 10 min. O conjunto de lâminas foi encaminhado

para imersões sequenciais em soluções de álcool e xilol, conforme detalhado no Quadro 3, seguido por montagem com meio de montagem histológico não aquoso e lamínula de vidro para microscopia.

**Quadro 3.** Processamento imuno-histoquímico – Desidratação e imersão em xilol. Banhos sequenciais das lâminas histológicas, de acordo com o reagente/solução e o tempo de imersão.

Recipiente	Reagente/Solução	Tempo de imersão
Copo 1	Solução de etanol 70 °GL	5:00 minutos
Copo 2	Solução de etanol 80 °GL	5:00 minutos
Copo 3	Solução de etanol 90 °GL	5:00 minutos
Copo 5	Etanol absoluto	5:00 minutos
Copo 6	Etanol absoluto	5:00 minutos
Copo 7	Xilol	10:00 minutos
Copo 8	Xilol	10:00 minutos

Abreviações: °GL, graus Gay Lussac.

Secções histológicas de linfonodos de bovinos hígidos obtidos em abatedouro foram utilizadas como controle positivo. Secções adicionais destas mesmas amostras desprovidas de anticorpo primário serviram de controle negativo.

Durante a avaliação imuno-histoquímica, as amostras testadas para ambos os marcadores foram classificadas como reagente (positiva ou negativa) e não reagente, quando associada à ausência de marcação para as células neoplásicas do processo principal e para linfócitos B ou T residentes no sítio linfático, não sendo possível determinar a real positividade ou negatividade da amostra para qualquer um dos imunomarcadores.

#### **4.7 Classificação de linfomas com base nos critérios atualizados da WHO adaptados para uso em espécies animais específicas**

Secções histológicas coradas pela hematoxilina e eosina (HE) foram avaliadas quanto à morfologia celular. Um total de 30 casos de linfoma previamente confirmados pela histologia e imunofenotipagem foram classificados com base na topografia, distribuição celular, morfologia celular e índice mitótico, seguindo os critérios da WHO adaptados para uso em espécies animais (Valli *et al.*, 2016) e com base na metodologia de Kiser e Lohr (2017) com mínimas variações. A distribuição foi classificada como difusa ou nodular.



A fim de estabelecer uma classificação proporcional do tamanho nuclear com base no padronizado para cães, um tamanho nuclear ajustado foi determinado pela multiplicação do diâmetro relativo das hemácias por 1,4 para cada uma das categorias utilizadas para cães (pequeno, <1,5 hemácias; intermediário, 1,5-2 hemácias; grande, >2 hemácias) e usados subsequentemente da seguinte forma: pequeno (<2 hemácias), intermediário (2–3 hemácias) e grande (>3 hemácias), uma vez que hemácias bovinas correspondem a aproximadamente 0,7 vezes o tamanho (aproximadamente 5 µm em diâmetro) (Adili *et al.*, 2014) das encontradas em cães (7,01 µm) (Valli *et al.*, 2002). A morfologia nuclear foi estabelecida pela forma (redonda ou oval) e por características secundárias, como presença de endentações ou contorno irregular. O padrão de cromatina foi descrito como denso, esparsa, grosseira ou focalmente agregada, enquanto que o padrão nucleolar foi avaliado quanto ao número e distribuição (único, central – padrão imunoblástico; múltiplos, periféricos – padrão centroblastico).

A contagem mitótica foi acessada através do somatório das figuras mitóticas observadas em 10 campos de áreas aleatórias representativas da neoplasia, considerando o diâmetro do campo de 0,55 mm e a área de visualização do campo de 0,237 mm<sup>2</sup>, na magnificação de 400×, realizada em microscópio óptico trinocular Opticam, modelo O500R, seguindo a padronização recomendada por Meuten *et al.* (2016). A taxa mitótica foi atribuída separadamente a partir da média das contagens mitóticas em áreas que continham o maior número de figuras mitóticas, sendo continuada até que a mesma contagem mitótica por campo de 400× fosse observada em um mínimo de três áreas diferentes, conforme a metodologia de Valli *et al.* (2013). Desse modo, a taxa mitótica foi categorizada como baixa (0–5 mitoses/campo de 400×), média (6–10 mitoses/campo de 400×), e alta (>10 mitoses/campo de 400×). A quantidade de citoplasma foi categorizada como abundante, moderada ou escassa.

#### **4.8 Extração de DNA a partir de tecidos não fixados congelados**

Um total de 36 amostras de casos confirmados ou suspeitos de linfadenite granulomatosa por tuberculose e outras sete amostras de casos de linfoma confirmados histologicamente foram submetidas ao processo de extração de DNA a partir de linfonodos não fixados congelados. Todos os procedimentos foram realizados no Laboratório de Diagnóstico das Doenças Virais (LDDV) do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais (LDDV/LFDA-MG) e no Laboratório de Diagnóstico de Doenças Bacterianas (DDB) do

Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais (DDB/LFDA-MG), com o kit Maxwell® 16 Tissue DNA Purification Kit (Promega, USA), conforme determinado pelo fabricante. Os microtubos contendo o material genético extraído foram conservados congelados (-20 °C) até a realização do exame molecular de qPCR.

#### **4.9 Extração de DNA a partir de tecidos incluídos em parafina**

Um total de 36 amostras de casos confirmados ou suspeitos de linfadenite granulomatosa por tuberculose e outras 30 amostras de casos de linfoma confirmados histologicamente foram submetidas ao processo de extração de DNA a partir de material previamente fixado em formalina e embebido em parafina (FFPE - *formalin fixed paraffin embedded*). As etapas deste processo ocorreram na Unidade Laboratorial de Biotecnologia da Unidade Multidisciplinar de Pesquisa Animal (MULTILAB) no Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária (DCCV) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFGM). Para cada bloco/amostra, foram obtidas 25 secções teciduais de 5 µm de espessura, cada, as quais foram depositadas em microtubos livres de DNase/RNase e conservadas em temperatura ambiente até a realização do exame molecular de qPCR. As etapas subsequentes foram realizadas com o kit QIAamp® DNA FFPE Tissue (QIAGEN, USA), conforme especificado pelo fabricante.

#### **4.10 qPCR para a identificação do retrovírus da leucose enzoótica bovina (LEB)**

Os ensaios de qPCR para o VLEB ocorreram com base na metodologia proposta por Júnior *et al.* (2021). Todos os testes foram realizados no LDDV/LFDA-MG, com o kit Taqman® Fast Advanced Master Mix (Thermo Fisher Scientific, USA), conforme determinado pelo fabricante. A fim de atestar a integridade das amostras e a qualidade da extração de DNA a partir de tecidos parafinados, ensaios adicionais de qPCR para o gene da região codificadora para actina Beta (ACTB) bovina foram realizados segundo a metodologia de Bielanski *et al.* (2009). As sequências iniciadoras (primers) para os genes “LTR”, “env” e ACTB obedeceram a concentração de 0,6 µM, enquanto que as sondas foram utilizadas a uma concentração de 0,3 µM. O termociclador foi programado para 95 °C por 20 s, seguido por 45 ciclos a 95 °C por 10

s, e 60 °C por 60 s, utilizando um termociclador LC480 (Roche, USA). Detalhes sobre as seqüências de primers e sondas utilizadas nesta etapa estão contidas na Tabela 7.

**Tabela 7.** Sequências iniciadoras e sondas utilizadas para os ensaios de qPCR de VLEB.

Oligonucleotídeo	Sequência	Tamanho do produto amplificado em pares de base (pb)	Referência
BLV.LTR.114.F	GCC CCG TAA ACC AGA CAG	114	Júnior <i>et al.</i> (2021)
BLV.LTR.114.R	CTC AGG GTG TGG ATT TCT CG		
BLV.LTR.114.S	FAM-TA CCT CCC C/ZEN/A ACT TCC CCT TTC C-IABkFQ		
BLV.env.105.F	TTAATGTAGCCGTGTCTGCC	105	Júnior <i>et al.</i> (2021)
BLV.env.105.R	AGTGGGTCTGGTTAATTGCTG		
BLV.env.105.S	FAM- ACGTGGATCAGGGAGGTGAGTCT- BHQ 1		
ACTIN-Taq-F	AACCAGTTCGCCATGGAT	58	Bielasni <i>et al.</i> (2008)
ACTIN-Taq-R	TGCCGGAGCCGTTGT		
ACTIN-Taq-S	56-FAM/TGATATTGCTGCGCTC GTGGTC/3BHQ_1		

Abreviações: qPCR, Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real; VLEB, retrovírus da leucose enzoótica bovina.

Em acordo com a metodologia de Júnior *et al.* (2021) para qPCR de tecidos não fixados congelados, amostras com CT (*Cycle Threshold*) altos (>37) para as PCR's dos genes LTR e ENV foram interpretadas como negativas para o VLEB, ao passo que resultados abaixo deste valor foram considerados positivos. As amostras testadas para ACTB tiveram o mesmo ponto de corte e implicações de interpretação. Amostras de tecidos não fixados de bovinos testadamente positivas para VLEB foram utilizadas como controle positivo, enquanto que o mix de PCR sem aplicação de qualquer amostra foi utilizado como controle negativo.

#### 4.11 qPCR para a identificação de *Mycobacterium* spp.

Os ensaios de qPCR para bactérias do complexo *M. tuberculosis* (TUB1081) ocorreram com base na metodologia proposta por Sales *et al.* (2014), tendo como alvo o elemento de inserção IS1081, enquanto que as reações de qPCR para a espécie *M. bovis* (TUB 88) basearam-se na metodologia de Moura *et al.* (2016), direcionada para a região de diferença 4 (RD4) do

genoma da bactéria. Todos os testes foram realizados no DDB/LFDA-MG, com o kit GoTaq® Probe qPCR (Promega, USA), conforme determinado pelo fabricante. A fim de atestar a integridade das amostras e a qualidade da extração de DNA a partir de tecidos parafinados, ensaios adicionais de qPCR para o gene da região codificadora para ACTB foram realizados conforme Bielanski *et al.* (2009). As sequências iniciadoras (primers) e sondas obedeceram às respectivas concentrações de 600 nM e 500 nM para o gene “IS1081”; 600 nM e 500 nM para o gene “RD4” e 0,6 µM e 0,3 µM para o gene actina Beta. O termociclador foi programado para 95 °C por 120 s, seguido por 50 ciclos a 95 °C por 15 s, e 60 °C por 60 s, utilizando um termociclador Light Cycler 480 (Roche, USA). Detalhes sobre as sequências de primers e sondas utilizadas nesta etapa estão representados na Tabela 8.

**Tabela 8.** Sequências iniciadoras e sondas utilizadas para os ensaios de qPCR de *Mycobacterium* spp.

Oligonucleotídeo	Sequência	Tamanho do produto amplificado em pares de base (pb)	Referência
Mbo.IS1081.124.F	TTAATGTAGCCGTGTCTGCC	124	Sales <i>et al.</i> (2014)
Mbo.IS1081.124.R	AGTGGGTCTGGTTAATTGCTG		
Mbo.IS1081.124.S	FAM-ACGTGGATCAGGGAGGTGAGTCT-BHQ 1		
Mbo.RD4.88.F	5'CGCCTTCCTAACCAGAATTG3'	88	Moura <i>et al.</i> (2016)
Mbo.RD4.88.R	5'GGAGAGCGCCGTTGTAGG3'		
Mbo.RD4.88.S	5'.FAM-AGCCGTAGTCGTGCAGAAGCGCA-BHQ1.3'		
ACTIN-Taq-F	AACCAGTTCGCCATGGAT	58	Bielanski <i>et al.</i> (2008)
ACTIN-Taq-R	TGCCGGAGCCGTTGT		
ACTIN-Taq-S	56-FAM/TGATATTGCTGCGCTC GTGGTC/3BHQ_1		

Abreviações: qPCR, Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real.

Em acordo com a metodologia de LFDA (2022) para qPCR de tecidos não fixados, amostras com CT (*Cycle Threshold*) altos (>40) para as PCR's dos genes IS1081 e RD4 foram interpretadas como negativas para o *Mycobacterium* sp., ao passo que resultados abaixo deste valor foram considerados positivos. As amostras testadas para ACTB tiveram o ponto de corte de 37 com as mesmas implicações de interpretação. Amostras de tecidos não fixados de bovinos previamente recebidas pela rotina laboratorial e que apresentaram resultados positivos para

VLEB foram utilizadas como controle positivo, enquanto que o mix de PCR sem aplicação de qualquer amostra de DNA foi utilizado como controle negativo.

#### **4.12 Quantificação de DNA por espectrofotometria**

O DNA das amostras submetidas aos testes moleculares foi individualmente quantificado no DDB/LFDA-MG, por meio do NanoVue™ (General Electric Company, USA). O espectrofotômetro indicou a razão entre a absorvância dos ácidos nucleicos e a absorvância das proteínas (A260/280) para cada uma das amostras, onde valores acima de “1,7” foram considerados satisfatórios, conforme recomendado pelo fabricante. O espectrofotômetro indicou ainda a concentração absoluta dos ácidos nucleicos em  $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  a partir da seguinte fórmula: Concentração ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) = (mensuração à A260 – mensuração à A320) x fator de conversão de ácido nucleio (50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) x fator de diluição, conforme recomendado pelo fabricante.

#### **4.13 Isolamento bacteriano em amostras de casos suspeitos de tuberculose**

Um total de 36 amostras de casos confirmados ou suspeitos de linfadenite granulomatosa por tuberculose foram submetidas à técnica de isolamento bacteriano para bactérias do gênero *Mycobacterium*, conforme metodologia utilizada pelo DDB (Issa *et al*, 2017).

#### **4.14 Perfis de abate, diagnóstico e distribuição geográfica das principais doenças de acordo com o SIGSIF**

A fim de esboçar o perfil de abates de bovinos em todo o Brasil durante o período do estudo (janeiro de 2015 a setembro de 2022), bem como o perfil de diagnóstico e a distribuição geográfica das principais doenças aqui estudadas (tuberculose e leucose enzoótica bovina), foi realizada uma busca no portal de dados da Plataforma de Gestão Agropecuária do Sistema de

Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal (PGA-SIGSIF), contemplando informações relacionadas a estas doenças e ao período do estudo nos relatórios de Condenação de Animais por Espécie e Quantitativo de Doenças por Procedência, disponíveis na plataforma oficial do MAPA [[www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)] (Brasil, 2022a).

#### **4.15 Análise dos resultados**

Dados pertinentes à identificação das amostras (número de identificação, data de recebimento, local de origem da propriedade e do serviço de inspeção responsável pela remessa do material, sexo, idade, sítio linfático afetado, órgãos concomitantemente acometidos, suspeita macroscópica, etc.), diagnóstico etiológico, diagnóstico definitivo e etiologia foram compilados em planilhas do Excel (Microsoft Office®). Para fins de didáticos, as amostras foram subclassificadas em grupos diagnósticos, com base na casuística e proximidade etiológica entre os diagnósticos ou relativa importância ao estudo, e consistiram nas seguintes possibilidades: actinogranuloma; linfadenite idiopática; tuberculose; linfoma de células B; neoplasia; outros.

Esse procedimento favoreceu a contabilização absoluta e relativa dos diagnósticos e a determinação de porcentagens para cada grupo etiológico, estabelecendo as causas mais frequentes de acometimento linfático, salientando os locais de ocorrência por região geográfica e os principais tipos de linfonodos acometidos durante todo o estudo (retrospectivo e prospectivo). Após a compilação desses elementos foi realizada a análise descritiva dos dados gerados. Para tanto, as análises de padrão temporal para avaliação do recebimento de amostras foram realizadas a partir do software Visplote Professional®, por meio de gráficos de comparação. Mapas temáticos foram elaborados a partir do software Arcgis versão 10.3 para a identificação geográfica das propriedades de origem ou dos serviços de inspeção remetentes com base nos diagnósticos obtidos. As análises de correspondência múltipla consistiram de representações multivariadas da interdependência dos dados e foram conduzidas no software R versão 4.3.0 por meio de gráficos do tipo Biplot, utilizadas para correlacionar os sítios linfáticos acometidos e seus respectivos diagnósticos, órgãos concomitantemente acometidos ou suspeitas macroscópicas, sendo exclusivamente aplicadas a casos confirmados de tuberculose e leucose. Ensaios de sensibilidade e especificidade foram também empregados a fim de correlacionar a suspeitas macroscópicas com os diagnósticos definitivos para tuberculose e leucose, separadamente, da mesma forma que para comparar resultados dos exames

complementares com o isolamento bacteriano em casos suspeitos para tuberculose testados em conjunto. A análise do coeficiente kappa de Cohen (k) foi conduzida para avaliar a concordância entre as técnicas avaliadas com base nos ensaios de sensibilidade e especificidade através do software Minitab<sup>®</sup> versão 21.3, respeitando o intervalo de confiança de 95%. Os resultados das análises foram categorizados em seis categorias baseado nos valores de kappa: concordância inexistente ( $k \leq 0$ ), discreta ( $0,01 < k \leq 0,20$ ), fraca ( $0,21 < k \leq 0,40$ ), moderada ( $0,41 < k \leq 0,60$ ), forte ( $0,61 < k \leq 0,80$ ), e muito forte ( $0,81 < k \leq 1,00$ ). A análise de proporções entre animais de sexos diferentes foi realizada de forma descritiva.

Mapas de calor foram elaborados através do software Minitab versão 21 a partir das informações retiradas da plataforma do SIGSIF e incluíram as seguintes análises: média do total de abates bovinos por mês e ano; diagnósticos de tuberculose por região e ano; diagnósticos de leucose enzoótica por região e ano. Todos os gráficos desta análise foram gerados por meio do software Minitab versão 21 e incluíram informações restritas ao período do estudo (janeiro de 2015 a setembro de 2022, ou valores aproximados, conforme disponibilidade da informação), limitando-se aos serviços de inspeção federal.

#### **4.16 Locais de execução das atividades**

- Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais (LPV/LFDA-MG):
  - Levantamento de achados anatomopatológicos de linfonodos obtidos de bovinos de abatedouro com base nos dados da rotina diagnóstica do laboratório;
  - Recebimento, triagem e identificação das amostras obtidas de abatedouros;
  - Processamento histopatológico e histoquímico complementar das amostras compreendidas no estudo;
  - Leitura e análise de lâminas histopatológicas.
- Frigorífico Hipercarnes Indústria e Comércio LTDA
  - Acompanhamento da linha de abate e do Departamento de Inspeção Final (DIF) de bovinos;
  - Colheita e identificação de amostras para a etapa de estudo prospectivo.

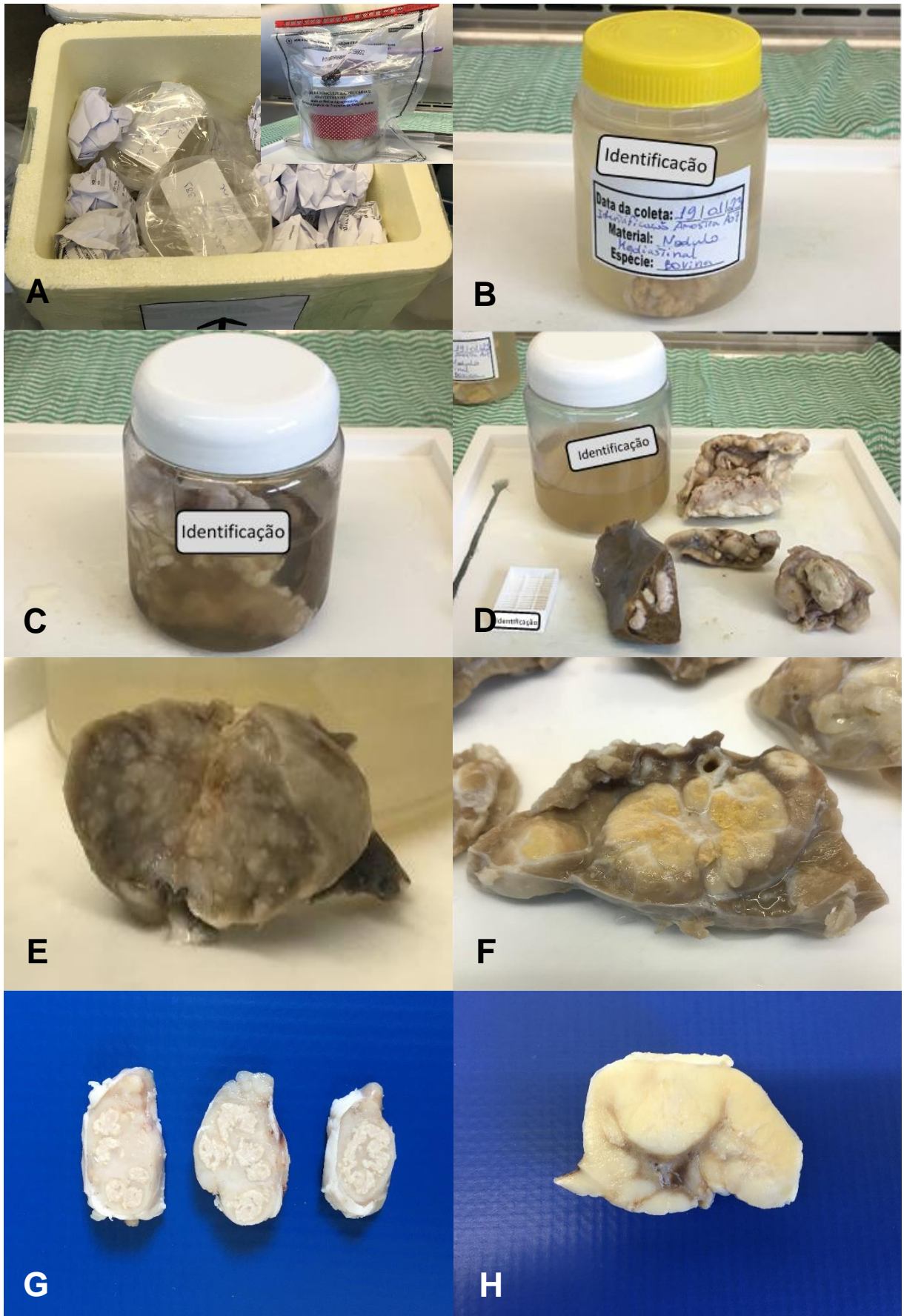
- Laboratório de Diagnóstico das Doenças Virais (LDDV) do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais (LDDV/LFDA-MG):
  - Extração de DNA de tecidos congelados e qPCR de amostras não fixadas ou FFPE, submetidas para a rotina diagnóstica do LDDV/LFDA-MG com suspeita de LEB.
- Laboratório de Diagnóstico de Doenças Bacterianas (DDB) do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais (DDB/LFDA-MG):
  - Extração de DNA de tecidos congelados e qPCR de amostras não fixadas ou FFPE, submetidas à rotina diagnóstica do DDB/LFDA-MG com suspeita de TB.
- Unidade Laboratorial de Histopatologia e Imuno-histoquímica da Unidade Multidisciplinar de Pesquisa Animal (MULTILAB) no Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária (DCCV) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG):
  - Imuno-histoquímica de amostras com suspeita de LEB.
- Unidade Laboratorial de Biotecnologia do MULTILAB no DCCV da EV-UFMG:
  - Extração de DNA a partir de amostras FFPE.



## 5. RESULTADOS

### 5.1 Quantitativo de amostras e análises de padrão temporal

Um total de 2.000 amostras foram obtidas ao término do período do estudo (janeiro de 2015 a setembro de 2022). A Figura 11 exemplifica algumas das etapas do processo de recebimento e clivagem de amostras. Os números absolutos e relativos do total de amostras por ano estão dispostos na Tabela 9. O total de amostras recebidas foi também contabilizado e comparado entre os anos (Figura 12) e os meses (Figura 13) do estudo, demonstrando que o ano de 2020 (29%, 586/2.000) foi o ano de maior recebimento de amostras, e os meses de julho ( $\bar{x} = 60,5$ ) e novembro ( $\bar{x} = 58$ ) foram os meses mais representativos em termos de média total mensal entre diferentes anos. Em vista da grande instabilidade no recebimento de amostras dentro do período de 2015-2018, as análises comparativas desses anos e meses não foram incluídas na representação gráfica das Figuras 12 e 13.



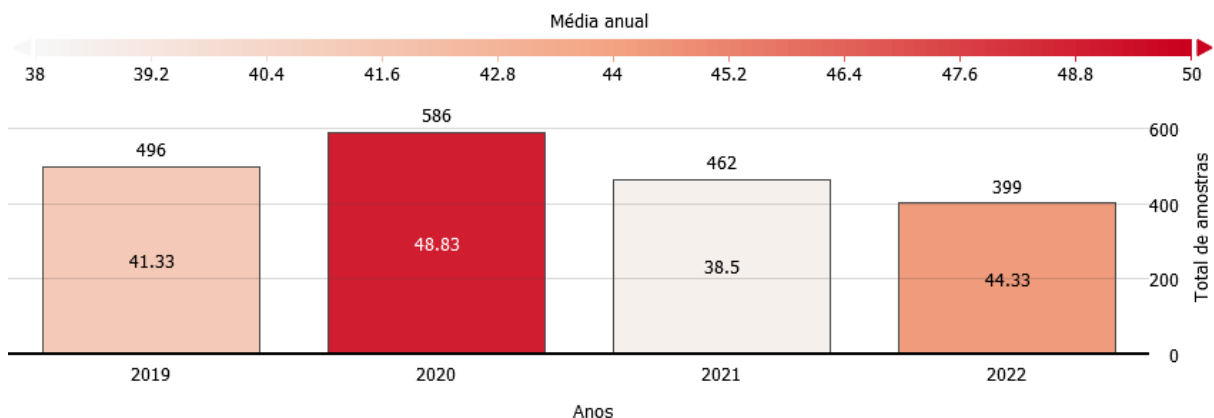
**Figura 11.** Etapas da conferência e clivagem de amostras no LPV-LFDA/MG. **A.** Caixa de isopor contendo amostras devidamente identificadas, enviadas por veterinário do Serviço de Inspeção Oficial.

Detalhe: Sacola plástica propriamente identificada, com lacre do Serviço Oficial. **B.** Frasco plástico devidamente identificado e hermeticamente fechado, contendo amostra de linfonodo em solução de formalina à 10%. **C.** Amostras inapropriadamente acomodadas em frasco plástico. Notar quantidade insuficiente de solução fixadora dada à relativa repleção do recipiente por amostras teciduais. **D.** Fragmentos teciduais de amostra descrita em “C”, com destaque para o volume residual de solução fixadora no frasco plástico. **E.** Superfície de corte de linfonodo bovino em caso de actinomicose, linfadenite granulomatosa. **F.** Superfície de corte de pulmão bovino em caso de adenocarcinoma pulmonar metastático. **G.** Secções longitudinais de linfonodo traqueobrônquico em caso de tuberculose, linfadenite granulomatosa. Notar completa subversão da arquitetura linfoide com evidência de múltiplos focos coalescentes de necrose caseosa e mineralização. **H.** Secção longitudinal de linfonodo mediastinal em caso de leucose enzoótica, linfoma de células B. Notar distorção da arquitetura linfoide por lesão tumoral branca, expansiva e não encapsulada.

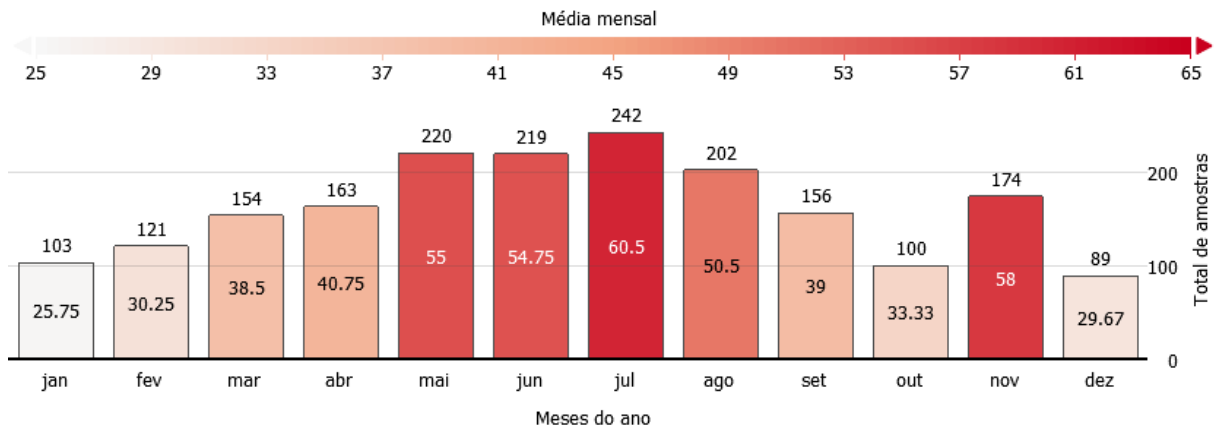
**Tabela 9.** Amostras de linfonodos recebidas durante o período do estudo (janeiro de 2015 a setembro de 2022).

