

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS PROGRAMA
DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA
AGROPECUÁRIA**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ABSCESSOS
HEPÁTICOS DE BOVINOS ABATIDOS EM UM
ABATEDOURO FRIGORÍFICO LOCALIZADO NA REGIÃO
DO SEMIÁRIDO NORDESTE II DA BAHIA**

Bianca Pimentel Silva

**CRUZ DAS ALMAS – BA
2018**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ABSCESSOS HEPÁTICOS DE
BOVINOS ABATIDOS EM UM ABATEDOURO FRIGORÍFICO
LOCALIZADO NA REGIÃO DO SEMIÁRIDO NORDESTE II DA BAHIA**

Bianca Pimentel Silva

Bacharel em Medicina Veterinária

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Defesa Agropecuária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Defesa Agropecuária na Área de Inspeção de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira

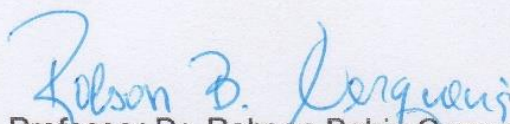
**CRUZ DAS ALMAS – BA
2018**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS PROGRAMA
DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA
AGROPECUÁRIA

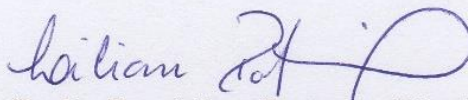
**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ABSCESSOS HEPÁTICOS DE
BOVINOS ABATIDOS EM UM ABATEDOURO FRIGORÍFICO
LOCALIZADO NA REGIÃO DO SEMIÁRIDO NORDESTE II DA BAHIA**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Bianca Pimentel Silva

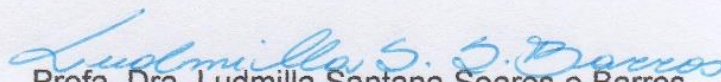
Aprovada em 31/08/2018



Professor Dr. Robson Bahia Cerqueira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – Orientador



Profa. Dra. Lilian Porto de Oliveira
Instituto Federal Baiano – Examinador Externo



Profa. Dra. Ludmilla Santana Soares e Barros
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – Examinador Interno

DEDICATÓRIA

A Deus, onipotente, que em meio a tantas adversidades me deu forças, amparou e guiou para que eu não desistisse dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter sido o meu alicerce, ser o princípio, meio e fim.

À minha mãe, Nossa Senhora Aparecida, por me amparar sempre e me fortalecer.

Aos meus pais, Valdomiro de Jesus Silva e Rosenilda Miranda Pimentel, por zelarem por mim e acreditarem que sou capaz de conseguir o que desejo, além do apoio incondicional.

À minha única irmã, Caroline Pimentel Silva, que amo incondicionalmente.

Ao meu companheiro, Lourival Souza Silva Junior, por me encorajar e me ajudar em todas as etapas. As adversidades sempre irão nos unir e nosso amor só se fortalecerá. E, aos seus familiares, Lorena, Tia Rosineide e seus avós pelo carinho e amor.

Aos meus familiares, que estiveram em orações e emanando energias positivas para que eu pudesse vencer as dificuldades que a vida me propôs. Em especial à minha avó, que tanto amo, e ao meu primo Renan.

Aos meus amigos, Luana Correia e Vinicius Vieira, por terem me impulsionado e colaborado para que eu conseguisse realizar esse trabalho, sem eles eu teria desistido.

Aos alunos, que colaboraram com as etapas das avaliações no laboratório.

Ao meu orientador, Professor Robson Bahia Cerqueira, pela orientação e ensinamentos.

Aos funcionários do abatedouro frigorífico, que me ajudaram nas coletas e identificação das amostras.

A todos do Laboratório de Microbiologia e de Investigação Analítica de Alimentos e de Água, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, por terem cedido, gentilmente, o espaço para a realização desse trabalho, por toda a receptividade e auxílio, em especial ao Técnico do Laboratório, Marcel, que foi generoso, companheiro e amigo, além de toda ajuda que nos ofereceu.

Sou inteiramente grata a todos!

EPÍGRAFE

Por isso não desanimamos. Embora exteriormente estejamos a desgastar-nos, interiormente estamos sendo renovados dia após dia.

2 Coríntios 4:16

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ABSCESSOS HEPÁTICOS DE BOVINOS ABATIDOS EM UM ABATEDOURO FRIGORÍFICO LOCALIZADO NA REGIÃO DO SEMIÁRIDO NORDESTE II DA BAHIA

RESUMO: O fígado bovino é uma das vísceras que se destaca por ser um excelente alimento. Na rotina de inspeção é comumente condenado, tendo em vista que suas funções metabólicas o torna susceptível a diversos tipos de lesões. Os abscessos hepáticos são considerados o maior problema econômico, tanto para produtores como para a indústria frigorífica. Assim, objetivou-se realizar avaliação microbiológica de abscessos hepáticos de bovinos abatidos em um abatedouro frigorífico na região do Semiárido Nordeste II da Bahia. Foram coletadas 109 amostras de abscessos hepáticos de bovinos em um abatedouro frigorífico, com Serviço de Inspeção Estadual (SIE), localizado na cidade de Ribeira do Pombal. Foi realizada avaliação microbiológica, de todas as amostras, por meio de isolamento e identificação, sendo cultivadas em caldo de enriquecimento BHI (Brain Heart Infusion), depois em meios de cultura específicos e posteriormente foram realizadas provas bioquímicas para identificação dos micro-organismos. As bactérias foram identificadas e catalogadas. Para obtenção dos resultados foi realizada análise descritiva pelas frequências absolutas e percentuais. Do total de 5.593 bovinos abatidos, 109 fígados foram condenados por abscesso, indicando o percentual de 1,94%. Das 109 amostras coletadas, 11 não obtiveram a causa determinada, pois não houve desenvolvimento bacteriano. No entanto, 98 amostras obtiveram crescimento bacteriano. Dessas, 31 foram classificadas como Gram-positivas e 67 como Gram-negativas. Bactérias Gram-positivas foram identificadas como *Staphylococcus* spp. (35,48%), *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. (16,12%), *Micrococcus* spp. (6,45%) e *Peptostreptococcus* spp. (6,45%). As bactérias Gram-negativas foram identificadas como *Enterobacter* spp. (35,82%), *Proteus* spp. (17,91%), *Klebsiella* spp. (13,43%), *Escherichia coli* (13,43%), *Serratia* spp. (7,46%), *Providencia* spp. (5,97%) e *Pasteurella* sp. (5,97%). Logo, pôde-se concluir que há uma variedade de bactérias que causam abscessos hepáticos em bovinos, e que a maioria delas podem provocar infecções em humanos trazendo prejuízos para a saúde. Assim, a inspeção de fígados deve continuar rigorosa condenando casos desta patologia.

Palavras-chave: Bactérias; Isolamento e Identificação; Lesão hepática.

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF HEPATIC ABSCESES OF BOVINE ANIMALS ABILITY IN A FRIGORIFIC ABATEDOURO LOCATED IN THE REGION OF NORTHEAST II OF BAHIA

ABSTRACT: The bovine liver is one of the viscera that stands out for being an excellent food. In the routine of inspection is commonly condemned, considering that its metabolic functions makes it susceptible to several types of injuries. Hepatic abscesses are considered the biggest economic problem, both for producers and the refrigeration industry. Thus, the objective was to carry out a microbiological evaluation of hepatic abscesses of cattle slaughtered in a frigorific abactionor in the region of the Northeastern Semi-Arid II of Bahia. A total of 109 samples of bovine hepatic abscesses were collected in a slaughterhouse, with a State Inspection Service (SIE), located in the city of Ribeira do Pombal. Microbiological evaluation of all samples was carried out by means of isolation and identification, being cultured in BHI enrichment broth (Brain Heart Infusion), then in specific culture media and later biochemical tests were carried out to identify microorganisms. Bacteria were identified and cataloged. To obtain the results, a descriptive analysis was performed for the absolute and percentage frequencies. Of the 5,593 cattle slaughtered, 109 livers were convicted of an abscess, indicating a percentage of 1.94%. Of the 109 samples collected, 11 did not obtain the determined cause, since there was no bacterial development. However, 98 samples showed bacterial growth. Of these, 31 were classified as Gram-positive and 67 as Gram-negative. Gram-positive bacteria were identified as *Staphylococcus* spp. (35.48%), *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. (16.12%), *Micrococcus* spp. (6.45%) and *Peptostreptococcus* spp. (6.45%). Gram-negative bacteria were identified as *Enterobacter* spp. (35.82%), *Proteus* spp. (17.91%), *Klebsiella* spp. (13.43%), *Escherichia coli* (13.43%), *Serratia* spp. (7.46%), *Providencia* spp. (5.97%) and *Pasteurella* sp. (5.97%). Therefore, it can be concluded that there are a variety of bacteria that cause hepatic abscesses in cattle, and that most of them can cause human infections leading to health damage. Thus, the inspection of livers should continue rigorously condemning cases of this pathology.

Keywords: Bacteria; Isolation and Identification; Hepatic injury.

