

DETERMINAÇÃO DA ETIOLOGIA DE GRANULOMAS ACTINOMICÓIDES EM BOVINOS NO RIO GRANDE DO SUL ATRAVÉS DA HISTOQUÍMICA¹

RITA DENISE NIEDERAUER WEISS² e MURILO NOGUEIRA SANTOS³

ABSTRACT.- Weiss R.D.N. & Santos M.N. 1992. [Histochemical diagnosis of actinomycotic-like granulomas in cattle from southern Brazil.] Determinação da etiologia de granulomas actinomicóides em bovinos no Rio Grande do Sul através da histoquímica. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 12(3/4):71-76. Dept² Patologia, Univ. Fed. St^a Maria, 97119-900 Santa Maria, RS, Brazil.

The etiology of actinomycotic-like lesions from 254 lymph nodes of cattle from southern Brazil was determined by histochemistry. The diagnosis of these lesions in hematoxylin-eosin (H-E) preparations was based upon the pyogranulomatous inflammatory reaction with centrally located sulphur grains. The lesions stained by the MacCallum-Goodpasture technique showed 60.36% Gram-positive coccoid bacteria (*Staphylococcus*), 36.62% Gram-negative cocco-bacillus (*Actinobacillus lignieresii*) and 2.72% Gram-positive filamentous branching elements (*Actinomyces bovis*). Fite-Faraco stain demonstrated the acid-fast properties and Gomori stain, the morphological features to distinguish between *Actinomyces bovis* and *Nocardia* sp. Gram-positive cocci were diagnosed as botryomycosis which occurred predominantly in preescapular, parotid and femoral lymph nodes. The presence of Gram-negative coccobacillary elements indicated *Actinobacillus* sp., whereas the finding of Gram-positive filamentous branching elements indicated *Actinomyces* sp. These latter two were more frequently found in retropharyngeal and sublingual lymph nodes. Small differences in the morphology of the bacterial colonies may help to establish the etiological diagnosis in H-E preparations. The Gram method, however, allows an accurate distinction between *Actinobacillus lignieresii* and *Actinomyces bovis* in cases where fresh material for bacteriological isolation is no longer available. Of 467 other cases originally diagnosed as tuberculosis in gross inspection at the slaughter house, 10.23% were histologically confirmed as actinomycotic-like granulomas. This certainly causes economic losses due to the condemnation of carcasses.

INDEX TERMS: Actinomycotic-like granuloma, botryomycosis, actinobacillosis, actinomycosis, granulomatous lymphadenitis, histochemistry, cattle, pathology.

SINOPSE.- Foi determinada a etiologia dos "granulomas actinomicóides" através da histoquímica em 254 materiais de linfonodos de bovinos do Rio Grande do Sul. O diagnóstico de granuloma actinomicóide foi baseado na inflamação piogranulomatosa, contendo, na porção central, os grânulos de enxofre, observados na coloração pela hematoxilina e eosina (H-E). Ao material com essa lesão foi aplicada a técnica de MacCallum-Goodpasture que evidenciou uma incidência de 60,36% de bactérias cocóides Gram-positivas (*Staphylococcus*), 36,62% de coco-bacilos Gram-negativos (*Actinobacillus lignieresii*) e de 2,72% de elementos filamentosos, ramificados, Gram-positivos (*Actinomyces bovis*) como constituintes do grão de enxofre. Nos casos de actinomicose aplicaram-se as técnicas de Fite-Faraco e Prata de Gomori para a diferenciação entre *Actinomyces bovis* e *Nocardia* sp. Os casos de botriomicose foram vistos principalmente nos linfonodos pré-escapulares, parotídeos e femurais; os de actino-

micose e actinomicose nos retrofaringes e sublinguais. Pequenas diferenças do aspecto das colônias podem auxiliar no diagnóstico etiológico nas preparações coradas pela H-E, mas o emprego das técnicas de Gram permite a diferenciação entre *Actinobacillus lignieresii* e *Actinomyces bovis* quando não se dispõe de culturas. Adicionalmente observou-se pelo estudo histológico de outros 467 casos, que 10,23% deles foram diagnosticados como granuloma actinomicóide, porém interpretados macroscopicamente, na inspeção, como tuberculose o que certamente leva a prejuízos econômicos pela condenação das carcaças.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Granuloma actinomicótico, botriomicose, actinobacilose, actinomicose, linfadenite granulomatosa, histoquímica, bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

Bactérias dos gêneros *Actinomyces*, *Actinobacillus*, *Nocardia* e *Staphylococcus* produzem lesões granulomatosas, histologicamente, muito semelhantes quando vistas pela coloração de rotina de hematoxilina e eosina (H-E). O termo "granuloma actinomicóide" foi aqui introduzido para designar as lesões histológicas causadas por esses microorganismos, quando vistas pela H-E.