Ano de recebimento	Frequências	
	N	%
2015	14	0,7
2016	24	1,2
2017	1	0,05
2018	18	0,9
2019	496	24,8
2020	586	29,3
2021	462	23,1
2022	399	19,9
<b>Total</b>	<b>2.000</b>	<b>100%</b>

Abreviações: n, frequência absoluta; %, frequência relativa.



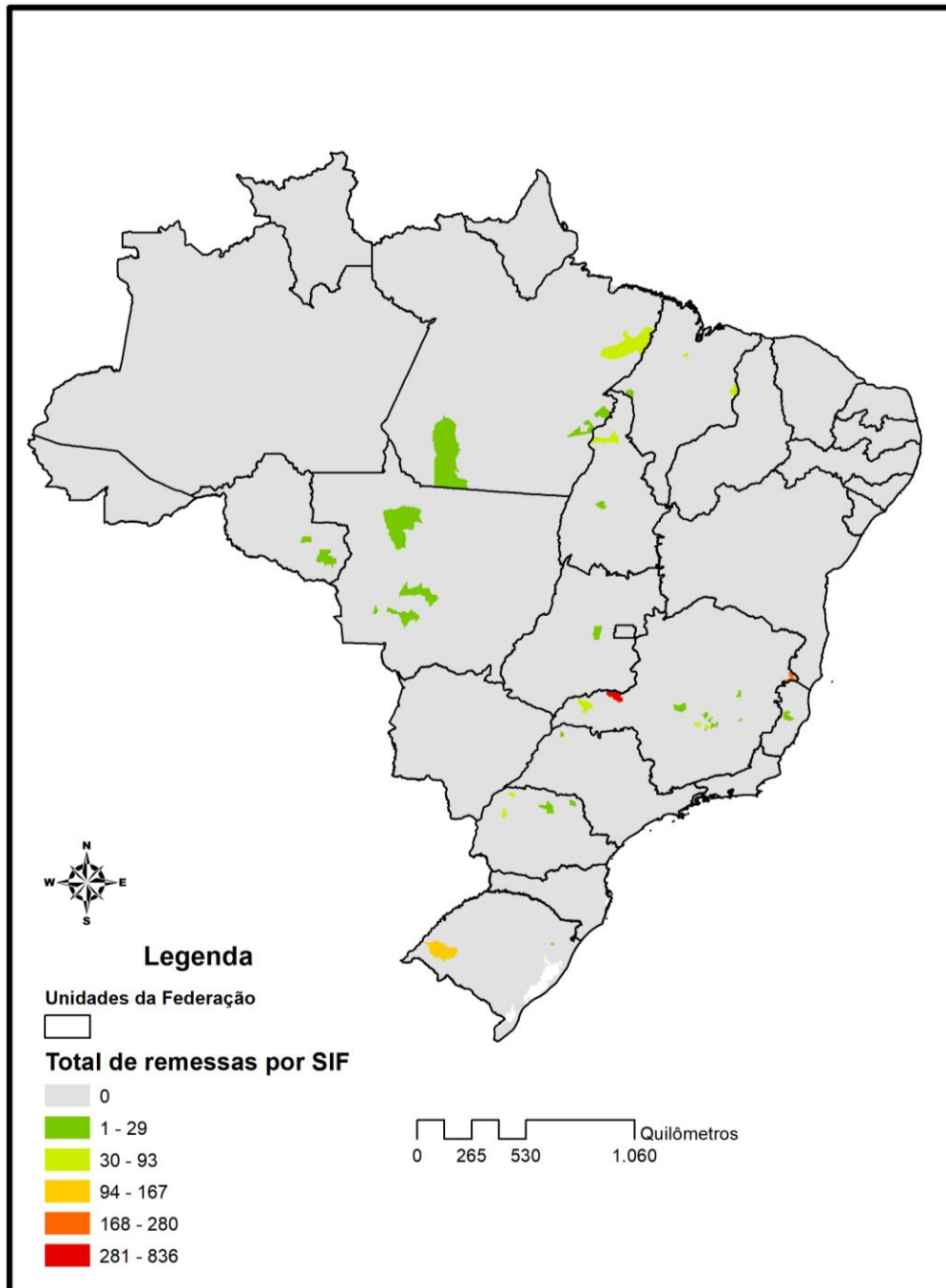
**Figura 12.** Análise de padrão temporal do total de amostras recebidas por ano (janeiro de 2019 a setembro de 2022). Os valores acima das barras correspondem aos números absolutos de amostras recebidas durante o ano, enquanto que os valores dentro das barras correspondem às médias mensais por ano.



**Figura 13.** Análise de padrão temporal do total de amostras recebidas por mês (janeiro de 2019 a setembro de 2022). Os valores acima das barras correspondem aos números absolutos de amostras, enquanto que os valores dentro das barras correspondem às médias do recebimento mensal.

## 5.2 Distribuição geográfica espacial de origem das amostras e dos casos de tuberculose e leucose enzoótica

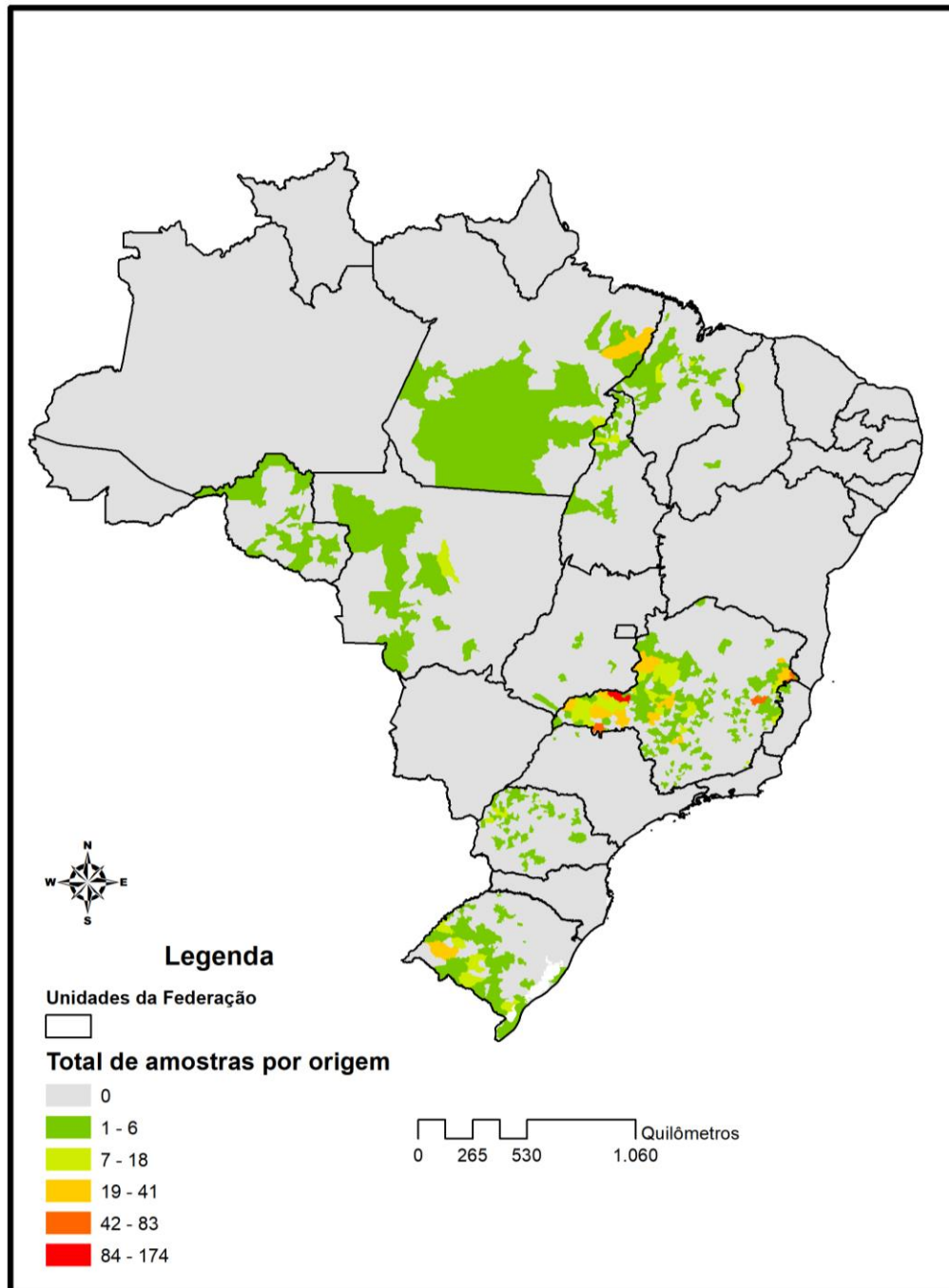
Dados acerca das localidades dos serviços de inspeção remetentes foram representados por mapas temáticos, a fim de determinar os principais SIFs remetentes em todo o Brasil (Figura 14), sendo demonstrado que os serviços de inspeção localizados nos municípios de Araguari e Nanuque foram os de maior contribuição para a casuística no estado de Minas Gerais, ao passo que o município de Alegrete foi o de maior importância na região Sul do Brasil. Ao todo, 37 SIFs contribuíram para a casuística do presente estudo. Em 2,1% (43/2.000) das amostras não havia informação acerca do município de origem do serviço de inspeção remetente.



**Figura 14.** Mapa temático para identificação dos municípios de origem dos SIFs remetentes.

O mapa acima foi construído para visualizar os locais de origem das propriedades (Figura 15), onde ficou claro a importância das regiões Sul e Sudeste para a casuística deste estudo, com escassa participação dos estados do Norte e Nordeste, atendo-se principalmente aos estados do Pará e Maranhão, respectivamente. As 2.000 amostras deste trabalho foram oriundas de um total de 12 estados e 428 municípios. Ao todo, o estado de Minas Gerais foi responsável por 68,5% das remessas de amostras, seguido pelos estados do Rio Grande do Sul

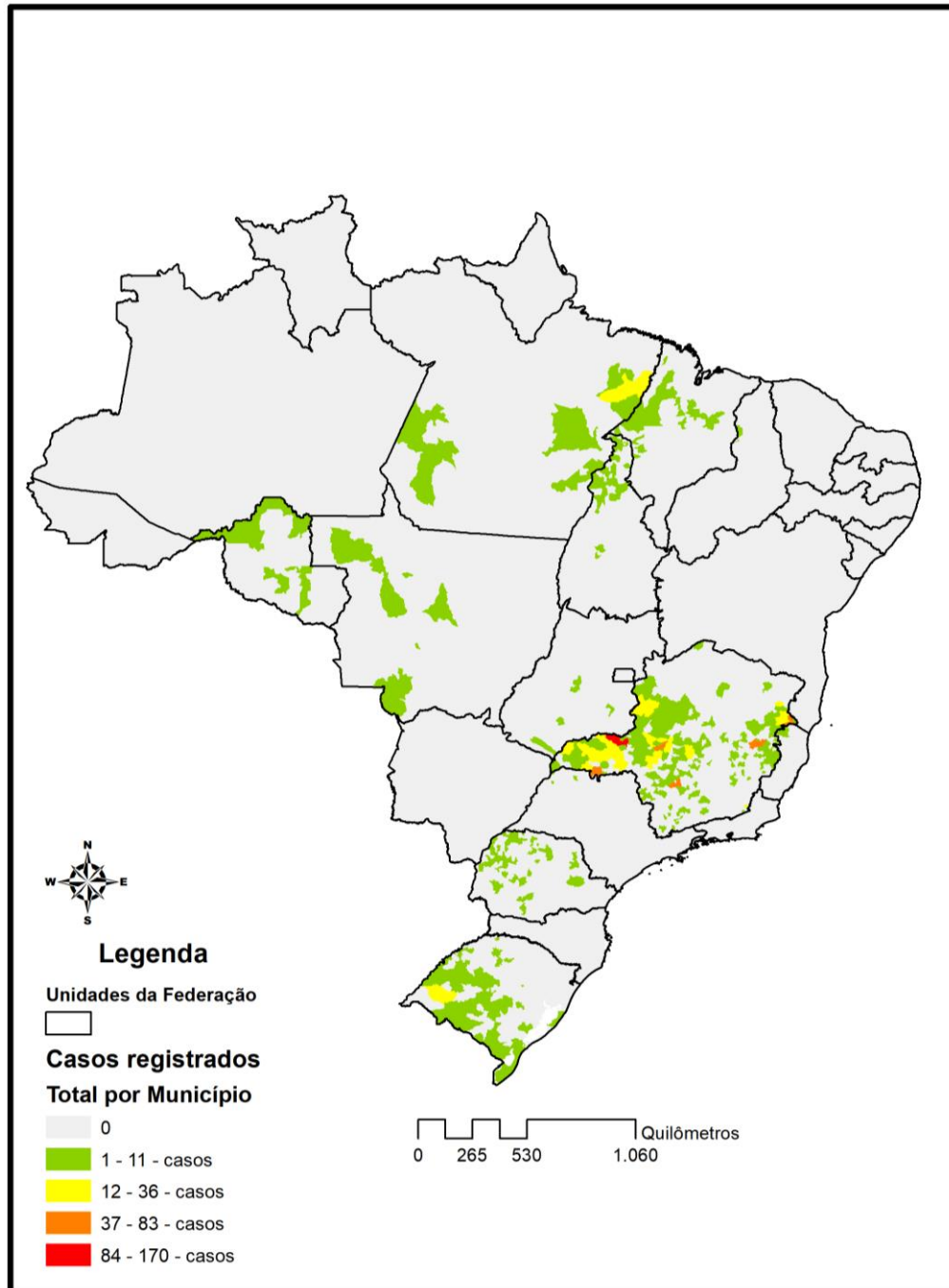
(8,6%), Paraná (7,4%), Maranhão (5%), Pará (3,5%), Mato Grosso (2,3%), Tocantins (2,2%), Rondônia (1,2%), Piauí (0,4%), Goiás (0,2%), São Paulo (0,2%) e Espírito Santo (0,05%).



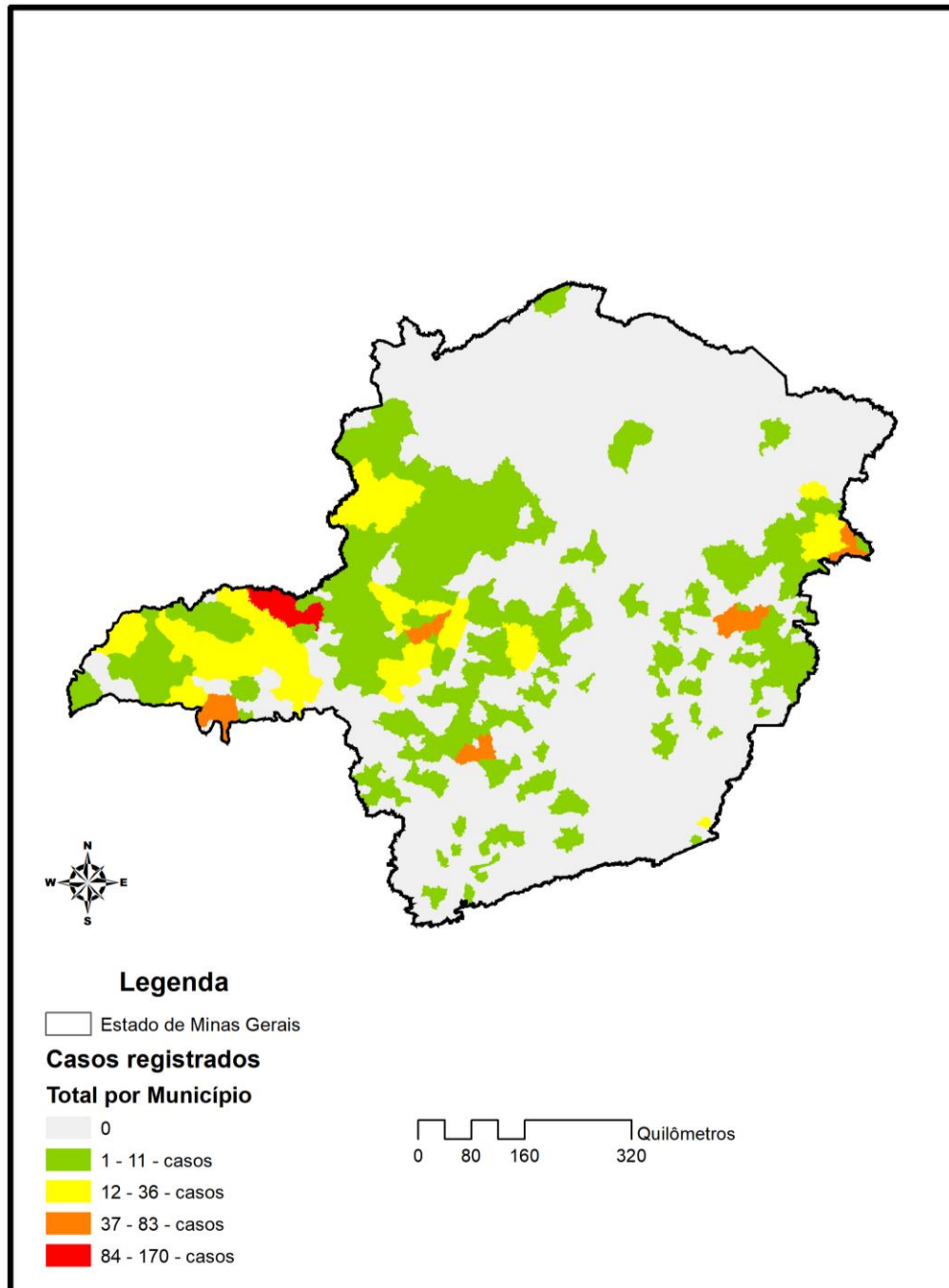
**Figura 15.** Mapa temático para identificação dos municípios de origem das propriedades remetentes.

Os casos registados de tuberculose e os respectivos locais de origem das propriedades desses animais foram representados pelas Figuras 16 e 17, onde foi constatado que os municípios de Araguari e Estrela do Sul foram os mais representativos para o diagnóstico da

doença em Minas Gerais, ao passo que o município de Alegrete foi o mais frequente para o estado do Rio Grande do Sul.



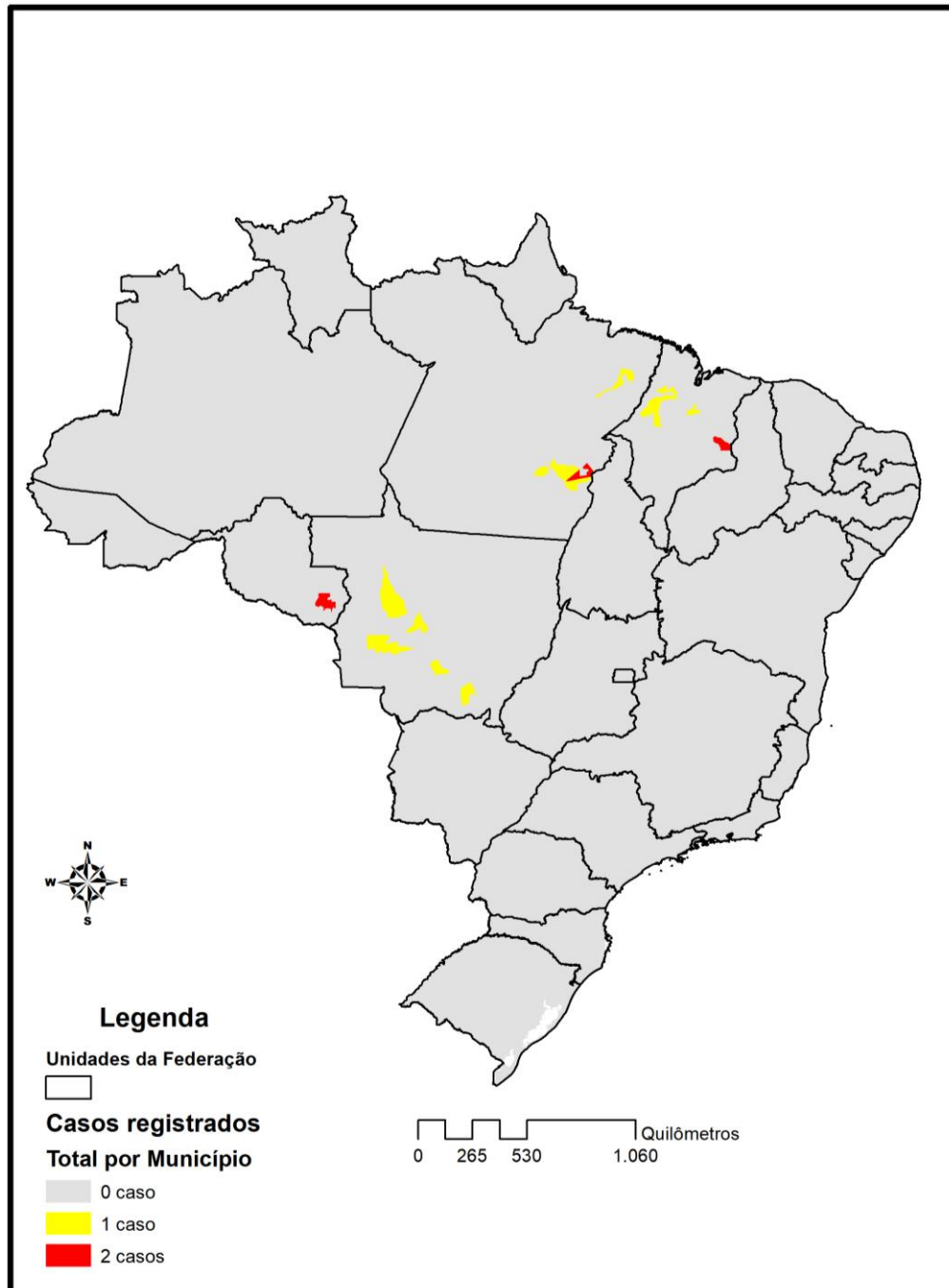
**Figura 16.** Mapa temático para identificação dos municípios de origem das propriedades remetentes quanto aos casos registrados de tuberculose no Brasil.



**Figura 17.** Mapa temático para identificação dos municípios de origem das propriedades remetentes quanto aos casos registrados de tuberculose no estado de Minas Gerais.

Os casos registrados de LEB (linfoma de células B) e os respectivos locais de origem das propriedades das quais os animais partiram foram representados pela Figura 18, que apontou casos da doença concentrados em estados da região Norte, Nordeste e Centro-Oeste. Não houve confirmação laboratorial de casos de leucose/linfoma de células B em animais oriundos do estado de Minas Gerais durante o período do estudo.



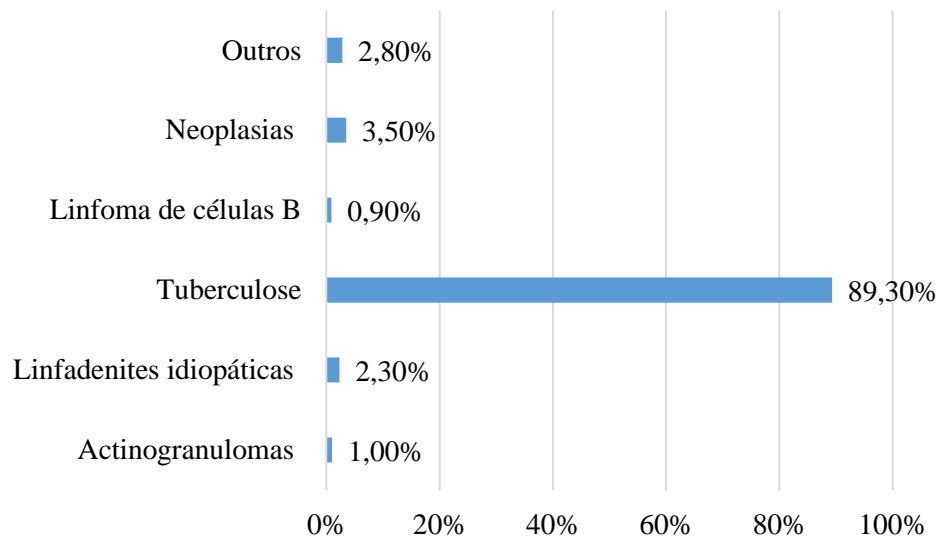


**Figura 18.** Mapa temático para identificação dos municípios de origem das propriedades remetentes quanto aos casos registrados de leucose enzoótica.

### 5.3 Análise das causas de acometimento linfático

As causas de acometimento linfático foram listadas na Figura 19, onde o diagnóstico de tuberculose representou 89,3% (1.786/2.000) do total de diagnósticos, seguido pelo grupo das neoplasias (3,5%, 71/2.000), linfadenites idiopáticas (2,3%, 47/2.000), actinogranulomas (1%,

21/2.000) e linfomas de células B (0,9%, 18/2.000), aqui explorado separadamente dos demais tipos neoplásicos. Outras causas de linfadenopatias foram contabilizadas à parte, representando 2,8% (57/2.000) dos casos registrados. A subclassificação de cada grupo diagnóstico está contida na Tabela 10.



**Figura 19.** Causas de alterações em linfonodos em bovinos de abatedouro com inspeção Federal durante o período do estudo.

**Tabela 10.** Grupos diagnósticos e suas respectivas subclassificações de amostras de linfonodos de bovinos de abatedouro com inspeção Federal obtidos durante o período do estudo.