LISTA DE TABELAS

TABELA 01. Bactérias classificadas quanto ao Gram.....	34
TABELA 02. Identificação de bactérias Gram-positivas.....	35
TABELA 03. Identificação de bactérias Gram-negativas.....	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVO.....	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3 REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 ESTRUTURA ANATOMOFISIOLÓGICA DO FÍGADO DE BOVINO	14
3.2 CRITÉRIOS PARA CONDENÇÃO DE FÍGADO NA LINHA DE INSPEÇÃO ..	15
3.3 PRINCIPAIS CAUSAS DE CONDENÇÃO DE FÍGADO COM LESÃO	15
3.4 ABSCESSO HEPÁTICO EM BOVINOS	16
3.5 BACTÉRIAS PRESENTES NO PROCESSO DE CONDENÇÃO DO FÍGADO	17
3.6 DIAGNÓSTICO	18
3.6.1 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO	19
3.6.2 TÉCNICAS MOLECULARES.....	20
3.7 MEDIDAS DE CONTROLE.....	21
REFERÊNCIAS	23
ARTIGO 1	27
ANEXO	44

1 INTRODUÇÃO

Em 2017 o rebanho bovino brasileiro era de 221,81 milhões de cabeças. O número de abates foi de 39,2 milhões de animais e o volume de carne produzida chegou a 9,71 milhões de toneladas equivalente carcaça. Do total de carne produzida, 20% foi exportada e 80% abasteceu o mercado interno, garantindo um consumo de cerca de 37,5 quilos de carne bovina por habitante. Nesse mesmo ano o Brasil exportou 208.149,80 toneladas de miúdos, o que representou o ganho de US\$ 2.804,93/tonelada (ABIEC, 2018).

Os produtos de origem animal, em especial os cárneos, desempenham importante papel na alimentação humana devido ao seu valor nutricional, assim, não podem servir como via de transmissão de doenças. Logo, a condenação de órgãos, vísceras e carcaças de animais destinados ao abate, sob Serviço de Inspeção Veterinária, faz-se importante para a promoção da saúde pública, pois muitas alterações patológicas podem ser decorrentes de zoonoses (HERENDA et al.,1994; LAWRIE, 2005).

Dentre as vísceras bovinas, o fígado se destaca por ser um excelente alimento. Ele é rico em componentes essenciais da dieta, como aminoácidos, vitaminas e sais minerais, além de ser uma fonte de proteína animal (MELLO et al., 2005). Além disso, é um órgão bem aceito pelos consumidores, no entanto na rotina de inspeção é comumente condenado, tendo em vista que suas funções metabólicas o torna susceptível a diversos tipos de lesões (CUNNINGHAN, 2014).

O fígado que apresentar afecções, que não possuam implicações com a carcaça ou os demais órgãos, devem ser condenados totalmente ou parcialmente, dentre essas afecções estão a teleangiectasia, congestão, esteatose, hidatidose, fasciolose, cirrose e peri-hepatite. Assim como outros órgãos e carcaças condenados, os fígados são encaminhados para a graxaria, a fim de serem aproveitados para a elaboração de subprodutos não comestíveis. Além disso, há doenças sistêmicas, principalmente bacterianas, que podem acometer o fígado. As bactérias podem chegar a esse órgão por diferentes vias e causar abscessos e granulomas (MAPA, 2007; CULLEN, 2009).

De acordo com o relatório nacional de auditoria de qualidade de carne, 20,9% dos fígados foram condenados no abate, sendo que os abscessos hepáticos

representaram cerca de dois terços dos fígados condenados (MCKEITH et al., 2012). Com o intuito de reduzir a idade ao abate, aumentar a taxa de desfrute, o giro do capital e conseqüentemente reduzir o ciclo de produção da pecuária, tem se empregado cada vez mais sistemas intensivos de produção, como os confinamentos que permitem ainda melhorar o acabamento de gordura na carcaça e a qualidade da carne (PRADO, 2010; VECHIATO et al., 2011).

Assim, o uso de dietas ricas em concentrados tem se intensificado, e quando não são utilizadas corretamente podem levar ao surgimento de alguns problemas metabólicos, como a acidose crônica, ruminites. Os quadros de ruminites ocasionam uma lesão na parede do rúmen, isso facilita a entrada de bactérias ruminais, que colonizam e se instalam nas feridas atingindo o sistema circulatório porta do fígado, podendo resultar na formação de abscesso hepáticos. O *Fusobacterium necrophorum* é um dos principais agentes, mas há uma diversidade de bactérias Gram positivas e Gram negativas que têm sido estudadas (NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007; AMACHAWADI & NAGARAJA, 2016).

Existe uma grande dificuldade em diagnosticar abscessos hepáticos, na maioria das vezes são somente detectados e encontrados no exame post-mortem, na linha de inspeção, durante o abate dos bovinos, pois, na maioria das vezes, os animais não possuem sinais clínicos. Logo, algumas alternativas têm sido recorridas para a prevenção desses abscessos em bovinos de corte, já que o uso dos antibióticos, para essa finalidade, tem sido cada vez mais contestado pelo fato de poder induzir à resistência antimicrobiana em seres humanos (NAGARAJA & CHENGAPPA, 1998).

A avaliação microbiológica dos abscessos hepáticos podem direcionar os métodos de prevenção e controle. Uma vez que, ao realizar a detecção do micro-organismo pode-se utilizar a medida correta e diminuir a condenação do fígado bovino, tendo em vista que os abscessos hepáticos são considerados o maior problema econômico, tanto para produtores como para a indústria frigorífica, já que estão associados a uma diminuição no consumo da dieta, ganho de peso e rendimento de carcaça (NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007).

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Com esse trabalho objetivou-se realizar avaliação microbiológica de abscessos hepáticos de bovinos abatidos em um abatedouro frigorífico na região do Semiárido Nordeste II da Bahia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os agentes etiológicos que causam abscessos hepáticos em bovinos.
- Verificar a ocorrência de condenações de fígados de bovinos por abscessos hepáticos neste abatedouro frigorífico.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ESTRUTURA ANATOMOFISIOLÓGICA DO FÍGADO DE BOVINO

O fígado é considerado o maior órgão interno do corpo e, em herbívoros, constitui aproximadamente 1% do peso corporal. Em ruminantes, ele desloca-se para o lado direito da cavidade abdominal cranial, e é mantido nessa posição pelos ligamentos coronário, falciforme e redondo, além de estar envolvido por uma cápsula delgada de tecido conjuntivo que se espessa no hilo (CUNNINGHAN, 2014).

A artéria hepática fornece sangue oxigenado, enquanto a veia porta, formada pelas veias mesentéricas superior e inferior e pela veia esplênica, traz sangue dos intestinos, baço e pâncreas, por isso o fígado possui dupla circulação aferente. Já o sistema vascular eferente, é constituído pelas veias hepáticas direita e esquerda, que desembocam na veia cava inferior (GAYOTTO et al., 2000).

O lóbulo hepático é a unidade subfuncional do fígado, que é uma estrutura hexagonal a qual apresenta no centro uma veia central, veia centrolobular, ou vênula hepática terminal, que é afluente da veia hepática e, nos ângulos apresenta os tratos portais. Esses, possuem ductos biliares, ramos da veia porta, artéria hepática, nervos e vasos linfáticos, todos sustentados por um estroma colagenoso. O sangue flui para os sinusóides vindo dos tratos portais e é drenado para as veias centrolobulares e então para as veias hepáticas (CULLEN, 2009).

O fígado dos bovinos está localizado muito próximo dos pré-estômagos, com destaque para o rúmen, que ocupa espaço considerável no lado esquerdo da cavidade abdominal. Ele acaba sendo uma interface entre o aparelho digestivo e o sangue, o fígado recebe do intestino, via veia porta, carboidratos que são sintetizados e armazenados na forma de amido e glicogênio, mas também é capaz de armazenar gordura e proteínas. No entanto, a sua função mais aparente é a secreção da bile, remoção e detoxificação de substâncias indesejáveis do sangue (HABEL, 1986).

3.2 CRITÉRIOS PARA CONDENAÇÃO DE FÍGADO NA LINHA DE INSPEÇÃO

A inspeção post mortem de bovinos, realizada a partir do exame macroscópico, destinados para o consumo humano, favorece a obtenção de diagnósticos de patologias que podem estar relacionadas com alterações que impliquem na condenação, seja parcial ou total das carcaças e órgãos. Assim, a inspeção realizada pelo médico veterinário e seus agentes é sanitariamente importante, uma vez que o conhecimento de patologias seleciona e diagnostica patologias que podem afetar a espécie humana durante o consumo (LIMA et al., 2007).

Os miúdos são caracterizados como órgãos e as partes de animais de abate julgados aptos para o consumo humano, pela inspeção veterinária oficial, e o fígado bovino se enquadra nessa classificação. Os critérios de condenação desse órgão, descritos, são: fígados com cirrose atrófica ou hipertrófica devem ser condenados, em casos de fasciola hepática; quando a lesão for circunscrita ou limitada ao fígado, sem repercussão no estado geral da carcaça, este órgão deve ser condenado e a carcaça poderá ser liberada; fígados com necrobacilose nodular devem ser condenados; aqueles que apresentarem lesão generalizada de telangiectasia maculosa devem ser condenados; em caso de infecção por *Cysticercus bovis* os órgãos afetados recebem o mesmo destino da carcaça; e fígados que apresentem abscessos múltiplos ou disseminados devem ser condenados, caso haja contaminação do fígado, com material purulento, que possua um único abscesso, o órgão também deve ser condenado (BRASIL, 2017).

3.3 PRINCIPAIS CAUSAS DE CONDENAÇÃO DE FÍGADO COM LESÃO

Patologias hepáticas aparecem com certa frequência devido ao uso indiscriminado de medicamentos, promotores de crescimento ou também por conta do excesso de alimentação, principalmente no período da seca em que animais são submetidos ao confinamento. Castro & Moreira (2010) avaliaram alterações hepáticas em um abatedouro durante os anos de 2005 a 2009 e as patologias encontradas foram abscesso (37,27%), cirrose (27,55%), teleangiectasia (9,22%), perihepatite (6,91%), hidatidose (2,42%), esteatose (2,24%) e contaminação (14,36%). Sendo constatado

que faz-se importante controlar os fatores que provocam essas patologias, pois o fígado é um órgão comestível e com alto valor comercial, sendo que essas perdas oriundas de sua condenação acarretam déficits econômicos.