¹ Aceito para publicação em 25 de fevereiro de 1992.

² Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária Área de Patologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 97119-900, Rio Grande do Sul.

³ Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria.

Winslow & Steen (1964) denominaram de micetoma actinomicóide a lesão constituída de um foco central de supuração dentro do qual são encontrados os chamados grãos ou grânulos de enxofre, formados pela colônia do agente etiológico, rodeados por material eosinofílico homogêneo em forma de clavas e circundados por reação inflamatória granulomatosa. Nessa reação predominam macrófagos, linfócitos, células gigantes e fibroplasia (Backer & Durham 1957, Franco 1960, Kubo et al. 1982). Para Londero et al. (1986), o micetoma é a designação coletiva de um grupo de micoses e actinobacterioses subcutâneas, causadas por várias espécies de fungos e actinomicetos aeróbicos e caracterizadas pelo grânulo de enxofre. Outras denominações e definições são dadas para as lesões causadas por aqueles agentes, mas todas tomam como base o grão de enxofre e a reação granulomatosa (Baker & Durham 1957, Franco 1960, Winslow & Steen 1964, Kubo et al. 1981).

Bactérias do gênero *Streptococcus* e de *Pseudomonas aeruginosa* e *Corynebacterium pyogenes* (*Actinomyces pyogenes*) são também capazes de produzir lesões actinomicóides (Shanan & Davis 1942, Greenblatt et al. 1964, Winslow & Steen 1964).

A actinomicose é causada pela bactéria *Actinomyces bovis*, descrita por Cohn, em 1875 (citado por Emmons 1935), como um organismo filamentosamente ramificado. O termo actinomicose, descrevendo lesões da língua e mandíbula em bovinos, foi introduzido por Bollinger, em 1877 (citado por MacFadyean 1932). Harz, em 1878 (apud Peabody & Seabury 1957), descreveu com detalhe as lesões de actinomicose e deu o nome de *Actinomyces bovis* ao agente, achando tratar-se de um fungo, mas que atualmente é considerado uma bactéria (Lacaz et al. 1984).

Organismos em forma de cocobacilos, Gram-negativos, em grãos de enxofre, atingindo tecidos moles, foram descritos e chamados de *Actinobacillus* por Lignieres e Spitz, em 1912 (apud Shanan & Davis, 1942). Em 1910, Brumpt (apud Bosworth, 1923) classificou a bactéria como *Actinobacillus lignieresii*.

A botriomicose foi descrita pela primeira vez por Bollinger, em 1870 (apud Auger 1948), como complicação de feridas de castração em eqüinos e as lesões foram interpretadas como produzidas por fungos. Foi Magrau, em 1910 (apud Greenglatt et al. 1964), quem verificou a origem bacteriana do processo, confirmada, experimentalmente, por Drake et al. (1943) quando reproduziram a lesão com *Staphylococcus aureus*.

Por muito tempo, a presença do grânulo de enxofre foi critério para o diagnóstico de actinomicose, isto porque os primeiros pesquisadores demonstraram que estes grânulos eram característicos de *Actinomyces bovis* (Davies & Torrance 1930) e, em bovinos, a lesão ocorre principalmente na cavidade bucal e linfonodos da cabeça e região cervical. Os processos mais antigos são caseosos, amarelados e, por vezes, mineralizados, assemelhando-se à tuberculose (Franco 1960) o que pode levar à condenação de carcaças.

A determinação do agente causador dos granulomas actinomicóides só é possível através de culturas, mas métodos histoquímicos permitem verificar a presença de: bactérias cocóides Gram-positivas como *Staphylococcus*; cocobacilos Gram-negativos como *Actinobacillus lignieresii*; bactérias filamentosas Gram-positivas como *Actinomyces bovis* e a diferenciação deste, de *Nocardia* sp, como agentes produtores da lesão em tecidos fixados.