	Subclassificação	Frequência		
		n	% (grupo)	% (total)
Actinogranulomas	Linfadenite piogranulomatosa (actinobacilose)	13	61,9	0,6
	Linfadenite piogranulomatosa (actinomicose)	8	38	0,4
	<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>100</b>	<b>1</b>
Linfadenite idiopática	Linfadenite histiocitária idiopática	1	2,1	0,05
	Linfadenite neutrofílica e histiocitária idiopática	4	8,5	0,2
	Linfadenite granulomatosa idiopática	40	85,1	2
	Linfadenite supurativa bacteriana inespecífica	2	4,2	0,1
	<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>100</b>	<b>2,3</b>

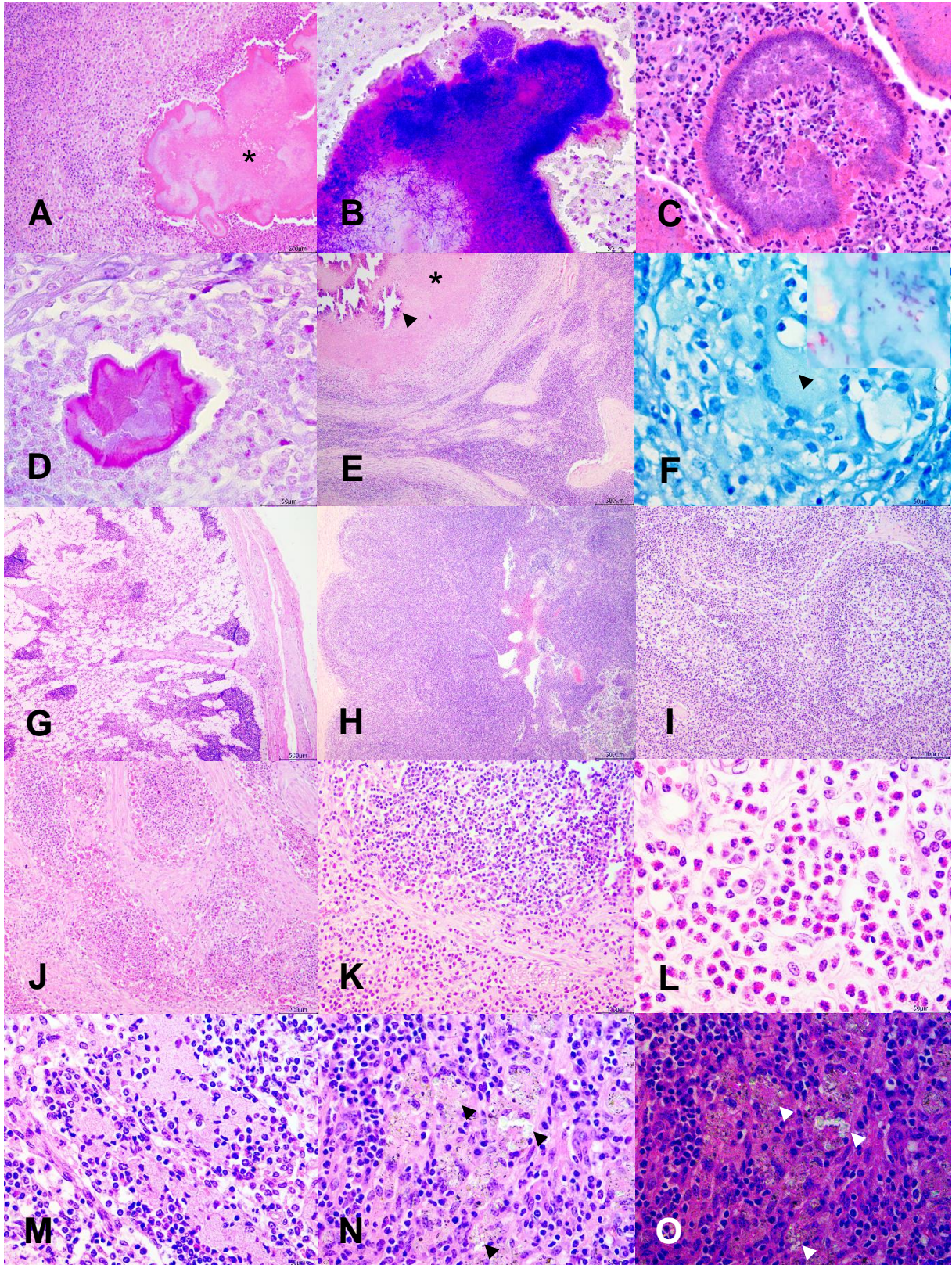
	Subclassificação	Frequência		
		n	% (grupo)	% (total)
Tuberculose	Sugestivo	265	14,8	13,2
	Compatível	1.521	85,1	76
	<b>Total</b>	<b>1.786</b>	<b>100</b>	<b>89,3</b>
Linfoma de células B				
	Subclassificação			
Linfoma de células B				
	Subclassificação			
Neoplasias primárias e metastáticas				
	Subclassificação			
	Linfoma de células T	11	15,4	0,5
	Carcinoma de células escamosas	17	23,9	0,8
	Adenocarcinoma pulmonar	2	2,8	0,1
	Carcinoma indiferenciado	13	18,3	0,6
	Adenocarcinoma indiferenciado	8	11,2	0,4
	Sarcoma indiferenciado	13	18,3	0,6
	Mesotelioma	4	5,6	0,2
	Carcinoide hepático	1	1,4	0,05
	Meningioma	1	1,4	0,05
Seminoma	1	1,4	0,05	
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>100</b>	<b>3,5</b>	
Outros				
	Subclassificação			
	Depleção/atrofia linfoide	1	1,7	0,05
	Linfangiectasia	2	3,5	0,1
	Drenagem eritrocitária	14	24,5	0,7
	Linfadenite eosinofílica parasitária	9	15,7	0,4
	Hiperplasia folicular	28	49,1	1,4
Linfadenite granulomatosa tóxica ( <i>Brachiaria</i> sp.)	3	5,2	0,1	
<b>Total</b>	<b>57</b>	<b>100</b>	<b>2,8</b>	

Abreviações: n, número absoluto de casos; % número relativo de casos. Total de amostras analisadas: 2.000.

Casos de tuberculose foram subclassificados em compatíveis ou indicativos, mediante a observação de lesões granulomatosas caseonecróticas mineralizadas, acrescidas ou não de bacilos álcool-ácido resistentes intralésionais, respectivamente.

Os casos de linfadenite granulomatosa tóxica obedeceram a dois padrões histológicos: macrófagos espumosos ou células epitelioides contendo cristais irregulares ou aciculares intracitoplasmáticos dispostos nos seios e cordões corticomedulares de linfonodos perihepáticos e mesentéricos; e macrófagos epitelioides ou células gigantes multinucleadas dispostas aleatoriamente no córtex e medular linfoide, acometendo múltiplos linfonodos.

Imagens representativas dos principais achados histopatológicos referentes às diversas doenças linfáticas foram compiladas na Figura 20. Ilustrações de casos referentes a neoplasias linfoides e não linfoides foram abordadas separadamente.



**Figura 20.** Achados histopatológicos em casos de doenças de linfonodos de bovinos de abatedouro. **A-B.** Linfadenite granulomatosa em caso de actinomicose. **A.** Reação de Splendore-Hoeppli (asterisco) ao centro de piogranuloma. HE, 100x. **B.** Miríades de bactérias filamentosas Gram-positivas. *Goodpasture*, 400x. **C-D.** Linfadenite granulomatosa em caso de actinobacilose. **C.** Reação de Splendore-Hoeppli (centro) entremeada por neutrófilos degenerados e macrófagos epitelioides. HE, 400x. **D.** Miríades de bacilos bacterianos Gram-negativos. *Goodpasture*, 600x. **E-F.** Linfadenite granulomatosa em caso de tuberculose. **E.** Reação granulomatosa com extensa banda de necrose de caseificação (asterisco) e

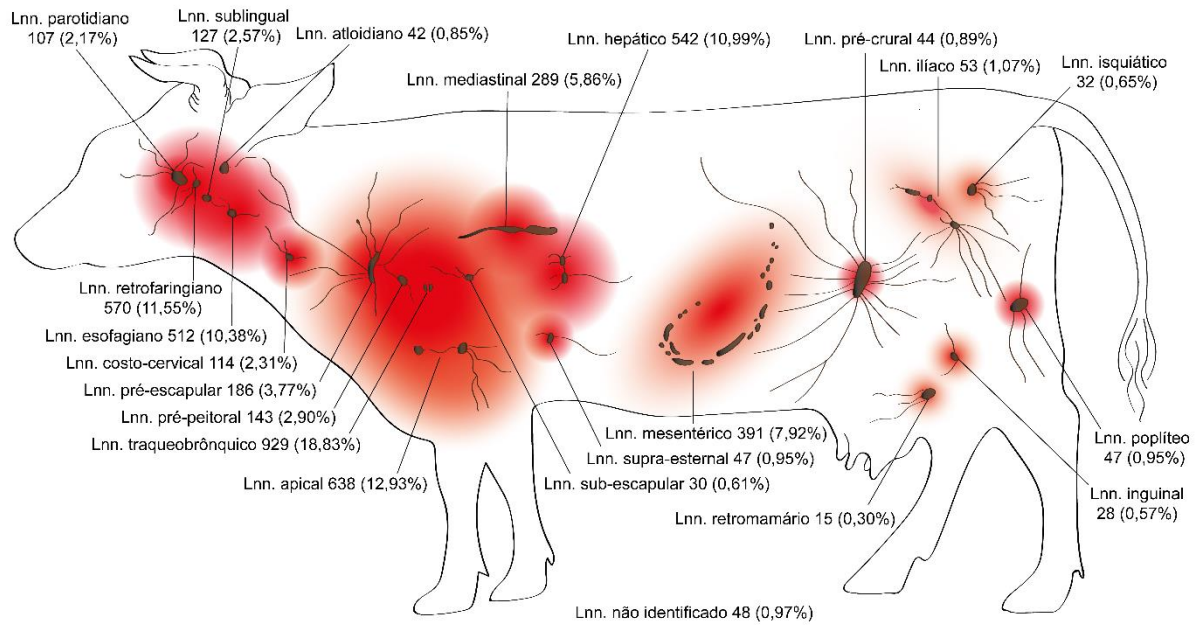
mineralização central (cabeça de seta). HE, 100x. **F.** Bacilo álcool-ácido resistente (cabeça de seta) no citoplasma de célula gigante multinucleada em caso de resposta paucibacilar. *Ziehl-Neelsen*, 600x. Detalhe: Vista aproximada em caso de resposta pluribacilar. **G.** Depleção linfóide com linfangiectasia. Notar rarefação do córtex linfóide, com poucos folículos remanescentes e relativa expansão dos seios subcapsulares e corticomedulares por acúmulo de linfa. HE, 40x. **H-I.** Hiperplasia folicular linfóide. **H.** Notar relativa expansão dos folículos linfóides, com evidência dos centros germinativos (esquerda) e dos cordões corticomedulares (direita). HE, 40x. **I.** Enfoque nos folículos linfóides secundários (centros germinativos evidentes). HE, 100x. **J.** Drenagem eritrocitária. Notar distensão dos seios corticomedulares por acúmulo de hemácias. HE, 100x. **K-L.** Linfadenite eosinofílica. **K.** Expansão da cápsula linfática por acúmulo de eosinófilos. HE, 200x. **L.** Seios linfáticos repletos por eosinófilos, com raros plasmócitos e histiócitos. HE, 600x. **M-O.** Linfadenite granulomatosa tóxica (*Brachiararia* sp.). **M.** Seios linfáticos repletos por macrófagos espumosos. HE, 400x. **N.** Cordões linfáticos com acúmulo de macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas contendo cristais intracitoplasmáticos (cabeças de seta). HE, 400x. **O.** Birrefringência dos cristais observados em “N” (cabeças de seta) sob luz polarizada. HE, 400x.

#### 5.4 Perfil de acometimento linfático dos principais diagnósticos

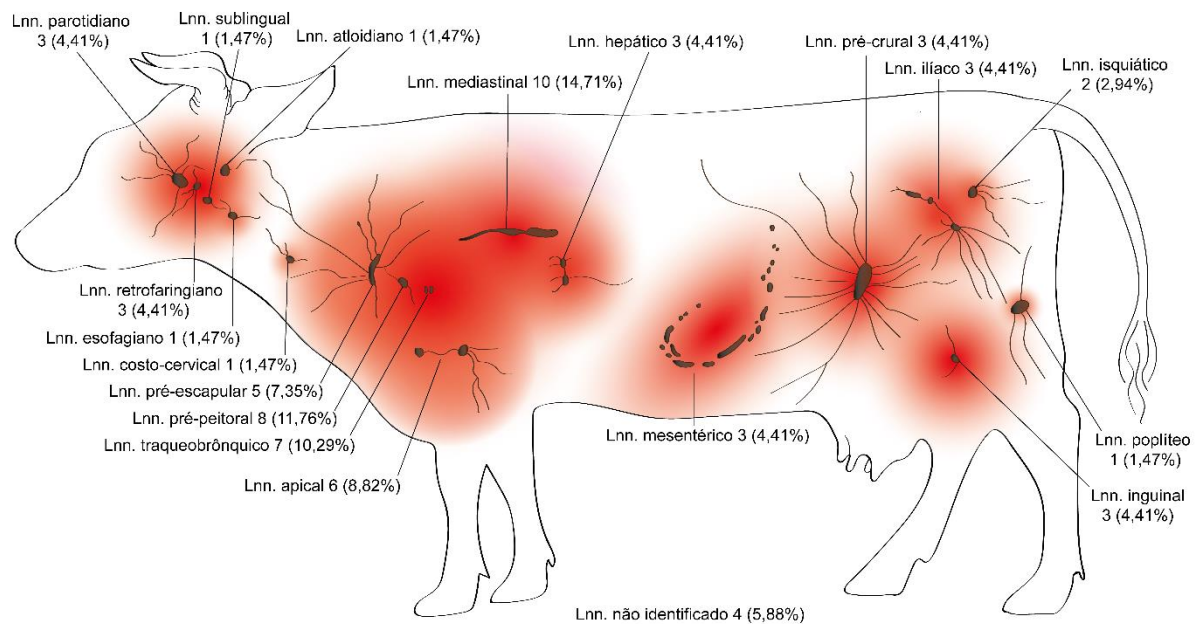
O apanhado dos linfonodos acometidos para cada um dos grupos diagnósticos listados anteriormente está representado na Figura 21. A figura demonstra que os linfonodos pré-escapular (23,5%, 8/2.000) e retrofaringiano (20,5%, 7/2.000) estiveram mais relacionados aos casos de actinogranuloma, ao passo que casos de linfadenite idiopática estiveram principalmente relacionados aos linfonodos traqueobrônquico (16,8%, 19/2.000) e mediastinal (15%, 17/2.000). Os casos de tuberculose estiveram principalmente relacionados a linfonodos da região torácica, em especial aos linfonodos traqueobrônquicos (18,8%, 929/2.000) (Figura 22). Linfonodos da região abdominal também receberam destaque nesta doença, com 10,9% (542/2.000) e 7,9% (391/2.000) de acometimento para os linfonodos hepáticos e mesentéricos, respectivamente. Os casos confirmados de leucose enzoótica (linfoma de células B) apresentaram uma ampla variação entre sítios linfáticos acometidos, com predomínio de linfonodos da região torácica, como o mediastinal (14,7%, 10/2.000) e pré-peitoral (11,7%, 8/2.000) (Figura 23). As outras neoplasias obedeceram um padrão bastante semelhante, com predomínio dos linfonodos mediastinais (15,7%, 31/2.000) e traqueobrônquicos (9,6%, 19/2.000). Casos das demais linfadenopatias foram especialmente relacionados aos linfonodos mediastínicos (18,6%, 25/2.000) e pré-escapulares (11,1%, 15/2.000).

Não identificado	0 (0,00%)	3 (2,65%)	48 (0,97%)	4 (5,88%)	8 (4,06%)	3 (2,24%)
Apical	0 (0,00%)	10 (8,85%)	638 (12,93%)	6 (8,82%)	14 (7,11%)	8 (5,97%)
Atloídiano	0 (0,00%)	1 (0,88%)	42 (0,85%)	1 (1,47%)	2 (1,02%)	3 (2,24%)
Costo-cervical	0 (0,00%)	4 (3,54%)	114 (2,31%)	1 (1,47%)	6 (3,05%)	1 (0,75%)
Esofágiano	0 (0,00%)	5 (4,42%)	512 (10,38%)	1 (1,47%)	5 (2,54%)	2 (1,49%)
Hepático	0 (0,00%)	10 (8,85%)	542 (10,99%)	3 (4,41%)	11 (5,58%)	11 (8,21%)
Iliaco	2 (5,88%)	2 (1,77%)	53 (1,07%)	3 (4,41%)	12 (6,09%)	11 (8,21%)
Inguinal	2 (5,88%)	0 (0,00%)	28 (0,57%)	3 (4,41%)	5 (2,54%)	3 (2,24%)
Isquiático	0 (0,00%)	2 (1,77%)	32 (0,65%)	2 (2,94%)	3 (1,52%)	1 (0,75%)
Mediastinal	4 (5,88%)	17 (15,04%)	289 (5,86%)	10 (14,71%)	31 (15,74%)	25 (18,66%)
Mesentérico	0 (0,00%)	6 (5,31%)	391 (7,92%)	3 (4,41%)	7 (3,55%)	9 (6,72%)
Parotídiano	4 (11,76%)	2 (1,77%)	107 (2,17%)	3 (4,41%)	15 (7,61%)	7 (5,22%)
Poplíteo	0 (0,00%)	0 (0,00%)	47 (0,95%)	1 (1,47%)	2 (1,02%)	3 (2,24%)
Pré-crural	3 (8,82%)	3 (2,65%)	44 (0,89%)	3 (4,41%)	8 (4,06%)	6 (4,48%)
Pré-escapular	8 (23,53%)	7 (6,19%)	186 (3,77%)	5 (7,35%)	14 (7,11%)	15 (11,19%)
Pré-peitoral	0 (0,00%)	3 (2,65%)	143 (2,90%)	8 (11,76%)	12 (6,09%)	6 (4,48%)
Retrofaringiano	7 (20,59%)	15 (13,27%)	570 (11,55%)	3 (4,41%)	9 (4,57%)	10 (7,46%)
Retromamário	0 (0,00%)	0 (0,00%)	15 (0,30%)	0 (0,00%)	3 (1,52%)	0 (0,00%)
Subescapular	0 (0,00%)	0 (0,00%)	30 (0,61%)	0 (0,00%)	4 (2,03%)	0 (0,00%)
Sublingual	4 (11,76%)	2 (1,77%)	127 (2,57%)	1 (1,47%)	3 (1,52%)	3 (2,24%)
Supra-esternal	0 (0,00%)	2 (1,77%)	47 (0,95%)	0 (0,00%)	4 (2,03%)	0 (0,00%)
Traqueobrônquico	2 (5,88%)	19 (16,81%)	929 (18,83%)	7 (10,29%)	19 (9,64%)	7 (5,22%)
	<b>Actinogranuloma n = 21</b>	<b>Linfadenite idiopática n = 47</b>	<b>Tuberculose n = 1786</b>	<b>Linfoma de células B n = 18</b>	<b>Neoplasia n = 71</b>	<b>Outros n = 57</b>

**Figura 21.** Mapa de calor entre grupos diagnósticos e sítios linfáticos acometidos dos bovinos examinados durante o período do estudo. Os números no mapa de calor indicam os valores absolutos e relativos para cada sítio linfático afetado por grupo diagnóstico (colunas). Os valores na base das colunas referem-se ao número absoluto de diagnósticos para cada um dos grupos listados. Cores mais quentes representam valores absolutos/relativos mais elevados. Os grupos diagnósticos devem ser analisados isoladamente.



**Figura 22.** Distribuição anatômica dos sítios linfáticos afetados em casos de tuberculose bovina. Abreviações: Lnn., linfonodo. Créditos da imagem: Luana Ferreira Marques Cordeiro.

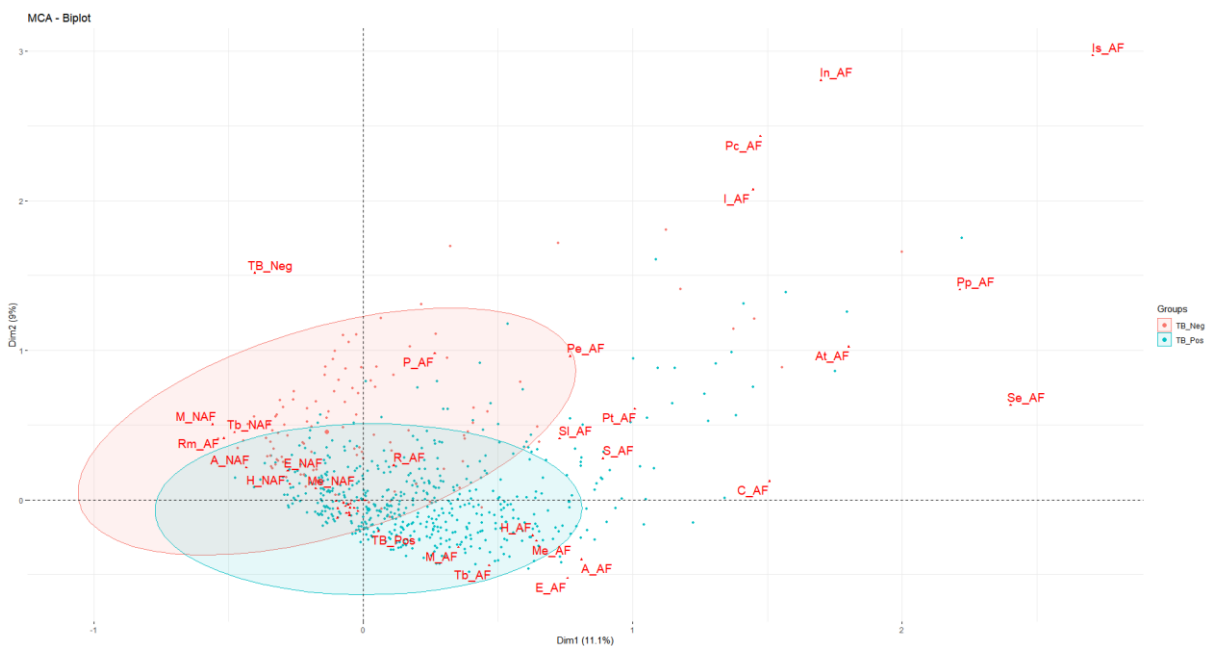


**Figura 23.** Distribuição anatômica dos sítios linfáticos afetados em casos de leucose enzoótica bovina. Abreviações: Lnn., linfonodo. Créditos da imagem: Luana Ferreira Marques Cordeiro.



### 5.5 Análises de correspondência múltipla dos sítios linfáticos e dos órgãos concomitantemente acometidos relacionados aos casos de tuberculose e leucose enzoótica

As análises de correspondência múltipla para o diagnóstico de tuberculose (Figura 24) comprovaram uma maior relação da doença aos linfonodos da região torácica e a determinados grupos de linfonodos abdominais, como linfonodos hepáticos e mesentéricos, enquanto que os linfonodos da região inguinal e pélvica estiveram minimamente relacionados com a doença. Outros linfonodos foram também acometidos em casos de tuberculose, mas estiveram mutuamente relacionados a diversas outras doenças analisadas em conjunto.

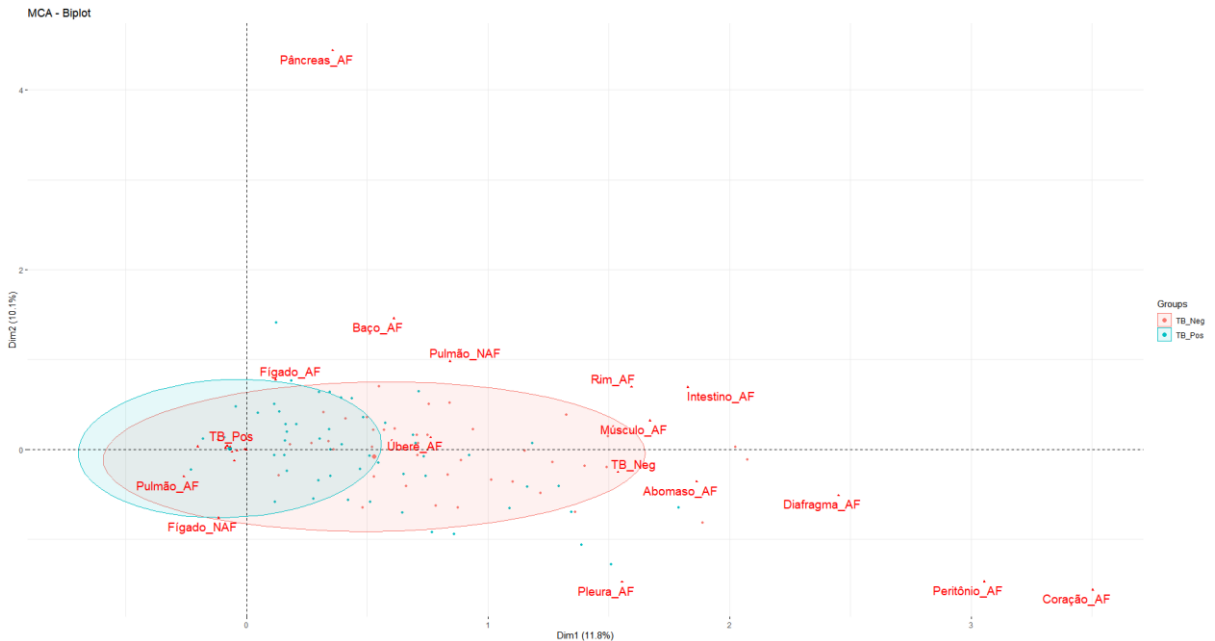


**Figura 24.** Análise de correspondência múltipla para correlação entre casos de tuberculose e sítios linfáticos.

Abreviações: A, apical; AF, afetado; At, atloidiario; C, costo-cervical; Dim, dimensão; E, esofagiano; H, hepático; I, ilíaco; In, inguinal; Is, isquiático; M, mediastinal; Me, mesentérico; NAF, não afetado; P, parotidiano; Pc, pré-crural; Pe, pré-escapular; Pp, poplíteo; Pt, pré-peitoral; R, retrofaringiano; Rm, retromamário; S, subescapular; Se, supra-esternal; SI, sublingual; Tb, traqueobrônquico; TB\_Neg (pontos vermelhos), tuberculose negativo; TB\_Pos (pontos azuis), tuberculose positivo.

Uma análise de correspondência múltipla complementar foi gerada para correlacionar o diagnóstico de tuberculose com os órgãos concomitantemente acometidos (Figura 25). Nesta

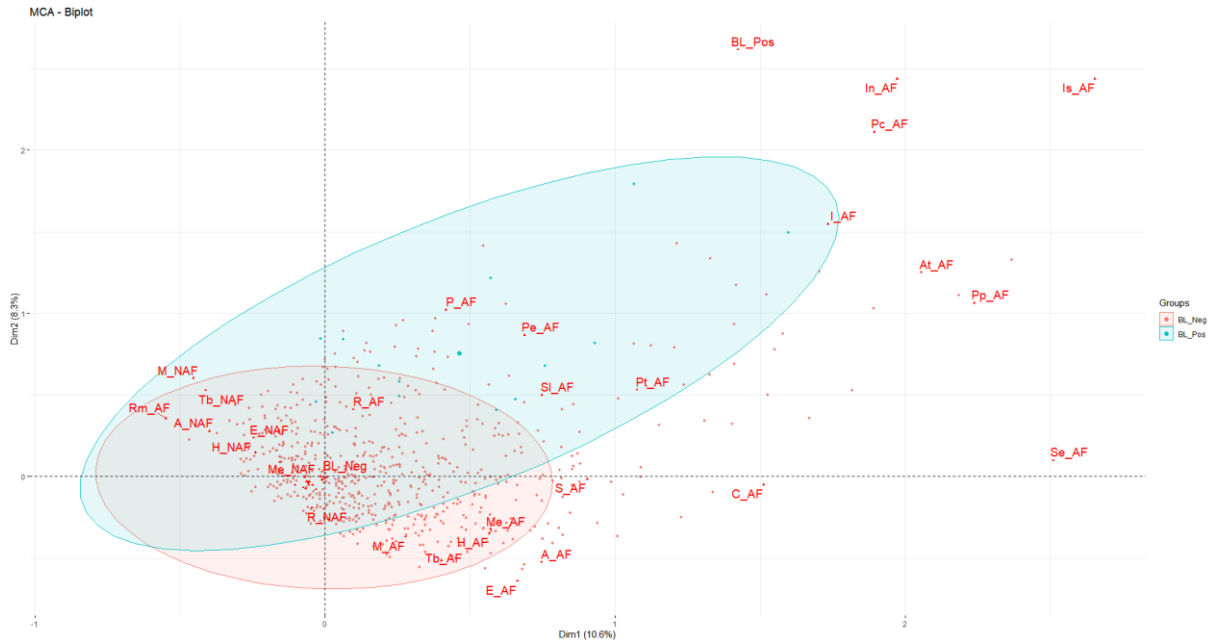
análise o pulmão foi o órgão concomitantemente acometido mais relacionado com casos confirmados de tuberculose, ao passo que o coração, peritônio e diafragma estiveram menos relacionados com a doença.



**Figura 25.** Análise de correspondência múltipla para correlação entre casos de tuberculose e órgãos concomitantemente acometidos.

Abreviações: AF, afetado; Dim, dimensão; NAF, não afetado; TB\_Neg (pontos vermelhos), tuberculose negativo; TB\_Pos (pontos azuis), tuberculose positivo.

A análise de correspondência múltipla para o diagnóstico de leucose enzoótica (linfoma de células B) (Figura 26) comprovou uma maior relação da doença aos seguintes linfonodos: atloidiano, pré-crural, ilíaco, inguinal, isquiático e poplíteo. Outros linfonodos que estiveram relacionados a maior parte dos casos de leucose, estiveram também relacionados a casos de diversas outras doenças, não sendo possível estabelecer uma maior correlação entre esses outros sítios linfáticos e casos confirmados de leucose.



**Figura 26.** Análise de correspondência múltipla para correlação entre casos de leucose enzoótica e sítios linfáticos.

Abreviações: A, apical; AF, afetado; At, atloidiario; BL\_Neg (pontos vermelhos), leucose bovina negativo; BL\_Pos (pontos azuis), leucose bovina positivo; C, costo-cervical; Dim, dimensão; E, esofagiano; H, hepático; I, ilíaco; In, inguinal; Is, isquiático; M, mediastinal; Me, mesentérico; NAF, não afetado; P, parotidiano; Pc, pré-crural; Pe, pré-escapular; Pp, poplíteo; Pt, pré-peitoral; R, retrofaringiano; Rm, retromamário; S, subescapular; Se, supra-esternal; Sl, sublingual; Tb, traqueobrônquico.