De acordo com Silva et al. (2013) nas patologias do sistema hepático (12,36% do total de alterações) o abscesso foi o mais frequente com 63,64% dos casos encontrados, sendo verificados também a teleangiectasia (19,18%), congestão (6,32%), cisto hidático (6,86%), perihepatite (2,12%), esteatose (1,24%) e cirrose (1,03%).

Melo Junior & Ramos (2011) observaram como principais causas de condenações de fígados de bovinos a cirrose, abscesso e teleangiectasia, sendo esses classificados de acordo com sua etiologia em multicausal, infecciosa e idiopática, respectivamente. Condenações consideradas como multicausal podem ter origens variadas, necessitando de exames complementares como a análise microscópica, cultura e isolamento microbiológico dos agentes para realizar sua possível identificação.

De acordo com Bonesi et al. (2003), 41.208 animais foram inspecionados, desses 6,85% apresentaram lesões hepáticas na rotina da inspeção sanitária post-mortem. Foram encontrados 41,61% dos fígados comprometidos com teleangiectasia, 21,61% abscesso(s), 14,52% com contaminação gastrointestinal, 10,73% com congestão hepática, 5,17% perihepatite, 2,69% cirrose hepática, 1,63% esteatose, 1,52% hepatite, 0,42% hidatidose, 0,07% fasciolose e 0,03% com lesões de tuberculose.

3.4 ABSCESSO HEPÁTICO EM BOVINOS

Os abscessos ocupam posição de destaque dentre as lesões hepáticas, sua etiologia, geralmente, está relacionada a problemas secundários, mas que são capazes de deixarem sequelas no fígado. Assim, lesões hepáticas decorrentes de onfalopatias, ruminites ou mesmo problemas podais, podem culminar em abscessos hepáticos causando prejuízos diretos e indiretos, pois compromete o ganho de peso dos bovinos e conversão alimentar, além de propiciar o descarte desse órgão durante

o abate, e ainda pode levar à morte do animal em consequência de peritonite (BARDUCCI et al., 2015).

Quando há uma infecção bacteriana que se aloja em alguma região do fígado, os abscessos são formados, eles podem apresentar dimensões variadas, serem únicos ou múltiplos. Geralmente, são encontrados durante o abate encapsulados por uma camada fibrótica espessa, que é contornada por uma região inflamada, apresentando aspecto granulomatoso, com área central necrosada (TADEPALLI et al., 2009).

As bactérias, que geralmente estão associadas à formação dos abscessos, possuem várias formas de acesso ao fígado, podendo se deslocarem por meio da veia porta, artéria hepática, veia umbilical (neonatos), ductos biliares ou uma extensão de uma infecção local. Os abscessos são verificados também em casos clínicos de retículo pericardite traumática, ruminite e problemas podais, que ainda são pouco investigados. No entanto, a principal via de contaminação ocorre pela veia porta, através dela ocorre o transporte de grande volume de sangue oriundo do trato gastrointestinal (TAN et al., 1996; NAGARAJA et al., 2007; TADEPALLI et al., 2009).

3.5 BACTÉRIAS PRESENTES NO PROCESSO DE CONDENAÇÃO DO FÍGADO

Há algumas pesquisas que têm avaliado a flora bacteriana anaeróbica e aeróbica de abscessos de fígado bovino. A grande maioria dos estudos concluíram que o *Fusobacterium necrophorum* é o principal agente etiológico. A incidência dessa bactéria Gram-negativa, isolada a partir da cultura dos abscessos hepáticos, tem variado de 81 a 100%. Em alguns casos, o micro-organismo é envolvido como patógeno único, mas frequentemente está associado a uma variedade de outras bactérias anaeróbicas e facultativas (NAGARAJA & CHENGAPPA, 1998; NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007; AMACHAWADI & NAGARAJA, 2016).

O *Arcanobacterium pyogenes*, bactéria Gram-positiva, atualmente denominado como *Trueperella pyogenes*, possui prevalência nos abscessos hepáticos com variações entre de 0 a 50% (NAGARAJA et al., 1999; AMACHAWADI & NAGARAJA, 2016). A origem do mecanismo patogênico desse micro-organismo não é bem

compreendida; porém há alguns indícios de que haja um sinergismo patogênico entre *A. pyogenes* e o *F. necrophorum* (AMACHAWADI & NAGARAJA, 2016).

Uma diversidade de outras bactérias anaeróbias e facultativas, incluindo *Bacteriodes* spp., *Clostridium* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Mobilincus* spp., *Pasteurella* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp., *Propionibacterium* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp, além de várias outras Gram-positivas e Gram-negativas não identificadas tem sido isoladas a partir de abscessos hepáticos de bovinos provenientes de confinamentos (NAGARAJA & CHENGAPPA, 1998; NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007; AMACHAWADI & NAGARAJA, 2016).

Amachawadi & Nagaraja (2016) realizaram estudo utilizando 10 amostras de abscessos hepáticos, dessas *Fusobacterium necrophorum* foi encontrado em 100% das amostras, já *Trueperella pyogenes* foi isolada de quatro abscessos.

3.6 DIAGNÓSTICO

A maioria dos casos de abscessos hepáticos são verificados na linha de inspeção durante o abate, no exame *post mortem*. No entanto, os meios de diagnósticos, para possíveis lesões hepáticas, empregados são os semiotécnicos. A realização do exame de palpação e percussão no fígado de bovinos é laboriosa, dificultando o diagnóstico, já que esse órgão está protegido pelos arcos costais dos animais. As biopsias são uma opção para o diagnóstico de algumas enfermidades, mas esse procedimento necessita de habilidade técnica, além de conhecimento de anatomia topográfica para ser realizado (OWENS et al., 1998).

O risco de haver perfuração iatrogênica de um ducto biliar e de ocorrer hemorragia ou perfuração de um abscesso contaminado por bactérias piogênicas, em biopsias, é eminente (BLOOD; HENDERSON, 1976). Há também o diagnóstico por imagem, utilizado como ferramenta auxiliar para o diagnóstico de lesões hepáticas, sendo o exame radiográfico o mais utilizado. No entanto, apresentam um custo elevado e não são facilmente disponíveis para a prática veterinária de bovinos (DORÉ et al., 2007).

Além disso, há formas de diagnosticar o agente etiológico causador dos abscessos hepáticos, através de técnicas laboratoriais utilizando o próprio material purulento dos abscessos a partir de fígados condenados. Isso pode ser realizado através do isolamento e identificação e também através de técnicas moleculares.

3.6.1 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO

O diagnóstico de bactérias pode ser realizado por diversos procedimentos, sendo o isolamento e identificação do agente bacteriano a partir de materiais colhidos que causaram a patologia, conhecido normalmente como exame bacteriológico ou cultura. A presença de bactérias patogênicas pode ser verificada através do exame de esfregaços corados, das características de culturas e bioquímicas e também através da realização de métodos imunológicos e moleculares (MURRAY et al., 1999; MARTINEZ; TADEI, 2005).

Os esfregaços corados consistem na visualização direta, através de amostras, que permitem verificar composição celular, motilidade e morfologia do micro-organismo. Para isso, as amostras podem ser observadas por microscópio de luz direta, de contraste de fase ou de campo escuro (MARTINEZ; TADEI, 2005; TORTORA et al., 2003). Há dois métodos utilizados para preparar amostras microbiológicas, um utiliza a suspensão de micro-organismos vivos em uma camada líquida, já o outro uma camada fina da amostra é seca e corada, fixando o micro-organismo à superfície, que está corado facilitando a visualização (PELCZAR JR et al., 2004).

A coloração de Gram é um dos procedimentos mais úteis e utilizados para classificar as bactérias em dois grandes grupos, Gram-positivas e Gram-negativas. Essa técnica foi desenvolvida em 1884 pelo bacteriologista dinamarquês Hans Christian Gram (TORTORA et al., 2003). É o método de coloração utilizado em exames diretos ao microscópio de amostras clínicas e de colônias bacterianas (MARTINEZ; TADEI, 2005).

Já o isolamento consiste na obtenção de culturas puras que envolvem somente o organismo de interesse. Na fase do isolamento, ocorre a seleção de uma colônia através da observação da produção de determinado produto ou da morfologia da

colônia (STANBURY, WHITAKER & HALL, 1995). Para realizar o isolamento de um micro-organismo, emprega-se o meio de cultivo que obtenha os nutrientes mais adequados para o seu desenvolvimento. O meio de cultura é um material que contém nutrientes importantes para o crescimento, transporte e estocagem de micro-organismos. (PRESCOTT, HARLEY & KLEIN, 2002).

São utilizadas, tradicionalmente, placas de petri com o meio de cultura desejado, onde deverá ser inoculada a amostra que deseja realizar identificação do micro-organismo, usando-se a técnica de esgotamento por estrias, metodologia que facilita o crescimento de colônias isoladas. Depois do período de incubação as características morfológicas e os testes bioquímicos permitem a identificação presuntiva de um patógeno bacteriano. No entanto, testes adicionais podem ser usados para auxiliar na identificação de micro-organismos específicos (QUINN et al., 2005).

3.6.2 TÉCNICAS MOLECULARES

A utilização de técnicas moleculares para a identificação de bactérias tem representado ferramentas seguras, eficientes e rápidas para o diagnóstico. Como exemplo dessas ferramentas há a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que pode ser aliada ao sequenciamento do gene que se busca dos isolados, como também a PCR quantitativa absoluta em tempo real (WILSON; CARSON, 2001).

