

Universidade de Évora
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária



Clínica Médica e Cirúrgica de Espécies Pecuárias

Relatório de Estágio

Relatório de estágio realizado por: João Pedro Bento
Orientador: Dr. José Miguel Leal da Costa
Tutor: Professor Doutor José A. C. Potes

Évora, Novembro de 2010

“Este relatório de estágio não inclui as críticas e sugestões feitas pelo Júri”

Aos meus pais, porque sem a sua orientação e apoio tudo isto não seria possível.

Agradecimentos

Desde já deixo um pedido de desculpas a todos aqueles que de alguma forma foram importantes neste percurso e estão esquecidos neste espaço, eles sabem que eu sou “distraído” e que as páginas são limitadas.

Em primeiro lugar quero agradecer aos meus pais por tudo aquilo que me ensinaram nestes 24 anos de vida, pela pessoa que me tornei, pelo apoio incondicional durante todo o meu percurso académico e pessoal, pelo incentivo (“vai estudar...”) e por todos os esforços que tornaram possível o alcançar de um sonho.

Ao meu irmão, pela cumplicidade, pela amizade e pela confiança que sei que deposita em mim.

Aos meus avós, pelo apoio incondicional e pelos ensinamentos tão úteis que sempre me transmitiram. Ao avô Fonseca, por tudo o que passámos em tão pouco tempo e por continuar a ter um papel tão importante na minha vida, mesmo após a sua perda. Ao avô Artur e à avó Trindade por me transmitirem o gosto pelo campo, por sempre terem acreditado em mim e pelos tão válidos conselhos. Em especial à avó Bárbara, que tanto ajudou e ajuda na construção da minha personalidade, por todos os valores que me transmitiu e por estar sempre pronta a ajudar os que a rodeiam.

Ao Dr. José Miguel Leal da Costa por me ter recebido no HVME, por todos os conhecimentos e momentos partilhados.

A toda a equipa do HVME, em especial a todos aqueles que partilhavam comigo o dia-a-dia, Dr. Nuno Prates, Dr. Pedro Dunões, Dr. Tomé Fino, Dra. Mónica Mira, Dra. Elsa, Dra. Marta, Dra. Sónia, Pedro Bolas, Luís Bandeira, Sónia Viegas, António e Ana Maria.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação e crescimento.

Ao Professor Doutor José Potes, pelo aconselhamento, paciência e ajuda.

A todo aqueles que partilharam comigo momentos fantásticos vividos na “casa 27”, em especial: Gustavo, Carica, Ricardo, Filipa, Daniel e Filipe.

A todos os colegas e amigos da turma, por tudo aquilo que crescemos e passámos juntos. Ao Humberto, à Marta, à Inês, à Rute, à Maria e à Ana pela constante entreajuda.

A todos os amigos que tão bem me têm recebido aos fins-de-semana na minha cidade natal, em especial: John, Rui, Filipa, Raquel, Andreia, Alves, Guerra e Toupeira.

À Patrícia Paredes por toda a ajuda, apoio e amizade.

A toda a minha família que não referi mas que muito me ajudaram.

Índice Geral

Agradecimentos	ii
Índice Geral	iv
Índice de gráficos	vii
Índice de quadros.....	vii
Índice de imagens.....	viii
Lista de abreviaturas e siglas.....	1
Introdução.....	3
Caracterização da área de trabalho	4
Parte I - Descrição das actividades desenvolvidas	6
1. Sanidade Animal.....	6
2. Profilaxia.....	9
2.1. Vacinação	9
2.2. Desparasitação	10
3. Clínica Médica em Bovinos.....	11
3.1. Sistema Reprodutor	12
3.1.1. Partos distócicos.....	12
3.1.2. Prolapsos uterinos.....	16
3.2. Sistema Digestivo	19
3.2.1. Diarreias neonatais.....	20
3.3. Sistema Músculo-esquelético e Sistema Nervoso Periférico	25
3.3.1. Síndrome da vaca caída.....	27
3.4. Sistema Respiratório	28
3.4.1. Doença respiratória bovina.....	28
3.5. Pele e Anexos	30
3.5.1. Mastites.....	30
3.6. Doenças Parasitárias	33
3.6.1. Babesiose	33
3.6.2. Theileriose.....	35
3.6.3. Anaplasmose	36
3.6.4. Tratamento.....	38
3.7. Doenças Infecto-contagiosas	39