O objetivo da pesquisa foi verificar a etiologia dos granulomas actinomicóides, através das características morfológicas e tintoriais dos agentes encontrados nos grânulos de lesões em linfonodos de bovinos do Rio Grande do Sul, determinar sua frequência e linfonodos mais atingidos, bem como estabelecer a correspondência entre a suspeita clínica e o diagnóstico histológico de tuberculose.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados 254 linfonodos de bovinos com diagnóstico microscópico de granuloma actinomicóide, que provinham de matadouros frigoríficos de 35 municípios do Rio Grande do Sul. Esses linfonodos foram fixados em formol a 10%, processados em parafina e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (H-E), pelo método de Gram, modificação de Mac Callum-Goodpasture (Behmer et al. 1976), para a verificação dos agentes etiológicos e propriedades histoquímicas.

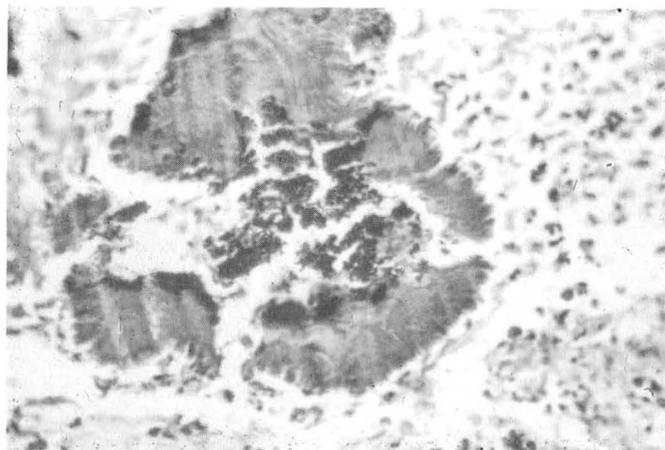
Para os casos onde apareceram elementos filamentosos foram aplicadas a técnica da metenamina-nitrato de prata de Gomori (Thompson 1966) para o estudo da morfologia das bactérias, e a técnica de Fite-Faraco (Thompson 1966) para a verificação do fenômeno do álcool-ácido resistência verificado em *Nocardia*, o que possibilita a sua diferenciação de *Actinomyces bovis*.

Associada a este estudo, fez-se a comparação entre o diagnóstico clínico que acompanhava o material e o histológico de outros 467 casos de linfonodos com granuloma tuberculóide para se verificar a correspondência diagnóstica.

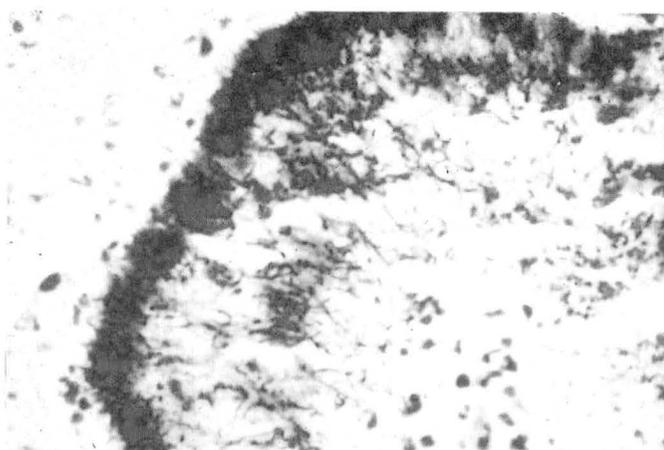
RESULTADOS

Através da coloração de Gram, modificado por MacCallum-Goodpasture foi possível a identificação de três diferentes tipos de agentes causadores dos granulomas actinomicóides, segundo a morfologia e propriedades tintoriais. O diagnóstico de botriomicose foi feito naquelas lesões onde havia cocos Gram-positivos (Fig. 1) e esses casos corresponderam a 60,63% das lesões. A presença de cocobacilos Gram-negativos nas colônias permitiu o diagnóstico de actinobacilose num total de 36,62% dos casos. O diagnóstico de actinomicose foi baseado na presença de elementos filamentosos, finos e ramificados que se entrelaçavam no interior da colônia e eram Gram-positivos e não álcool-ácido resistentes (Fig. 2). Esses agentes foram vistos em 2,75% dos casos estudados e os linfonodos mais atingidos foram os pré-escapulares, parotídeos e femurais na botriomicose, os retrofaríngeos e sublinguais na actinobacilose e actinomicose (Quadro 1).