A PCR é uma técnica de Biologia Molecular que permite replicação *in vitro* do DNA de forma extremamente rápida. Com esse método, quantidades mínimas de material genético podem ser amplificadas milhões de vezes em poucas horas, permitindo a rápida identificação de espécies de micro-organismos, de marcadores genéticos e de doenças infecciosas (ROCHE, 2015).

PCR quantitativa em tempo real possui alta sensibilidade e é capaz de detectar números muito baixos de bactérias, sem necessidade de isolamento e cultivo prévios, acelerando ainda mais o resultado do diagnóstico, otimizando o tempo (WILSON; CARSON, 2003).

Dentre os tipos de reação de PCR mais comuns tem-se a RT-PCR (Reverse Transcriptase Chain Reaction), essa reação é composta pela transcrição reversa e a amplificação, há também a Multiplex PCR, em que mais de um segmento genômico é

amplificado em uma única reação, cada um com seu par de primers específico, podendo verificar gênero, espécie bacteriana e sendo possível diferenciar de outros agentes. A técnica de PCR, quando comparada ao método de isolamento e identificação, proporciona resultados mais rápidos, e oferece menor risco de infecção com agentes patogênicos de quem manipula (COELHO, 2014).

3.7 MEDIDAS DE CONTROLE

Os abscessos hepáticos são considerados o maior problema econômico para produtores e para a indústria frigorífica, pois são associados a uma diminuição no consumo da dieta, ganho de peso e, conseqüentemente, rendimento de carcaça (NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007). O relatório nacional de auditoria de qualidade de carne constatou que 20,9% dos fígados foram condenados no abate, sendo que os abscessos hepáticos representaram cerca de dois terços dos fígados condenados (MCKEITH et al., 2012).

Logo, faz-se importante realizar o controle de abscessos hepáticos em bovinos confinados, podendo ser realizado através do uso de compostos antimicrobianos na alimentação, sendo importante aliar a um manejo nutricional adequado, pois isso irá minimizar a ocorrência de acidose ruminal e ruminite. Com base no compêndio de aditivos alimentares, seis antibióticos (bacitracina metil-disalicilato, clorotetraciclina, sulfato de neomicina em combinação com oxitetraciclina, oxitetraciclina, tilosina e virginiamicina) são aprovados para a prevenção de abscessos hepáticos em bovinos confinados (NAGARAJA & CHENGAPPA, 1998; AMACHAWADI & NAGAJARA, 2018).

Wileman et al. (2009) realizaram um estudo com o intuito de avaliar os riscos de incidência de abscessos hepáticos em bovinos que receberam tilosina e dos que não receberam em sistemas de alimentação convencionais. Foi constatado que em dietas contendo tilosina, houve uma redução nos riscos de abscessos hepáticos de 30% para 8%.

Meyer et al. (2009) verificaram uma menor incidência de abscessos hepáticos em novilhos que foram alimentados com dietas contendo tilosina (90 mg/cabeça/dia),

em relação a dietas sem tilosina, sendo o uso desse antimicrobiano eficaz para reduzir as casuísticas dessa patologia.

No entanto, o uso de antibióticos na alimentação animal representa um risco para a saúde humana, pois pode induzir à resistência antimicrobiana. Desse modo, o uso de óleos essenciais e vacinas têm sido avaliados para promover a prevenção dos abscessos hepáticos. Samii et al. (2016) verificaram que a inclusão de um óleo essencial (limoneno), na dieta, diminuiu de forma linear a concentração do *Fusobacterium necrophorum* no rúmen de bovinos, sugerindo ser capaz de diminuir a incidência de abscessos hepáticos.

O efeito de cinco óleos essenciais (eugenol, vanilina, timol, guaiacol e limoneno), e de um produto comercial (CRINA), foram avaliados, e observaram que o limoneno, a 20 ou 100 µg/mL e timol, a 100 µg/mL, inibiram o crescimento do *Fusobacterium necrophorum*, que é o principal agente causador de abscessos hepáticos (ELWAKEEL et al., 2013).

Apenas duas vacinas descritas para a prevenção de abscessos hepáticos atingiram aplicação comercial. Sendo uma específica para *Fusobacterium necrophorum*, conhecida como Fusogard, a qual foi aprovada para o controle de abscessos hepáticos e podridão dos cascos, e outra comercializada como Centurion, que consistiu de uma combinação para prevenção de abscessos hepáticos em bovinos provocados por *Fusobacterium necrophorum* e *Trueperella pyogenes*, no entanto, não está disponível comercialmente (AMACHAWADI & NAGARAJA, 2016).

REFERÊNCIAS

- ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Sumário 2018: Os principais dados que mostram o perfil da pecuária brasileira.** Disponível em: <http://abiec.com.br/Sumario.aspx>. Data de acesso: 14 de junho de 2018.
- AMACHAWADI, R. G. & NAGARAJA, T. G.. Liver abscesses in cattle: A review of incidence in Holsteins and of bacteriology and vaccine approaches to control in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, 94, 1620-1632, 2016.
- AMACHAWADI, R. G. & NAGARAJA, T. G.. Liver abscesses in cattle: A review of incidence in Holsteins and of bacteriology and vaccine approaches to control in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, 94, 1620-1632, 2016.
- BARDUCCI, R.S.; SARTI, L.M.N.; MILLEN, D.D.; PACHECO, R.D.L.; MARTINS, C.L.; ARRIGONI, M.D.B. Incidência de ruminite e abscesso hepático em bovinos jovens confinados alimentados com dietas contendo aditivos alimentares. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.** 16(1): 161-69, 2015.
- BERG JN, SCANLAN CM. Studies of *Fusobacterium necrophorum* from bovine hepatic abscesses: biotypes, quantitation, virulence, and antibiotic susceptibility. **Am J Vet Res**;43: 1580–6, 1982.
- BLOOD DC, HENDERSON JA. **Medicina Veterinária.** México: Nueva Editorial Interamericana, 1976, 1008p.
- BONESI, G.L. et al. Lesões hepáticas em bovinos abatidos em matadouro-frigorífico. **Hig. aliment.**, Itapetininga, SP, v. 17, n. 106, p. 78-83, 2003.
- BRASIL. **Decreto 9.013 de 29 de março de 2017.** Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal – RIISPOA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Brasília-DF, 2017.
- CASTRO, R.V.; MOREIRA, M.D. **Ocorrências patológicas encontradas de rins e fígados bovinos em matadouro frigorífico do Triângulo Mineiro.** 2010. Disponível em: <http://www.fazu.br/ojs/index.php/posfazu/article/viewFile/343/249> Data de acesso: 21 de junho de 2018.
- COELHO, A.; DÍEZ, J. G.; COELHO, A. C. Brucelosis en pequeños rumiantes: etiología, epidemiología, sintomatología, diagnóstico, prevención y control. **Revista electrónica de Veterinaria** - ISSN 1695-7504, Volumen 15 N° 05, 2014.
- CULLEN, J. M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da Patologia em Veterinária.** Tradução 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009, p. 393-462.
- CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária.** Elsevier, 2014, 624p.
- DORÉ E, FECTEAU G, HÉLIE P, FRANCOZ D. Liver abscesses in holstein dairy cattle: 18 cases (1992-2003). **J Vet Intern Med.**; 21: 853-56, 2007

ELWAKEEL, E. A., AMACHAWADI, R. G., NOUR, A. M., NASSER, M. E. A., NAGARAJA, T. G. & TITGEMEYER, E. C. In vitro degradation of lysine by ruminal fluid-based fermentations and by *Fusobacterium necrophorum*. **Journal of Dairy Science**, 96, 495-505, 2013.

HABEL, R.E. Sistema digestivo do ruminante. In Getty R, Grossman S. **Anatomia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986, 858p.

HERENDA, D.; CHAMBERS, P.G.; ETTRIQUI, A. *et al.* **Manual on meat inspection for developing countries**. Roma, Itália: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1994. 357p.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. 6.ed. Porto Alegre: Artemed, 2005. 384p.

LIMA, M.F.C.; SUASSUNA A.C.D.; AHID S.M.M.; FILGUEIRA K.D. Análise das alterações anatomopatológicas durante a inspeção post mortem em bovinos no abatedouro Frigorífico Industrial de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Ciência Animal**, Fortaleza, v.17, n.2, p.113-116, 2007.

MARTINEZ, M.B., TADEI., C.R. In: **Microbiologia**, TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F. 4ª Ed, São Paulo: Atheneu, 2005, 718 p.

MCGAVIN M.D. & ZACHARY J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 4º Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

MCKEITH, R. O., GRAY, G. D., HALE, D. S., KERTH, C. R., GRIFFIN, D. B., SAVELL, J. W., RAINES, C. R., BELK, K. E., WOERNER, D. R. & TATUM, J. D. National Beef Quality Audit-2011: Harvest-floor assessments of targeted characteristics that affect quality and value of cattle, carcasses, and byproducts. **Journal of Animal Science**, 90, 5135-5142, 2012.

MELLO, F. A. M.; FERNANDEZ, A. T.; FREDERICO, F. R.; OLIVEIRA, A.J. Ocorrência de condenações de órgãos comestíveis de bovinos em matadouro sob regime de inspeção estadual e federal no estado do Rio de Janeiro, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 137, p. 56-62, 2005.

MELO JUNIOR, L. M.; FRANÇA JUNIOR, A. A.; MILHOMEN, A. B.; MARIANO DE SOUSA, D. P.; BARBOSA, S. M.; MARUO, V. M.; RAMOS, A. T. Avaliação microscópica das alterações encontradas em órgãos de bovinos em frigoríficos na região de Araguaína-TO. **15º Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Goiânia, Brasil**, 2011.

