



Exacerbada linfadenitis granulomatosa por *Mycobacterium bovis* como causa de timpanismo gaseoso en un becerro

Jacobo Carrisoza-Urbina ¹

 0000-0002-8424-930X

Mario A. Bedolla-Alva ²

 0000-0002-6337-2923

José Ángel Gutiérrez-Pabello ^{1*}

 0000-0001-5801-5887

¹ Universidad Nacional Autónoma de México,
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Departamento de Microbiología e Inmunología,
Laboratorio de Investigación en Tuberculosis Bovina

² Universidad Nacional Autónoma de México,
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Departamento de Patología

* Autor para correspondencia:

Tel: 01 (55) 56225885

Correo electrónico:

jagp@unam.mx

Recibido: 2018-05-23

Aceptado: 2018-08-08

Publicado: 2018-09-24

Información y declaraciones adicionales
en la página 10

 Derechos de autor:

Jacobo Carrisoza-Urbina et al. 2018

acceso abierto 



Distribuido bajo una Licencia Creative Commons
Atribución 4.0 Internacional (CC-BY 4.0)

Resumen

Descripción del caso clínico. Bovino de la raza Holstein Friesian de 3 meses y 26 días de edad falleció por timpanismo gaseoso y síndrome vagal provocado por una linfadenitis granulomatosa exacerbada causada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*).

Hallazgos clínicos. Bovino que clínicamente presentó timpanismo gaseoso recurrente y que en la descripción patológica macroscópica se observó neumonía granulomatosa, así como una exacerbada linfadenitis granulomatosa, difusa, grave de los nódulos linfáticos mediastínicos que comprimieron el nervio vago provocando timpanismo gaseoso debido a la pérdida del reflejo gastrointestinal.

Tratamiento y evolución. La becerro tenía como signo clínico timpanismo recurrente autolimitante, del que se desconoce el tratamiento que recibió.

Pruebas de laboratorio. En el examen histopatológico se observaron lesiones granulomatosas difusas sin cápsula de tejido conectivo compatibles con tuberculosis. Mediante la tinción de Von Kossa se confirmó que los granulomas contenían calcio, y con la tinción de Ziehl Neelsen, se observó una gran cantidad de bacilos ácido alcohol resistente tanto en tejido pulmonar como en los nódulos linfáticos. Finalmente, se realizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de una sección de tejido embebido en parafina de nódulo linfático con lesión mediante el cual se confirmó *M. bovis*.

Relevancia clínica. Existe poca información de causas de timpanismo gaseoso y síndrome vagal asociado a una linfadenitis granulomatosa difusa, así como, una formación atípica de lesiones granulomatosas por *M. bovis* en nódulos linfáticos mediastínicos en becerros, lo que resalta la importancia de incluir en el diagnóstico diferencial a la tuberculosis bovina como una de las posibles causas de timpanismo gaseoso recurrente al igual que seguir

Cómo citar este artículo:

Carrisoza-Urbina J, Bedolla-Alva MA, Gutiérrez-Pabello JA. Exacerbada linfadenitis granulomatosa por *Mycobacterium bovis* como causa de timpanismo gaseoso en un becerro. Clínica Veterinaria: abordaje diagnóstico y terapéutico. 2018;4(2).

las medidas de bioseguridad que eviten problemas de salud pública. Los hallazgos macroscópicos e histológicos descritos en este análisis confirman timpanismo gaseoso asociado a una indigestión vaginal por linfadenitis granulomatosa debida a la infección por *M. bovis*.

Palabras clave: Tuberculosis bovina, timpanismo, granuloma, indigestión vaginal.

***Mycobacterium bovis* exacerbated granulomatous lymphadenitis as a cause of free-gas bloat in a calf**

Abstract

Case description. A Holstein Friesian calf, 3 months and 26 days of age died because of free-gas bloat and vaginal syndrome due to an exacerbated granulomatous lymphadenitis caused by infection with *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*).