Uma análise de correspondência múltipla complementar foi gerada para correlacionar o diagnóstico de leucose com os órgãos concomitantemente acometidos (Figura 27). A análise indicou que abomasso, coração, diafragma, intestino, peritônio e pleura foram os órgãos mais relacionados com a doença. Outros órgãos (e.g. pulmão e fígado) estiveram mutuamente relacionados a casos de leucose e diversas outras doenças, não sendo possível estabelecer uma correlação mais específica entre esses outros órgãos concomitantemente acometidos e casos confirmados de leucose.



**Figura 27.** Análise de correspondência múltipla para correlação entre casos de leucose enzoótica e órgãos concomitantemente acometidos.

Abreviações: AF, afetado; BL\_Neg (pontos vermelhos), leucose bovina negativo; BL\_Pos (pontos azuis); Dim, dimensão; NAF, não afetado.

Baixos percentuais resultantes das somas das dimensões (Dimensão 1 e Dimensão 2) foram obtidos para os diferentes gráficos das análises de correspondência múltipla, com valores variando em torno de 20%.

As análises de correspondência múltipla constataram ainda que os diagnósticos de tuberculose e leucose não se correlacionaram com nenhuma outra suspeita macroscópica diferente de cada um destes próprios diagnósticos isoladamente. Os ensaios de sensibilidade e especificidade das suspeitas macroscópicas foram de 95,8% e 44,8%, respectivamente, para tuberculose, e de 94,7% e 98,7%, respectivamente, para leucose.

O sexo dos animais apresentou divergências em termos absolutos, com valores consideravelmente mais altos para machos (1.310/2.000, 0,65%), se comparados às fêmeas (659/2.000, 32,9%), ou aos animais nos quais o sexo não foi sequer identificado (31/2.000, 1,5%). No entanto, as proporções foram mantidas dentro de cada um dos grupos diagnósticos, indicando não haver predisposição sexual para nenhum dos diagnósticos aqui listados.

## **5.6 Análise molecular, histopatológica e imuno-histoquímica dos casos suspeitos de linfoma**

Os dados referentes às análises de PCR, histopatologia e imuno-histoquímica dos casos confirmados de linfoma foram compilados na Tabela 11, onde houve a contabilização de um total de 18 casos de linfoma de células B, dos quais o linfoma difuso de grandes células foi o subtipo mais comum, e um total de 11 casos de linfoma de células T, dos quais o linfoma de células T periférico foi o subtipo mais frequente. Valores maiores de contagem e taxas mitóticas foram em geral observados para os animais diagnosticados com linfomas de células B. Os linfonodos torácicos foram frequentemente acometidos em ambos os tipos de linfoma, mas foram particularmente mais comuns em casos de linfoma de células B. Dentre os órgãos concomitantemente acometidos mais frequentemente listados em casos de leucose enzoótica, destacam-se: fígado, intestino e pulmão.

**Tabela 11.** Casos confirmados de linfoma.

Caso	Idade*	Fenótipo do linfoma	Contagem mitótica	Taxa mitótica	qPCR FRESH (VLEB)	qPCR FFPE (VLEB)	CD3	CD79a	Sítio linfático	Órgãos acometidos	Suspeita macroscópica
NL1	>2	DLBCL	3	1	NA	-	-	+	A, Me, Pt, R	Fígado, intestino, pulmão	Linfadenite
NL2	3	ADLBCL	16	4	NA	-	-	+	M, Pe, Pt	NA	Leucose
NL3	2	DLBCL	53	13	NA	-	-	+	A, M, Pt, R	NA	Leucose
NL4	>3	ADLBCL	21	5	+	+	-	+	NI	NA	Leucose
NL5	>3	PTCL	6	1	NA	-	+	-	Me, Pc, Pe, R	NA	Linfadenite
NL6	3	DLBCL	38	7	NA	-	-	+	A, E, M, P, Pe, Pc, Tb	NA	Leucose
NL7	>3	SLBCL	17	5	-	-	-	+	A	Intestino, peritônio	Leucose
NL8	3	SLTCL	9	2	-	-	+	NR	NI	NA	Leucose
NL9	2	PTCL	22	3	NA	-	+	-	H, Is, M, P, Pe	Baço	Leucose
NL10	3	DLBCL	18	4	NA	-	-	+	M, Tb	NA	Leucose
NL11	5	SLTCL	7	1	NA	-	+	NR	H, I, M, Me, Pt, Tb	NA	Leucose
NL12	3	LPBCL	31	7	NA	-	-	+	H, I, M, Me, Pc, Pt, Tb	Intestino, pericárdio	Leucose
NL13	3	DLBCL	18	5	NA	-	-	+	H, I, M, Me, Pt, Tb	NA	Leucose
NL14	2	PTCL	12	2	NA	-	+	-	M, P, Pc, Pe, Pt	NA	Leucose
NL15	3	PTCL	20	4	NA	-	+	NR	I, Pe	NA	Leucose
NL16	3	DLBCL	36	6	NA	-	-	+	In, Is, Pe, Pp, Pt	NA	Leucose
NL17	2	PTCL	8	1	-	-	+	NR	NI	NA	Leucose
NL18	>3	LPBCL	3	1	NA	+	+	NR	M, Tb	Baço, fígado, pulmão	Leucose
NL19	3	ALTCL	17	4	NA	-	+	NR	I, Pc, Pe	NA	Leucose
NL20	3	PTCL	15	4	NA	-	+	NR	A, Pc, Pe	NA	Leucose
NL21	4	PTCL	22	5	NA	-	+	-	In, Is, M, Pc, Pp, Se	NA	Linfadenite
NL22	2	DLBCL	16	4	NA	-	-	+	A, At, C, In, M, P, Pc, Pe, Pp, Pt, Tb	Coração, pulmão, rim	Leucose
NL23	3	DLBCL	5	1	NA	+	-	+	P, Sl	NA	Leucose

NL24	2	LPBCL	26	6	NA	-	-	+	A, H, M, Pe, Pt, R	NA	Leucose
NL25	>3	DLBCL	42	10	+	-	-	+	NI	NA	Leucose
NL26	2	PTCL	39	9	NA	+	+	-	M, R	NA	Leucose
NL27	3	DLBCL	48	12	NA	-	-	+	In, Is, M	Diafragma, peritônio, pleura	Leucose
NL28	>3	DLBCL	25	6	NA	-	-	+	NI	Rim	Leucose
NL29	NI	LPBCL	7	2	-	-	-	+	NI	NA	Leucose
NL30	NI	DLBCL	4	1	+	+	-	+	I	NA	Leucose

Abreviações: >, maior que; -, negativo; +, positivo; A, apical; ADLBCL, linfoma difuso de grandes células B anaplásico; ALTCL, linfoma anaplásico de grandes células T; At, atloidiário; C, costo-cervical; DLBCL, linfoma difuso de grandes células B centroblástico; E, esofágico; FFPE, tecido fixado em formalina e embebido em parafina; FRESH, tecido não fixado; H, hepático; I, ilíaco; In, inguinal; Is, Isquiático; M, mediastinal; Me, mesentérico; NA, não se aplica; NI, não informado; NL, neoplasia linfóide; NR, não reativo; P, parotidiano; Pc, pré-crural; Pe, pré-escapular; Pp, poplíteo; Pt, pré-peitoral; LPBCL, linfoma de células B linfoplasmocítico; PTCL, linfoma de células T periférico; R, retrofaringiano; Se, supra-esternal; Sl, sublingual; SLBCL, linfoma linfocítico de pequenas células B; SLTCL, linfoma linfocítico de pequenas células T; Tb, traqueobrônquico; VLEB, vírus da leucose enzoótica bovina.

\*Idade mensurada em anos.

Dos 30 casos confirmados de linfoma, apenas 7 casos foram testados para qPCR de tecidos não fixados para VLEB, dos quais 3 casos foram positivos para o vírus testado. Estes mesmos 3 casos foram também reativos para CD79a, confirmando a origem de células B. Dentre os 30 casos testados para qPCR de tecidos parafinados para VLEB, somente 5 casos foram positivos para o agente viral. No entanto, apenas 3 destes casos foram também reativos para CD79a, confirmando a origem de células B, ao passo que os demais foram reativos para CD3.

Em vista da escassez dos dados referentes às idades dos animais, não foi possível determinar um padrão etário para cada diagnóstico, embora a maioria dos indivíduos tenham apresentado idade igual ou superior a 3 anos.

Dentre as suspeitas macroscópicas, o diagnóstico diferencial de leucose foi citado para a maioria das amostras, sendo o diagnóstico diferencial de linfadenite citado em apenas três casos.

Os resultados das análises de qPCR para ACTB a partir de tecidos parafinados e dados complementares à esta análise para cada uma das respectivas amostras foram incluídos na Tabela 12, na qual foi constatado que 76,6% (23/30) das amostras testadas foram positivas para o gene testado, com valores relativamente altos de concentração de DNA total pós-extração. Os 7 casos testadamente negativos para o gene foram igualmente negativos para os exames de qPCR de tecidos não fixados e de tecidos parafinados para VLEB, com apenas 2 destes casos reativos para CD79a (Tabelas 11 e 12).

**Tabela 12.** Dados complementares para avaliação da qualidade das amostras em casos confirmados de linfoma.

Caso	qPCR FFPE (ACTB)	Razão A260/280	Concentração de DNA (ng/μL)
NL1	+	1,709	170
NL2	+	1,565	228,5
NL3	+	1,678	169,5
NL4	+	1,936	105,5
NL5	+	1,797	57,5
NL6	+	1,675	224,5
NL7	-	1,895	69
NL8	-	1,621	124
NL9	+	1,611	130,5
NL10	+	1,789	101,5
NL11	+	1,902	194
NL12	+	1,686	204

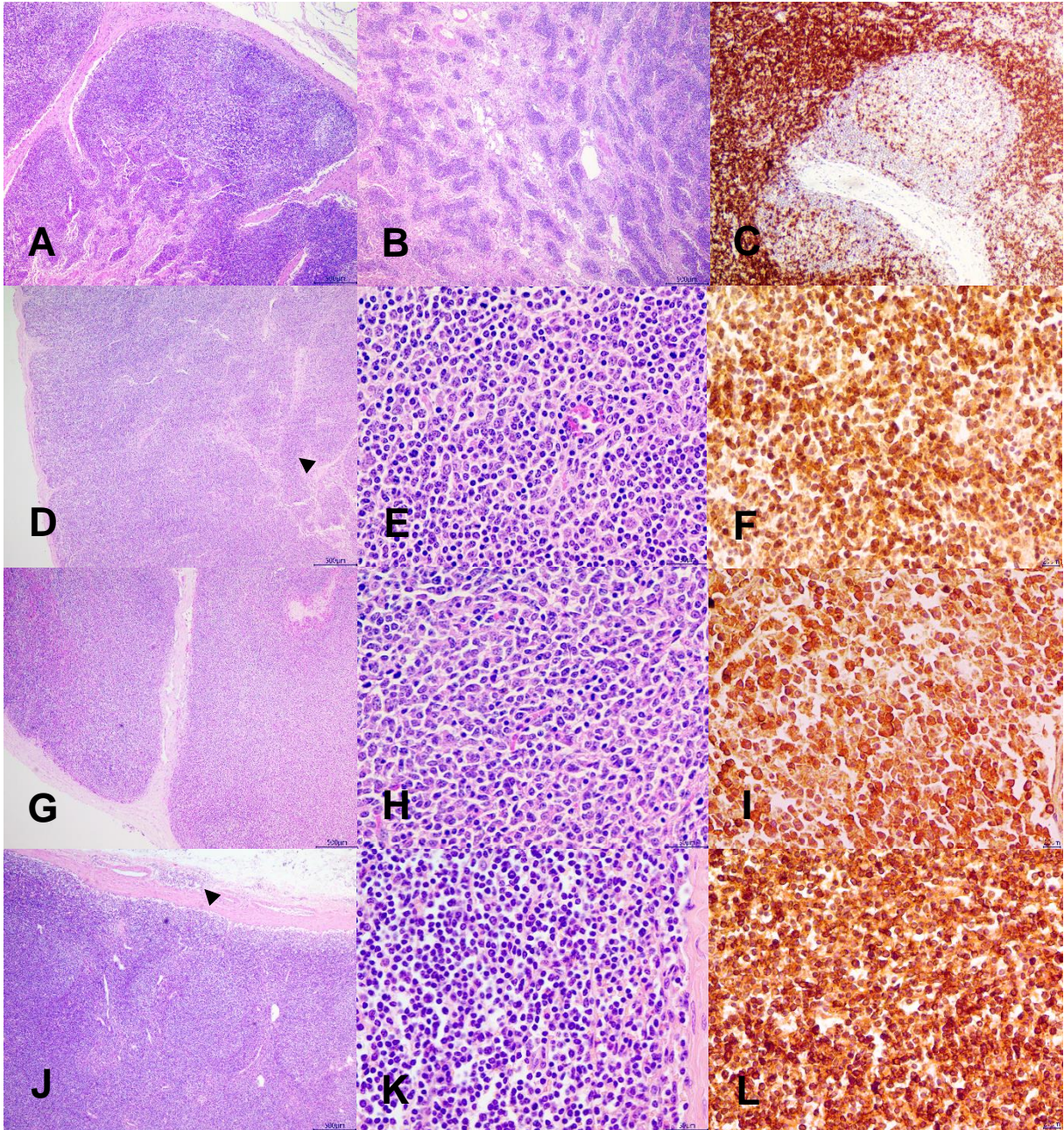


NL13	+	1,946	415,5
NL14	+	2,143	28,5
NL15	-	1,763	33,5
NL16	-	1,505	77,5
NL17	-	2,049	29,5
NL18	+	1,875	25,5
NL19	-	2,111	28,5
NL20	-	2,015	27,5
NL21	+	1,548	97,5
NL22	+	2,024	41,5
NL23	+	1,859	54,5
NL24	+	2,062	67
NL25	+	1,874	82
NL26	+	1,91	116,5
NL27	+	1,785	70,5
NL28	+	1,927	132
NL29	+	1,788	75,5
NL30	+	1,765	84,5

Abreviações: -, negativo; +, positivo; ACTB, actina Beta; DNA, ácido desoxirribonucleico; NA, não se aplica; NL, neoplasia linfoide; qPCR, Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real.

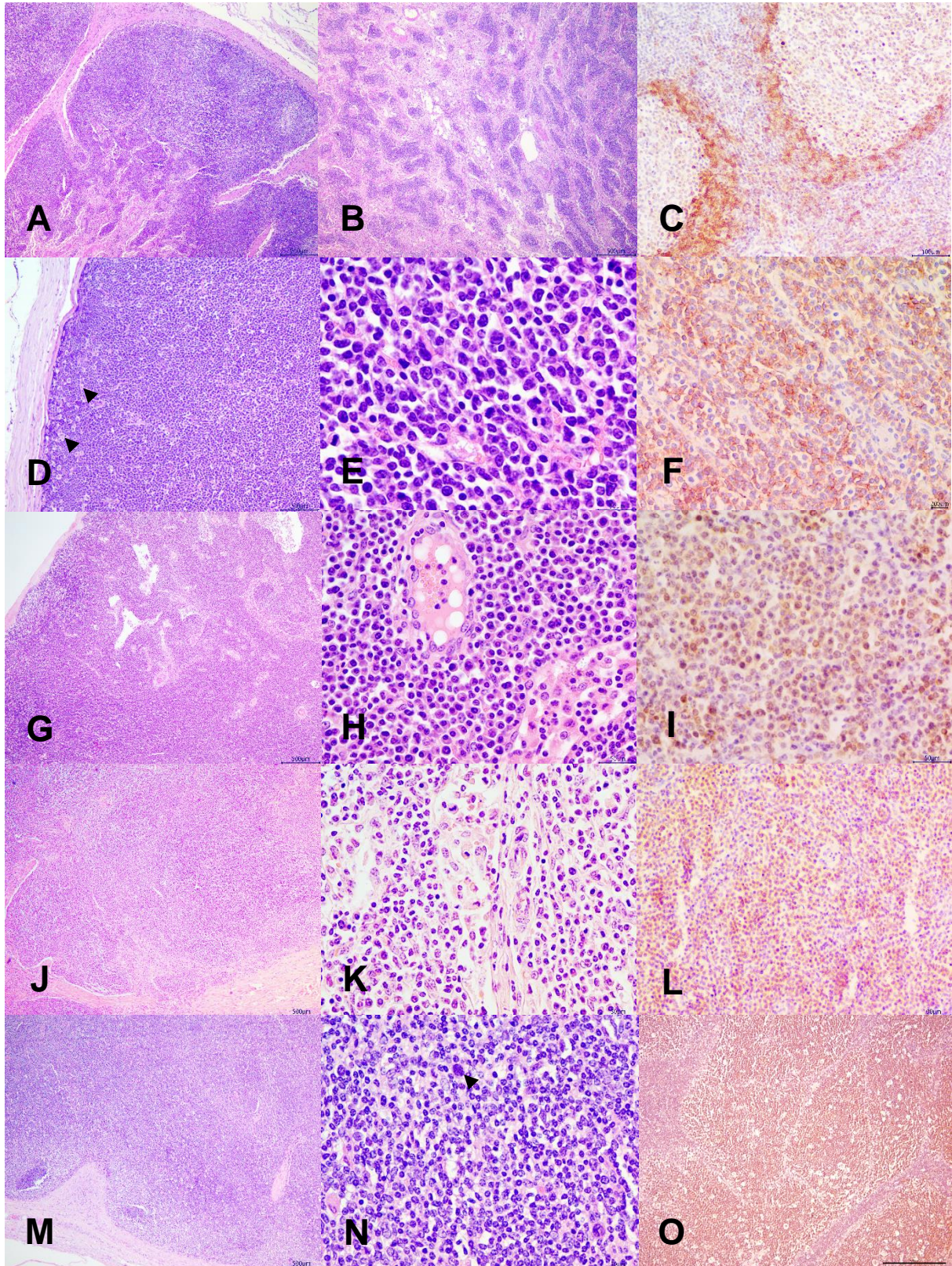
Durante as etapas da análise imuno-histoquímica, alguns tumores de células redondas de morfologia linfocitoide foram classificados como não reativos para ambos os marcadores. Estes casos foram incluídos dentro do grupo dos sarcomas indiferenciados.

Imagens representativas dos principais achados histopatológicos referentes às neoplasias linfoides de células T e neoplasias linfoides de células B foram compiladas nas Figuras 28 e 29, respectivamente.



**Figura 28.** Achados histopatológicos em casos de linfoma de células T de linfonodos de bovinos de abatedouro. **A-C.** Aspecto histológico e imuno-histoquímico normal do linfonodo bovino. **A.** Córtex linfoide. HE, 40x. **B.** Medular linfoide. HE, 40x. **C.** Padrão de distribuição de linfócitos T no espaço perifolicular e centros germinativos de folículos do córtex linfoide. Anti-CD3, 200x. **D-F.** PTCL, linfoma de células T periférico. **D.** Subversão da arquitetura corticomedular linfoide, com expansão dos cordões medulares por células neoplásicas (cabeça de seta). HE, 40x. **E.** População monomórfica de linfócitos neoplásicos uniformes. HE, 40x. **F.** Imunomarcação positiva em células neoplásicas. Anti-CD3, 400x. **G-I.** ALTCL, linfoma de grandes células T anaplásico. **G.** Neoplasia ricamente celularizada com compressão e atrofia da cápsula linfoide e dos septos corticomedulares. HE, 40x. **H.** População monomórfica de linfócitos neoplásicos com ampla variação de diâmetro e formato nucleares e múltiplas figuras mitóticas. HE, 400x. **I.** Imunomarcação positiva em células neoplásicas. Anti-CD3, 400x. **J-L.**

SLTCL, linfoma linfocítico de pequenas células T. **J.** Subversão do córtex linfoide, com focos de infiltração extracapsular (cabeça de seta). HE, 40x. **K.** População monomórfica de pequenos linfócitos neoplásicos. HE, 400x. **L.** Imunomarcação positiva em células neoplásicas. Anti-CD3, 400x.



**Figura 29.** Achados histopatológicos em casos de linfoma de células B de linfonodos de bovinos de abatedouro. **A-C.** Aspecto histológico e imuno-histoquímico normal do linfonodo bovino. **A.** Córtex linfoide. HE, 40x. **B.** Medular linfoide. HE, 40x. **C.** Padrão de distribuição de linfócitos B no manto folicular e nos centros germinativos de folículos do córtex linfoide. Anti-CD79a, 200x. **D-F.** DLBCL, linfoma difuso de grandes células B. **D.** Neoplasia ricamente celularizada com compressão e atrofia da cápsula linfoide. Notar múltiplos macrófagos contendo corpos apoptóticos, conferindo aspecto de “céu estrelado” (cabeças de seta). HE, 100x. **E.** População monomórfica de linfócitos neoplásicos com padrão

centroblástico (núcleos de grandes dimensões, figuras mitóticas múltiplas e comportamento infiltrativo). HE, 400x. **F.** Imunomarcagem positiva em células neoplásicas. Anti-CD79a, 400x. **G-I.** LPBCL, linfoma de células B linfoplasmocítico. **G.** Subversão da arquitetura corticomedular linfoide, com expansão dos cordões medulares por células neoplásicas. HE, 40x. **H.** População monomórfica de células com aspecto linfoplasmocitoide. HE, 400x. **I.** Imunomarcagem positiva em células neoplásicas. Anti-CD79a, 400x. **J-L.** SLBCL, linfoma linfocítico de pequenas células B. **J.** Neoplasia ricamente celularizada, com padrão difuso de infiltração corticomedular. HE, 40x. **K.** População monomórfica de pequenos linfócitos neoplásicos. HE, 400x. **L.** Imunomarcagem positiva em células neoplásicas. Anti-CD79a, 200x. **M-O.** ADLBCL, linfoma difuso de grandes células B anaplásico. **M.** Neoplasia ricamente celularizada com compressão e atrofia da cápsula linfoide e dos septos corticomedulares. HE, 40x. **N.** População monomórfica de linfócitos neoplásicos com ampla variação de diâmetro e formato nucleares e multinucleações (cabeça de seta). HE, 400x. **O.** Imunomarcagem positiva em células neoplásicas. Anti-CD79a, 100x.

### 5.7 Análise histopatológica das neoplasias de origem não linfoide

Os dados relativos aos demais tipos neoplásicos foram incluídos na Tabela 13, na qual foram contabilizados um total de 60 casos de diversos tipos neoplásicos, com predomínio de metástases de carcinoma de células escamosas, carcinomas indiferenciados e sarcomas indiferenciados para os sítios linfáticos analisados. Assim como demonstrado em casos de linfoma (Tabela 11), os linfonodos torácicos foram também os mais frequentemente acometidos. Dentre os órgãos concomitantemente acometidos, destacam-se: fígado, pulmão e membranas serosas.

**Tabela 13.** Neoplasias diagnosticadas em linfonodos de bovinos de abatedouro durante o período do estudo (janeiro de 2015 a setembro de 2022).

Caso	Idade (anos)	Diagnóstico	Sítio linfático	Órgãos acometidos	Suspeita macroscópica
NNL1	8	Mesotelioma epitelióide	NI	Diafragma, fígado, pulmão	Neoplasia
NNL2	>3	Carcinoma de células escamosas	Se	Pulmão	Abscesso
NNL3	>3	Carcinoma de células escamosas	M, Pc, Pe, Rm	NA	Leucose
NNL4	4	Carcinoma de células escamosas	I, M	Rim	NI
NNL5	4	Carcinoma indiferenciado	M, Pt	Fígado	NI
NNL6	4	Adenocarcinoma pulmonar	Tb	Fígado, pulmão	Tuberculose
NNL7	>3	Adenocarcinoma indiferenciado	NI	Pulmão	NI
NNL8	>3	Carcinoma indiferenciado	NI	NA	Tuberculose
NNL9	>3	Adenocarcinoma indiferenciado	Pt	Peritônio, pulmão	NI
NNL10	3	Carcinoma indiferenciado	In, M, Pt	Pulmão	NI

NNL11	3	Carcinoma indiferenciado	In, M, Pt	Pulmão, peritônio	NI
NNL12	4	Carcinoma de células escamosas	P	NA	NI
NNL13	4	Carcinoma de células escamosas	E, I, M, Tb	Pulmão	Tuberculose
NNL14	2	Sarcoma indiferenciado	H, Tb	Diafragma, fígado, pulmão	Tuberculose
NNL15	3	Carcinoma de células escamosas	NI	Diafragma, pulmão	Tuberculose
NNL16	5	Adenocarcinoma indiferenciado	Is	NA	Leucose
NNL17	5	Carcinoma de células escamosas	P, Sl	NA	Leucose
NNL18	>2	Sarcoma indiferenciado	A, C, E, M, Se, Tb	NA	Tuberculose
NNL19	5	Sarcoma indiferenciado	H, I, M, Me, Pt, Tb	Fígado, pulmão	Tuberculose
NNL20	>3	Sarcoma indiferenciado	P, Pe	NA	Leucose
NNL21	8	Carcinoma indiferenciado	M, P, R	NA	Tuberculose
NNL22	NI	Carcinoma indiferenciado	Pc	NA	Linfadenomegalia
NNL23	NI	Carcinoma indiferenciado	C, Pc	NA	Tuberculose
NNL24	5	Adenocarcinoma indiferenciado	A, E, M, Pt, Tb	NA	Tuberculose
NNL25	>3	Carcinoma de células escamosas	P, R, Se	NA	Tuberculose
NNL26	>3	Carcinoma de células escamosas	At, C, E, R	NA	Tuberculose
NNL27	6	Carcinoma de células escamosas	P, R	NA	Tuberculose
NNL28	>3	Sarcoma indiferenciado	Pt, S	NA	Tuberculose
NNL29	4	Carcinoma de células escamosas	I, Is, Pe, S	Pulmão	Linfadenite
NNL30	>3	Adenocarcinoma pulmonar	M	Diafragma, fígado	Tuberculose
NNL31	3	Adenocarcinoma indiferenciado	A, Pe, Pt, Tb	Diafragma, pulmão	Tuberculose
NNL32	>3	Carcinoma de células escamosas	A, C, H, I, M, Pt, Tb	NA	Leucose
NNL33	5	Meningioma	C, P	Olho	Leucose
NNL34	>3	Adenocarcinoma indiferenciado	A, H, Pt	Fígado, pulmão	Tuberculose
NNL35	5	Carcinoma indiferenciado	M	NA	Tuberculose
NNL36	4	Carcinoma de células escamosas	P	NA	Tuberculose
NNL37	>3	Carcinoma de células escamosas	A, M, Tb	Pulmão	Tuberculose
NNL38	>3	Adenocarcinoma indiferenciado	A, M, Tb	Fígado, pulmão	Tuberculose
NNL39	>3	Carcinoma indiferenciado	A, At, M, P, R, Sl, Tb	Pulmão	Actinobacilose
NNL40	5	Carcinoma indiferenciado	M	NA	Tuberculose
NNL41	NI	Adenocarcinoma indiferenciado	I, M, Rm	Fígado, peritônio, pulmão	Tuberculose
NNL42	>3	Carcinoma de células escamosas	M, Rm, Tb	NA	Tuberculose
NNL43	8	Seminoma tubular	I	NA	Neoplasia