MELO JUNIOR, L. M.; RAMOS, A. T. Implicações das lesões encontradas em matadouros/frigoríficos na região de Araguaína-TO, Brasil. **7º Seminário de Iniciação Científica da Universidade Federal do Tocantins, Palmas**, 2011.

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

MEYER, N. F., ERICKSON, G. E., KLOPFENSTEIN, T. J., GREENQUIST, M. A., LUEBBE, M. K., WILLIAMS, P. & ENGSTROM, M. A. Effect of essential oils, tylosin,

and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. **Journal of Animal Science**, 87, 2346-2354., 2009.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Inspeção de Carnes Bovina: Padronização de técnicas, instalações e equipamentos**. Brasília, 2007. 168p.

MURRAY, P.R, BARON, E.J, PFALIER, M.A, YOLKEN, R.H. **Manual of Clinical Microbiology**, 7th ed. ASM. Washington DC, 1999.

NAGARAJA, T. G. & CHENGAPPA, M. M. Liver abscesses in feedlot cattle: A review. **Journal of Animal Science**, 76, 287-298, 1998.

NAGARAJA, T. G.; LECHTENBERG, K. F. Liver abscess in feedlot cattle. **Veterinary Clinics Foot Animal**, n. 23, p. 351-369, 2007.

NARAYANAN SK, NAGARAJA TG, WALLACE N, ET AL. Biochemical and ribotypic comparison of *Actinomyces pyogenes* and *A. pyogenes*-like isolates from liver abscesses, ruminal wall, and ruminal contents of cattle. **Am J Vet Res**;59:271–6, 1998.

OLIVEIRA, S.J. **Guia Bacteriológico Prático: microbiologia veterinária**. Editora ULBRA, Canoas. 2012,142p.

OWENS FN, SECRIST DS, HILL WJ, GILL DR. **Acidosis in cattle: a review**. J. Anim. Sci.; 76: 275-86, 1998.

PELCZAR JR, M.J., CHAN, E.C.S., KRIEG, N.R. In: **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2ª Ed, v. 1, São Paulo: Pearson, 2005. 524p.

PRADO, I. N. 2010. **Produção de bovinos de corte e qualidade da carne**. Eduem, Maringá, Paraná, Brasil.

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 5th edition. The McGraw-Hill Companies, 2002, 1139 p.

QUINN, P.J., MARKEY, B.K, CARTER, M.E., DONNELLY, W.J., LEONARD, F.C. In: **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. 1 ed., São Paulo: Artmed, 2005, 512p.

ROCHE, 2015. Disponível em:

<http://www.roche.pt/portugal/index.cfm/produtos/equipamentosdediagnostico/product/s/molecular-diag/intro-pcr/> Acesso em 20 de junho de 2018.

SAMII, S. S., WALLACE, N., NAGARAJA, T. G., ENGSTROM, M. A., MIESNER, M. D., ARMENDARIZ, C. K. & TITGEMEYER, E. C. Effects of limonene on ruminal *Fusobacterium necrophorum* concentrations, fermentation, and lysine degradation in cattle. **Journal of Animal Science**, 94, 3420-3430, 2016.

SILVA, M.C.A., MENDONÇA, G.A., SOARES, D.B., BUENO, J.P.R. alterações anatomopatológicas identificadas na inspeção post mortem em bovinos no

abatedouro frigorífico no município de Uberlândia – MG. **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.9, n.17; p. 2013.

STANBURY, P. F.; WHITAKER, A.; HALL, S. J. Principles of Fermentation Technology. Second Edition. Butterworth Heinemann, **Elsevier Science**, 1995, 357 p.

TADEPALLI, S.; NARAYANAN, S.K.; STEWART, G.C.; CHENGAPPA, M.M.; NAGARAJA, T.G. **Fusobacterium necrophorum: A ruminal bacterium that invades liver to cause abscesses in cattle. Anaerobe**. 2009; 15: 36-43.

TAN, Z.L.; NAGARAJA, T.G.; CHENGAPPA, M.M. Fusobacterium necrophorum infections: virulence factors, pathogenic mechanism and control measures. **Vet. Res. Commun**. 20: 113- 40, 1996.

TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. In: **Microbiologia**, 6a ed, São Paulo: Artmed,, 2003, p.267-393.

VECHIATO, T. A. F., MASCHIO, W., BOM, L. C., LOPES, P. D. & ORTOLANI, E. L. 2011. Retrospective study of liver abscesses in beef cattle slaughtered in a Brazilian abattoir. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 48, 384-391.

WILEMAN, B. W., THOMSON, D. U., REINHARDT, C. D. & RENTER, D. G. 2009. Analysis of modern technologies commonly used in beef cattle production: Conventional beef production versus nonconventional production using meta-analysis. **Journal of Animal Science**, 87, 3418-3426.

WILSON, T.; CARSON, J. **Development of sensitive, high-throughput one-tube RTPCR-enzyme hybridisation assay to detect selected bacterial fish pathogens. Disease of Aquatic Organisms**, v. 54, p. 127-134, 2003.

WILSON, T.; CARSON, J. Rapid, high-throughput extraction of bacterial genomic DNA from selective-enrichment culture media. **Letters in Applied Microbiology**, v.32, p.326–330, 2001.

ARTIGO 1

A SER SUBMETIDO À REVISTA ARQUIVOS DO INSTITUTO BIOLÓGICO

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ABSCESSOS HEPÁTICOS DE BOVINOS ABATIDOS EM UM ABATEDOURO FRIGORÍFICO LOCALIZADO NA REGIÃO DO SEMIÁRIDO NORDESTE II DA BAHIA

Microbiological evaluation of hepatic abscesses of bovine animals ability in a frigorific abatedouro located in the region of Northeast II of Bahia

Bianca Pimentel Silva^{1*} Lourival Souza Silva Junior¹ Vinicius Pereira Vieira¹ Luana de Santana Correia¹ Robson Bahia Cerqueira¹

¹Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas; Universidade Federal do Recôncavo da Bahia UFRB) – Cruz das Almas-BA, Brasil

^{1*} Autora correspondente: BIANCAPIMENTEL05@GMAIL.COM

RESUMO

Objetivou-se realizar avaliação microbiológica de abscessos hepáticos de bovinos abatidos em um abatedouro frigorífico na região do Semiárido Nordeste II da Bahia. Foram coletadas 109 amostras de abscessos hepáticos de bovinos em um abatedouro frigorífico, com Serviço de Inspeção Estadual (SIE), localizado na cidade de Ribeira do Pombal, na região do Semiárido Nordeste II da Bahia. Foi realizada avaliação microbiológica, de todas as amostras, por meio de isolamento e identificação, sendo cultivadas em caldo de enriquecimento BHI (Brain Heart Infusion), depois em meios de cultura específicos e posteriormente foram realizadas provas bioquímicas para identificação dos micro-organismos. As bactérias foram identificadas e catalogadas. Para obtenção dos resultados foi realizada análise descritiva pelas frequências absolutas e percentuais. De 5.593 bovinos abatidos, 109 fígados foram condenados por abscesso, indicando o percentual de 1,94%. Das 109 amostras coletadas, 11 não obtiveram a causa determinada, pois não houve desenvolvimento bacteriano. No entanto, 98 amostras obtiveram crescimento bacteriano, sendo classificadas como Gram-positivas e 67 como Gram-negativas. Bactérias Gram-positivas foram identificadas como *Staphylococcus* spp. (35,48%), *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. (16,12%), *Micrococcus* spp. (6,45%) e *Peptostreptococcus* spp. (6,45%). As bactérias Gram-negativas foram identificadas como *Enterobacter* spp. (35,82%), *Proteus* spp. (17,91%), *Klebsiella* spp. (13,43%), *Escherichia coli* (13,43%), *Serratia* spp. (7,46%), *Providencia* spp. (5,97%) e *Pasteurella* spp. (5,97%). Logo, pôde-se concluir que há uma variedade de bactérias que causam abscessos hepáticos em bovinos, e que a maioria delas podem provocar infecções em humanos trazendo prejuízos para a saúde. Assim, a inspeção de fígados deve continuar rigorosa condenando casos desta patologia.

PALAVRAS-CHAVE: Bactérias; Isolamento e Identificação; Lesão hepática.

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF HEPATIC ABSCESSSES OF BOVINE ANIMALS ABILITY IN A FRIGORIFIC ABATEDOURO LOCATED IN THE REGION OF NORTHEAST II OF BAHIA

ABSTRACT

The objective was to carry out a microbiological evaluation of hepatic abscesses of cattle slaughtered in a slaughterhouse in the region of the Northeastern II Semi-arid region of Bahia. A total of 109 samples of bovine hepatic abscesses were collected in a slaughterhouse with State Inspection Service (SIE), located in the city of Ribeira do Pombal, in the region of the Northeastern Semi - arid II of Bahia. Microbiological evaluation of all the samples was carried out by means of isolation and identification, being cultured in BHI enrichment broth (Brain Heart Infusion), then in specific culture media and later biochemical tests were performed to identify the microorganisms. Bacteria were identified and cataloged. To obtain the results, a descriptive analysis was performed for the absolute and percentage frequencies. Of 5,593 cattle slaughtered, 109 livers were convicted of an abscess, indicating a percentage of 1.94%. Of the 109 samples collected, 11 did not obtain the determined cause, since there was no bacterial development. However, 98 samples showed bacterial growth, being classified as Gram-positive and 67 as Gram-negative. Gram-positive bacteria were identified as *Staphylococcus* spp. (35.48%), *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. (16.12%), *Micrococcus* spp. (6.45%) and *Peptostreptococcus* spp. (6.45%). Gram-negative bacteria were identified as *Enterobacter* spp. (35.82%), *Proteus* spp. (17.91%), *Klebsiella* spp. (13.43%), *Escherichia coli* (13.43%), *Serratia* spp. (7.46%), *Providencia* spp. (5.97%) and *Pasteurella* sp. (5.97%). Therefore, it can be concluded that there are a variety of bacteria that cause hepatic abscesses in cattle, and that most of them can cause human infections leading to health damage. Thus, the inspection of livers should continue rigorously condemning cases of this pathology.