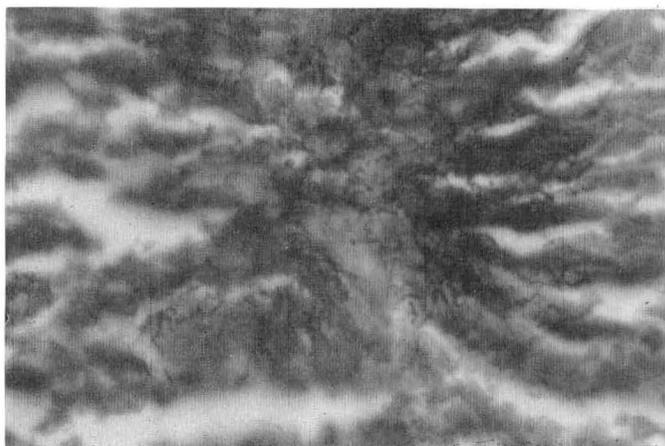
Pela técnica de MacCallum-Goodpasture, na botriomicose, as clavas coraram-se de vermelho, na maioria das vezes, e continham no seu interior cocos azuis, geral-



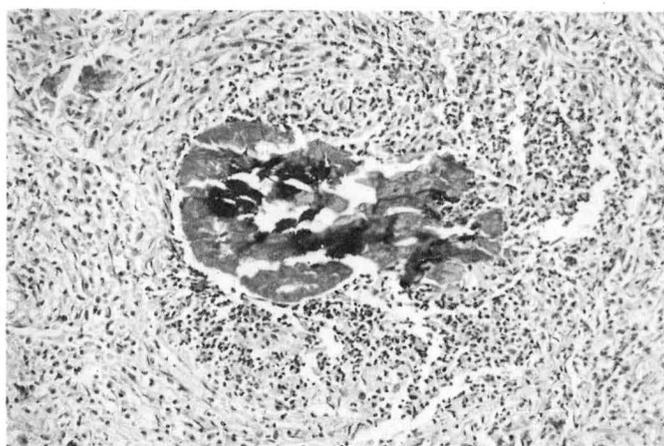
1



2



3



4

Fig. 1. Aspecto microscópico de granuloma actinomicóide em linfonodo de bovino, causado por bactéria cocóide. No centro do grânulo de enxofre aparece aglomerado basofílico do microrganismo e clavas eosinofílicas circundantes. A reação inflamatória próxima da colônia é constituída principalmente de polimorfonucleares neutrófilos. H-E, obj. 40.

Fig. 3. Actinomicose em linfonodo de bovino. Observam-se elementos filamentosos, ramificados bem nítidos na impregnação pela prata. Metenamina-nitrato de prata de Gomori, obj. 100.

Fig. 2. Actinomicose em linfonodo de bovino. Parte da colônia mostrando um emaranhado de bactérias filamentosas, Gram-positivas. As clavas são malformadas e partes delas são vistas dentro do grânulo. McCallum-Goodpasture, obj. 40.

Fig. 4. Granuloma actinomicóide em linfonodo de bovino. Aspecto da colônia envolta por neutrófilos e reação granulomatosa. H-E, obj. 16.

Quadro 1. Granuloma actinomicóide em linfonodos de bovinos. Percentagem de freqüência de botriomicose, actinobacilose e actinomicose em 254 linfonodos provenientes de matadouros frigoríficos do Rio Grande do Sul, após a coloração pela técnica de MacCallum-Goodpasture (Gram)

Linfonodos	Botriomicose		Actinobacilose		Actinomicose	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Retrofaríngeo	6	2,36	45	17,72	3	1,18
Sublingual	14	5,52	26	10,24	2	0,79
Parotídeo	27	10,63	5	1,97	-	-
Submandibular	-	-	2	0,79	-	-
Pré-escapular	66	25,98	7	2,76	-	-
Mediastínico	1	0,39	-	-	-	-
Peribrônquico	-	-	1	0,39	-	-
Femural	23	9,06	4	1,57	1	0,39
Inguinal	4	1,57	2	0,79	1	0,39
Ilíaco	7	2,76	1	0,39	-	-
Retromamário	6	2,36	-	-	-	-
Total	154	60,63	93	36,62	7	2,75

mente formando aglomerados no centro do grânulo. Em quatro linfonodos, as colônias eram constituídas por elementos filamentosos Gram-positivos que, pela impregnação pela prata, mostravam contorno nítido e centro claro. Esses agentes não possuíam álcool-ácido resistência e foram classificados como bactérias superiores.