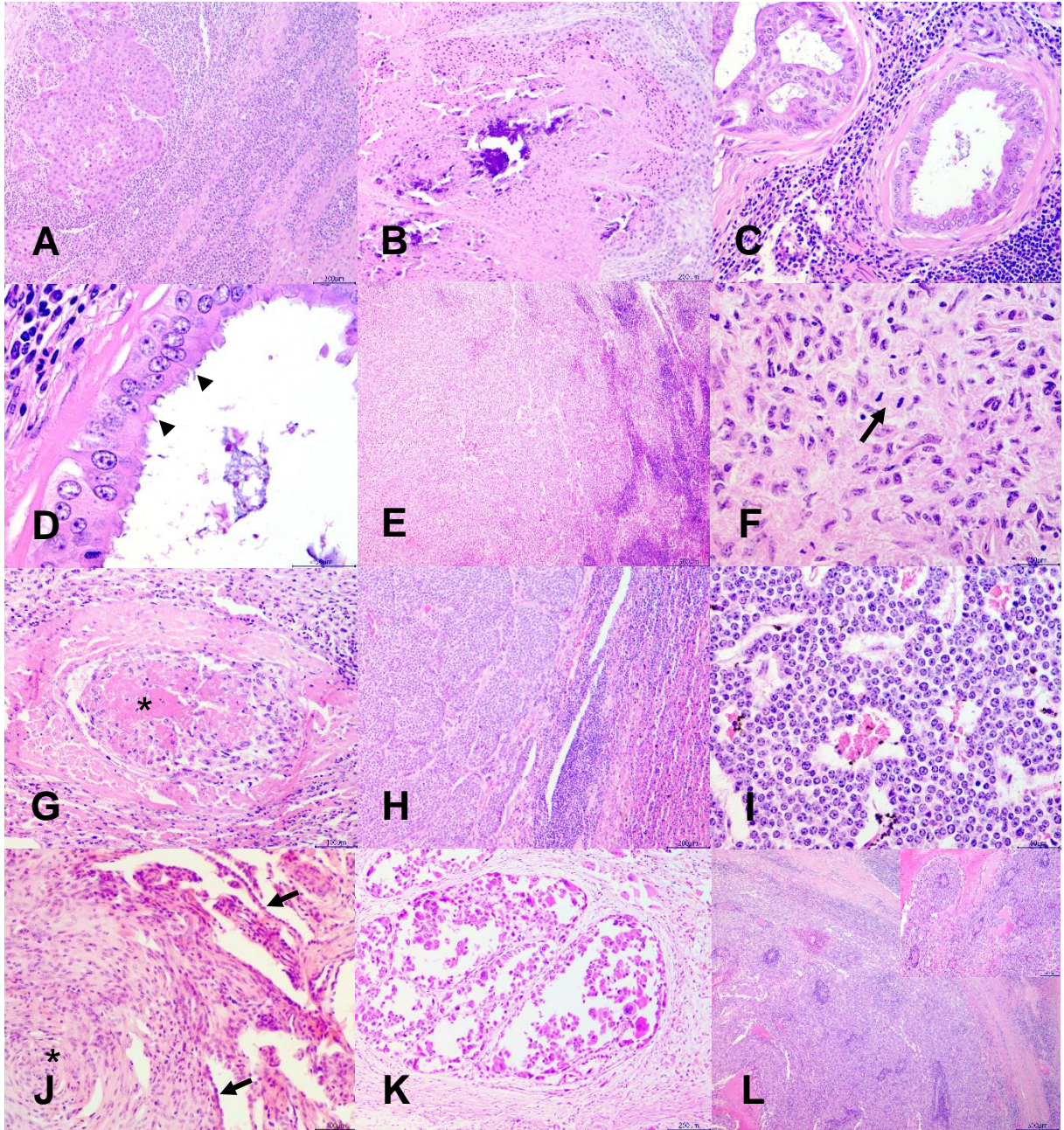
NNL44	4	Mesotelioma epitelióide	H, I, M	Baço, diafragma, fígado, peritônio, pleura, rúmen	Tuberculose
NNL45	>3	Carcinoma indiferenciado	M, Tb	NA	Tuberculose
NNL46	>3	Carcinoide	A	Fígado	Neoplasia
NNL47	3	Carcinoma de células escamosas	M, Se	Peritônio	Septicemia
NNL48	4	Sarcoma indiferenciado	I	NA	Tuberculose
NNL49	NI	Carcinoma indiferenciado	P	NA	Tuberculose
NNL50	>3	Sarcoma indiferenciado	NI	Fígado, rim	Tuberculose
NNL51	3	Carcinoma de células escamosas	R, Tb	Pulmão	Tuberculose
NNL52	3	Mesotelioma epitelióide/papilar	H, M, Me, Tb	Diafragma, fígado, intestino	Tuberculose
NNL53	2	Sarcoma indiferenciado	NI	NA	Leucose
NNL54	>3	Mesotelioma sarcomatoso	A	Baço, diafragma, fígado, intestino	Tuberculose
NNL55	>3	Carcinoma indiferenciado	H, M	Fígado	Tuberculose
NNL56	5	Sarcoma indiferenciado	M, P, Pp, Pe	Coração	Leucose
NNL57	5	Sarcoma indiferenciado	Me	Intestino	Hemangioma
NNL58	NI	Sarcoma indiferenciado	P	NA	Leucose
NNL59	NI	Sarcoma indiferenciado	A, H, M, Pe, Pt, R	NA	Leucose
NNL60	NI	Sarcoma indiferenciado	Pe	NA	Leucose

Abreviações: A, apical; At, atloidiário; C, costo-cervical; E, esofágico; H, hepático; I, ilíaco; In, inguinal; Is, Isquiático; M, mediastinal; Me, mesentérico; NA, não se aplica; NI, não informado; NNL, neoplasia não linfóide; P, parotidiano; Pc, pré-crural; Pe, pré-escapular; Pp, poplíteo; Pt, pré-peitoral; R, retrofaringiano; Rm, retromamário; Se, supra-esternal; Sl, sublingual; Tb, traqueobrônquico.

A maioria dos animais diagnosticados com neoplasias não linfóides apresentaram idade igual ou superior a 3 anos, com um único animal afetado por sarcoma indiferenciado com 2 anos de idade. A idade de 8 anos foi a mais elevada dentre os animais aqui analisados.

Dentre as suspeitas macroscópicas, tuberculose e leucose foram os diagnósticos diferenciais mais citados, correspondendo quase à totalidade das amostras submetidas para análise.

Imagens representativas dos principais achados histopatológicos referentes às neoplasias não linfóides foram compilados na Figura 30.



**Figura 30.** Achados histopatológicos em casos de neoplasias não linfoides de linfonodos de bovinos de abatedouro. **A-B.** Metástase de carcinoma de células escamosas. **A.** Neoplasia epitelial não encapsulada e infiltrativa, com ilhas coalescentes de células tumorais. HE, 100x. **B.** Área extensa de comedonecrose, com focos de mineralização central. HE, 100x. **C-D.** Metástase de adenocarcinoma pulmonar. **C.** Neoplasia epitelial não encapsulada e infiltrativa, com células dispostas em arranjos alveolares contendo lúmen central. HE, 200x. **D.** Estrutura alveolar neoformada com evidência de cobertura ciliar no ápice de células neoplásicas. HE, 600x. **E-G.** Metástase de sarcoma indiferenciado. **E.** Neoplasia mesenquimal não encapsulada e infiltrativa. HE, 40x. **F.** Células neoplásicas pleomórficas, dispostas em matriz conjuntiva amorfa. Notar figura mitótica em telófase ao centro (seta). HE, 400x. **G.** Invasão vascular. Notar trombo de fibrina central (asterisco). HE, 200x. **H-I.** Metástase de carcinoide hepático. **H.** Neoplasia epitelial bem delimitada, não encapsulada e expansiva, com células tumorais dispostas em



pacotes. HE, 40x. **I.** Células neoplásicas cuboidais dispostas em pacotes densamente celulares. Notar íntima relação com vasos sanguíneos. HE, 400x. **J.** Metástase de mesotelioma. Células neoplásicas fusiformes dispostas em arranjos circunferenciais (asterisco). Notar raros cordões de células tumorais cuboidais, denotando aspecto mesotelial (setas). HE, 200x. **K.** Metástase de seminoma. Estruturas tubulares neoformadas contendo células germinativas tumorais pouco coesas, de citoplasma amplo e eosinofílico. HE, 100x. **L.** Metástase de meningioma. Neoplasia meningotelial não encapsulada e expansiva, com células tumorais dispostas em redemoinhos ou radialmente circundando vasos sanguíneos (detalhe). HE, 40x.

### **5.8 Análise molecular, histopatológica e microbiológica de casos suspeitos de tuberculose**

Os casos suspeitos de linfadenite por tuberculose submetidos aos testes complementares foram representados na Tabela 14. Dentre estes, houve positividade para bacilos álcool-ácido resistentes intralesionais em 31 casos (86%). Na qPCR com DNA de tecidos parafinados e tecidos não fixados, um total de 12 (33%) e 22 (61%) casos foram positivos para *Mycobacterium* sp., respectivamente. Ao todo, 28 (77%) casos tiveram resultado satisfatório ao isolamento bacteriano, sendo estes relativos à espécie *M. bovis*. Destes, 23 (82%) casos foram correspondentes ao exame de qPCR. Em 9 de 12 casos de tuberculose confirmados por qPCR de tecidos parafinados, houve correspondência ao gênero *M. bovis*. A confirmação do diagnóstico de tuberculose, em qualquer das técnicas, não ocorreu em apenas 3 dos 36 casos testados. Todos os casos incluídos nesta amostragem foram classificados histologicamente como linfadenites granulomatosas, com lesões caseonecróticas típicas.

**Tabela 14.** Testes complementares em casos suspeitos de tuberculose em bovinos de abatedouro.

<b>Caso</b>	<b>BAAR</b>	<b>qPCR (FFPE)</b>	<b>qPCR (FROZEN)</b>	<b>Isolamento</b>	<b>qPCR (isolamento)</b>
TB1	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TB2	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB3	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB4	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo

TB5	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB6	Positivo	Não detectado	Não detectado	Não isolado	NSA
TB7	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB8	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB9	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Não detectado
TB10	Positivo	Não detectado	Não detectado	Positivo	Não detectado
TB11	Positivo	Não detectado	Não detectado	Positivo	Positivo
TB12	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB13	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB14	Positivo	Não detectado	Não detectado	Positivo	Positivo
TB15	Positivo	Não detectado	Não detectado	Positivo	Positivo
TB16	Positivo	Positivo ( <i>M. bovis</i> )	Positivo	Positivo	Positivo
TB17	Positivo	Positivo ( <i>M. bovis</i> )	Positivo	Não isolado	NSA
TB18	Positivo	Positivo ( <i>M. bovis</i> )	Positivo	Não isolado	NSA
TB19	Positivo	Positivo ( <i>M. bovis</i> )	Positivo	Positivo	Positivo
TB20	Positivo	Positivo ( <i>M. bovis</i> )	Positivo	Positivo	Não detectado
TB21	Positivo	Positivo ( <i>M. bovis</i> )	Não detectado	Positivo	Positivo
TB22	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Não detectado
TB23	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB24	Negativo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB25	Positivo	Positivo ( <i>M. bovis</i> )	Não detectado	Não isolado	NSA
TB26	Positivo	Não detectado	Não detectado	Positivo	Positivo

TB27	Positivo	Positivo ( <i>M. bovis</i> )	Não detectado	Positivo	Positivo
TB28	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB29	Positivo	Não detectado	Positivo	Positivo	Positivo
TB30	Positivo	Não detectado	Não detectado	Positivo	Não detectado
TB31	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TB32	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
TB33	Negativo	Não detectado	Não detectado	Não isolado	NSA
TB34	Negativo	Positivo ( <i>M. bovis</i> )	Não detectado	Não isolado	NSA
TB35	Negativo	Não detectado	Não detectado	Não isolado	NSA
TB36	Negativo	Não detectado	Não detectado	Não isolado	NSA

Abreviações: BAAR, bacilos álcool-ácido resistentes; FFPE, tecido fixado em formalina e embebido em parafina; FROZEN, tecido congelado; qPCR, Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real; TB, caso sugestivo de tuberculose.

Testes de sensibilidade e especificidade comparando resultados do isolamento bacteriano de casos confirmados por esta técnica com a histopatologia (BAAR) e com ensaios de qPCR de tecidos fixados ou não estão descritos na Tabela 15.

**Tabela 15.** Estimativas de sensibilidade e especificidade das técnicas diagnósticas comparadas com o isolamento bacteriano positivo em casos suspeitos de tuberculose em bovinos de abatedouro.

Teste diagnóstico		Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	$\kappa$ (95% CI)	Concordância
Isolamento bacteriano	Histopatologia	96,4	50	0,536082	Moderada
	qPCR (FFPE)*	28,6	20	-0,125	Inexistente
	qPCR (FROZEN)	71,4	50	0,366197	Fraca

Abreviações: 95% CI, Intervalo de confiança de 95%; BAAR, bacilos álcool-ácido resistentes; FFPE, tecido fixado em formalina e embebido em parafina; FROZEN, tecido congelado; qPCR, Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real.

\*O tempo de fixação em formalina ultrapassou o recomendado (72h).

Testes de quantificação e mensuração da qualidade do DNA referentes para cada uma das respectivas amostras foram incluídos na Tabela 16, na qual foram constatados valores relativamente altos de concentração de DNA total pós-extração.

**Tabela 16.** Dados complementares para avaliação da qualidade das amostras em casos suspeitos de tuberculose em bovinos de abatedouro.

<b>Caso</b>	<b>Positividade a qualquer dos testes complementares</b>	<b>Razão A260/280</b>	<b>Concentração de DNA (ng/μL)</b>
TB1	Positivo	2,036	57
TB2	Positivo	1,555	99,5
TB3	Positivo	1,948	75
TB4	Positivo	1,977	42,5
TB5	Positivo	1,5	82,5
TB6	Positivo	1,896	118,5
TB7	Positivo	2,035	58
TB8	Positivo	1,971	34,5
TB9	Positivo	1,957	46
TB10	Positivo	2,062	26,5
TB11	Positivo	1,917	34,5
TB12	Positivo	1,878	46
TB13	Positivo	1,474	84
TB14	Positivo	2,111	38
TB15	Positivo	1,958	39
TB16	Positivo	1,986	69,5
TB17	Positivo	1,696	78
TB18	Positivo	1,985	129

TB19	Positivo	1,949	78
TB20	Positivo	1,936	106,5
TB21	Positivo	2,007	138,5
TB22	Positivo	2,04	126,5
TB23	Positivo	2,171	38
TB24	Positivo	2,129	66
TB25	Positivo	1,652	147
TB26	Positivo	1,939	239,5
TB27	Positivo	1,908	114,5
TB28	Positivo	2	177
TB29	Positivo	2,135	79
TB30	Positivo	1,81	152
TB31	Positivo	2,08	52
TB32	Positivo	1,942	117,5
TB33	Negativo	1,771	85
TB34	Positivo	1,861	67
TB35	Negativo	1,861	107
TB36	Negativo	1,852	56,5

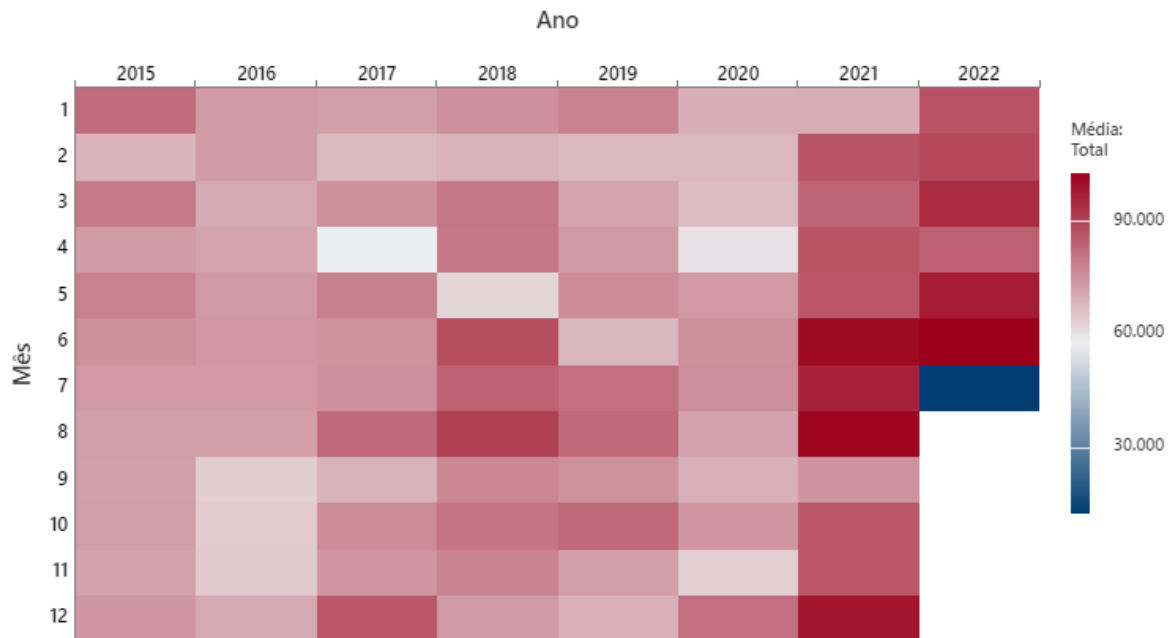
---

Abreviações: DNA, ácido desoxirribonucleico; TB, caso sugestivo de tuberculose.

### 5.9 Perfil de abate e diagnóstico de casos de tuberculose e leucose pelo SIGSIF

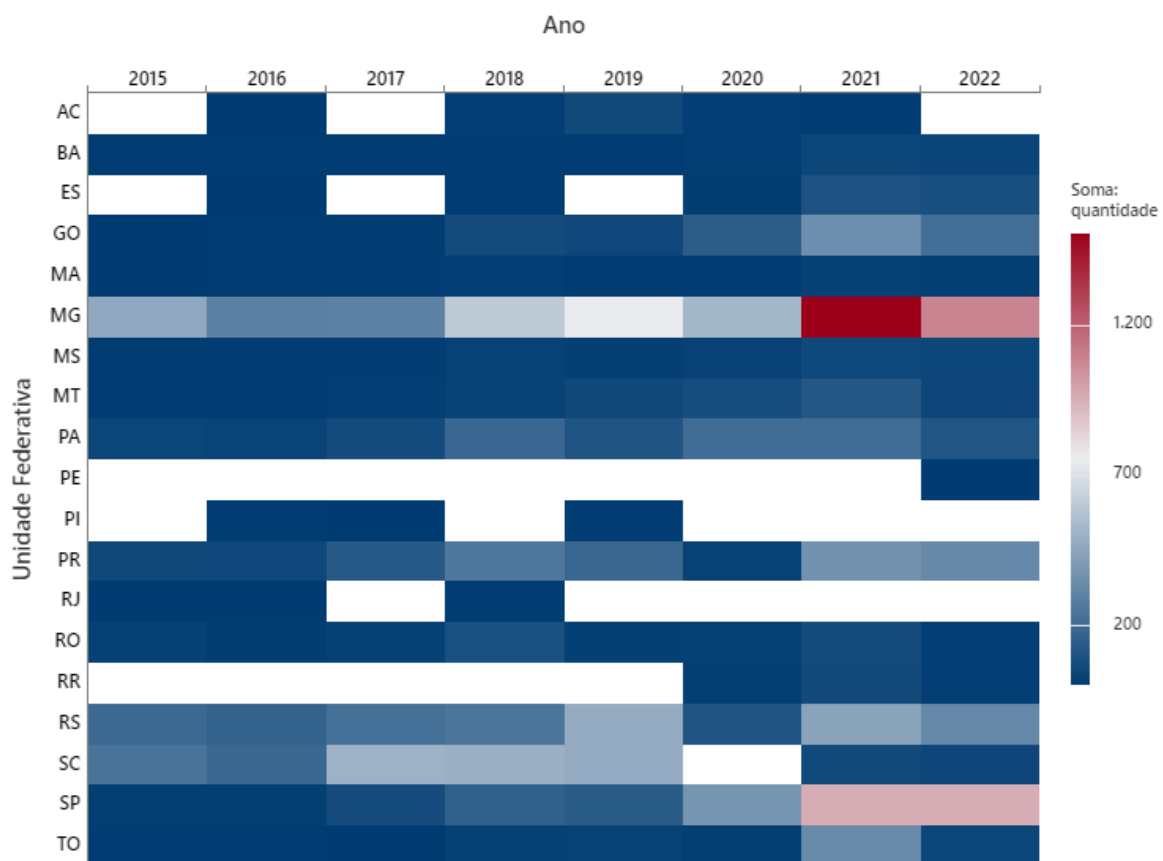
O perfil de abate durante o período de janeiro de 2015 a julho de 2022 foi compilado na Figura 31 a partir de dados disponíveis na plataforma PGA-SIGSIF. A análise remonta que existe um perfil progressivo e crescente do número total de abates bovinos, com valores mais

elevados nos meses de junho, julho e agosto. Picos de abate escassos são também notados nos meses de janeiro e dezembro deste mesmo período.

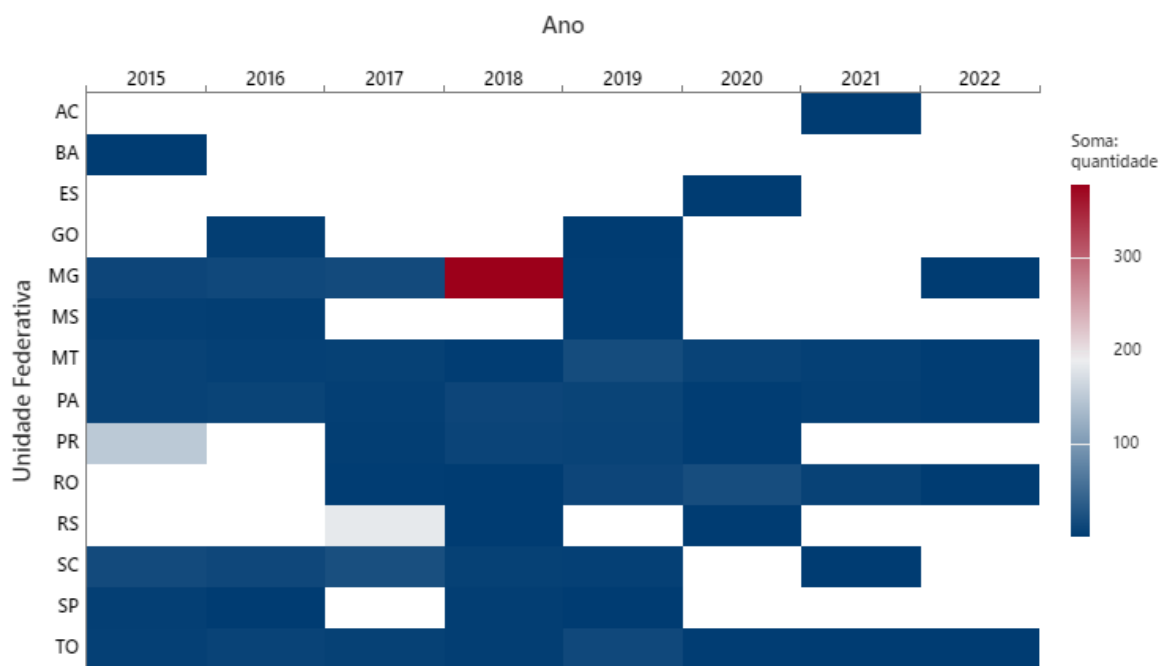


**Figura 31.** Média do total de abates bovinos por mês e ano (janeiro de 2015 a julho de 2022). Dados trabalhados retirados da plataforma SIGSIF (Brasil, 2022a).

A informações acerca dos perfis de diagnóstico e distribuição geográfica dos diagnósticos de tuberculose e leucose enzoótica foram demonstradas nas Figuras 32 e 33, respectivamente. O número absoluto de diagnósticos de tuberculose foi maior nos estados de Minas Gerais e São Paulo, com ênfase no período de 2021-2022, enquanto que o maior número absoluto de diagnósticos de leucose enzoótica partiu do estado de Minas Gerais, no ano de 2018. Não há informações disponíveis sobre as unidades federativas não incluídas ou períodos não contabilizados nas representações gráficas.



**Figura 32.** Total de diagnósticos de tuberculose bovina por unidade federativa e ano (janeiro de 2015 a setembro de 2022). Dados trabalhados retirados da plataforma SIGSIF (Brasil, 2022a).



**Figura 33.** Total de diagnósticos de leucose enzoótica bovina por unidade federativa e ano (janeiro de 2015 a setembro de 2022). Dados trabalhados retirados da plataforma SIGSIF (Brasil, 2022a).



## 6. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo reiteram a importância de trabalhos epidemiológicos e do consórcio de diferentes técnicas diagnósticas para o estudo da patogênese, etiologia e dinâmica de distribuição das doenças que acometem os bovinos. A importância de trabalhos de inspeção e de bancos de dados que contenham informações pertinentes ao abate de bovinos tem sido evidenciada em programas de vigilância e controle de doenças transmitidas por esses animais (Brasil, 2006; Komba *et al.*, 2012; Jaja *et al.*, 2017).

A busca por lesões em linfonodos revela ainda a importância deste órgão como sentinela em muitos dos processos patológicos e oferece diferentes perspectivas para o entendimento da patogênese de diversas doenças (Al-Sadi e Radhi, 1994; Valli *et al.*, 2016). No presente estudo, foram diagnosticadas diversas alterações que reforçam a importância dos linfonodos como sentinelas de vários processos patológicos.

Em termos absolutos, ao considerar o total de abates bovinos em abatedouros certificados pelo serviço oficial de inspeção em todo o Brasil, pode-se observar uma discrepância numérica relativamente alta destes valores se comparados ao total de amostras recebidas no presente estudo. Razões para essa diferença tão marcante estão possivelmente amparadas no fato de que a remessa de material para o Laboratório Federal em questão ocorreu de maneira esporádica, com contribuições pontuais de alguns poucos serviços de abate.

Com base nos dados de distribuição geográfica, que demonstram os municípios de origem das propriedades (Figura 15), é possível constatar que a relativa abrangência de estados e municípios do território nacional parte de uma parcela bastante limitada de serviços frigoríficos (Figura 14), com uma expressiva contribuição para esse efetivo de abatedouros dos municípios de Araguari e Nanuque, no estado de Minas Gerais. Logo, a proximidade geográfica destes e de outros serviços de inspeção mineiros ao LFDA/MG pode ter exercido forte influência no recebimento de amostras oriundas desta região, uma vez que amostras enviadas de localidades mais distantes envolvem maior tempo entre o envio e o diagnóstico e maiores custos atrelados ao transporte. Outro fator que possivelmente impactou negativamente no recebimento de amostras deste estudo inclui o início relativamente recente das atividades laboratoriais em patologia animal do LPV-LFDA/MG, fundado em 2015, o que justifica a grande instabilidade no recebimento de casos no período entre 2015-2018.

Com base na análise de padrão temporal do total de amostras referente aos meses do ano (Figura 13), é possível observar um destaque para os meses de julho e novembro, período de inverno e verão, respectivamente. É ainda provável que os valores da média mensal de amostras recebidas em novembro tivessem sido ainda maiores caso esse mês fosse contabilizado no último ano do estudo. Embora não tenha sido possível determinar se a maior amplitude térmica destes períodos possa ter influenciado no aparecimento de determinadas doenças, animais criados à pasto são mais susceptíveis às variações climáticas e, conseqüentemente, à fatores de risco relacionados ao clima, como a imunossupressão por condições climáticas adversas (Burgelt *et al.*, 2017). Com base em dados retirados da PGA-SIGSIF foi ainda possível constatar que o período de junho a agosto foi também o de maior número de abates bovinos (Figura 31), sendo possível inferir que o maior número de amostras recebidas neste período possa ter sido resultante de um maior número total de abates. A explicação para este cenário, no entanto, pode estar respaldada em mudanças no cenário político internacional de comercialização da carne bovina (variações de mercado), ou mesmo na proximidade de datas comemorativas.

Em vista da grande representatividade dos casos de tuberculose com relação ao total de amostras avaliadas (89,3%, 1.786/2.000) (Tabela 10), conforme demonstrado nas Figuras 16 e 17, em contraste com a Figura 15, os dados de distribuição geográfica foram bastante similares entre municípios de origem de casos de tuberculose e municípios de origem dos casos em geral submetidos à análise. Os casos de tuberculose foram ainda mais frequentes no estado de Minas Gerais, em concordância com o ilustrado no gráfico referente aos diagnósticos de tuberculose extraído do SIGSIF (Figura 32).

Embora não seja possível determinar a razão para estes resultados, uma vez que informações referentes ao tipo de criação não estavam disponíveis, é possível especular que estados onde a pecuária leiteira é amplamente praticada, como em Minas Gerais (IBGE, 2023), há conseqüentemente uma maior quantidade de bovinos criados em regime intensivo ou semi-intensivo, condições favoráveis para a transmissão e propagação da doença (Lombard *et al.*, 2021). É também possível que a relativa proximidade com o Laboratório Federal, localizado no município mineiro de Pedro Leopoldo, possa ter favorecido o envio de amostras por parte de alguns SIFs contribuintes para o LPV-LFDA/MG. É válido lembrar que buscas ativas de casos específicos não foram aqui realizadas, e as amostras recebidas durante o período do estudo foram decorrentes da livre demanda de veterinários do Serviço Oficial. Logo, a não obrigatoriedade da submissão de amostras para o exame histopatológico certamente contribuiu

negativamente para a quantidade de amostras recebidas em todo o estudo. Este aparente viés de seleção é em parte justificado devido ao esforço conjunto do MAPA em salientar a histopatologia como técnica de diagnóstico para a tuberculose, o que não foi necessariamente realizado para a LEB, ou para outros diagnósticos aqui avaliados. De todo modo, estes dados comprovam que o problema da tuberculose é bastante recorrente no território nacional (Belchior, 2000; Baptista *et al.*, 2004; Neves *et al.*, 2017), ainda que valores consideravelmente baixos de prevalência da doença tenham sido descritos em um estudo no Mato Grosso no ano de 2009 (Furlanetto *et al.*, 2012).