Clinical findings. Clinically, the bovine showed recurrent free-gas bloat. Findings at necropsy included granulomatous pneumonia, as well as an exacerbated granulomatous diffuse, severe lymphadenitis of mediastinal lymph nodes that compressed the vagus nerve causing free-gas bloat that induced a loss of the gastrointestinal reflex.

Treatment and evolution. The calf had, as a clinical sign, self-limiting recurrent ruminal tympany, of which the treatment received is unknown.

Complementary laboratory tests. Histopathological examination revealed diffuse granulomatous lesions without a connective tissue capsule compatible with tuberculosis. Von Kossa staining confirmed the presence of calcium in the granulomas, whereas the Ziehl Neelsen stain identified many acid-fast bacilli both in lung tissue and in the lymph nodes. Finally, a polymerase chain reaction technique (PCR) confirmed the presence of *M. bovis* from paraffin-embedded lymph node tissue with tuberculous lesions.

Clinical relevance. There is little information on causes of free-gas bloat and vaginal syndrome associated with diffuse granulomatous lymphadenitis, as well as an atypical formation of granulomatous lesions by *M. bovis* in mediastinal lymph nodes in calves. Our findings, highlight the importance of including differential diagnosis in bovine tuberculosis as one of the possible causes of recurrent free-gas bloat, in addition to following biosecurity measures with the purpose to avoid public health problems. The macroscopic and histological findings described in this analysis, confirm free-gas bloat associated with vaginal indigestion due to granulomatous lymphadenitis caused by *M. bovis* infection.

Keywords: Bovine tuberculosis, tympany, granuloma, vaginal indigestion.

Descripción del caso

Una becerra de raza Holstein Friesian de 3 meses y 26 días tenía una anormal distensión del rumen, que se observaba en la parte superior del flanco izquierdo, lo que se relacionó con timpanismo gaseoso, y con la causa por la que falleció. Fue remitida al Centro de Enseñanza y Diagnóstico en Enfermedades de los Bovinos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicada en el estado de Hidalgo, donde se le realizó el examen *post mortem*.

Hallazgos clínicos e interpretación.

Este es el reporte de una becerra con timpanismo gaseoso recurrente, asociado con dolor, dificultad para respirar y pérdida del apetito. En la necropsia, el cadáver se veía con un adecuado estado de conservación y el abdomen distendido severamente (Figura 1). En la inspección interna, la porción cráneo-ventral de los lóbulos pulmonares craneales estaba congestionada y consolidada. El corte del parénquima exhibía extensas zonas de necrosis caseosa (Figura 2a y 2b). El rumen estaba distendido severamente por gas y contenía moderada cantidad de alimento seco adherido a la mucosa; en el esófago observamos la "línea timpánica" (Figura 3a). Los nódulos linfáticos mediastínicos tenían un gran aumento de tamaño, de manera que comprimieron el nervio vago y el esófago. El corte del parénquima mostraba extensas zonas de necrosis caseosa mal definida acompañadas de petequias en la mayor parte del órgano (Figuras 3b y 3c).



Figura 1. Becerra Holstein Friesian con distensión abdominal.



Figura 2. Neumonía granulomatosa. (a) Pulmón izquierdo con congestión y consolidación de los lóbulos cráneo-ventrales. (b) Cortes transversos de lóbulo pulmonares que muestran extensas zonas blancas sin bordes delimitados, algunos coalescen (señalados con flechas).