KEYWORDS: Bacteria; Isolation and Identification; Hepatic injury.

INTRODUÇÃO

Em 2017 o rebanho bovino brasileiro era de 221,81 milhões de cabeças. O número de abates foi de 39,2 milhões de animais e o volume de carne produzida chegou a 9,71 milhões de toneladas equivalente carcaça. Do total de carne produzida, 20% foi exportada e 80% abasteceu o mercado interno, garantindo um consumo de cerca de 37,5 quilos de carne bovina por habitante. Nesse mesmo ano o Brasil exportou 208.149,80 toneladas de miúdos, o que representou o ganho de US\$ 2.804,93/tonelada (ABIEC, 2018).

Os produtos de origem animal, em especial os cárneos, desempenham importante papel na alimentação humana devido ao seu valor nutricional, assim, não podem servir como via de transmissão de doenças. Logo, a condenação de órgãos, vísceras e carcaças de animais destinados ao abate, sob Serviço de Inspeção Veterinária, faz-se importante para a promoção da saúde pública, pois muitas alterações patológicas podem ser decorrentes de zoonoses (HERENDA et al.,1994; LAWRIE, 2005).

Dentre as vísceras bovinas, o fígado se destaca por ser um excelente alimento. Ele é rico em componentes essenciais da dieta, como aminoácidos, vitaminas e sais minerais, além de ser uma fonte de proteína animal (MELLO et al., 2005). Além disso, é um órgão bem aceito pelos consumidores, no entanto na rotina de inspeção é comumente condenado, tendo em vista que suas funções metabólicas o torna susceptível a diversos tipos de lesões (CUNNINGHAM, 2014).

O fígado que apresentar afecções, que não possuam implicações com a carcaça ou os demais órgãos, devem ser condenados totalmente ou parcialmente, dentre essas afecções estão a teleangiectasia, congestão, esteatose, hidatidose, fasciolose, cirrose e peri-hepatite. Assim como outros órgãos e carcaças condenados, os fígados são encaminhados para a graxaria, a fim de serem aproveitados para a elaboração de subprodutos não comestíveis. Além disso, há doenças sistêmicas, principalmente bacterianas, que podem acometer o fígado. As bactérias

podem chegar a esse órgão por diferentes vias e causar abscessos e granulomas (MAPA, 2007; CULLEN, 2009).

De acordo com o relatório nacional de auditoria de qualidade de carne, 20,9% dos fígados foram condenados no abate, sendo que os abscessos hepáticos representaram cerca de dois terços dos fígados condenados (MCKEITH et al., 2012). Com o intuito de reduzir a idade ao abate, aumentar a taxa de desfrute, o giro do capital e conseqüentemente reduzir o ciclo de produção da pecuária, tem se empregado cada vez mais sistemas intensivos de produção, como os confinamentos que permitem ainda melhorar o acabamento de gordura na carcaça e a qualidade da carne (PRADO, 2010; VECHIATO et al., 2011).

Assim, o uso de dietas ricas em concentrados tem se intensificado, e quando não são utilizadas corretamente podem levar ao surgimento de alguns problemas metabólicos, como a acidose crônica, ruminites. Os quadros de ruminites ocasionam uma lesão na parede do rúmen, isso facilita a entrada de bactérias ruminais, que colonizam e se instalam nas feridas atingindo o sistema circulatório porta do fígado, podendo resultar na formação de abscesso hepáticos. O *Fusobacterium necrophorum* é um dos principais agentes, mas há uma diversidade de bactérias Gram positivas e Gram negativas que têm sido estudadas (NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007; AMACHAWADI & NAGARAJA, 2016).

Existe uma grande dificuldade em diagnosticar abscessos hepáticos, na maioria das vezes são somente detectados e encontrados no exame post-mortem, na linha de inspeção, durante o abate dos bovinos, pois, na maioria das vezes, os animais não possuem sinais clínicos. Logo, algumas alternativas têm sido recorridas para a prevenção desses abscessos em bovinos de corte, já que o uso dos antibióticos, para essa finalidade, tem sido cada vez mais contestado pelo fato de poder induzir à resistência antimicrobiana em seres humanos (NAGARAJA & CHENGAPPA, 1998).

A avaliação microbiológica dos abscessos hepáticos pode direcionar os métodos de prevenção e controle. Uma vez que, ao realizar a detecção do micro-organismo pode-se utilizar a medida correta e diminuir a condenação do fígado bovino, tendo em vista que os abscessos hepáticos são considerados o maior problema econômico, tanto para produtores como para a indústria frigorífica, já que estão associados a uma diminuição no consumo da dieta, ganho de peso e rendimento de carcaça (NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007). Assim, objetivou-se realizar avaliação microbiológica de abscessos hepáticos de bovinos abatidos em um abatedouro frigorífico na região do Semiárido Nordeste II da Bahia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas 109 amostras de abscessos hepáticos de bovinos em um matadouro-frigorífico, com Serviço de Inspeção Estadual (SIE), localizado na cidade de Ribeira do Pombal, na região do Semiárido Nordeste II do estado da Bahia. As coletas das amostras foram realizadas diariamente, de segunda à sexta-feira, durante os meses de abril e maio de 2018.

Os abscessos que possuíam até três centímetros de diâmetro foram removidos integralmente, através de facas esterilizadas, e depositados em potes coletores estéreis. Abscessos que ultrapassaram esse tamanho foi realizada a punção do conteúdo caseoso, com auxílio de seringa estéril, e esse material foi transferido para coletores estéreis. O acondicionamento das amostras, enquanto durava o abate, ocorria em caixas isotérmicas, com gelo reciclável, e depois foram transferidas para freezer, onde foram congeladas. No momento da coleta as amostras foram devidamente identificadas quanto ao fornecedor e município de origem.

Nos meses de junho e julho de 2018 foi realizada avaliação microbiológica, por meio de isolamento e identificação, no Laboratório de Microbiologia, do Centro de Ciências Agrárias,

Ambientais e Biológicas, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, localizado no campus de Cruz das Almas, Bahia.

As amostras foram transportadas em caixa isotérmica com gelo reciclável. Em seguida, todas as amostras foram cultivadas em tubos estéreis contendo 3 mL de caldo de enriquecimento BHI (Brain Heart Infusion), fazendo tubos em duplicata, para cada amostra, de forma que incubasse um tubo em aerobiose e o outro em anaerobiose, a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$, por 48 horas, em estufa BOD (Demanda Bioquímica de oxigênio). Decorrido esse período, foi realizada avaliação do crescimento bacteriano através da turvação, classificando as bactérias em anaeróbicas, anaeróbicas facultativas e aeróbicas estritas.

As amostras que demonstraram aerobiose estrita e anaerobiose facultativa foram semeadas, com alça de platina, a partir do caldo BHI, em placas de petri de vidro (tamanho 100 x 15mm) nos meios de cultura Ágar Sangue de Ovino a 5% e Ágar EMB (Eosin Methylene Blue), sendo encubadas em estufa BOD, a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$, por 24 horas. Já as amostras que demonstraram anaerobiose foram semeadas nesses mesmos meios de culturas e incubadas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$, por 24 horas em anaerobiose. Decorrido esse período as placas foram avaliadas, verificando o crescimento bacteriano.

Todas as amostras que obtiveram crescimento bacteriano em Ágar EMB foram classificadas como Gram-negativas. Já as bactérias que cresceram apenas no Ágar Sangue de Ovino a 5%, para avaliar se eram Gram-positivas, foi realizado esfregaço bacteriológico, os quais foram corados pelo método de Gram, conforme descrito por Oliveira (2012), sendo observados ao microscópio óptico quanto ao seu arranjo bacteriano e sua morfologia, e os micro-organismos foram, posteriormente, identificados através de provas bioquímicas de rotina.

As bactérias classificadas como Gram-negativas passaram por provas bioquímicas para serem identificadas, como motilidade, citrato, gelatinase, VM (Vermelho de Metila), VP

(Voges Proskauer) e TSI (Triple Sugar Iron). E foram realizadas as provas bioquímicas, bile esculina, catalase, coagulase, gelatinase e tolerância a 6,5% de NaCl, para as bactérias classificadas como Gram-positivas, conforme descrito por Oliveira (2012).

As bactérias foram identificadas e catalogadas. Para obtenção dos resultados foi realizada análise descritiva pelas frequências absolutas e percentuais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os meses de abril e maio de 2018 foram abatidos 5.593 bovinos, sendo 109 fígados condenados por abscesso, indicando o percentual de 1,94%. No entanto, de acordo com Melo Junior & Ramos (2011) as lesões hepáticas representam 45,9% (83/181) das causas de condenação pelo SIF, sendo que destas 36,14% (30/83) foram lesões de origem infecciosa, onde o principal achado foi abscesso hepático (22/30 – 73,3%). Estes valores são superiores aos descrito por Mendes e Pilati (2007), que relataram a frequência de 18% de condenação por abscesso hepático.

Das 109 amostras coletadas, 11 não obtiveram a causa determinada, pois não houve desenvolvimento bacteriano. No entanto, 98 amostras obtiveram crescimento bacteriano. Dessas, 31 foram classificadas como Gram-positivas e 67 como Gram-negativas, conforme tabela 01.

TABELA 01. Bactérias classificadas quanto ao Gram.