3.7.1. Leptospirose	39
4. Outros procedimentos médicos em bovinos	43
5. Clínica Cirúrgica em Bovinos	44
5.1. Cesariana	45
6. Clínica Médica em Pequenos Ruminantes	50
6.1. Ovinos.....	50
6.1.1. Sarna psorótica.....	51
6.2. Caprinos.....	52
Parte II - Revisão Bibliográfica: Listeriose	53
1. Introdução	53
2. História	53
3. Etiologia.....	55
4. Epidemiologia.....	57
4.1. Ocorrência geográfica	57
4.2. Fontes de infecção	57
4.3. Formas de transmissão	59
4.4. Factores de risco	59
4.4.1. Factores de risco devidos ao hospedeiro.....	59
4.4.2. Factores de risco devidos ao agente etiológico e sobrevivência no meio ambiente	60
4.5. Morbilidade e mortalidade	62
4.6. Risco zoonótico	63
4.6.1. População em risco	64
4.6.2. Fontes de infecção e formas de transmissão.....	64
4.6.3. Período de incubação.....	65
4.6.4. Manifestações clínicas da doença.....	65
5. Patogenia.....	66
5.1. Mecanismos de sobrevivência no hospedeiro e virulência	69
5.2. Mecanismos de defesa do hospedeiro	74
5.3. Períodos de incubação	75
6. Sinais clínicos.....	76
6.1. Forma neurológica	76
6.2. Forma septicémica	78
6.3. Abortos.....	78
6.4. Infecções oculares.....	79

7. Quadro lesional	79
7.1. Forma nervosa.....	79
7.2. Abortos	81
7.3. Forma septicêmica	81
8. Diagnóstico.....	82
8.1. Sinais clínicos/diagnóstico diferencial.....	82
8.2. Meios complementares de diagnóstico	82
8.2.1. Composição do líquido cefalorraquidiano	82
8.2.2. Análises Bacteriológicas e Identificação Molecular	83
8.2.3. Análises Serológicas	85
8.2.4. Histopatologia	86
9. Tratamento.....	88
9.1. Antibioterapia	88
9.2. Tratamento de suporte	89
10. Prevenção/profilaxia	90
Caso Clínico: Listeriose em caprinos	91
1. Caracterização e História recente da exploração.....	91
2. Identificação do animal.....	92
3. Sinais clínicos.....	93
4. Diagnóstico diferencial e diagnóstico presuntivo	94
5. Tratamento.....	95
6. Diagnóstico <i>post-mortem</i>	95
7. Discussão	96
Conclusão	99
Bibliografia	100

Índice de gráficos

Gráfico 1 - Apresentação das frequências relativas (%) referentes ao número de animais saneados em cada espécie animal, durante o período de estágio (n=10386). Sendo que n representa o número total de animais prospectados nas diferentes espécies.	7
Gráfico 2 - Apresentação das frequências relativas (%) referentes ao número de explorações de cada espécie, visitadas em serviços de sanidade (n=44). Sendo que n representa o número total de explorações visitadas nestes serviços.	8
Gráfico 3 - Frequência relativa (%) do número de casos observados por sistema (n=207). Sendo que n representa o total de casos observados na área da clínica médica.	11
Gráfico 4 - Frequência relativa (%) das diferentes doenças observadas no sistema reprodutor (n=57). Sendo que n representa o número total de casos observados neste sistema.	12
Gráfico 5 - Frequência relativa (%) das diferentes doenças observadas no sistema digestivo (n=52). Sendo que n representa o número total de casos observados neste sistema.	19
Gráfico 6 - Frequência relativa (%) das diferentes doenças observadas no sistema músculo-esquelético e no sistema nervoso periférico (n=49). Sendo que n representa o número total de casos observados nestes sistemas.	25
Gráfico 7 - Frequência relativa (%) dos diferentes procedimentos cirúrgicos (n=11). Sendo que n representa o número total de procedimentos cirúrgicos observados.	44

Índice de quadros

Quadro 1 - Vacinações realizadas no âmbito da profilaxia.....	9
Quadro 2 - Desparasitações realizadas no âmbito da profilaxia.	10
Quadro 3 - Distribuição das diferentes distócias observadas.....	16
Quadro 4 - Tipo e prevalência das diarreias em vitelos em função da idade e agente etiológico (Stilwell, 2008).....	21
Quadro 5 - Número total de casos observados no sistema respiratório.....	28
Quadro 6 - Número total de casos observados na pele e anexos.....	30
Quadro 7 - Número total de casos observados de doenças parasitárias.....	33
Quadro 8 - Número total de casos observados de doenças infecto-contagiosas.	39
Quadro 9 - Número total de casos observados de outros procedimentos médicos.....	43
Quadro 10 - Número de casos de clínica média observados em ovinos.	50
Quadro 11 - Número de casos de clínica média observados em caprinos.	52