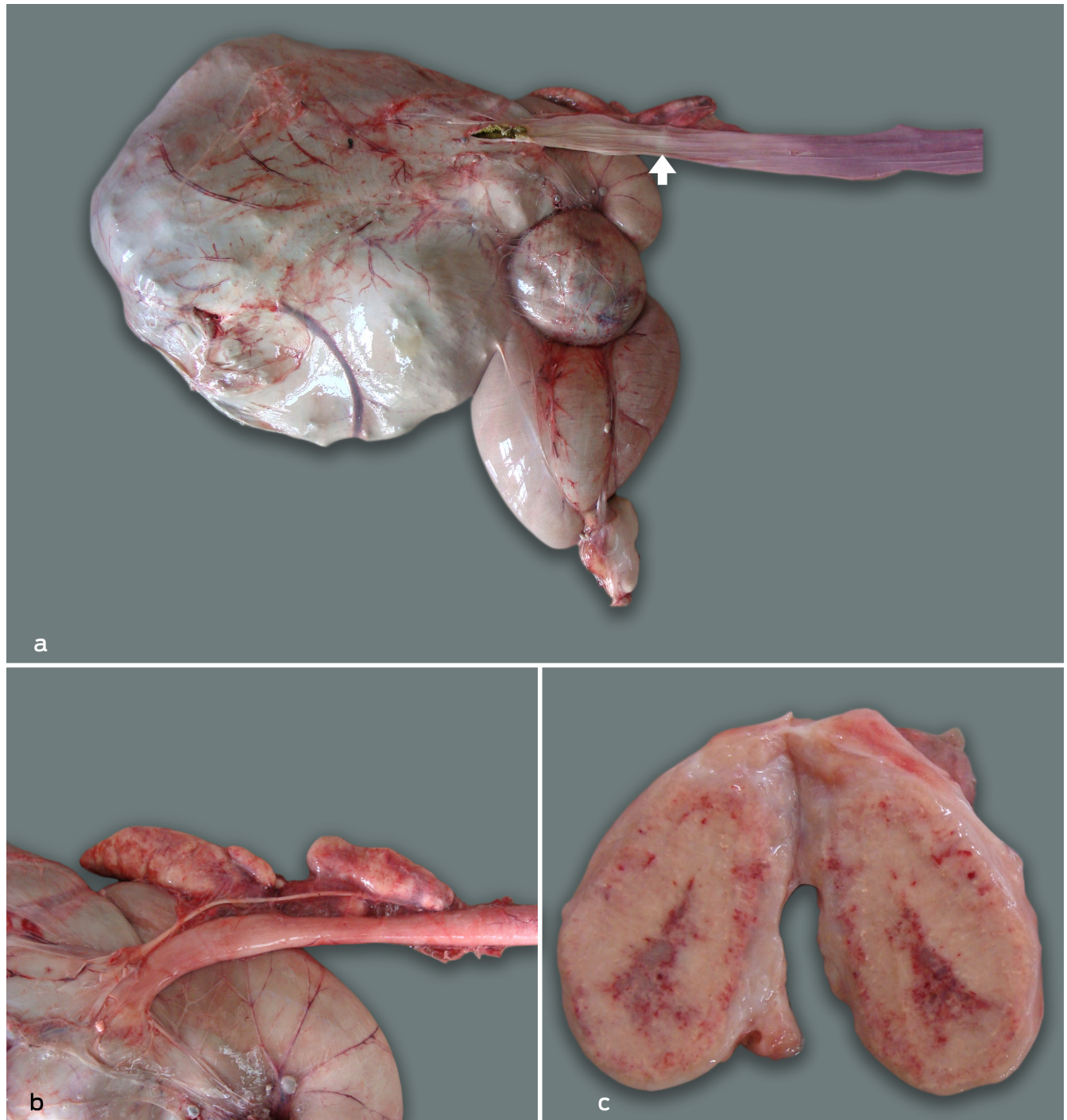


Figura 3. Órganos digestivos de un bovino que falleció a causa de indigestión vaginal por exacerbada linfadenitis granulomatosa en nódulos linfáticos mediastínicos. (a) Compartimentos gástricos de bovino con abundante alimento, esófago congestionado y hemorrágico en la parte cervical, en la parte torácica está pálido y blanquecino, la flecha señala la "línea timpánica". (b) Linfadenitis grave de los nódulos linfáticos mediastínicos que comprimen el nervio vago. (c) Corte transversal del nódulo linfático mediastínico donde se observan extensas áreas de necrosis caseosa con petequias.

Los diagnósticos morfológicos de la necropsia fueron los siguientes:

- Linfadenitis granulomatosa, difusa, grave con neumonía granulomatosa, multifocal.
- Bronconeumonía supurativa, zonal, moderada.
- Timpanismo gaseoso, crónico.