Os grânulos de *Actinobacillus* exibiram clavas vermelhas, bem formadas e grandes em relação ao tamanho do grão, pela coloração de Gram. No interior ou na periferia dos mesmos apareciam cocobacilos vermelho-brilhantes, que eram também evidentes naqueles casos onde as clavas eram fracamente coradas.

Na actinomicose as clavas também apareceram vermelhas, contendo no seu interior organismos filamentosos e finos, corados em azul-escuro, pela técnica de MacCallum-Goodpasture. Na impregnação pela prata os filamentos negros mostravam ramificações e essa técnica permitia melhor observação da disposição em emaranhado (Fig. 3). Pela técnica de Fite-Faraco nenhum elemento mostrou álcool-ácido resistência.

A coloração pela hematoxilina e eosina possibilitou apenas o diagnóstico de granuloma actinomicóide (Fig. 4), mas permitiu um estudo detalhado da reação inflamatória. A lesão básica foi o chamado grânulo de enxofre no centro do granuloma. Esse grânulo tinha um centro levemente eosinofílico, circundado por estrutura formada por delicadas projeções fortemente eosinofílicas, em forma de clavias, dispostas radialmente, dando ao grânulo o aspecto de roseta. Os componentes da reação inflamatória que rodeava o grânulo eram distribuídos de forma e quantidade variáveis, mesmo entre os mesmos agentes. Em contato com o grânulo aparecia uma camada de neutrófilos, que variava de intensidade de grânulo para grânulo. Ao redor desses microabscessos apareciam macrófagos e células epitelióides, muitas vezes, em meio aos neutrófilos e, em muitos casos, células gigantes, algumas fagocitando pequenos grânulos ou parte deles. Linfócitos e plasmócitos apareciam mais externamente, distribuídos nas áreas onde havia mais fibroblastos. Uma cápsula fibrosa demarcava os granulomas e alguns grânulos mostravam focos de calcificação.

Pequenas diferenças puderam ser verificadas pela H-E quando as lesões dos diferentes agentes foram comparadas. Assim, na botriomicose, os grânulos eram grandes, numerosos, mas com clavias pequenas em relação ao tamanho do grânulo. Em alguns deles podiam ser vistos elementos cocóides corados basofilicamente e muitos grânulos estavam calcificados. Na actinobacilose, os grânulos eram pequenos e, algumas vezes, numerosos, formando inúmeros pequenos piogranulomas. As clavias eram bem formadas e grandes em relação ao grânulo. Na reação inflamatória, os neutrófilos eram mais proeminentes que os outros tipos celulares e a reação granulomatosa era mais discreta, com poucos fibroblastos e, algumas vezes, sem cápsula fibrosa. Na actinomicose os grânulos tinham tamanho e forma variáveis, mas em geral eram grandes e muitos deles tinha a forma de ferradura. Em alguns puderam ser vistos elementos filamentosos corados basofilicamente.

Dos 467 linfonodos com diagnósticos microscópico de granuloma tuberculóide, o diagnóstico macroscópico de tuberculose na inspeção foi confirmado em 89,77% dos casos, mas em 7,27% tratava-se de actinobacilose, em 1,69% de actinomicose e em 1,27% de linfadenite inespecífica ou neoplasia. Essas lesões predominavam nos linfonodos mediastínicos, retrofaríngeos, pré-escapulares e paratídeos.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O termo granuloma actinomicóide foi proposto para designar as inflamações crônicas causadas por microorganismos que, pela coloração de rotina (H-E), provocam reação inflamatória semelhante àquela causada pela bactéria *Actinomyces bovis*, pois a denominação de actinomicose necessariamente, não é indicativo da infecção por esse organismo (Vawter 1933). O termo botriomicose foi usado apenas para agrupar aqueles casos de granulomas

actinomicóides causados por bactérias cocóides, vistas na técnica de Gram. Esse termo, embora consagrado, denota a idéia errônea de infecção por fungo.

Dos linfonodos estudados a maior incidência de granuloma actinomicóide foi causada por bactérias cocóides Gram-positivas (botriomicose) e, em segundo lugar, por cocobacilos Gram-negativos (*Actinobacillus lignieresii*) e poucas vezes por bactérias filamentosas, finas, Gram-positivos (*Actinomyces bovis*) (Quadro 1).