Classificação quanto ao Gram	Frequência
Gram positiva	31
Gram negativa	67
Total	98

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na tabela 02, estão expressas as bactérias Gram-positivas identificadas, quantidade e o seu percentual. Dessas, 11 foram identificadas como *Staphylococcus* spp. (35,48%), 11 como *Streptococcus* spp. (35,48%), 5 como *Enterococcus* spp. (16,12%), 2 como *Micrococcus* spp. (6,45%) e 2 como *Peptostreptococcus* spp. (6,45%).

TABELA 02. Identificação de bactérias Gram-positivas.

Bactéria	Frequência	%
<i>Staphylococcus</i> spp.	11	35,48
<i>Streptococcus</i> spp.	11	35,48
<i>Enterococcus</i> spp.	5	16,12
<i>Micrococcus</i> spp.	2	6,45
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	2	6,45

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na tabela 03, estão expressadas as bactérias Gram-negativas identificadas, além da quantidade e do percentual. Dessas, 24 foram identificadas como *Enterobacter* spp. (35,82%), 12 como *Proteus* spp. (17,91%), 9 como *Klebsiella* spp. (13,43%), 9 como *Escherichia coli* (13,43%), 5 como *Serratia* spp. (7,46%), 4 como *Providencia* spp. (5,97%) e 4 como *Pasteurella* spp. (5,97%).

TABELA 03. Identificação de bactérias Gram-negativas.

Bactérias	Frequência	%
<i>Enterobacter</i> spp.	24	35,82
<i>Proteus</i> spp.	12	17,91
<i>Klebsiella</i> spp.	9	13,43
<i>Escherichia coli</i>	9	13,43
<i>Serratia</i> spp.	5	7,46

<i>Providencia</i> spp.	4	5,97
<i>Pasteurella</i> spp.	4	5,97

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com Mello Junior e Ramos (2011), amostras de abscessos em fígados de bovinos obtiveram crescimento de *Enterobacter* spp., observada em 50,0% (6/12), *Escherichia coli*, vista em 16,7% (2/12), *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. e *Penicillium* spp. presente em 8,3% (1/12). Sendo a maioria dessas agentes também encontrados no presente estudo.

Nagaraja e Lechtenberg (2007), isolaram, como agente causadores de abscessos hepáticos em bovinos, *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella* spp., *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp., corroborando com os dados obtidos no presente estudo pesquisado, divergindo apenas da presença de *Corynebacterium pyogenes*.

Alguns estudos demonstraram que, normalmente, os abscessos hepáticos são formados por bactérias anaeróbicas, destacando as do gênero *Fusobacterium necrophorum*, isoladas entre 71 a 95% dos casos, seguido pelas do gênero *Arcanobacterium pyogenes* com 20 a 35% e 6% pelas do gênero *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. (NAGARAJA & LECHTENBERG et al. ,1998). Os resultados encontrados no presente estudo divergiram dos descritos pelos autores, sendo que não foram encontradas as bactérias *Fusobacterium necrophorum* e *Arcanobacterium pyogenes*, que tem sido descritas como causadoras de abscessos hepáticos, provocados de forma secundária à ruminites provocadas pelo sistema de criação intensivo com dietas ricas em concentrados. Isso pode ter ocorrido por conta da região, em que abrange o abatedouro frigorífico, possuir um sistema de criação de forma extensiva. Além disso, a presença das bactérias *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. com maior incidência dentre as bactérias Gram positivas, podem sugerir migração desses micro-organismos

da glândula mamária para o fígado, já que são amplamente descritos como principais causadoras de mastite em bovinos.

Berg & Scanlan (1982) encontraram Isolados de *Fusobacterium necrophorum* obtidos de 124 abscessos hepáticos bovinos (em 119 bovinos). Sendo esse agente etiológico o principal causador dessa patologia. Já, Narayanan et al. (1998), conseguiram isolar *Actinomyces pyogenes*.

O *Staphylococcus* spp. foi um dos micro-organismos de maior percentual das bactérias Gram-positivas, e é considerado um dos agentes patogênicos mais comuns, responsáveis por surtos de intoxicação alimentar. Está largamente distribuído na natureza, sendo transmissíveis aos alimentos por manipuladores, na maioria, portadores assintomáticos, e pelos animais, principalmente o gado leiteiro com mastite, mas também é comum na formação de abscessos hepáticos purulentos (BALABAN; RASOOLY, 2000).

Streptococcus spp. também é um agente causador encontrado em abscessos piogênicos hepáticos e teve alto percentual nos resultados obtidos. Desde a década de 1930, essa bactéria, é uma das principais causadoras de doenças em seres humanos e animais. Classificada como Gram-positiva, é responsável por casos de pneumonia, septicemia e meningite em seres humanos neonatos, e possui alta taxa de morbidade em gestantes e mortalidade em adultos imunocomprometidos (JOHRI et al., 2006). Na medicina veterinária esse micro-organismo tem se destacado como causador de mastite clínica e subclínica em bovinos (WAAGE et al., 1999).

Dentre as bactérias Gram-negativas verificadas, *Serratia* spp., mesmo não tendo alto percentual de diagnóstico em abscessos hepáticos, é reconhecida como um patógeno importante, pois possui propriedades invasivas e alta resistência a muitos antibióticos (KONEMAN et al., 2001). A *Serratia* spp. faz parte da família *Enterobacteriaceae* que podem implicar em várias doenças. Em humanos imunocomprometidos pode causar pneumonia, bacteremia e endocardite, sendo encontradas em casos de infecção hospitalar (GLUSTEIN et

al., 1994). Em animais pode estar presente no trato urinário, associadas também às doenças inflamatórias intestinais, sendo um micro-organismo oportunista (DANTAS, 2010).

A maioria das bactérias Gram-negativas detectadas nos abscessos hepáticos pertencem à família das *Enterobacteriaceae*, a exemplo da *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Providencia* spp. e *Serratia* spp. Esta família de micro-organismos são constituintes da microbiota intestinal normal da maioria dos animais, incluindo seres humanos (O'HARA, 2005). São bactérias capazes de causar vários processos patogênicos, a exemplo de abscessos hepáticos, elas podem ser a causa do processo infeccioso ou podem agir como oportunistas, sendo importantes para o estudo relacionado à formação de abscessos piogênicos (KONEMAN et al., 2008).

CONCLUSÃO

As amostras de abscessos hepáticos, mesmo sendo submetidas aos processos de congelamento, com refrigeração prévia, apresentaram crescimento bacteriológico satisfatório.

Pode-se concluir que há uma variedade de micro-organismos que causam abscessos hepáticos em bovinos, e que a maioria deles podem provocar infecções em humanos trazendo prejuízos para a saúde.

Já que, os abscessos hepáticos têm origem, na maioria das vezes, secundária, faz-se importante ter cuidado com a dieta ofertada aos animais, uma vez que cada vez mais os sistemas de confinamentos de bovinos são comuns e visam aumentar o ganho de peso e isso pode influenciar negativamente na condição animal.

Sugere-se estudos visando elencar a presença das bactérias *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. em abscessos hepáticos em bovinos aos casos de ocorrência de mastite.

Faz-se importante realizar controle e prevenção dessa patologia, uma vez que a sua incidência provoca prejuízos aos produtores, pois o fígado é um miúdo comestível de grande

aceitabilidade no mercado e de grande valor protéico, podendo a inspeção *post mortem* ser utilizada como uma ferramenta para monitorar a ocorrência de patologias ligadas ao sistema de produção animal, visando melhorá-lo para diminuir a condenação de vísceras comestíveis.

REFERÊNCIAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Sumário 2018: Os principais dados que mostram o perfil da pecuária brasileira. Disponível em: <http://abiec.com.br/Sumario.aspx>. Data de acesso: 14 de junho de 2018.

AMACHAWADI, R. G. & NAGARAJA, T. G.. Liver abscesses in cattle: A review of incidence in Holsteins and of bacteriology and vaccine approaches to control in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 94, 1620-1632, 2016.

BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins (review). *International Journal of Food Microbiology*. v. 61, p. 1-10, 2000.

BERG JN, SCANLAN CM. Studies of *Fusobacterium necrophorum* from bovine hepatic abscesses: biotypes, quantitation, virulence, and antibiotic susceptibility. *Am J Vet Res*;43: 1580–6, 1982.

CULLEN, J. M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. *Bases da Patologia em Veterinária*. Tradução 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009, p. 393-462.

CUNNINGHAM, J. G. *Tratado de Fisiologia Veterinária*. Elsevier, 2014, 624p.

HERENDA, D.; CHAMBERS, P.G.; ETTRIQUI, A. *et al.* Manual on meat inspection for developing countries. Roma, Itália: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1994. 357p.

DANTAS, C.M. Ocorrência de bactérias potenciais causadoras de doenças de veiculação hídrica em um açude de região Semi-Árida. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2010, 55 p.

GLUSTEIN, J.Z.; RUDENSKY, B.; ABRAHAMOV, A. Catheter - associated sepsis caused by *Serratia odorifera* biovar I in an adolescent patient. *Europe Journal Clinical Microbiology Infectology Disease* 13:183-184, 1994.

JOHRI, A. K.; PAOLETTI, L. C.; GLASER, P. *et al.* Group B Streptococcus: global incidence and vaccine development. *Nature reviews. Microbiology*, v. 4, n. 12, p. 932-42, dez 2006.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C. *Diagnóstico Microbiológico*. 50 edição. MEDSI Editora, Rio de Janeiro, 2001.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. *Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido*. 6a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koonagan, 2008.

LAWRIE, R. A. *Ciência da carne*. 6.ed. Porto Alegre: Artemed, 2005. 384p.