Tratamiento y evolución

La becerro tenía como signo clínico timpanismo recurrente autolimitante, del cual se desconoce si se aplicó algún tratamiento.

Pruebas de laboratorio

En formol al 10 %, fueron recolectadas muestras de nódulos linfáticos y tejido pulmonar, y posteriormente incluidas en bloques de parafina. Mediante la tinción de hematoxilina y eosina (H&E) se identificaron lesiones granulomatosas con extensas áreas de necrosis acompañadas de detritos celulares, macrófagos epitelioides, células gigantes multinucleadas, escasos neutrófilos, linfocitos en la periferia de la lesión y en algunas lesiones presentaron mineralización central. Sin embargo, en estas lesiones no se identificó la cápsula de tejido conectivo (Figuras 4a, b y c). Se realizó la tinción de Ziehl Neelsen, lo que permitió identificar gran cantidad de bacilos ácido alcohol resistentes en las áreas con necrosis, y principalmente, extracelulares en áreas con macrófagos (Figura 4d). Finalmente, mediante la tinción de Von Kossa, se confirmó precipitado de calcio (Figura 5).

Con la finalidad de confirmar si los bacilos observados en la tinción de Ziehl Neelsen eran micobacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, se extrajo ADN de bloques de parafina siguiendo la metodología de Van Helden *et al.* ⁽¹⁾ y mediante una PCR anidada utilizando iniciadores de los genes Mpb70 y M22 que amplifican un fragmento de 208 pb aproximadamente, ⁽²⁾ se identificó la presencia de micobacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis*; con una segunda PCR punto final con iniciadores del gen RD9 que amplifica un producto de 333 bp para *M. tuberculosis* y de 206 bp para *M. bovis*, fue posible identificar *M. bovis* (Figura 6).

Discusión y relevancia clínica

En este análisis, se describe el caso de una becerro de la raza Holstein Friesian, que en los hallazgos macroscópicos de la necropsia y las pruebas de laboratorio, confirman timpanismo gaseoso asociado a síndrome vagal por una linfadenitis granulomatosa exacerbada causada por *M. bovis*. El término “indigestión vagal” o síndrome vagal se ha asociado a un daño en el nervio vago causando una indigestión crónica debido a la falla en el paso de alimento de los cuatro compartimentos gástricos al abomaso. ⁽³⁾ Este padecimiento puede desencadenar la muerte del animal que frecuentemente se debe a una insuficiencia cardíaca, ocasionada por compresión de la vena cava caudal debido a que el rumen está severamente distendido por gas.