Os linfonodos pré-escapulares foram os mais atingidos por bactérias cocóides (botriomicose) e nesses linfonodos como em outros, a infecção deve ser secundária tendo como ponto de partida uma lesão na pele ou outro órgão e o linfonodo lesado corresponderia a área de drenagem dessas lesões, mas esta constatação não foi possível confirmar por falta de informações do histórico clínico. Autores como Shanan & Davis (1942) citaram que lesões botriomicóticas são freqüentes em linfonodos, mas não deram a via de infecção.

Os linfonodos da região da cabeça e do pescoço, principalmente os retrofaríngeos e sublinguais foram os mais atingidos na actinobacilose. Essa localização é a mais freqüentemente relatada na infecção de linfonodos por *Actinobacillus lignieresii* (Davis & Torrance 1930, Vawter 1933, Sanders & Ristic 1956, Franco 1960, Till & Palmer 1960, Hebler et al. 1961, Barker & Van Dreumel 1985).

Nos poucos casos de actinomicose aqui observados lesões também foram encontradas em linfonodos da região da cabeça e do pescoço, sendo os retrofaríngeos e sublinguais os mais atingidos. Considerando-se que a cavidade bucal, principalmente a língua, é o local de infecção mais freqüente por *Actinobacillus lignieresii* e ossos da face por *Actinomyces bovis*, é de se esperar que os linfonodos que drenam essa região sejam os mais atingidos por essas bactérias, embora linfonodos distantes da cabeça também possam ser afetados. Till & Palmer (1960) citaram lesões de actinomicose em ossos da região cérvico-facial, associadas a lesões em linfonodos regionais.

A técnica de Gram e outras variações testadas foram eficientes para demonstrar os agentes Gram-positivos, mas somente com a técnica de MacCallum-Goodpasture foi possível a verificação dos cocobacilos Gram-negativos.

Pela técnica de MacCallum-Goodpasture verificou-se que, em todos os casos deste estudo os granulomas com bactérias cocóides foram causados por cocos Gram-positivos semelhantes à botriomicose como foi produzida, experimentalmente, por Kimmestiel & Easley (1940) com a inoculação de *Staphylococcus* sp. Foram relatados também casos espontâneos de botriomicose causados por *Staphylococcus aureus* (Drake et al. 1943, Winslow 1959, Waisman 1962, Greenblatt et al. 1964, Kubo et al. 1982). Bactérias do gênero *Streptococcus* são também capazes de produzir lesão semelhante (Greenblatt et al. 1964, Jones & Hunt 1983a, Yager & Scott 1985). Em nosso estudo o agente não foi cultivado para identificação por ter sido usado somente material fixado.

O aspecto microscópico de granuloma contendo grânulos pequenos, numerosos e com cocobacilos Gram-negativos permite o diagnóstico de actinobacilose e essa descrição corresponde àquelas de Gill & Singh (1977), Parihar et al. (1977), Kubo et al. (1981), Jones & Hunt (1983a) e Barker & Van Dreumel (1985).

Na actinomicose, a presença de organismos filamentosos, ramificados, Gram-positivos e não álcool-ácido resistentes no interior de grãos de enxofre são características que permitem o diagnóstico da doença e correspondem às descrições de McQuow (1955), Ainsworth & Austwick (1959), Winslow & Steen (1964), Jungerman & Schwartzman (1972), Gill & Singh (1977), Kubo et al. (1981), Jones & Hunt (1983b) e Jubb et al. (1985). A impregnação pela prata evidencia melhor a morfologia da bactéria no emaranhado da colônia e é recomendada por Verghese & Klokke (1966).

As características histológicas, pela técnica de hematoxilina e eosina, foram semelhantes nas lesões causadas por esses três agentes. A presença do grânulo de enxofre, associado à reação piogranulomatosa foram decisivos para o diagnóstico de granuloma actinomicóide. Winslow & Chamblin (1960), Waisman (1962), Greenblatt et al. (1964) e Kubo et al. (1982) citaram a ocorrência de piogranulomas clássicos ao redor de grânulos botriomicóticos. Peabody & Seabury (1957), Till & Palmer (1960), Hebler et al. (1961), Winslow & Steen (1964), Jungerman & Schwartzman (1972), Gill & Singh (1977), Kubo et al. (1981), Jones & Hunt (1983b) e Barker & Van Dreumel (1985) descreveram quadros histológicos semelhantes para a actinobacilose e actinomicose com pequenas diferenças em relação a maior ou menor quantidade dos tipos celulares encontrados na reação inflamatória.