Quanto à distribuição geográfica dos casos de leucose enzoótica, houve uma dispersão destes casos por municípios dos estados de Roraima, Mato Grosso, Pará e Maranhão (Figura 18). No entanto, a representatividade destes casos pode não ter sido fidedigna quando comparada com o cenário nacional (Figura 33), uma vez que casos confirmados de leucose enzoótica ocorreram em apenas 0,9% do total de amostras analisadas (Figura 19). No estudo de Silva *et al.* (2016), casos da doença contabilizaram aproximadamente 4% das causas de condenação em um frigorífico paranaense. Em outro estudo, realizado no Rio Grande do Sul, 12% dos 544 casos de lesões de abatedouro avaliadas eram neoplasias, dos quais 28% (18 casos) corresponderam a casos de leucose enzoótica (Tessele e Barros, 2016). No entanto, dados como estes revelam apenas uma pequena fração do total de casos de infecção nos rebanhos bovinos, considerando a vasta prevalência da infecção em rebanhos de todas as regiões do Brasil atestada por métodos sorológicos, em contraste com a baixa proporção de doentes clínicos resultantes da infecção (Pozzatti *et al.*, 2010; Spadetto e Dias, 2013).

O estudo de Mendes *et al.* (2011) alerta ainda sobre a possibilidade de uma disseminação oculta de ambas as doenças em rebanhos leiteiros, onde os animais convivem em proximidade com as pessoas por longos períodos de tempo, explorando sobre os riscos potenciais à saúde pública, em especial atribuídos à tuberculose. Desse modo, o comércio clandestino de carne e leite contaminados pode impactar em riscos reais de transmissão da tuberculose (Abrahão *et al.*, 2005). Dados do Ministério da Saúde demonstram que somente no ano de 2022 houve o diagnóstico de 98.843 casos de tuberculose em pessoas de todo o país, um aumento de 8% se comparado ao ano anterior (Brasil, 2022b), indicando a real gravidade da doença no Brasil.

Quanto ao perfil de acometimento linfático, os valores relativamente baixos das somas das dimensões para os diferentes testes de análise de correspondência múltipla realizados foram possivelmente decorrentes da complexa estrutura dos dados trabalhados, com múltiplas possibilidades de associações e interações entre as categorias das variáveis. Os resultados das

análises de correlação entre sítios linfáticos e grupos diagnósticos (Figura 21) indicaram que houve uma predileção pelos linfonodos da cadeia torácica/respiratória na maioria dos grupos diagnósticos do presente estudo, em especial nas análises de correspondência múltipla dos casos indicativos ou compatíveis com tuberculose (Figura 24), similar ao demonstrado por Neves *et al.* (2017), em um vasto estudo bibliométrico.

Em uma parcela destes animais, no entanto, houve acometimento unicamente de linfonodos hepáticos e linfonodos da cadeia mesentérica, em detrimento de linfonodos torácicos. Não obstante, em alguns destes casos, apenas vísceras abdominais (intestino, baço, fígado, etc.) estiveram concomitantemente afetadas com lesões semelhantes às observadas nos linfonodos da mesma cavidade. Tais achados sustentam a hipótese de que a via alimentar possa ter sido particularmente importante para a infecção nestes animais. Esse conjunto de achados é consistente com o encontrado por Grisi Filho *et al.* (2011), que estudaram 587 amostras de casos suspeitos de tuberculose em 79 abatedouros do estado de São Paulo. Para a ocorrência da transmissão por via oral em casos de tuberculose, é necessária a combinação de diversos fatores, como a manutenção de bacilos viáveis no ambiente (Bhembe *et al.*, 2017) e a ingestão de grandes quantidades de bacilos (Caswell e Williams, 2016).

A via alimentar tem sido apontada como uma das formas menos comuns de transmissão da micobactéria em bovinos (Santos *et al.*, 2021). Sua confirmação sustenta-se na visualização de lesões compatíveis com a infecção no sistema digestivo combinada com a ausência de lesões no sistema respiratório (Menzies e Neill, 2000), visto que casos sistêmicos de tuberculose podem acometer linfonodos distantes do sítio respiratório, confundindo a rota de transmissão (Boes e Durham, 2017). Em bezerros, a ingestão de leite contaminado (via digestiva) é considerada uma importante forma de transmissão (Espejel del Moral *et al.*, 2018), muito embora a aspiração de líquido amniótico (via congênita) contaminado seja igualmente proposta em neonatos que apresentam a forma respiratória da doença (Vural e Tunca, 2001; Ozyigit *et al.*, 2007; Espejel del Moral *et al.*, 2018).

Por outro lado, é ainda possível que bactérias do complexo MAP, causadoras da paratuberculose (doença de Johne), estivessem de fato associadas com as lesões observadas, considerando que este agente é um frequente causador de lesões intestinais em vacas (Uzal *et al.*, 2016; Valli *et al.*, 2016). No entanto, por limitações metodológicas, essa distinção etiológica não foi possível de ser realizada no presente estudo.

Adicionalmente, a ausência de lesões caseonecróticas nos linfonodos do presente estudo permitiu diferenciar linfadenites granulomatosas idiopáticas de casos indicativos de tuberculose, nos quais a visualização de bacilos álcool-ácido resistentes não foi possível.

Na parcela de casos suspeitos de tuberculose submetida a técnicas diagnósticas complementares (qPCR e isolamento bacteriano) (Tabela 14), o exame histológico (BAAR) se mostrou como teste mais eficaz, uma vez que apresentou resultados satisfatórios na vasta maioria dos casos testados, com valores de sensibilidade e especificidade de 96,4% e 50%, respectivamente, quando comparado ao padrão ouro (isolamento bacteriano) realizado nos mesmos casos. Embora o valor de especificidade da histopatologia tenha sido relativamente baixo (Tabela 15), se comparado aos resultados apresentados por Larenas-Muñoz *et al.* (2022), valores de sensibilidade e especificidade em geral para a maioria das técnicas complementares comparadas ao isolamento bacteriano foram semelhantes aos observados por Silva *et al.* (2018). Não obstante, no presente estudo, mais casos foram positivos à histopatologia do que ao próprio isolamento bacteriano. Ademais, em três dos 36 casos analisados não houve qualquer confirmação da suspeita de tuberculose, com resultados negativos para todos os testes avaliados. Sendo assim, em apenas dois casos a confirmação da suspeita prévia não ocorreu por meio da histopatologia.

Para os casos confirmados de leucose enzoótica, houve maior correspondência com linfonodos (atloídiano, pré-crural, ilíaco, inguinal, isquiático e poplíteo) (Figura 26) e órgãos (abomaso, coração, intestino, etc.) (Figura 27) pouco usuais para a maioria das demais condições aqui avaliadas. Possivelmente, tais resultados sustentam o cenário na leucose enzoótica de um acometimento massivo e sistêmico de diferentes órgãos e cadeias linfáticas distantes (Mello *et al.*, 2019), raramente acometidos de maneira conjunta pela maior parte dos demais processos patológicos aqui estudados. Deve-se considerar ainda que sítios linfáticos adicionais, diferentes dos aqui avaliados para quaisquer dos animais do estudo, tenham passado despercebidos durante os trabalhos de inspeção das carcaças nos abatedouros, visto que em muitos casos ocorre uma intensificação do exame nas regiões da cabeça e do tórax (Larenas-Muñoz *et al.*, 2022).

O diagnóstico de linfomas bovinos relacionados ao vírus da leucose enzoótica é bastante desafiador, sendo necessária a associação da PCR ou ELISA com os achados clínicos e histopatológicos, visto que o diagnóstico histológico de linfoma isoladamente não confirma a relação com o retrovírus (Andoh *et al.*, 2020). No presente estudo, os ensaios de qPCR foram ferramentas importantes para comprovar o envolvimento viral nas amostras testadas, muito

embora apenas uma pequena parcela dos casos testados foi necessariamente positiva. Ainda, casos reagentes para os exames moleculares de identificação retroviral não necessariamente correspondem à ocorrência de linfoma de células B, uma vez que o VLEB é capaz de sustentar longos períodos de latência e inatividade (Vernau *et al.* 1992), não excluindo a possibilidade de ocorrer juntamente com outras doenças linfáticas.

Diversos fatores são capazes de influenciar negativamente os resultados da PCR ao utilizar material genético extraído de amostras FFPE, visto que uma menor qualidade ou quantidade absoluta de DNA/RNA são esperadas para essas amostras se comparado ao material extraído de tecidos não fixados (Do, *et al.*, 2015). Isto se deve principalmente aos processos pré-analíticos que antecedem a etapa de extração, tais como a conservação da amostra, o tempo de fixação em formol, a qualidade da parafina, o tempo e as condições de armazenamento dos tecidos parafinados (Arreaza *et al.*, 2016). De igual modo, valores mais altos de Ct são esperados para amostras com material genético extraído de material parafinado, o que se traduz na possibilidade de queda de sensibilidade da técnica (Lehmann e Kreipe, 2001).

No presente estudo, os resultados de Ct dentro do perfil de positividade para o gene ACTB sugerem que a qualidade do DNA da maioria das amostras não foi necessariamente prejudicada pela técnica de extração a partir de tecidos parafinados.

A imunofenotipagem, por outro lado, mostrou-se bastante útil no diagnóstico das neoplasias linfoides, uma vez que a técnica imuno-histoquímica permitiu a diferenciação das populações celulares de linfócitos B e T. Assim, o diagnóstico definitivo ocorreu mesmo em casos onde a confirmação molecular não foi possível. No entanto, o perfil restrito de expressão viral impossibilita a aplicação dessa técnica para a identificação direta do vírus nas células (Gillet *et al.*, 2007). Nessa linha, Andoh *et al.* (2020) desenvolveram uma técnica de hibridização *in situ* para identificação do RNA viral em casos de linfomas bovinos, não realizada no presente estudo por limitações metodológicas.

Adicionalmente, a não reatividade de alguns dos casos para ambos os imunomarcadores testados possivelmente ocorreu devido à baixa qualidade das amostras, especialmente pela fixação inadequada ou fixação prolongada (Ramos-Vara e Miller, 2011). A classificação histológica dos casos de leucose enzoótica ocorreu de maneira similar a outros estudos, nos quais o DLBCL foi também o subtipo mais frequente (Vernau *et al.*, 1992; Panziera *et al.*, 2016).

Sobre os casos de leucose esporádica diagnosticados no presente estudo, a confirmação foi amparada na massiva imunorreatividade para o anticorpo específico para linfócitos T somada à ausência de marcação específica para linfócitos B. A Tabela 11 mostra que alguns destes casos possuíam idade superior ao período típico de apresentação da doença, no entanto, estes mesmos achados foram igualmente descritos em outros estudos, com manifestações da forma sistêmica (Grünberg e Eisenberg, 2013) ou localizada (Guizelini *et al.*, 2019) da doença em animais mais velhos.

Ademais, pode-se inferir que a macroscopia foi bastante assertiva para os casos confirmados de tuberculose e leucose, com altas taxas de sensibilidade e especificidade ao comparar esses diagnósticos com suas respectivas suspeitas macroscópicas. No estudo de França (2013), por outro lado, foi encontrada uma correspondência de 60,6% entre as suspeitas macroscópicas de tuberculose e os diagnósticos histopatológicos de linfadenite granulomatosa. Aqui, embora os valores de sensibilidade e especificidade não tenham sido calculados individualmente para cada uma das demais opções diagnósticas, estes dados denotam a excelência do trabalho dos profissionais do serviço oficial de inspeção do Brasil.

Por sua vez, a histopatologia exerceu um papel crucial na confirmação dos diagnósticos apresentados, uma vez que possibilitou a verificação dos processos patológicos e a confirmação da etiologia na maioria dos casos. No estudo realizado por Larenas-Muñoz *et al.* (2022), foi enfatizada a importância desta técnica diagnóstica no controle e monitoramento da tuberculose bovina ao permitir uma rápida, econômica e fidedigna confirmação quando contrastada com as técnicas de qPCR e bacteriologia, similarmente ao que ocorreu no presente trabalho. Entretanto, vale ressaltar que a importância da histologia reside não apenas na constatação das suspeitas levantadas durante a inspeção pós-morte, mas também no diagnóstico de doenças distintas das quais foram previamente elencadas na lista de diferenciais (Larenas-Muñoz *et al.*, 2022), como visto repetidamente no presente estudo.

Acerca da escolha das áreas de clivagem dos linfonodos, a importância do microambiente lesional foi salientada por Carrisoza-Urbina *et al.* (2019) ao avaliar diferentes estádios de desenvolvimento das lesões granulomatosas em bovinos. No presente trabalho, entretanto, o estadiamento das lesões granulomatosas em casos de suspeita de tuberculose foi inviabilizado, considerando que a clivagem dos casos apresentados à rotina diagnóstica favorecia o processamento de segmentos com lesões mais iniciais, em detrimento de focos extensos de mineralização e necrose, visando maximizar a possibilidade de visualização de bacilos bacterianos intralesionais.

Quanto às neoplasias não linfoides diagnosticadas neste estudo, o carcinoma de células escamosas foi o tipo neoplásico mais frequente. Em muitos destes casos, no entanto, a suspeita macroscópica consistiu de “tuberculose”. Focos de mineralização distrófica intratumoral são frequentes em casos de carcinomas de células escamosas, especialmente quando associados a áreas de necrose. Em certos casos, esse achado pode gerar confusão na interpretação macroscópica, assemelhando-se aos granulomas mineralizados tipicamente encontrados em casos de tuberculose (Lecocq *et al.*, 2012). Ademais, o aspecto macroscópico amarelo e friável nos centros das áreas de proliferação pode ainda mimetizar zonas de necrose de caseificação, outro achado igualmente observado em granulomas de tuberculose, o que também é descrito para casos de adenocarcinoma pulmonar com metástases para linfonodos (Viott *et al.*, 2010). Nos casos de adenocarcinoma pulmonar, a constatação de um padrão histológico semelhante entre a metástase e a neoplasia no sítio pulmonar, além da observação de cobertura ciliar em ambos foram indicativas da origem no epitélio do sistema respiratório inferior no presente estudo.

Em alguns dos casos aqui analisados, a classificação histológica ficou limitada a termos como carcinoma, adenocarcinoma ou sarcoma indiferenciados. A subclassificação histológica desses tipos neoplásicos não foi possível, em parte pelo grau elevado de desdiferenciação celular da metástase linfática, impossibilitando qualquer avanço na subclassificação histológica, mas também devido a carência do histórico clínico-epidemiológico ou de informações complementares durante o processo do abate. A ausência de tecidos complementares [órgão(s) primariamente afetado(s)] também impactou negativamente na precisão diagnóstica em alguns dos casos aqui avaliados. Tal fato remonta a necessidade do suporte imuno-histoquímico, uma vez que marcadores celulares específicos poderiam traduzir a natureza da neoplasia (Ramos-Vara e Borst, 2017).

Acerca das metástases de neoplasias menos comuns, o caso de carcinoide hepático representa um tipo de neoplasia neuroendócrina de origem hepática bastante rara, aqui confirmado devido a disponibilidade do exame do fígado afetado em conjunto. O primeiro caso da neoplasia no Reino Unido foi documentado em 2008, com características anatômicas e histológicas bastante semelhantes às observadas no presente caso (Johnson *et al.*, 2008). Os casos de meningioma e seminoma foram igualmente confirmados pela ocorrência em paralelo das neoplasias nos órgãos primários (espaço retrobulbar e testículo, respectivamente). Um caso de meningioma extracranial foi previamente relatado em 2007 na espécie bovina, contudo o acometimento linfoide não foi noticiado neste relato (Reis *et al.*, 2007).



Os resultados aqui discutidos remetem à importância científica do presente estudo, enfatizando o conjunto de achados patológicos apresentados e as valiosas informações epidemiológicas levantadas. Todavia, o desconhecimento por parte de alguns dos serviços prestados pela rede de laboratórios federais e a carência de programas de interação entre a esfera laboratorial e o serviço de inspeção são alarmantes, uma vez que a atual representatividade do estudo ficou limitada aos poucos serviços de inspeção que contribuíram. A fim de incrementar a relação entre inspetores e laboratoristas, a rede de suporte a abatedouros frigoríficos “*Catalan Slaughterhouse Support Network (SESC)*”, vigorada em 2007 pelo governo Catalão, garante um suporte online para veterinários do serviço oficial de inspeção. O programa de educação continuada trabalha para o incremento das habilidades diagnósticas destes profissionais, mas atua também na alimentação dos bancos de dados governamentais de doenças de notificação, permitindo uma visão abrangente do cenário prático em tempo real, o que favorece a rápida tomada de decisões pela detecção precoce de casos emergentes (Vidal, *et al.*, 2016). A atual relevância e o sucesso de programas como este sustentam os benefícios da sua implementação, particularmente em países com extensa atividade agroindustrial e grandes dimensões territoriais, como o Brasil.

## 7. CONCLUSÃO

- As causas de acometimento linfático incluíram diagnósticos de tuberculose, neoplasias metastáticas, linfadenites idiopáticas, actinogranulomas, linfomas de células B (leucose enzoótica), linfoma de linfócitos T e casos variados de linfadenopatias.
- Casos de tuberculose consistiram de linfadenites granulomatosas com centro caseonecrótico variavelmente mineralizado, enquanto que casos de leucose enzoótica variaram quanto ao subtipo morfológico, com predomínio de linfomas difusos de grandes células B.
- Os principais grupos etiológicos consistiram de doenças bacterianas, relacionadas a mais de 90% das amostras analisadas, dentre as quais o *Mycobacterium bovis* foi o agente mais importante.
- A histopatologia foi suficiente para a confirmação diagnóstica em quase a totalidade dos casos, em especial para casos suspeitos de linfoma e tuberculose. Nestes, a associação de técnicas complementares à histopatologia de rotina, incluindo a histoquímica, imuno-histoquímica, qPCR de tecidos não fixados e parafinados para VLEB e *Mycobacterium* sp., e o isolamento bacteriano para micobactérias, possibilitou uma acurácia diagnóstica ainda maior.
- Casos de tuberculose foram principalmente correlacionados aos municípios do estado de Minas Gerais. Estes casos foram especialmente correlacionados com linfonodos da região torácica e a determinados grupos de linfonodos abdominais (hepáticos e mesentéricos). O pulmão foi o órgão concomitantemente acometido mais correlacionado aos casos de tuberculose. Houve predomínio de suspeitas macroscópicas de “tuberculose” para estes casos. Casos de leucose foram restritos aos estados de Rondônia, Mato Grosso, Pará e Maranhão. Estes casos foram correlacionados a diversos sítios linfáticos e órgãos (abomaso, coração, diafragma, intestino, peritônio e pleura), mas foram especialmente relacionados a linfonodos da região pélvica e inguinal. Houve predomínio de suspeitas macroscópicas de “leucose enzoótica” para estes casos. A idade da maioria dos bovinos com diagnóstico de leucose enzoótica foi superior a três anos. Os SIFs remetentes concentraram-se nas regiões sul e sudeste, principalmente nos municípios de Araguari e Nanuque. Não houve distinção entre as proporções de sexo dos animais para diferentes grupos diagnósticos.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atividades de inspeção frigorífica possuem uma enorme parcela de contribuição socioeconômica e sanitária em todo o território nacional, e reflexos da sua trajetória podem ser notados até os dias de hoje. Contudo, os avanços da atualidade não excluem a possibilidade de melhorias neste serviço. Muito em breve, condutas que garantam maior rigor às atividades de inspeção serão necessárias, possivelmente trazendo maior participação da histopatologia, uma vez que a associação desta com outras técnicas laboratoriais complementares é determinante para o sucesso diagnóstico, especialmente em casos complexos e de grande importância epidemiológica, econômica e zoossanitária, como leucose enzoótica e tuberculose, frente ao atual cenário no qual se envolve o serviço de inspeção em abatedouros frigoríficos, somado à crescente demanda por produtos cárneos e ao grau de exigência cada vez maior por parte do mercado consumidor.

O estudo dos linfonodos provou ser uma etapa fundamental no exame de inspeção, não devendo ser subestimado, uma vez que corresponde a um órgão linfoide de drenagem, comum a processos patológicos diversos. A histopatologia, por sua vez, mostrou-se uma técnica rápida, acessível e confiável, possibilitando não somente a definição dos processos patológicos para a maioria dos casos analisados, mas também a confirmação ou refutação de suspeitas prévias ou diagnósticos diferenciais sequer considerados.

Trabalhos como este ressaltam a importância e a excelência do serviço prestado pelos Laboratórios Federais de Defesa Agropecuária, com ênfase às atividades relacionadas à patologia animal. A boa comunicação entre a propriedade de origem, setor de inspeção e laboratório de apoio também possibilita ganhos no processo diagnóstico, e este conjunto de fatores contribui para consumidores, produtores e veterinários do serviço de inspeção. Portanto, programas de educação continuada precisam ser desenvolvidos e constantemente estimulados, a fim de garantir a qualidade do serviço oficial de inspeção e, em última análise, do produto à mesa do consumidor.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHÃO, R. M. C. M.; NOGUEIRA, P. A.; MALUCELLI, M. I. C. O comércio clandestino de carne e leite no Brasil e o risco da transmissão da tuberculose bovina e de outras doenças ao homem: um problema de saúde pública. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 1-17, 2005. DOI: <https://doi.org/10.5380/AVS.V10I2.4409>. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/O-COM%20C3%89RCIO-CLANDESTINO-DE-CARNE-E-LEITE-NO-BRASIL-E-Abrah%C3%A3o-Nogueira/256bd6bc554643b4bce3ed0cd19f588d2efa37a4>. Acesso em: 25 abril 2023.
- ADILI, N.; MELIZI, M.; BELABBAS, H.; ACHOURI, A. Preliminary study of the influence of red blood cells size on the determinism of the breed in cattle. **Veterinary Medicine International**, v. 429495, p. 1-4, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/429495>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24660089/>. Acesso em: 25 agosto 2022.
- AIDA, Y.; MURAKAMI, H.; TAKAHASHI, M.; TAKESHIMA, S. N. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, n. 209, p. 1-16, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2013.00328>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24265629/>. Acesso em: 18 março 2023.
- ALAGGIO, R.; AMADOR, C.; ANAGNOSTOPOULOS, L. *et al.* The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: lymphoid neoplasms. **Nature**, v. 36, p. 1720-1748, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41375-022-01613-1>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35732831/>. Acesso em: 18 março 2023.
- ALBORZI, A. R.; MOLAYAN, P. H.; AKBARI, M. Prevalence of *Linguatula serrata* nymphs in mesenteric lymph nodes of cattle and buffaloes slaughtered in Ahvaz abattoir, Iran. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 8, n. 2, p. 327-332, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23914248/>. Acesso em: 7 junho 2021.
- AL-SADI, H. I.; RIDHA, A. M. Comparative pathology of the spleen and lymph nodes of apparently normal cattle, sheep and goats at the time of normal slaughter. **Small Ruminant Research**, v. 14, n. 2, p. 167-174, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(94\)90107-4](https://doi.org/10.1016/0921-4488(94)90107-4). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0921448894901074>. Acesso em: 31 julho 2022.
- ANDOH, K.; KIMURA, K.; NISHIMORI, A.; HATAMA, S. Development of an in situ hybridization assay using an AS1 probe for detection of bovine leukemia virus BLV-induced lymphoma tissues. **Archives of Virology**, v. 165, p. 2869-2876, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00705-020-04837-7>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33040308/>. Acesso em: 15 outubro 2022.

ARREAZA, G.; QIU, P.; PANG, L.; ALBRIGHT, A.; HONG, L. Z.; MARTON, M. J.; LEVITAN, D. Pre-analytical considerations for successful next-generation sequencing (NGS): Challenges and opportunities for formalin-fixed and paraffin-embedded tumor tissue (FFPE) samples. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 1579, p. 1-8, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17091579>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27657050/>. Acesso em: 13 abril 2022.

ARTHUR, T.; BRICHTA-HARHAY, D.; BOSILEVAC, J.; GUERINI, M.; KALCHAYANAND, N.; WELLS, J.; SHACKELFORD, S.; WHEELER, T.; KOOHMARAIE, M. Prevalence and characterization of Salmonella in bovine lymph nodes potentially destined for use in ground beef. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 8, p. 1685-1688, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x-71.8.1685>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18724765/>. Acesso em: 26 julho 2022.

ATTLEBERGER, M. H.; SEIBOLD, H. R. Egress of Listeria infection of bovine mesenteric lymph nodes. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 128, p. 202-204, 1956. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/iai.00064-23>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36916918/>. Acesso em: 17 agosto 2022.

AZIZI, H.; NOURANI, H.; MORADI, A. Infestation and pathological lesions of some lymph nodes induced by *Linguatula serrata* nymphs in sheep slaughtered in Shahrekord Area (Southwest Iran). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 7, p. 574-578, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.04.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169115000908>. Acesso em: 7 junho 2021.

BAPTISTA, F.; MOREIRA, E. C.; SANTOS, W. L. M.; NAVEDA, L. A. B. Prevalência da tuberculose em bovinos abatidos em Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 5, p. 1-4, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352004000500002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/hzhSWMZCyfs93KrQqW4rJBc/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 25 abril 2023.

BARTELLA, R. G.; STEFFEN, D. J. Mycobacteria. In: McVey, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M.; WILKES, R. **Veterinary Microbiology**. 4. ed. Wiley-Blackwell, 2022. P. 345-347.

BELCHIOR, Ana Paula Cunha. **Prevalência, distribuição regional e fatores de risco da tuberculose bovina em Minas Gerais**. Orientador: Romulo Cerqueira Leite. 2000. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

BEYTUT, E.; ŞAHİN, M.; ERGINSOY, S.; SÖZMEN, M. Pathological, immunohistochemical, and bacteriological findings in the mammary glands and supramammary lymph nodes of cows with a history of abortion due to *Brucella abortus*. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, v. 33, n. 1, p. 37-43, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.3906/vet-0705-12>. Disponível em: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol33/iss1/6/>. Acesso em: 23 abril 2022.

BHEMBE, N. L.; JAJA, I. F.; NWODO, U. U.; OKOH, A. I.; GREEN, E. Prevalence of tuberculous lymphadenitis in slaughtered cattle in Eastern Cape, South Africa. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 61, p. 27-37, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2017.05.005>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28552545/>. Acesso em: 1 agosto 2021.

BIELANSKI, A.; ALGIRE, J.; LALONDE, A.; NADIN-DAVIS, S. Transmission of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) via in vitro-fertilized embryos to recipients, but not to their offspring. **Theriogenology**, v. 71, n. 3, p. 499-508, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.08.015>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18834622/>. Acesso em: 5 agosto 2022.

BOES, K. M.; DURHAM, A. C. Bone marrow, blood cells, and the lymphoid/lymphatic system. In: Zachary, J. F. (Ed.) **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 6. ed. Missouri: Elsevier, 2017. P. 724-804.

BOURRY, A.; POUTREL, B.; ROCOURT, J. Bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*: characteristics of natural and experimental infections. **Journal of Medical Microbiology**, v. 43, p. 125-132, 1995. DOI: <http://dx.doi.org/10.1099/00222615-43-2-125>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7629852/>. Acesso em: 17 fevereiro 2022.

BRASIL. Brasília. **Lei nº 1.283, 18 dez. 1950**. Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/LEIS/L1283.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L1283.htm). Acesso em: 5 novembro 2021.

BRASIL. Brasília. **Lei nº 5.517, 23 out. 1968**. Dispõe sobre o exercício da profissão de médico-veterinário e cria os Conselhos Federal e Regionais de Medicina Veterinária. Diário Oficial, Brasília, 25 out. 1968. Seção 1, p. 9401. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/15517.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/15517.htm). Acesso em: 11 junho 2021.

BRASIL. Brasília. **Lei nº 5.760, 3 dez. 1971**. Dispõe sobre a inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal e dá outras providências. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/1970-1979/15760.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/1970-1979/15760.htm). Acesso em: 5 novembro 2021.