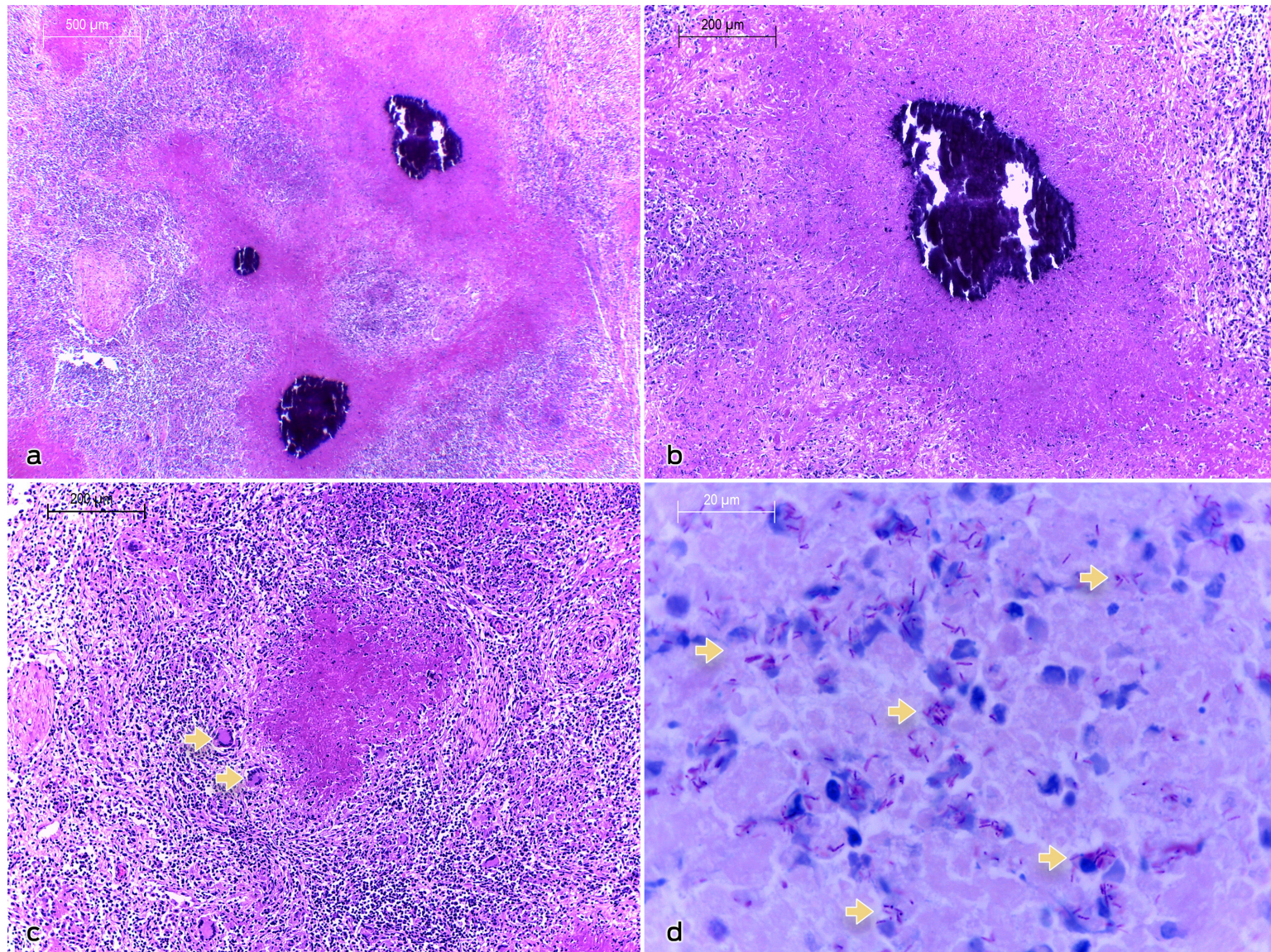


Figura 4. Linfadenitis granulomatosa exacerbada. (a) H&E, 40X Tejido linfático con extensas áreas de necrosis sin bordes definidos y calcificación. (b) H&E, 200X. Aumento de la sección a. (c) H&E, 200X. Lesión granulomatosa con células gigantes multinucleadas señaladas con flechas. (d) Zielh Neelsen, 1000X. Nódulo linfático con abundantes bacilos extracelulares ácido alcohol resistentes (señalados con flechas).