Características dos grânulos de enxofre são citados, visando à diferenciação entre actinobacilose e actinomicose. A constatação do menor tamanho do grânulo de enxofre verificado nas lesões de actinobacilose deste estudo, quando comparado ao da actinomicose também foi verificada por Jones & Hunt (1983b), Barker & Van Dreumel (1985) e Jubb et al. (1985). A calcificação de grânulos foi mais freqüentemente encontrada nas lesões causadas por bactérias cocóides e não vista na actinomicose e está associada à cronicidade da lesão. Embora essas características auxiliem a tentativa de diagnóstico etiológico dos granulomas actinomicóides nas preparações coradas pela hematoxilina e eosina, elas são subjetivas e só podem ser usadas quando comparadas, enquanto que o emprego das técnicas de Gram evidencia bactérias cocóides e diferencia a actinobacilose da actinomicose nos casos onde não se tem culturas.

O erro de 10,23% no diagnóstico macroscópico de tuberculose verificado nos 467 linfonodos estudados se deve à semelhança macroscópica da lesão, essencialmente nas lesões pequenas e com calcificação. Deposição de sais de cálcio foram mais freqüentes nas lesões de botriomicose, justamente nos casos onde houve o maior índice de erro. Isto pode causar prejuízo econômico pela

condenação das carcaças e evidencia a importância do exame microscópico da lesão. Muitos autores evidenciaram a semelhança da lesão de tuberculose com as de actinobacilose e actinomicose salientando que focos de calcificação, embora típicos da tuberculose, podem ser encontrados em outras doenças (Shanan & Davis 1942, Franco 1960, Tammemagi et al. 1973), mas não incluíram a botriomicose entre elas.

Agradecimentos.— Os autores agradecem a Sérgio Ribeiro, Sérgio Perez da Silva, Vanderlan de Almeida e Wilson Menezes Gonçalves pela colaboração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainsworth G.C. & Austwick P.K.C. 1959. Fungal Diseases of Animals. Commonwealth Agricultural Bureaux, Bucks. 148p.
- Auger C. 1948. Human actinobacillary and staphylococcal actinophytosis. *Am. J. Clin. Pathol.* 18:645-652.
- Backer R.D. & Durham N.C. 1957. The diagnosis of fungus diseases by biopsy. *J. Chron. Dis.* 5(5):552-570.
- Barker J.K. & Van Dreumel A.A. 1985. Alimentary system, p. 1-237. In: Jubb K.V.F., Kennedy, P.C. & Palmer, N. (ed). *Pathology of Domestic Animals*. 3rd ed. Academic Press, Orlando.
- Behmer D.A., Tolosa E.M.C. & Freitas Neto A.G. 1976. Manual de Técnicas para Histopatologia Normal e Patológica. EDART, São Paulo. 241p.
- Bosworth T.J. 1923. The causal organisms of bovine actinomycosis. *J. Comp. Pathol. Therap.* 36(1):1-22.
- Davies G.O. & Torrance H.L. 1930. Observation regarding the etiology of actinomycosis in cattle and swine. *J. Comp. Pathol. Therap.* 43:216-233.
- Drake C.H., Suder M.T. & Canuteson R.I. 1943. A case of staphylococcal actinophytosis (botryomycosis) in man. *J. Am. Med. Assoc.* 123(6):339-341.
- Emmons C.W. 1935. Actinomyces and actinomycosis. *Puerto Rico J. Public. Health and Trop. Med.* 11:63-76.
- Franco D.A. 1960. Generalized actinobacillosis in a holstein cow (postmortem lesions). *Vet. Med. Small An. Clin.* 55:562.
- Gill B.S. & Singh 1977. Pulmonary actinobacillosis and actinomycosis in indian bufaloes. *Orissa Vet. J.* 11(3):104-109.
- Greenblatt M., Heredia R., Rubenstein L. & Alpert S. 1964. Bacterial pseudomycosis ("botryomycosis"). *Am. J. Clin. Pathol.* 41(2):188-193.
- Hebler H.F., Linton A.H. & Osborne A.D. 1961. Atypical actinobacillosis in a dairy herd. *Vet. Rec.* 73(21):517-521.
- Jones T.C. & Hunt R.D. 1983a. Diseases due to simple bacteria, chap. 11, p.574-637. In:— (ed.). *Veterinary Pathology*. 5th ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jones T.C. & Hunt R.D. 1983b. Diseases caused by higher bacteria and fungi, chap. 12, p. 638-718. In:— (ed.) *Veterinary Pathology*. 5th ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jungerman P.F. & Schwartzman R.M. 1972. Actinomycosis, chap. 11, p. 159-170. In:— (ed.) *Veterinary Medical Mycology*. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jubb K.V.F. Kennedy P.C. & Palmer N. 1985. Bone and joints, chap. 1, p.1-138. In:— (ed.) *Pathology of Domestic Animals*. 3rd ed. Academic Press, Orlando.
- Kimmestiel M.D. & Easley C.A. 1940. Experimental botryomycosis. *Am. J. Pathol.* 16:95-103.
- Kubo M., Osada N. & Konno S. 1981. A histological and ultrastructural comparison of the sulfur granules of actinomycosis and actinobacillosis. *Natl Inst. Anim. Health Q. (jpn)* 21:26-31.
- Kubo M., Osada N & Konno S. 1982. Morphology of sulfur granules produced by *Staphylococcus aureus* and *Corynebacterium pyogenes* in cows. *Natl Inst. Anim. Health Q. (jpn)* 22:130-137.
- Lacaz C.S., Porto E. & Martins J.E.C. 1984. *Micologia Médica*. 7ª ed. Sarvier, São Paulo. 479p.