BRASIL. Brasília. **Lei nº 7.889, 23 nov. 1989**. Dispõe sobre inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal, e dá outras providências. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l7889.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7889.htm). Acesso em: 5 novembro 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Indústria e Comércio. **Decreto nº 11.462, 27 jan. 1915**. Approva o regulamento para reger o serviço de inspeção das fabricas de productos animaes, a cargo do Ministerio da Agricultura, Industria e Commercio. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1910-1919/decreto-11462-27-janeiro-1915-512840-publicacaooriginal-1-pe.html>. Acesso em: 5 novembro 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 9.013, 29 mar. 2017a**. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produto de Origem Animal. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2015-2018/2017/decreto/d9013.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2017/decreto/d9013.htm). Acesso em: 11 junho 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 10.468, 18 ago. 2020**. Altera o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/decreto-n-10.468-de-18-de-agosto-de-2020-272981604>. Acesso em: 5 novembro 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Inspeção de Carnes Bovina: padronização de técnicas, instalações e equipamentos**. Brasília, 2007. Disponível em: <https://selecon.com.br/wp-content/uploads/2021/06/Manual-de-Inspecao-de-Carnes-%E2%80%93-BOVINA.pdf>. Acesso em: 22 novembro 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa SDA nº 10, de 3 de março de 2017b, que aprova o regulamento técnico do PNCEBT**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pncebt/principais-normas-pncebt/in-10-de-3-de-marco-de-2017-aprova-o-regulamento-tecnico-do-pncebt.pdf/view>. Acesso em: 16 março 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 50, 24 de set. 2013**. Lista de Doenças de Notificação Obrigatória ao Serviço Veterinário Oficial. Diário Oficial, Brasília, 25 set. 2013. Seção 1, p.47. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/arquivos-das-publicacoes-de-saude-animal/Listadoenocasanimaistenotificacaoobrigatoria.pdf>. Acesso em: 16 março 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plataforma de Gestão Agropecuária – SIGSIF**. Brasília: MAPA, 2022a. Disponível em: <https://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/PGA-SIGSIF.html>. Acesso em: 17 abril 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Departamento de Informática do SUS - DATASUS. Informações de Saúde (TABNET)**. Tuberculose - Casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Brasil. Brasília: MS, 2022b. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/tubercbr.def>. Acesso em: 27 abril 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual técnico**. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2006. 184p. Disponível em: [http://novo.crmvms.org.br/wp-content/uploads/2019/10/Manual-do-PNCEBT-Original\\_07565476.pdf](http://novo.crmvms.org.br/wp-content/uploads/2019/10/Manual-do-PNCEBT-Original_07565476.pdf). Acesso em: 11 junho 2021.

BUERGELT, C. D.; CLARK, E. G.; DEL PIERO, F. Diseases of the respiratory system. *In*: BUERGELT, C. D.; CLARK, E. G.; DEL PIERO, F. (Ed.). **Bovine pathology: a text and color atlas**. Massachusetts: CABI, 2017. p. 57-92.

CAMARGOS, M. F.; MELLO, C.B.; LEITE, R. C. *et al.* Frequência de soropositividade para a Leucose Enzoótica ovina em rebanhos de Minas Gerais. **Ciência Veterinária dos Trópicos**, v. 5, n. 1, p. 20-26, 2002. Disponível em: <https://rcvt.org.br/>. Acesso em: 22 junho 2022.

CAMBA, E. B.; ALVES, K. I. R. Principais causas de condenação total de carcaça bovina em abatedouro frigorífico em Minas Gerais. **Revista V&Z em Minas**, n. 145, p. 44-48, 2020. Disponível em: <http://crmvmg.gov.br/RevistaVZ/Revista146.pdf>. Acesso em: 26 agosto 2021.

CASWELL, J. L.; WILLIAMS, K. J. Respiratory system. *In*: Maxie, M. G. (Ed.). **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. Vol. 2. 6. ed. Philadelphia: Elsevier, 2016. P. 547-551.

CHAUBEY, K. K.; SINGH, S. V.; SINGH, S. G. M.; SOHAL, J. S.; KUMAR, N.; SINGH, M. K.; BHATIA, A. K.; DHAMA, K. Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis – an important food borne pathogen of high public health significance with special reference to India: an update. **Veterinary Quarterly**, v. 37, n. 1, p. 282-299, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/01652176.2017.1397301>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01652176.2017.1397301>. Acesso em: 22 janeiro 2023.



CARRISOZA-URBINA, J.; MORALES-SALINAS, E.; BEDOLLA-ALVA, M. A.; Hernández-Pando, R.; Gutiérrez-Pabello, J. A. Atypical granuloma formation in Mycobacterium bovis-infected calves. **PLOS ONE**, v. 14, n. 7, p. 1-17, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218547>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31306432/>. Acesso em: 25 abril 2022.

CONNER, G. H.; LABELLE, J. A.; LANGHAM, R. F.; CRITTENDEN, M. Studies on the Epidemiology of Bovine Leukemia. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 36: p. 383-388, 1966. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18630315/>. Acesso em: 25 setembro 2021.

DALTO, A. C.; BANDARRA, P. M.; PAVARINI, S. P.; BOABAID, F. M.; BITENCOURT, A. N. G.; GOMES, M. P.; CHIES, J.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. E. F. Clinical and pathological insights into Johne's disease in buffaloes. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, p. 1899-1904, 2012. DOI: : <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0154-9>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22528538/>. Acesso em: 4 maio 2023.

DAVIES, J. L.; WARREN, A. L. Diseases of the hematopoietic and hemolymphatic system. *In*: BUERGELT, C. D.; CLARK, E. G.; DEL PIERO, F. (Ed.). **Bovine pathology: a text and color atlas**. Massachusetts: CABI, 2017. p. 261-288.

DEHOOGH, W. Dicumarol toxicity in a herd of Ayrshire cattle fed moldy sweet clover. **The Bovine practitioner**, n. 24, p. 173-175, 1989. DOI: <https://doi.org/10.21423/bovine-vol0no24p173-175>. Disponível em: <https://bovine-ojs-tamu.tdl.org/bovine/index.php/bovine/article/view/2272>. Acesso em: 22 maio 2022.

DIAS, N. L.; JÚNIOR, A. A. F.; RODRIGUES, D. S.; CAMARGOS, M. F. PCR em tempo real para diagnóstico da leucose enzoótica bovina. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1434-1439, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012005000053>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/b8BjgwX3vcfsrFs5RMzWsrG/>. Acesso em: 18 fevereiro 2023.

DO, H.; DOBROVIC, A. Sequence artifacts in DNA from formalin-fixed tissues: Causes and strategies for minimization. **Clinical Chemistry**, v. 61, p. 64-71, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.223040>. Disponível em: <https://academic.oup.com/clinchem/article/61/1/64/5611545>. Acesso em: 13 abril 2022.

DOMINGO, M.; VIDAL, E.; MARCO, A. Pathology of bovine tuberculosis. **Research in Veterinary Science**, v. 97, p. 20-29, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.03.017>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24731532/>. Acesso em: 15 abril 2022.

DRIEMEIER, D.; BARROS, S. S.; PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; BRITO, M. F. Estudos histológico, histoquímico e ultra-estrutural de fígados e linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos (foam cells). **Pesquisa veterinária Brasileira**, v. 18, n. 1, p. 29-34, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X1998000100005>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/h44CyZvtDZjpqfxpjX5KrQC/>. Acesso em: 2 janeiro 2022.

DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. E. F.; GOMES, M. J. P.; CORBELLINI, L. G.; LORETTI, A. P.; COLODEL, E. M. Aspectos clínicos e patológicos da paratuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, n. 3/4, p. 109-115, 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/BvCvdsjpLc3CkxSsdb9mBWS/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 4 maio 2023.

DURHAM, A. C.; PILLITTERI, C. A.; SAN MYINT, M.; VALLI, V. E. Two hundred three cases of equine lymphoma classified according to the World Health Organization (WHO) classification criteria. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 1, p. 86-93, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0300985812451603>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22700849/>. Acesso em: 23 fevereiro 2023.

ELMORE, S. A. Histopathology of the lymph nodes. **Toxicologic Pathology**, v. 34, p. 425-454, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/01926230600964722>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17067938/>. Acesso em: 25 março 2022.

ESPEJEL, M. C; DEL RIO, J. C.; MEDRANO, A.; SANTILLAN, M. A.; MORALLES, J. F. Congenital tuberculosis in a 25-day-old female calf. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Science**, v. 42, p. 135-138, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.3906/vet-1710-41>. Disponível em: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol42/iss2/6/>. Acesso em: 13 abril 2022.

EU. **Reglamento Delegado (ue) 2020/689 de la Comisión de 17 de diciembre de 2019 por el que se completa el Reglamento (UE) 2016/429 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo referente a las normas de vigilancia, los programas de erradicación y el estatus libre de enfermedad con respecto a determinadas enfermedades de la lista y enfermedades emergentes**. Diario Oficial de la Unión Europea, 2020. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=CELEX:32020R0689>. Acesso em: 22 agosto 2021.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Technical Guidance Principles of Risk-Based Meat Inspection and their Application**. Italy, Rome: 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/3/ca5465en/CA5465EN.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2021.

FERRER, J. F.; MARSHAK, R. R.; ABT, D. A.; KENYON, S. J. Persistent lymphocytosis in cattle: its cause, nature and relation to lymphosarcoma. **Annales de Recherches vétérinaires**, v. 9, p. 851-857, 1978. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/224787/>. Acesso em: 15 julho 2021.

FIGHERA, R. A. Sistema tegumentar. *In*: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023. p. 393-395.

FRANÇA, Leonardo Rosa. **Diagnóstico anatomopatológico e histológico de lesões macroscópicas**. Orientador: Robson Bahia Cerqueira. 2013. Dissertação (Mestrado em Defesa Agropecuária) - Centro de ciências agrárias, ambientais e biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2013.

FULLER, C. L.; FLYNN, J. L.; REINHART, T. A. In situ study of abundant expression of proinflammatory chemokines and cytokines in pulmonary granulomas that develop in cynomolgus macaques experimentally infected with Mycobacterium tuberculosis. **Infection and Immunity**, v. 71, p. 7023-7034, 2003. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.71.12.7023-7034.2003>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14638792/>. Acesso em: 23 março 2023.

FURLANETTO, L. V.; FIGUEIREDO, E. E. S.; CONTE JÚNIOR, C. A.; SILVA, F. G. S.; DUARTE, R. S.; SILVA, J. T.; LILENBAUM, W.; PASCHOALIN, V. M. F. Prevalência de tuberculose bovina em animais e rebanhos abatidos em 2009 no estado de Mato Grosso, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 2, p. 1-7, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000200004>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/BnQtKNjn9PXtVtpHv7DXzNL/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 25 abril 2023.

GARCÍA-JÍMENEZ, W. L.; SALGUERO, F. J.; FERNÁNDEZ-LLARIO, P.; MARTÍNEZ, R.; RISCO, D.; GOUGH, J.; ORTIZ-PELÁEZ, A.; HERMOSO-DE-MENDONZA, J.; GÓMEZ, L. Immunopathology of granulomas produced by Mycobacterium bovis in naturally infected wild boar. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 156, p. 54-63, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.09.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242713002560>. Acesso em: 22 maio 2022.

GARTNER, L. P. Sistema imunológico (tecido linfóide). *In*: GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. (Ed.). **Tratado de histologia em cores**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 279-308.

GILLET, N.; FLORINS, A.; BOXUS, M.; BURTEAU, C.; NIGRO, A.; VANDERMEERS, F.; BALON, H.; BOUZAR, A.B.; DEFOICHE, J.; BURNY, A.; REICHERT, M.; KETTMAN, R.; WILLEMS, L. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia

virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. **Retrovirology**, v. 4, n. 18, p. 1-32, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1742-4690-4-18>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17362524/>. Acesso em: 15 outubro 2022.

GITTER, M.; BRADLEY, R.; BLAMPIED, P. H. Listeria monocytogenes infection in bovine mastitis. **Veterinary Record**, v. 107, p. 390-393, 1980. DOI: <https://doi.org/10.1136/VR.107.17.390>. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Listeria-monocytogenes-infection-in-bovine-mastitis-Gitter-Bradley/0c36ac2b48cc84ef3c1293fe5a70bd8e536bae19>. Acesso em: 13 abril 2022.

GONG, Q. L.; CHEN, Y.; TIAN, T.; WEN, X.; LI, D., SONG, Y. H.; WANG, Q.; DU, R.; ZHANG, X. X. Prevalence of bovine tuberculosis in dairy cattle in China during 2010–2019: a systematic review and meta-analysis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 6, p. 1-20, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0009502>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34138867/>. Acesso em: 22 janeiro 2022.

GRIMSHAW, W. W. T.; WISEMAN, A.; PETRIE, L.; SELMAN, I. E. Bovine leucosis (lymphosarcoma): a clinical study of 60 pathologically confirmed cases. **Veterinary Record**, v. 105, p. 267-272, 1979. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/vr.105.12.267>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/583184/>. Acesso em: 17 fevereiro 2022.

GRISI FILHO, J. H. H.; ROSALES, C. A. R.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA NETO, J. S. Análise epidemiológica das condenações de bovinos por tuberculose em abatedouros do estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 2, p. 175-81, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657v78p1752011>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/mvXWHsSKKBRmgpzLSMgZWSj/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 25 abril 2023.

GRISPOLDI, L.; KARAMA, M.; HADJICHARALAMBOUS, C.; STEFANI, F.; VENTURA, G.; CECCARELLI, M.; REVOLTELLA, M.; SECHI, P.; CROTTI, C.; D'INNOCENZO, A.; COUTO-CONTRERAS, G.; CENCI-GOGA, B. Bovine lymph nodes as a source of Escherichia coli contamination of the meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 331:108715, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108715>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160520302099#:~:text=There%20is%20a%20relationship%20between%20the%20animals%27%20age,of%20carcass%20faecal%20contamination%20during%20the%20slaughter%20process>. Acesso em: 8 janeiro 2022.

GRÜNBERG, W.; EISENBERG, S. W. F. Atypical form of sporadic bovine leukosis (SBL) in the Netherlands. **Veterinary Record**, v. 173, n. 16, p. 398-398, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.101885>. Disponível em: <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1136/vr.101885>. Acesso em: 22 abril 2022.

GUIZELINI, C. C.; PUPIN, R. C.; BARROS, C. S. L.; PAVARINI, S. P. P.; GOMES, D. C. Peripheral T-Cell Lymphoma in the Oral Cavity of a Cow. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. 415, p. 1-4, 2019. Disponível em: [https://www.ufrgs.br/actavet/47-suple-1/CR\\_415.pdf](https://www.ufrgs.br/actavet/47-suple-1/CR_415.pdf). Acesso em: 30 abril 2023.

HAFNER, S.; BROWN, C. C.; ZHANG, J. Green Algal Peritonitis in 2 Cows. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 2, p. 256-259, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300985812450722>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22688588/#:~:text=Peritonitis%20due%20to%20infections%20with%20green%20algae%20was,similar%20to%20those%20previously%20associated%20with%20bovine%20lymphadenitis>. Acesso em: 15 outubro 2021.

HASHEMNIA, M.; REZAEI, F.; SAYADPOUR, M.; SHAHBAZI, Y. Prevalence of *Linguatula serrata* nymphs and pathological lesions of infected mesenteric lymph nodes among ruminants in Kermanshah, western Iran. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 21, n. 1, p. 94-102, 2018. DOI: <https://doi.org/10.15547/BJVM.1045>. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Prevalence-of-Linguatula-serrata-nymphs-and-lesions-Hashemnia-Rezaei/93ed153c734ae43234226be66178e2ad41b0264c>. Acesso em: 22 junho 2021.

HERENDA, D.; DUKES, T. W. Lymphoreticular lesions in beef cattle at an Ontario abattoir. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 29, p. 730-734, 1988. Disponível em: <https://europepmc.org/article/PMC/PMC1680839>. Acesso em: 13 julho 2021.

HERENDA, D. CHAMBERS, P. G.; ETTRIQUI, A. *et al.* Manual on meat inspection for developing countries. **Food and Agriculture Organisation (FAO) of the United Nations**. Italy, Rome: 1994. Disponível em: <https://www.fao.org/3/t0756e/t0756e00.htm>. Acesso em: 22 abril 2022.

HERNANDEZ-JARGUÍN, A. M.; MARTÍNEZ-BURNES, J.; MOLINA-SALINAS, G. M.; CRUZ-HERNANDEZ, N. I.; PALOMARES-RANGEL, J. L.; MAYAGOITIA, A. L.; BARRIOS-GARCÍA, H. B. Isolation and histopathological changes associated with non-tuberculous mycobacteria in lymph nodes condemned at a bovine slaughterhouse. **Veterinary Sciences**, v. 7, n. 172, p. 1-10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci7040172>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2306-7381/7/4/172>. Acesso em: 18 fevereiro 2022.

ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. **Virus taxonomy**. 2020. Disponível em: [https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode\\_id=202104998](https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202104998). Acesso em: 8 agosto 2021.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Municipal – Efetivo de rebanhos, por tipo (cabeças), 2021**. 2021. Disponível em: [https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?utm\\_source=landing&utm\\_medium=explica&utm\\_campaign=producao\\_agropecuaria](https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?utm_source=landing&utm_medium=explica&utm_campaign=producao_agropecuaria). Acesso em: 16 maio 2023.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Trimestral do Leite - 4º trimestre 2022**. 2023. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/leite>. Acesso em: 02 maio 2023.

ISSA, SOARES FILHO, P. M.; FONSECA JÚNIOR, A. A.; HODONA, M. A.; SANTOS, L. C.; REIS, J. K. P.; LEITE, R. C. Comparative study of *Mycobacterium bovis* primary isolation methods. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, p. 139-144, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.07.026>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27818094/>. Acesso em: 31 janeiro 2022.

IIZUKA, A.; HARITANI, M.; SHIONO, M.; SATO, M.; FUKUDA, O.; HAGIWARA, A.; MIYAZAKI, S.; TANIMURA, N.; KIMURA, K.; NAKAZAWA, K.; KOBAYASHI, M.; TAKAHASHI, T.; SAITO, T.; FUKAI, K. An outbreak of systemic granulomatous disease in cows with high milk yields. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 67, n. 7, p. 693-699, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1292/jvms.67.693>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16082117/>. Acesso em: 23 março 2022.

JAJA, I. F.; MUSHONGA, B.; GREEN, E.; MUCHENJE, V. A quantitative assessment of causes of bovine liver condemnation and its implication for food security in Eastern Cape Province South Africa. **Sustainability**, v. 9, n. 736, p. 1-13, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/su9050736>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/9/5/736>. Acesso em: 13 julho 2022.

JENSEN, H. E.; AALBAEK, B.; BLOCH, B.; HUDA, A. Bovine mammary protothecosis due to *Prototheca sopfii*. **Medical Mycology**, v. 36, p. 89-95, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9776819/>. Acesso em: 10 maio 2022.

JENSEN, H. E.; OLSEN, S. N.; AALBAEK, B. Gastrointestinal aspergillosis and zygomycosis of cattle. **Veterinary Pathology**, v. 31, p. 28-36, 1994. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/030098589403100104>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8140723/>. Acesso em: 10 março 2023.

JENSEN, H. E.; SCHONHEYDER, H.; JORGENSEN, J. B. Intestinal and pulmonary mycotic lymphadenitis in cattle. **Journal of Comparative Pathology**, v. 102, p. 345-355, 1990. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(08\)80023-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(08)80023-0). Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997508800230>. Acesso em: 10 março 2023.

JOHNSON, L. K.; LIEBANA, E.; NUNEZ, A.; SPENCER, Y.; CLIFTON-HADLEY, R.; JAHANS, K.; WARD, A.; BARLOW, A.; DELAHAY, R. Histological observations of bovine tuberculosis in lung and lymph node tissues from British deer. **The Veterinary Journal**, v. 175, p. 409-412, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.04.021>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17584504/>. Acesso em: 12 março 2023.

JOHNSON, L. K.; NUNEZ, A.; BRACEGIRDLE, J. R.; DWYER, J. R.; KONOLD, T. Neuroendocrine carcinoma of the liver and gallbladder in a cow. **Journal of Comparative Pathology**, v. 138, n. 2-3, p. 165-168, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.11.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997507001685#fig4>. Acesso em: 30 abril 2023.

JÚNIOR, A. A. F.; FERREIRA, L. R.; LAGUARDIA-NASCIMENTO, M.; JÚNIOR, A. V. R.; BUENO, B. L.; REIS, J. K. P.; CAMARGOS, M. F. Evaluation of three different genomic regions for detection of bovine leukemia virus by real-time PCR. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 2483-2488, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s42770-021-00613-0>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34595727/>. Acesso em: 22 abril 2021.

KOMBA, E. V. G.; KOMBA, E. V.; MKUPASI, E. M.; MBYUZI, A. O.; MSHAMU, S.; MZULA, A.; LUWUMBA, D. Sanitary practices and occurrence of zoonotic conditions in cattle at slaughter in Morogoro Municipality, Tanzania: Implications for public health. **Tanzania Journal of Health Research**, v. 14, n. 2, p. 1-12, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/thrb.v14i2.6>. Disponível em: <https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/63516/1/th12021.pdf>. Acesso em: 24 dezembro 2022.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. Sistema imune e órgãos linfáticos (organa lymphopoetica). In: KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011, p. 495-508.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. **Robbins e Cotran – Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1480p.

LARENAS-MUÑOZ, F.; SÁNCHEZ-CARVAJAL, J. M.; GALÁN-RELAÑO, Á.; RUEDAS-TORRES, I.; VERA-SALMORAL, E.; GÓMEZ-GASCÓN, L.; MALDONADO, A.; CARRASCO, L.; TARRADAS, C.; LUQUE, I.; RODRÍGUEZ-GÓMEZ, I. M.; GÓMEZ-LAGUNA, J. The role of histopathology as a complementary diagnostic tool in the monitoring of bovine tuberculosis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9:816190, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.816190>. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2022.816190/full#:~:text=Histopathology%20has%20the%20advantage%20to%20identify%20and%20categorize,to%20shorten%20the%20time%20to%20disclose%20positive%20animals>. Acesso em: 2 janeiro 2023.

LECOCQ, C.; ZURITA, P.; QUEZADA, M.; MUNÓZ, D. Squamous cell carcinoma in a mandibular lymph node diagnosed as bovine tuberculosis during slaughterhouse inspection. **Archivos de Medicina Veterinaria**, 44, n. 2, 173-177, 2012. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20123298536>. Acesso em: 30 abril 2023.

LEHMANN, U.; KREIPE, H. Real-Time PCR Analysis of DNA and RNA Extracted from Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded Biopsies. **Methods**, v. 25, p. 409-418, 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/meth.2001.1263>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11846610/>. Acesso em: 13 abril 2022.

LFDA. Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais. **MET/DDB/PL/016**. Detecção de *Mycobacterium bovis* ou micobactérias do Complexo *M. Tuberculosis* em amostras com lesões sugestivas de tuberculose por PCR em tempo real. Pedro Leopoldo, 2022. 10 p.

LOMBARD, J. E.; PATTON, E. A.; GIBBONS-BURGENER, S. N.; KLOS, R. F.; TANSKERSTEN, J. L.; CARLSON, B. W.; KELLER, S. J.; PRITSCHET, D. J.; ROLLO, S.; DUTCHER, T. V.; YOUNG, C. A.; HENCH, W. C.; THACKER, T. C.; PEREA, C.; LEHMKUHL, A. D.; ROBBE-AUSTERMAN, S. Human-to-cattle *Mycobacterium tuberculosis* complex transmission in the United States. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, n. 691192, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.691192>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2021.691192/full>. Acesso em: 02 maio 2023.

LUNA, L.G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3.ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258p.

MANRIQUE-AYALA, H. D.; FILHO, E. S.; SOUZA, A. J. S.; ROLIM FILHO, S. T.; GARCIA, O. S.; VALE, W.; PEREIRA, W. Anatomopathological and immunohistochemical findings of natural *Brucella abortus* infection in buffalo uterin and peri-vaginal lymph nodes. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. 1-9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/RSD-V10I3.13038>. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Anatomopathological-and-immunohistochemical-of-in-Ayala-Filho/23ac7bbfca8d1a0f5fd823b63a70eb947f460fc2>. Acesso em: 22 outubro 2022.

MARSHAK, R. R.; CORIELL, L. L.; LAWRENCE, W. C.; CROSHAW, J. E.; SCHRYVER, H. F.; ALTERA, K. P.; NICHOLS, W. W. Studies on bovine lymphosarcoma. Clinical aspects, pathological alterations, and herd studies. **Cancer Research**, v. 22, p. 202-



217, 1962. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/22/2/202/474905/Studies-on-Bovine-LymphosarcomaI-Clinical-Aspects>. Acesso em: 14 março 2022.

MATHEWOS, M.; FESSEHA, H. Cytopathological and bacteriological studies on caseous lymphadenitis in cattle slaughtered at Bishoftu municipal abattoir, Ethiopia. **Veterinary Medicine and Science**, v. 8, p. 1211-1218, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/vms3.744>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35120279/>. Acesso em: 25 fevereiro 2023.

MELLO, L. S.; PANZIERA, W.; BANDINELLI, M. B.; SONNE, L.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S. P. Clinical and pathological aspects of bovine lymphoma affecting the spinal cord. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 1, p. 32-39, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6122>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/RkvwVXG9NLYPWY9BpXTJ3gC/>. Acesso em: 22 março 2022.

MENDES, E. I.; MELO, L. E. H.; TENÓRIO, T. G. S.; SÁ, L. M.; SOUTO, R. J. C.; FERNANDES, A. C. C.; SANDES, H. M. M.; SILVA, T. I. B. Intercorrência entre leucose enzootica e tuberculose em bovinos leiteiros do estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 1, p. 1-8, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v78p0012011>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/NfJvFqN5Wc97CQgTST7wMDy/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 25 abril 2023.

MENIN, A.; FLEITH, R.; RECK, C.; MARLOW, M.; FERNANDES, P.; PILATI, C.; BÁFICA, A. Asymptomatic Cattle Naturally Infected with *Mycobacterium bovis* Present Exacerbated Tissue Pathology and Bacterial Dissemination. **PLOS ONE**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0053884>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23326525/>. Acesso em: 10 janeiro 2022.

MENZIES, F. D.; NEILL, S. D. Cattle-to-cattle transmission of bovine tuberculosis. **The Veterinary Journal**, v. 160, p. 92-106, 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/tvjl.2000.0482>. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1090023300904829?token=F3780291D6421814037177B7D3677A41F5D517C22F3F5C3D5E7315679DEEB0300249658D8523693C894485134B250B59&originRegion=us-east-1&originCreation=20230426135857>. Acesso em: 26 abril 2023.

MIGAKI, G.; GARNER, F. M.; IMES, G. D. Bovine protothecosis: a report of three cases. **Veterinary Pathology**, v. 6, p. 444-453, 1969. DOI: <https://doi.org/10.1177/030098586900600508>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/030098586900600508>. Acesso em: 18 fevereiro 2023.

MIGGIANO, R.; RIZZI, M.; FERRARIS, D. M. Mycobacterium tuberculosis Pathogenesis, Infection Prevention and Treatment. **Pathogens**, v. 9, n. 385, p. 1-4, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens9050385>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7281116/>. Acesso em: 24 março 2023.

MEUTEN, D. J.; MOORE, F. M.; GEORGE, J. W. Mitotic count and the field of view area: time to standardize. **Veterinary Pathology**, v. 53, n. 1, p. 7-9, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0300985815593349>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26712813/>. Acesso em: 28 maio 2022.

MOURA, A.; HODON M. A.; SOARES FILHO, P. M. ISSA, M. A.; OLIVEIRA, A. P. F.; FONSECA JÚNIOR, A. A. Comparison of nine DNA extraction methods for the diagnosis of bovine tuberculosis by real time PCR. **Ciência Rural**, v. 46, n. 7, p. 1223-1228, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20151489>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/frSRdsSSr6TfhqkhBpfGnRj/>. Acesso em: 28 maio 2022.

NEILA, C.; REBOLLADA-MERINO, A.; JUAN, L.; DOMÍNGUEZ, L.; RODRÍGUEZ-BERTOS, A. Extracellular matrix proteins (fibronectin, collagen III, and collagen I) immunoexpression in goat tuberculous granulomas (*Mycobacterium caprae*). **Veterinary Research Communications**, v. 46, p. 1147-1156, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11259-022-09996-3>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36136210/>. Acesso em: 16 fevereiro 2023.

NETO, A. Q. A.; SOUTO, R. J. C.; CAJUEIRO, J. F. P.; MENDONÇA, C. L.; DRIEMEIER, D.; SOUZA, J. C. A.; MENDONÇA, F. S.; AFONSO, J. A. B. Primary pulmonary adenocarcinoma in a cow. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. 377, p. 1-6, 2019. DOI: <https://doi.org/10.22456/1679-9216.90277>. Disponível em: <https://www.seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/90277>. Acesso em: 12 fevereiro 2023.