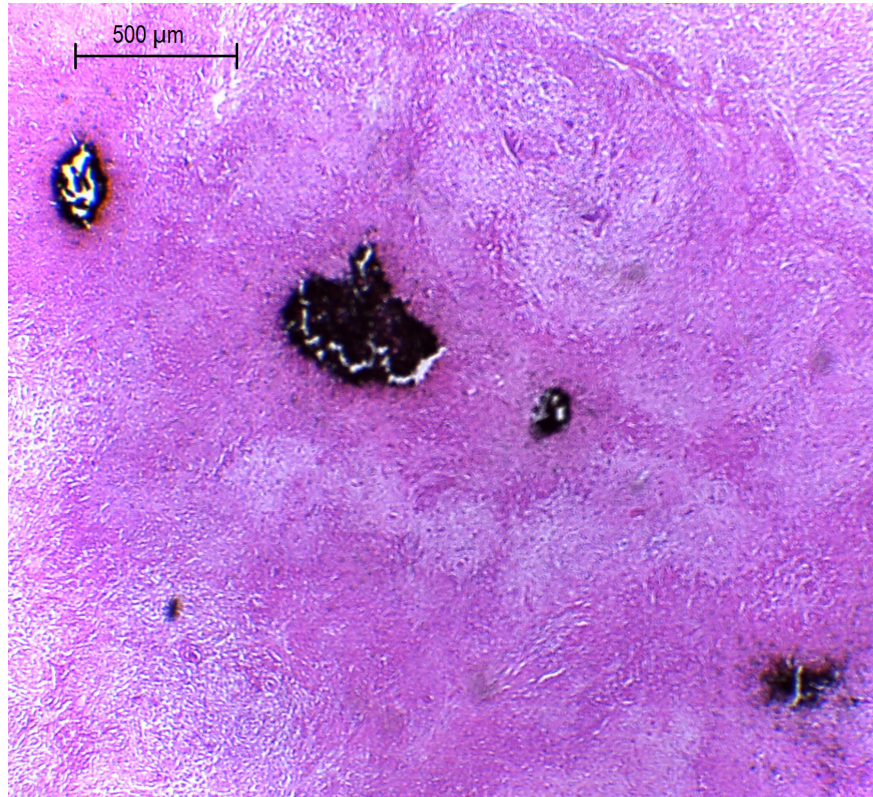


Figura 5. Lesiones granulomatosas: precipitado de calcio en color negro, tinción de Von Kossa 40X.

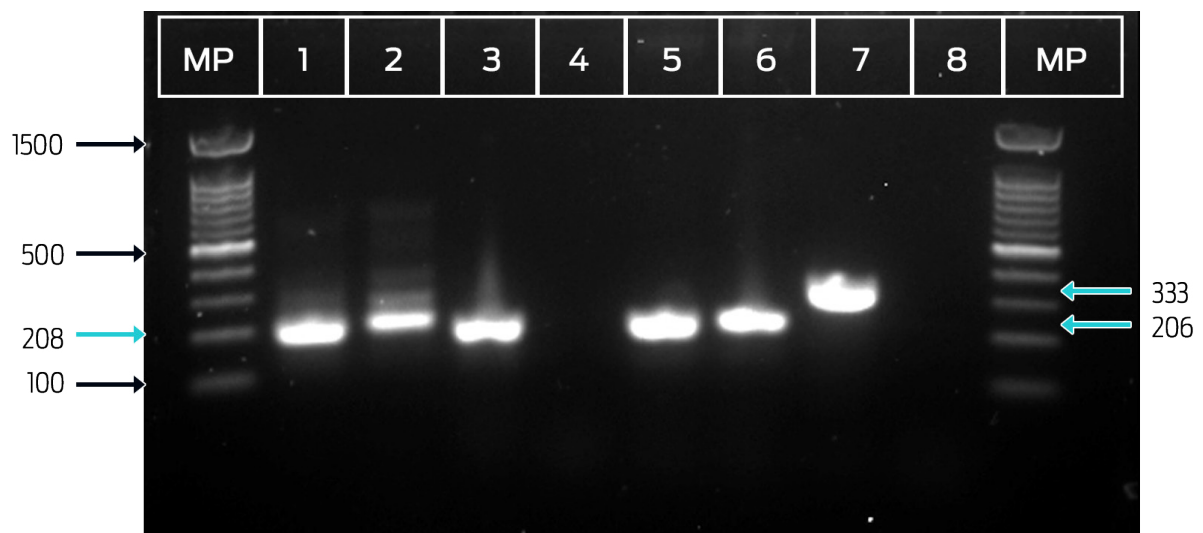


Figura 6. Identificación molecular de *M. bovis*. Marcador de peso molecular (MP) de 100 pb. Carriles 1–4: productos de amplificación de la PCR anidado del gen mpb70 de 208 pb. Carril 1: muestra de nódulo linfático mediastínico. Carril 2: control positivo de *M. bovis* BCG. Carril 3: control positivo de *M. tuberculosis* H37rv. Carril 4 y 8: controles negativos. Carriles 5–8: PCR punto final del gen RD9 de 206 pb para *M. bovis*, y 333 pb para *M. tuberculosis*. Carril 5: muestra de nódulo linfático mediastínico de la becerro. Carril 6: control positivo de *M. bovis* BCG. Carril 7: control positivo de *M. tuberculosis* H37rv.