- Londero A.T., Ramos C.D. & Matte S.W. 1986. Micetomas actinomicóticos no Rio Grande do Sul – relato de quatro casos. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 81(1):73-77.
- McFadyean J. 1932. Actinomycosis and actinobacillosis. J. Comp. Pathol. Therap. 45:2-13.
- McQuown A.L. 1955. Actinomycosis and nocardiosis. Am. J. Clin. Pathol. 25:2-13.
- Parihard N.S., Charan K. & Bhargava A.C. 1977. Cutaneous actinobacillosis in a bull. Indian Vet. J. 54:431-432.
- Peabody J.W. & Seabury J.H. 1957. Actinomycosis and nocardiosis. J. Chron. Dis. 5(4):374-386.
- Sanders D.A. & Ristic M. 1956. Actinobacillosis of cattle. Am. J. Vet. Med. Assoc. 129:478-481.
- Shanan M.S. & Davis C.L. 1942. The diagnosis of actinomycosis and actinobacillosis. Am J. Vet. Res. 3(9):321-329.
- Tammemaggi L., Simmons G.C., Kelman R. & Hall T.K. 1973. A study tuberculosis-like lesions in cattle slaughtered in Queensland meatworks. Aust. Vet. J. 49:507-511.
- Till D.H. & Palmer F.P. 1960. A review of actinobacillosis with a study of the causal organisms. Vet. Rec. 72(27):527-533.
- Thompson S.W. 1966. Microscopic histochemical methods for the demonstration of infectious microorganisms and immunohistochemical technics, chap. 12, p. 874-1109. In:— (ed.) Selected Histochemical and Histopathological Methods. Charles C. Thomas, Springfield.
- Vawter L.R. 1933. A study of actinomycosis. Cornell Vet. 23:126-149.
- Verghese A. & Klokke A.H. 1966. Histologic diagnosis of species of fungus causing mycetoma. Indian J. Med. Res. 54(6):524-530.
- Waisman M. 1962. Staphylococcal actinophytosis (botryomycosis) granular bacteriosis of the skin. Arch. Dermatol. 86(4):525-529.
- Winslow D.J. 1959. Botryomycosis. Am. J. Pathol. 35(1):153-167.
- Winslow D.J. & Chamblin S.A. 1960. Disseminated Visceral botryomycosis – report of fatal case probably caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Am. J. Pathol. 35(1):43-47.
- Winslow D.J. & Steen F.G. 1964. Considerations in the histologic diagnosis of mycetoma. Am J. Clin. Pathol 42(2):164-169.
- Yager J.A. & Scott D.W. 1985. The skin and appendages, v.1, chap. 5, p. 407-549. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) Pathology of Domestic Animals. 3rd ed. Academic Press, Orlando.