NEVES, E. D.; MEZALIRA, T. S.; DIAS, E. H.; DOURADO, M. R.; PAULA, M. K.; GUSMAN, C. R.; CAETANO, I. C. S.; BELTRANI, J. M.; OTUTUMI, L. K. Lesões de tuberculose bovina em abatedouros frigoríficos no Brasil: bibliometria. **Jornal Interdisciplinar de Biociências**, v. 2, n. 2, p. 22-27, 2017. Disponível em: <https://revistas.ufpi.br/index.php/jibi/article/view/6171/3801>. Acesso em: 24 abril 2022.

OHSHIMA, K.; SATO, S.; OKADA, K. A pathological study on initial lesions of enzootic bovine leukosis. **The Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 44, p. 249-257, 1982. DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms1939.44.249>. Disponível em: <https://europepmc.org/article/MED/6287072>. Acesso em: 16 maio 2022.

OIE. World Organisation for Animal Health. Enzootic Bovine Leukosis. *In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Ch. 3.4.9, 2018. Disponível em: [https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.04.09\\_EBL.pdf](https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.09_EBL.pdf). Acesso em: 13 fevereiro 2023.

OIE. World Organisation for Animal Health. Control of biological hazards of animal health and public health importance through ante- and post-mortem inspection. Ch. 6.3. **Terrestrial Animal Health Code**. France, Paris: 2019. Disponível em: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahc/current/chapitre\\_control\\_bio\\_hazard.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/current/chapitre_control_bio_hazard.pdf). Acesso em: 11 junho 2021.

OLIVEIRA, L. G. S.; BOABAID, F. M.; KISIELIUS, V.; RASMUSSEN, L. H.; BURONI, F.; LUCAS, M.; SCHILD, C. O.; LOPEZ, F.; MACHADO, M.; RIET-CORREA, F. Hemorrhagic diathesis in cattle due to consumption of *Adiantopsis chlorophylla* (Swartz) Fée (Pteridaceae). **Toxicon**: **X**, v.5, p.1-5, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxcx.2020.100024>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32550580/>. Acesso em: 22 março 2022.

ORTEGA, J.; UZAL, F. A.; WALKER, R.; KINDE, H.; DIAB, S. S.; SHAHRIAR, F.; PAMMA, R.; EIGENHEER, A.; READ, D. H. Zygomycotic Lymphadenitis in Slaughtered Feedlot Cattle. **Veterinary Pathology**, v. 47, n. 1, p. 108-115, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0300985809352975>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20080490/>. Acesso em: 13 fevereiro 2023.

OTTENHOFF, T. H. The knowns and unknowns of the immunopathogenesis of tuberculosis. **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 16, n. 11, p. 1424-1432, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.5588/ijtld.12.0479>. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/232222681\\_The\\_knowns\\_and\\_unknowns\\_of\\_the\\_immunopathogenesis\\_of\\_tuberculosis\\_State\\_of\\_the\\_art](https://www.researchgate.net/publication/232222681_The_knowns_and_unknowns_of_the_immunopathogenesis_of_tuberculosis_State_of_the_art). Acesso em: 24 março 2023.

OZCAN, K.; BEYTUT, E. Pathological investigations on anthracosis in cattle. **Veterinary Record**, v. 149, n. 3, p. 90-92, 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/vr.149.3.90-a>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11497403/>. Acesso em: 19 abril 2022.

OZYIGIT, M. O.; SENTURK, S.; AKKOC, A. Suspected congenital generalized tuberculosis in a newborn calf. **Veterinary Record**, v. 160, p. 370-378, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.160.9.307>. Disponível em: <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1136/vr.160.9.307>. Acesso em: 13 abril 2022.

PAES, A. C.; FRANCO, M. M. J. Tuberculose em animais de produção. *In: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia*. Rio de Janeiro: Roca, 2016. P. 515-518.

PIVA, M. M.; SCHWERTZ, C. I.; HENKER, L. C.; MILLÁN, Y.; MULAS, J. M.; STEDILLE, F. A.; CHRIST, R.; GABRIEL, M. E.; SILVA, T. M. A.; COUTO, C.; CASAGRANDE, R. A.; MEDEIROS, D. S.; MENDES, R. E. Metastatic mammary carcinoma in a cow. **Ciência Rural**, v. 47, n. 7, p. 1-4, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160736>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/4mmZ4Ys4DSbN3GpcXkG99bP/>. Acesso em: 22 abril 2022.

POLAT, M.; TAKESHIMA, S. N.; HOSOMICHI, K.; KIM, J.; MIYASAKA, T.; YAMADA, K.; ARAINGA, M.; MURAKAMI, T.; MATSUMOTO, Y.; DE LA BARRA DIAZ, V.; PANEL, C. J.; GONZÁLEZ, E. T.; KANEMAKI, M.; ONUMA, M.; GIOVAMBATTISTA, G.; AIDA, Y. A new genotype of bovine leukemia virus in South America identified by NGS-based whole genome sequencing and molecular evolutionary genetic analysis. **Retrovirology**, v. 13, n. 4, p. 1-23, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12977-016-0239-z>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26754835/>. Acesso em: 12 fevereiro 2022.

POLAT, M.; TAKESHIMA, S.; AIDA, Y. Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus. **Virology**, v. 14, n. 209, p. 1-16, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12985-017-0876-4>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29096657/>. Acesso em: 26 setembro 2021.

POVEY, R. C.; OSBORNE, A. D. Mammary gland neoplasia in the cow. A Review of the literature and report of a fibrosarcoma. **Veterinary Pathology**, v. 6, p. 502- 512, 1969. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/030098586900600603>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5393727/>. Acesso em: 6 janeiro 2022.

POZZATTI, P. N.; VALENTIM, T. P.; BISSI, B.; CASAGRANDE, F. P.; MARTINS, C. B. Leucose enzoótica bovina: Revisão literária. **PUBVET, Londrina**, v. 4, n. 32, p. 1-10, 2010. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/2480>. Acesso em: 26 abril 2023.

RAHKO, T. The pathology of natural Fasciola hepatica infection in cattle. **Veterinary Pathology**, v. 6, p. 244-256, 1969. DOI: <https://doi.org/10.1177/030098586900600306>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/030098586900600306>. Acesso em: 12 fevereiro 2022.

RAMOS-VARA, D. F.; BORST, L. B. Fundamentals and Applications in Oncology. *In: Meuten, D. J. (Ed.). Tumors in Domestic Animals*. 5. ed. Iowa: John Wiley and Sons, 2017. P. 44-87.

RAMOS, D. F.; SILVA, P. E. A.; DELLAGOSTIN, O. A. Diagnosis of bovine tuberculosis: review of main techniques. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, p. 830–837, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.23613>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26675901/>. Acesso em: 29 agosto 2022.

RAMOS-VARA, J. A.; MILLER, M. A. Immunohistochemical identification of canine melanocytic neoplasms with antibodies to melanocytic antigen PNL2 and tyrosinase: comparison with Melan a. **Veterinary Pathology**, v. 48, p. 443-450, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300985810382095>. Disponível em: [https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985810382095?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985810382095?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed). Acesso em: 29 abril 2023.

REIS JÚNIOR, J. L.; KANAMURA, C. T.; MACHADO, G. M. FRANÇA, R. O.; BORGES, J. R. J.; SANTOS, R. L. Orbital (retrobulbar) meningioma in a simmental cow. **Veterinary Pathology**, v. 44, n. 4, p. 504-507, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1354/vp.44-4-504>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1354/vp.44-4-504>. Acesso em: 30 abril 2023.

REZENDE, M. T. N. P.; KOMATSU, R. S.; ANDRADE, R. B.; REIS, S. L. B.; LEITE, C. R.; ROCHA, S. R.; SAUT, J. P. E.; GUIMARÃES, E. C. Economic losses due to the occurrence of cysticercosis in cattle from cities located in Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, v. 48, n. 12, p. 1-7, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180483>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/fhYWVCS4RQnXYLc8VCJjGqP/>. Acesso em: 22 dezembro 2021.

RIBEIRO, M. G. Enfermidades por *Trueperella (Arcanobacterium) pyogenes*. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. (Ed.), **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016, P. 283-291.

RUA-DOMENECH, R.; GOODCHILD, A. T.; VORDERMEIER, H. M.; HEWINSON, R.G.; CHRISTIANSEN, K. H.; CLIFTON-HADLEY, R.S. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests,  $\gamma$ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. **Research in Veterinary Science**, v. 81, p. 190-210, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2005.11.005>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16513150/>. Acesso em: 22 março 2023.

SALES, M. L.; FONSECA JUNIOR, A. A.; ORZIL, L. ALENCAR, A. P.; HODON, M. A.; SOARES FILHO, P. M.; SILVA, M. R.; LAGE A. P.; HEINEMAN, M. B. Validation of two real-time PCRs targeting the PE-PGRS 20 gene and the region of difference 4 for the characterization of *Mycobacterium bovis* isolates. **Genetics and Molecular Research**, v. 13,

n. 2, p. 4607-4616, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/2014.June.18.3>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25036510/>. Acesso em: 22 março 2023.

SANTOS, I. R.; HENKER, L. C.; BANDINELLI, M. B.; BIANCHI, M. V.; VIELMO, A.; TAUNDE, P. A.; SCHWERTZ, C. I.; KONRADT, G.; VARGAS, T. P.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S. P. Pathology of Gastrointestinal Tuberculosis in Cattle. **Journal of Comparative Pathology**, v. 184, p. 7-11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2021.01.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997521000141>. Acesso em: 26 abril 2023.

SAUNDERS, G. K.; BLODGETT, D. J.; HUTCHINS, T. A.; PRATER, R. M.; ROBERTSON, J. L.; FRIDAY, P. A.; SCARRATT, W. K. Suspected citrus pulp toxicosis in dairy cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 12, p. 269-271, 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/104063870001200314>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10826844/>. Acesso em: 18 novembro 2021.

SCHINKÖTTE, J.; MÖBIUS, P.; KÖHLER, H.; LIEBLER-TENORIO, E. M. Experimental infection of goats with *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis*: a model for comparative tuberculosis research. **Journal of Comparative Pathology**, v. 155, p. 218-230, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2016.06.008>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27426001/>. Acesso em: 2 junho 2022.

SEVERGNINI, A. E.; VILARINHO, R. C.; SANTOS, J.; SANTOS, L. R.; BRANCO, G. C. Tuberculose bovina em frigoríficos sob fiscalização estadual no estado do Rio Grande do Sul nos anos de 2015 a 2017. **Revista Higiene Alimentar**, v. 33, p. 2092-2095, 2019. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-26392>. Acesso em: 21 março 2023.

SILVA, V. L.; GROFF, A. M.; BASSANI, C. A.; PIANHO, C. R. Causas de condenação total de carcaças bovinas em um frigorífico do estado do Paraná. Relato de caso. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 10, n. 4, p. 730-741, 2016. Disponível em: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/365>. Acesso em: 21 março 2023.

SILVA, D. A. V.; SICONELLI, M. J. L.; BÜRGER, K. P.; KEID, L. B. Comparison between tests for tuberculosis diagnosis in slaughtered bovines. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, p. 1-8, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000652016>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/6cG6DWJWst9m84g6jdp3ytc/#>. Acesso em: 23 maio 2023.

SONNE, L.; RAYMUNDO, D. L.; BOABAID, F. M.; WATANABE, T. T. N.; OLIVEIRA, L. G. S.; VAZ JUNIOR, I. S.; DRIEMEIER, D. Achados patológicos e imuno-histoquímicos em bovinos com doença granulomatosa sistêmica pelo consumo de *Vicia villosa* (Leg.

Papilionoideae) no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 307-312, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011000400006>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/r5D3Lp3ddHyfTk6gTtKY8By/>. Acesso em: 28 março 2022.

SOUZA, S. P.; KLEM, M. C. A.; COSTA, K. P.; SILVA, L. F. Principais causas de condenação de fígado bovino em estabelecimento sob Serviço de Inspeção Federal na Zona da Mata mineira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 1054-1061, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9300>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/rjbvHMDVNHGxLFBRXXpdZbs/#:~:text=As%20principais%20patologias%20respons%C3%A1veis%20pelas%20condena%C3%A7%C3%B5es%20de%20f%C3%ADgados,para%20o%20abatedouro%20frigor%C3%ADfico%20quanto%20para%20os%20produtores>. Acesso em: 31 janeiro 2023.

SPADETTO, R. M.; DIAS, A. S. Leucose enzoótica bovina - Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 12, p. 1-12, 2013. Disponível em: [http://www.faeF.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/FZN4O9nalXUHivt\\_2013-6-21-15-46-4.pdf](http://www.faeF.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/FZN4O9nalXUHivt_2013-6-21-15-46-4.pdf). Acesso em: 26 abril 2023.

SWEENEY, R. W.; WHITLOCK, R. H.; ROSENBERGER, A. E. Mycobacterium paratuberculosis cultured from milk and supramammary lymph nodes of infected asymptomatic cows. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, p. 166-171, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.30.1.166-171.1992>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.30.1.166-171.1992>. Acesso em: 25 agosto 2022.

TEIXEIRA, J. V.; SANTOS, R. R. D.; SANTOS, P. C. M. Principais causas de condenação total de carcaças bovinas em um abatedouro frigorífico do município de Boa Esperança – MG. **Revista Higiene Alimentar**, v. 33, p. 2003-2006, 2019. Disponível em: [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/higiene-alimentar/33-\(2019\)-288-289/principais-causas-de-condenacao-total-de-carcacas-bovinas-em-um-abated/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/higiene-alimentar/33-(2019)-288-289/principais-causas-de-condenacao-total-de-carcacas-bovinas-em-um-abated/). Acesso em: 21 março 2023.

TESSELE, B.; BARROS, C. S. L. Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, p. 145-160, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000300002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/jNbpq9ghRwWRtQyLN5fLjSp/>. Acesso em: 23 junho 2021.

TESSELE, B.; BRUM, J. S.; BARROS, C. S. L. Lesões parasitárias encontradas em bovinos abatidos para consumo humano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 873-889, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000700008>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/RtWB9v5jz6m3vLRkRTB4gXS/#:~:text=As%20principais%20condena%C3%A7%C3%B5es%20de%20abatedouros%20de%20bovinos%20descritas,fasciolose%20%28Dutra%20et%20al.%202010%29%2C%20todas%20doen%C3%A7as%20parasit%C3%A1rias>. Acesso em: 23 junho 2021.

TESSELE, B.; MARTINS T. B.; VIELMO, A.; BARROS, C. S. L. Lesões granulomatosas encontradas em bovinos abatidos para consumo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 763-769, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000800010>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/x776745B4LVby6hgTt7K6Ys/#:~:text=Em%20505%20les%C3%B5es%20encontradas%20em%20bovinos%20abatidos%20para,10%20eram%20actinomicose%20e%20seis%20eram%20mastite%20estafiloc%C3%B3cica>. Acesso em: 23 junho 2021.

THOMPSON, H.; TAYLOR, D. J.; PHILBEY, A. W. Fatal mesenteric lymphadenitis in cattle caused by *Listeria monocytogenes*. **Veterinary Record**, v. 164, p. 17-18, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/vr.164.1.17>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19122218/>. Acesso em: 18 agosto 2022.

UZAL, F. A.; PLATNER, B. L.; HOSTETTER, J. M. Alimentary System. In: Maxie, M. G. (Ed.). **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. Vol. 2. 6. ed. Philadelphia: Elsevier, 2016. P. 194-197.

VALLI, V. E.; BIENZLE, D.; MEUTEN, D. J. Tumors of the hemolymphatic system. In: Meuten, D. J. (Ed.). **Tumors in Domestic Animals**. 5. ed. Iowa: John Wiley and Sons, 2017. P. 203-321.

VALLI, V. E.; JACOBS, R. M.; PARODI, A. L.; VERNAU, W.; MOORE, P. F. **Histological Classification of Hematopoietic Tumors of Domestic Animals**. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 2002. 190p.

VALLI, V. E.; KASS, P. H.; MYINT, M. S.; SCOTT, F. Canine lymphomas: association of classification type, disease stage, tumor subtype, mitotic rate, and treatment with survival. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 5, p. 738-748, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0300985813478210>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23444036/>. Acesso em: 28 setembro 2021.

VALLI, V. E.; KIUPEL, M.; BIENZLE, D. Hematopoietic system. In: Maxie, M. G. (Ed.), **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. Vol. 3. 6. ed. Philadelphia: Elsevier, 2016. p.102-268.

VAZ, J. A. M. C.; SENA, E. F. Política sanitária para prevenção e vigilância da encefalopatia espongiforme bovina no Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 15, n. 2, p. 54-66, 2017. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/bvsm/pt/vti-17672>. Acesso em: 15 fevereiro 2022.



VAZQUEZ, P.; GARRIDO, J. M.; MOLINA, E.; GEIJO, M.; GÓMEZ, N. D.; PEREZ, V.; SEVILLA, I. A.; ALONSO-HEARN, M.; CORTES, A.; JUSTE, R. A. Latent infections are the most frequent form of paratuberculosis in slaughtered Friesian cattle. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 4, p. 1049-1060, 2014. DOI:

<http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2014124-5978>. Disponível em:

<https://doaj.org/article/defd4195bed04a3bb93f7316862434c3>. Acesso em: 22 março 2022.

VERNAU, W.; VALLI, V. E.; DUKES, T. W.; JACOBS, R. M.; SHOUKRI, M.; HEENEY, J. L. Classification of 1,198 cases of bovine lymphoma using the National Cancer Institute Working Formulation for human non-Hodgkin's lymphomas. **Veterinary Pathology**, v. 29, n. 3, p. 183-195, 1992. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/030098589202900301>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1621329/>. Acesso em: 25 fevereiro 2023.

VIDAL, E.; TOLOSA, E.; ESPINAR, S.; PÉREZ DE VAL, B.; NOFRARÍAS, M.; ALBA, A.; ALLEPUZ, A.; GRAU-ROMA, L.; LÓPEZ-SORIA, S.; MARTÍNEZ, J.; ABARCA, M. L.; CASTELLÀ, J.; MANTECA, X.; CASANOVA, M. I.; ISIDORO-AYZA, M.; GALINDO-CARDIEL, I.; SOTO, S.; DOLZ, R.; MAJÓ, N.; RAMIS, A.; SEGALÉS, J.; MAS, L.; CHACÓN, C.; PICART, L.; MARCO A.; DOMINGO, M. Six-Year Follow-up of Slaughterhouse Surveillance (2008–2013): The Catalan Slaughterhouse Support Network (SESC). **Veterinary Pathology**, v. 53, n. 3, p. 532-544, 2016. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1177/0300985815593125>. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26169387/>. Acesso em: 15 março 2023.

VIOTT, A. M.; LANGOHR, I. M.; VANNUCCI, F. A.; ALMEIDA, A. P.; LEITE, R. C.; ECCO, R. Adenocarcinoma pulmonar em um bovino. **Ciência Rural**, v. 40, n. 2, p. 484-487, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000014>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/mmHShyy9vSrwCp85dJ7FQcp/?lang=pt#>. Acesso em: 04 maio 2023.

VURAL, S. A.; TUNCA, R. Generalized tuberculosis in a 45 day-old calf. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 108, p. 468-470, 2001. Disponível em:

<https://europepmc.org/article/MED/11765603>. Acesso em: 13 abril 2022.

WANGOO, A.; JOHNSON, L.; GOUGH, J.; INGLUT, S.; HICKS, D.; SPENCER, Y.; HEWINSON, G.; VORDERMEIER, M. Advanced granulomatous lesions in Mycobacterium bovis-infected cattle are associated with increased expression of type I procollagen, gammadelta (WC1+) T cells and CD 68+ cells. **Journal of Comparative Pathology**, v. 133, p. 223-234, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2005.05.001>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16154140/>. Acesso em: 15 junho 2022.

WEBB, H. E.; BRICHTA-HARHAY, D. M.; BRASHEARS, M. M. Salmonella in peripheral lymph nodes of healthy cattle at slaughter. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, n. 2214, p. 1-

10, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02214>. Disponível em: <http://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.02214/full>. Acesso em: 4 maio 2022.

WELLS, J. E.; BOSILEVAC, J. M.; KALCHAYANAND, N.; ARTHUR, T. M.; SHACKELFORD, T. L.; WHEELER, T. L.; KOOHMARIE, M. Prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in ileocecal lymph nodes and on hides and carcasses from cull cows and fed cattle at commercial beef processing plants in the United States. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 1457-1462, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x-72.7.1457>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19681269/>. Acesso em: 23 agosto 2022.

WINTER, P.; SCHILCHER, F.; BAGO, Z.; SCHODER, D.; EGERBACHER, M.; BAUMGARTNER, W.; WAGNER, M. Clinical and histopathological aspects of naturally occurring mastitis caused by *Listeria monocytogenes* in cattle and ewes. **Journal of Veterinary Medicine Series B**, v. 51, p. 176-179, 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0450.2004.00751.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15228552/>. Acesso em: 23 julho 2022.

WRIGHT, B. J.; CONNER, G. H.; LANGHAM, R. F. Detection of early malignant lymphoma in slaughtered cattle. **Cancer Research**, v. 27, n. 1, p. 353-357, 1967. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15228552/>. Acesso em: 29 dezembro 2021.

YOON, S. S.; BAE, Y. C.; LEE, K. H.; HAN, B.; HAN, H. Characteristics of bovine lymphoma caused by bovine leukemia virus infection in Holstein-Friesian dairy cattle in Korea. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 18, n. 5, p. 728-733, 2005. DOI: <https://doi.org/10.5713/AJAS.2005.728>. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Characteristics-of-Bovine-Lymphoma-Caused-by-Bovine-Yoon-Bae/bc00165507c5fbbc321ddbc8dbe8bc70043a031d>. Acesso em: 22 julho 2021.

ZAFRA, R.; BUFFONI, L.; PÉREZ-ECIJA, R. A.; MENDES, R. E.; MARTÍNEZ-MORENO, A.; MARTÍNEZ-MORENO, F. J.; PÉREZ, J. Study of the local immune response to *Fasciola hepatica* in the liver and hepatic lymph nodes of goats immunized with a peptide of the Sm14 antigen. **Research in Veterinary Science**, v.87, p.226-232, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.02.013>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19345386/>. Acesso em: 31 março 2022.

ZANONI, D. S.; CALDERÓN, L. G. R.; CAGNINI, D. Q.; GORINO, A. C.; CHIACCHIO, S. B.; AMORIM, R. L. Pulmonary adenocarcinoma in cattle. **Revista MVZ Córdoba**, v. 19, n. 3, p. 4358-4363, 2014. DOI: <https://doi.org/10.21897/rmvz.97>. Disponível em: <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/97>. Acesso em: 23 janeiro 2022.

## 10. ANEXOS

### Anexo 1. Certificado do protocolo CEUA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Prezado(a):

Esta é uma mensagem automática do sistema Solicite CEUA que indica mudança na situação de uma solicitação.

**Protocolo CEUA:** 222/2021

**Título do projeto:** Achados anatomopatológicos de linfonodos obtidos de bovinos de abatedouro: estudo retrospectivo e prospectivo.

**Finalidade:** Pesquisa

**Pesquisador responsável:** Roselene Ecco

**Unidade:** Escola de Veterinária

**Departamento:** Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária

**Situação atual:** Decisão Final - Aprovado

Aprovado na reunião on-line do dia 13/12/2021. Validade: 13/12/2021 à 12/12/2026

Belo Horizonte, 13/12/2021.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

[https://aplicativos.ufmg.br/solicite\\_ceua/](https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/)

Universidade Federal de Minas Gerais  
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha  
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005  
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil  
Telefone: (31) 3409-4516  
[www.ufmg.br/bioetica/ceua](http://www.ufmg.br/bioetica/ceua) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)

## Anexo 2. Ficha de encaminhamento de amostras (LPV/LFDA-MG)

**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA  
Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/MG  
Divisão Técnica Laboratorial de Biossegurança – DBIO**

<b>Formulário - FOR FOR/LDDV/PL/143 - V.4 - Ficha de encaminhamento de amostras</b>	<b>Página: 1 de 2</b>
---	-----------------------

<b>A. Dados do remetente</b>	
<b>Nome do estabelecimento:</b>	<b>Registro:</b>
<b>Endereço:</b>	
<b>Município/UF:</b>	<b>Telefone: ( )</b>
<b>Correio eletrônico:</b>	
<b>B. Dados do proprietário</b>	
<b>Nome do proprietário:</b>	
<b>Propriedade:</b>	<b>Município/UF:</b>
<b>C. Dados do animal</b>	
<b>Identificação do animal:</b>	
<b>Número do GTA:</b>	
<b>Espécie:</b>	<b>Idade:</b>
<b>Sexo: ( ) Macho ( ) Fêmea</b>	
<b>Raça:</b>	<b>Tipo de exploração: ( ) Leite ( ) Corte ( ) Outra:</b>
<b>O animal foi: ( ) Eutanasiado ( ) Encontrado morto ( ) Abatido (matadouro)</b>	
<b>Dia e hora provável da morte:</b> ____/____/____ às ____:____	<b>Dia e hora da coleta da(s) amostra(s):</b> ____/____/____ às ____:____
<b>Destino da carcaça:</b> ( ) Condenação total ( ) Aproveitamento condicional ( ) Destruição na propriedade ( ) Sequestro	
<b>Havia outras espécies afetadas? ( ) Não ( ) Sim. Quais?</b>	
<b>Nº de animais afetados: doentes (____) mortos (____)</b>	
<b>D. Histórico</b>	
<b>E. Dados da amostra</b>	
<b>Encaminhada ao laboratório: ( ) Resfriada ( ) Congelada ( ) Formol 10%</b>	<b>Nº lacre:</b>
<b>Identificação dos fragmentos e quantidades de peças anatômicas enviadas ao laboratório:</b>	
<b>Responsável pela coleta:</b>	<b>CRMV nº/UF:</b>
<b>F. Observações</b>	

**Anexo 2. Ficha de encaminhamento de amostras (LPV/LFDA-MG) (continuação)**

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA  
Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/MG  
Divisão Técnica Laboratorial de Biossegurança – DBIO

Formulário - FOR

FOR/LDDV/PL/143 - V.4 - Ficha de encaminhamento de amostras

Página: 2 de 2

**ORIENTAÇÕES PARA COLETA E ENVIO DE AMOSTRAS REFRIGERADAS OU CONGELADAS:**

- Coletar fragmentos contendo tecido normal e com lesões de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>, não é necessário enviar o órgão inteiro, colocar o fragmento em um frasco do tipo coleta de urina e identificar com etiqueta cada frasco individualmente qual o tipo de tecido, utilizar frascos diferentes para cada tipo de tecido/órgão.
- Congelar o material e enviar sob refrigeração preferencialmente em embalagem tripla.

**ORIENTAÇÕES PARA COLETA E ENVIO DE AMOSTRAS PARA DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO EM FORMOL A 10%:**

- O preparo da solução de formol a 10% deve ser feita utilizando-se 1 parte de formaldeído 37% e 9 partes de água (por exemplo, para o preparo de 1 litro de formol a 10%, misturar 100 mL de formaldeído 37% em 900 mL de água).
- Em casos de necropsia, a amostra coletada deve ter espessura máxima de 1 cm e superfície ampla. Deve-se colher fragmentos de tecidos do centro da lesão, do limite da mesma com o tecido normal e das áreas aparentemente normais circunvizinhas à lesão, tomando o cuidado de não comprimi-los ou esmagá-los.
- Em casos de biópsia, o tecido deve ser retirado preferencialmente da região de transição entre a área lesada e a área aparentemente normal e ter de 5 a 10 mm de diâmetro. Cuidado para não enviar somente material necrosado, pois o fragmento é muito pequeno e poderá invalidar o resultado final.
- Os tecidos devem ser acondicionados em frascos de boca larga (preferencialmente de plástico) contendo solução de formol a 10%, de modo que os mesmos fiquem na proporção de 1 volume de material (tecido ou órgão) para 9 ou mais volumes de solução de formol a 10% (encher o frasco com o fixador).
- Para remessa ao laboratório, identifique o frasco, certifique-se que o mesmo esteja bem fechado, coloque-o em uma caixa, de forma que o mesmo não corra o risco de tombar ou virar. Lacre a caixa e a encaminhe para o laboratório o mais rápido possível. A documentação que acompanha a amostra deve ser enviada fora da caixa de transporte.
- **A amostra não deve ser congelada, pois pode inviabilizar a realização do exame histopatológico.**