Una gran variedad de causas se han relacionado con este síndrome, por ejemplo: a) bloqueos mecánicos que comprometan el paso del alimento y b) condiciones que resulten en un daño, inflamación o provoquen presión en el nervio vago; las que con mayor frecuencia se describen son las de bovinos y, en menor grado, las de búfalos y ovinos: cuerpos extraños, reticulopericarditis traumática, papilomas, ingestión de placentas, linfosarcomas, quistes de parásitos y gestación avanzada.⁽⁴⁻⁷⁾ Sin embargo, poca información existe sobre indigestión vagal causada por linfadenitis granulomatosa.

En este reporte, en el examen *post mortem* del bovino, se observó neumonía granulomatosa con linfadenitis granulomatosa de los nódulos linfáticos mediastínicos, lo que provocó la pérdida del reflejo gastrointestinal por compresión del nervio vago. Como consecuencia el rumen se distendió y, en la inspección interna, se encontró abundante gas y alimento seco adherido a la mucosa gástrica, así como el esófago congestionado y hemorrágico en la parte cervical, mientras que en la parte torácica estaba pálido y blanquecino demarcando la "línea timpánica".

En el análisis histopatológico del tejido pulmonar y de los nódulos linfáticos mediastínicos, se identificaron lesiones de tipo granulomatoso con abundantes bacilos extracelulares Ziehl Neelsen positivos, principalmente en las zonas de necrosis. No fue posible identificar una cápsula de tejido conectivo en las lesiones con calcificación, este último hallazgo contradice lo que se ha reportado en infecciones experimentales con *M. bovis* en bovinos, donde ha sido posible identificar y clasificar los granulomas microscópicamente causados por la infección en cuatro estadios (I, II, III, IV), y donde en el estadio más avanzado hay calcificación central y una cápsula de tejido conectivo.⁽⁸⁾ Por otra parte, el grosor de la cápsula de tejido conectivo se ha asociado a un mejor control de la cantidad de micobacterias en las lesiones en bovinos naturalmente infectados por *M. bovis*.⁽⁹⁾ En un estudio utilizando como modelo experimental la cepa de ratón C3HeB/FeJ susceptible a la infección por *Mycobacterium tuberculosis*, se observó que cuando los ratones fueron desafiados con *M. bovis*, se desarrollaron lesiones con extensas áreas de necrosis, neutrófilos, una ineficiente cápsula de tejido conectivo y abundantes bacilos que producían la muerte a las cinco semanas postinfección. Este tipo de lesiones fueron similares a las observadas en este reporte de caso, por lo que nos sugiere una respuesta inmune deficiente en este becerro.⁽¹⁰⁾

Con la finalidad de confirmar si los bacilos en la tinción de Ziehl Neelsen eran micobacterias, se extrajo ADN de bloques de parafina siguiendo la metodología de Van Helden et al. (2001) y, mediante una PCR anidada, se identificó material genético correspondiente a micobacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, y con una segunda PCR punto final del gen RD9, se confirmó la presencia de *M. bovis*.

La patogénesis de la "indigestión vagal" ha sido controversial.⁽⁴⁾ En el ganado bovino, se ha asociado a la reticulopericarditis traumática como una de las principales causas.⁽¹¹⁾ Sin embargo, varias son las afecciones que están relacionadas con este padecimiento y que se continúan estudiando. En este reporte de caso, se describe una ineficiente formación de granulomas asociada a una exacerbada linfadenitis granulomatosa en los nódulos linfáticos mediastínicos como causante de timpanismo gaseoso e indigestión vagal. Por lo que debe considerarse como diagnóstico diferencial de este padecimiento.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT IN-220415 de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y el proyecto con el número 167488 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Contribución de los autores

MABA: Responsable de la necropsia y descripción macroscópica.