MCGAVIN M.D. & ZACHARY J.F. Bases da Patologia em Veterinária. 4º Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

MCKEITH, R. O., GRAY, G. D., HALE, D. S., KERTH, C. R., GRIFFIN, D. B., SAVELL, J. W., RAINES, C. R., BELK, K. E., WOERNER, D. R. & TATUM, J. D. National Beef Quality Audit-2011: Harvest-floor assessments of targeted characteristics that affect quality and value of cattle, carcasses, and byproducts. *Journal of Animal Science*, 90, 5135-5142, 2012.

MELLO, F. A. M.; FERNANDEZ, A. T.; FREDERICO, F. R.; OLIVEIRA, A.J. Ocorrência de condenações de órgãos comestíveis de bovinos em matadouro sob regime de inspeção estadual e federal no estado do Rio de Janeiro, RJ. *Revista Higiene Alimentar*, v. 19, n. 137, p. 56-62, 2005.

MELO JUNIOR, L. M.; RAMOS, A. T. Implicações das lesões encontradas em matadouros/frigoríficos na região de Araguaína-TO, Brasil. 7º Seminário de Iniciação Científica da Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2011.

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

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Inspeção de Carnes Bovina: Padronização de técnicas, instalações e equipamentos. Brasília, 2007. 168p.

NAGARAJA, T. G. & CHENGAPPA, M. M. Liver abscesses in feedlot cattle: A review. *Journal of Animal Science*, 76, 287-298, 1998.

NAGARAJA, T. G.; LECHTENBERG, K. F. Liver abscess in feedlot cattle. *Veterinary Clinics Foof Animal*, n. 23, p. 351-369, 2007.

NARAYANAN SK, NAGARAJA TG, WALLACE N, ET AL. Biochemical and ribotypic comparison of *Actinomyces pyogenes* and *A. pyogenes*-like isolates from liver abscesses, ruminal wall, and ruminal contents of cattle. *Am J Vet Res*;59:271–6, 1998.

O'HARA, C. M. Manual and automated instrumentation for identification of *Enterobacteriaceae* and others aerobic gram -negative bacilli. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 18, p. 147-162, 2005.

OLIVEIRA, S.J. *Guia Bacteriológico Prático: microbiologia veterinária*. Editora ULBRA, Canoas. 2012,142p.

PRADO, I. N. 2010. *Produção de bovinos de corte e qualidade da carne*. Eduem, Maringá, Paraná, Brasil.

VECHIATO, T. A. F., MASCHIO, W., BOM, L. C., LOPES, P. D. & ORTOLANI, E. L. 2011. Retrospective study of liver abscesses in beef cattle slaughtered in a Brazilian abattoir. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 48, 384-391.

WAAGE, S.; MORK, T.; ROROS, A. et al. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. *Journal of dairy science*, v. 82, n. 4, p. 712-9, abr 1999.

ANEXO

Forma e preparação de manuscritos

Para ser considerado para publicação, o trabalho deve ser um artigo científico ou comunicação científica, embora o Comitê Editorial também aceite artigos de revisão, a seu critério.

Artigo científico: consiste dos seguintes itens: título, nome (s) do (s) autor (es), endereço do autor correspondente e local de origem dos demais autores, resumo, palavras-chave, título traduzido, resumo traduzido, palavras-chave traduzidas, seguidas pela introdução, materiais e métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e referências.

Apresentação: os trabalhos devem ser apresentados em formato Microsoft WORD (.doc ou .docx), tamanho A4 de página, margens 2,5 cm, tamanho 12 fonte Times New Roman, espaço duplo, com numeração de página contínua usando a ferramenta Layout na Configuração da Página. ou item de menu Layout da página. O número máximo de páginas é 25 para artigos de revisão, 20 para artigos científicos e 10 para comunicações científicas, incluindo tabelas e figuras.

Idioma: o trabalho pode ser escrito em Português, Inglês ou Espanhol. Quando escrito em português, o título, resumo e palavras-chave traduzidos estarão em inglês. Quando escrito em inglês ou espanhol, o título, resumo e palavras-chave traduzidos serão em português.

Título: embora breve, o título deve dizer precisamente sobre o que é o artigo, enfocando seu objetivo principal.

Nome (s) e Endereço (s) do (s) autor (es): não devem ser incluídos no corpo do manuscrito, pois os *Arquivos Biológico* utilizam dupla revisão por pares. Esta informação deve ser inserida no campo específico do sistema de submissão online.

Resumo: deve concisamente apresentar o objetivo do trabalho, os materiais e métodos e conclusões, em um único parágrafo. O comprimento não deve exceder 250 palavras.

Palavras-chave: sob o resumo e separados por um espaço, forneça no máximo cinco palavras-chave separadas por vírgulas. Evite termos que aparecem no título.

Tradução de título, resumo e palavras-chave: trabalhos em português devem fornecer uma tradução do título, resumo e palavras-chave em inglês. Obras em inglês ou espanhol devem fornecer uma tradução do título, resumo e palavras-chave em português. O comprimento do resumo não deve exceder 250 palavras.

Introdução: descrever a natureza e a finalidade do trabalho, sua relação com outras pesquisas no contexto do conhecimento existente, juntamente com o motivo pelo qual o presente estudo foi realizado.

Material e métodos: apresentam uma descrição que é breve, mas suficiente para permitir a repetição do trabalho. Técnicas e processos previamente publicados, exceto quando modificados, devem ser meramente citados. Os nomes científicos das espécies e dos medicamentos devem ser citados de acordo com os padrões internacionais.

Resultados: acompanhados de tabelas e / ou figuras quando necessário. As tabelas e figuras devem ser inseridas após as referências.

Discussão: discutir os resultados obtidos, comparando-os com os de outros trabalhos publicados (resultados e discussão podem ser combinados em uma única seção).

Tabelas e figuras: inclua um título claro e conciso que permita que a tabela ou figura seja compreendida sem consultar o texto. As tabelas não devem conter linhas verticais. No texto, use a palavra abreviada (por exemplo: Fig. 3). As figuras devem estar no formato jpg (fotos) ou gif (gráficos e diagramas), de tamanho inferior a 500 Kb. Os valores originais ou de alta definição serão solicitados após a aprovação do submissão para publicação. Estes devem ser enviados em arquivos individuais e nomeados de acordo com o número da figura, por exemplo, Fig1.gif, Fig2.jpg.

Conclusões: apresentadas em sua ordem de importância. Eles podem ser dados em uma seção separada ou como parte da discussão.

Agradecimentos: podem se referir a pessoas e / ou instituições. No caso de agência de financiamento, o número do processo de financiamento deve ser incluído.

Referências e citações no texto: as citações no texto e as referências estão diretamente ligadas. Recomenda-se cerca de 25 referências a artigos e comunicações científicas. Todos os autores citados devem ser incluídos nas referências. A citação dos autores deve ser apresentada no formato do sobrenome do autor e no ano da publicação, e deve ser em maiúsculas, por exemplo: um autor Allan (1979) ou (Allan, 1979); dois autores - Lopes; Macedo (1982) ou (Lopes; Macedo, 1982); mais de dois autores - Besse et al. (1990) ou (Besse et al., 1990); coincidências de autores ou ano de publicação - (Curi, 1998a), (Curi, 1998b) ou (Curi, 1998a, 1998b). As referências devem ser formatadas de acordo com a NBR 6023/2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), e estar em ordem alfabética de primeiro autor, conforme os exemplos no seguinte link:

Os exemplos a seguir servirão como diretriz para a formatação e apresentação de referências:

a) Artigo de periódico ANDRÉA, MM; PETTINELLII JÚNIOR, A. Efeito de aplicações de pesticidas sobre a biomassa e a respiração de microrganismos de solos. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.67, n.2, p.223-228, 2000.

b) Artigo em periódico publicado na Internet FELÍCIO, JD; SANTOS, R. da S.; GONÇALES, E. Componentes químicos de *Vitis vinifera* (Vitaceae). *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.68, n.1, p.47-50, 2001. Disponível em: <http://www.biologico.br/arquivos/v68_1/9>. Acesso em: 5 mar. 2002.

c) Dissertações e Teses PERES, TB *Efeito das aplicações de pesticidas na microbiologia do solo e na dissipação do 14C-Paration Metílico*. 2000. 75f. Dissertação, Mestrado em Ciências - Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2000. SIMONI, IC *Utilização de vários vetores para propagação do vírus da doença infecciosa da bursa*. 2001. 77f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular - Área de Microbiologia) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

d) Dissertação / Dissertação publicada na Internet BATISTA, AS *Saccharomices cerevisiae* em milho com o efeito e na redução de aflatoxicoses. 2001. 96p. Dissertação (Mestrado - Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>> Acesso em: 28 jun. 2005.

e) Livros inteiros, brochuras, etc. BECKMANN, N. (Ed.). *Espectroscopia de RMN em carbono-13 de sistemas biológicos*. San Diego: Academic Press, 1995. 334p.

f) Parte de um livro (capítulo, passagem, fragmento, etc.) Capítulo ou parte sem autoria específica - o autor da parte é o mesmo autor do trabalho global ALBERTS,

B .;BRAY, D .;LEWIS, J;RAFF, M; ROBERTS, K; WATSON, JD Junções celulares, adesão celular e matriz extracelular. Dentro: _____.*Biologia Molecular da Célula*.3ª.ed. Nova Iorque: Garland Publications, 1994. 1294p. Rachar.19

Parte com autoria específica

BANIJAMALI, A. Função tireoidiana e drogas da tireóide.Em: FOYE, WO;LEMKE, TL;WILLIAMS, DA (Eds).*Princípios da química medicinal*.4º Ed.Filadélfia: Lippincot Williams & Wilkins, 1995. cap.30, p.688-704.