MABA y JCU: Descripción microscópica de las lesiones.

JCU: Responsable de las pruebas de laboratorio.

JCU y JAGP: Análisis de los resultados de laboratorio.

JCU y JAGP: Escritura del manuscrito

Referencias

1. Van Helden PD, Victor TC, Warren RM, van Helden EG. Isolation of DNA from *Mycobacterium tuberculosis*. In: *Mycobacterium Tuberculosis* Protocols [internet]. New Jersey: Humana Press; 2001 [cited 2017 Sep 24]. p. 19–30. Available from: <http://link.springer.com/10.1385/1-59259-147-7:019>
2. Estrada-Chávez C, Otero FD, Díaz CA, Villegas-Sepúlveda N, González RP, Salazar DG. Concordancia de la PCR y métodos rutinarios para el diagnóstico de tuberculosis bovina. *Vet México* [internet]. 2004 [cited 2017 Sep 24];35(3):225–36. Available from: <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?IDARTICULO=6869>
3. Hoflund S. Investigations of functional defects of the ruminant stomachs caused by damage to the vagus nerve. *Sven Vet Tidskr* 45b. 1940;45. (cited by Foster D. Disorders of rumen distension and dysmotility. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* [internet]. Elsevier; 2017 Nov 1 [cited 2018 Aug 19];33(3):499–512. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749072017300592?via%3Dihub>
4. Lacasta D, Climent M, Ferrer LM, Ramos JJ, Figueras L, Borobia M. Vagus indigestion resulting from a *Cysticercus tenuicollis* cyst in an adult ewe. *Small Rumin Res* [internet]. 2013 Feb [cited 2017 Nov 21];110(1):62–4. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921448812003811>
5. Fubini SL, Ducharme NG, Murphy JP, Smith DF. Vagus indigestion syndrome resulting from a liver abscess in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* [internet]. 1985 Jun 15 [cited 2017 Nov 20];186(12):1297–300. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4019288>
6. Hussain SA, Uppal SK, Singh A, Mahajan SK. Vagal indigestion in a buffalo due to obstruction of cardia by a cloth. *International Buffalo Information Center. Buffalo bulletin*; 2014 [cited 2018 Aug 19];33(4):258–62. Available from: <http://ibic.lib.ku.ac.th/e-Bulletin/IBBU201404003.pdf>
7. Van Metre DC, Fecteau G, House JK, George LW. Indigestion of late pregnancy in a cow. *J Am Vet Med Assoc* [internet]. 1995 Mar 1 [cited 2017 Nov 20];206(5):625–7; discussion 627–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7632230>

8. Wangoo A, Johnson L, Gough J, Ackbar R, Inglut S, Hicks D, et al. Advanced granulomatous lesions in *Mycobacterium bovis*-infected cattle are associated with increased expression of type 1 procollagen, gammadelta (WC1+) T cells and CD 68+ cells. J Comp Pathol [internet]. 2005 Nov [cited 2015 Dec 10];133(4):223–34. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997505000630>
9. Menin Á, Fleith R, Reck C, Marlow M, Fernandes P, Pilati C, et al. Asymptomatic cattle naturally infected with *Mycobacterium bovis* present exacerbated tissue pathology and bacterial dissemination. Cardona PJ, editor. PLoS One [internet]. 2013 Jan 9 [cited 2017 Feb 26];8(1):e53884. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0053884>
10. Bouté M, Carreras F, Rossignol C, Doz E, Winter N, Epardaud M. The C3HeB/FeJ mouse model recapitulates the hallmark of bovine tuberculosis lung lesions following *Mycobacterium bovis* aerogenous infection. Vet Res [internet]. 2017 Dec 7 [cited 2018 Mar 13];48(1):73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29116026>
11. Rehage J, Kaske M, Stockhofe-Zurwieden N, Yalcin E. Evaluation of the pathogenesis of vagus indigestion in cows with traumatic reticuloperitonitis. J Am Vet Med Assoc [internet]. 1995 Dec 15 [cited 2017 Nov 20];20