Índice de imagens

Imagem 1 - Acções de sanidade numa exploração de ovinos (original do autor).	7
Imagem 2 - Parto distócico. Feto morto e enfisematoso (original do autor).	14
Imagem 3 - Resolução de um prolapso uterino (original do autor).	18
Imagem 4 - Colocação de alfinetes obstétricos após resolução de um prolapso uterino (original do autor).	19
Imagem 5 - Tratamento de uma diarreia neonatal (original do autor).	23
Imagem 6 - Bezerro com fractura do membro anterior esquerdo (original do autor).	26
Imagem 7 - Poliartrite num bezerro (original do autor).	26
Imagem 8 - Sinais clínicos de leptospirose numa vaca adulta. Hemoglobínúria (original do autor).	39
Imagem 9 - Necrópsia de um bezerro com lesões típicas de leptospirose. Hemoglobínúria (original do autor).	41
Imagem 10 - Necrópsia de um bezerro com lesões típicas de leptospirose. Fígado edemaciado, pálido e friável (original do autor).	42
Imagem 11 - Realização de uma necrópsia num bezerro (original do autor).	43
Imagem 12 - Castração em bezerros (original do autor).	44
Imagem 13 - Cesariana. Anestesia local em "L" invertido (original do autor).	46
Imagem 14 - Cesariana. Incisão da cavidade abdominal (original do autor).	47
Imagem 15 - Cesariana. Exteriorização do útero (original do autor).	47
Imagem 16 - Cesariana. Encerramento do útero (original do autor).	48
Imagem 17 - Cesariana. Encerramento da cavidade abdominal (original do autor).	48
Imagem 18 - Cesariana. Encerramento da pele (original do autor).	49
Imagem 19 - Borrego com sinais clínicos de ectima contagioso (original do autor).	50
Imagem 20- Representação esquemática da sucessão de passos envolvidos no processo de infecção celular, estando indicados os principais factores de virulência (InIA e InIB - Internalinas A e B, LLO - Listeriolisina O, PI-PLC – fosfatidilinositol-fosfolipase C, ActA – <i>bacterial actin nucleator</i> , PC-PLC – fosfatidilcolina-fosfolipase C). Adaptado de Cossart & Toledo-Arana (2008).	71
Imagem 21 - Caprino com listeriose, apresentando inclinação da cabeça (Rissi <i>et al.</i> , 2006).	77
Imagem 22 - Lesões histopatológicas do tecido cerebral. Notar a infiltração inflamatória perivascular (cabeças de seta) e os microabcessos (setas), H&E (Loeb, 2004).	80
Imagem 23 - Presença de <i>L. monocytogenes</i> (setas), identificada por imunohistoquímica num microabcesso do tronco cerebral de um ovino (Wesley <i>et al.</i> , 2002).	86
Imagem 24 - Detecção de antigénios listeriais por imunohistoquímica num axónio localizado no tronco cerebral de um ovino com listeriose (Johnson <i>et al.</i> , 1995).	87
Imagem 25 - Parques exteriores da exploração da Igreja (original do autor).	91
Imagem 26 - Parques interiores da exploração da Igreja (original do autor).	91
Imagem 28 - Caprino de raça Mursiana, visivelmente prostrado (original do autor).	92
Imagem 27 - Sala de ordenha da exploração (original do autor).	92
Imagem 29 - Sinais clínicos apresentados no primeiro dia, onde é bem visível a orelha esquerda caída (original do autor).	93
Imagem 30 - Sinais clínicos apresentados no primeiro dia, onde é bem visível a protusão da língua para o lado esquerdo (original do autor).	93

Lista de abreviaturas e siglas

- ® - marca registada
µg/dl – microgramas por decilitro
µm – micrómetros
AAR – ácido álcool resistente
ActA – actina A
ADN – ácido Desoxirribonucleico
AINE – anti-inflamatório não esteróide
AP-PCR – *Arbitrarily Primed – Polymerase Chain Reaction*
BID – duas vezes ao dia
BRSV – vírus respiratório sincicial bovino
BVD – diarreia vírica bovina
DRB – doença respiratória bovina
ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*
g/l – gramas por litro
HVME – Hospital Veterinário Muralha de Évora
IBR – rinotraqueíte infecciosa bovina
IFN-γ – interferão gama
IgG – imunoglobulina G
IgM – imunoglobulina M
IL12 – interleucina 12
ILO – ivanolisina O
InIA, InIB, InIC e InIJ – internalinas A, B, C e J
IspC – *immunogenic surface protein*
IV – endovenoso
L6 – sexta vértebra lombar
LCR – líquido cefalorraquidiano
LIPI-1 e LIPI-2 – *Listeria pathogenicity island 1 e 2*
LLO – listeriolisina O
LpeA – *PsaA-like membrane protein*
Met – receptor do factor de crescimento dos hepatócitos
mg/kg – miligramas por quilograma
MogR – *transcriptional repressor*
Mpl – metaloprotease
nc – nervo craniano
NK – *natural killer*
OPP – organizações de produtores pecuários
PCR – *Polymerase Chain Reaction*
PgdA – *Peptidoglycan N-deacetylase*
PI3 – parainfluenza tipo 3
PlcA ou PI-PLC – fosfatidilinositol-fosfolipase C
PlcB ou PC-PLC – fosfatidilcolina-fosfolipase C
PrfA – regulador positivo factor A
prsA2 – *Posttranslocation chaperone*
RAPD-PCR – *Random Amplified Polymorphic DNA – Polymerase Chain Reaction*
RMF – retenção das membranas fetais
rRNA – ácido ribonucleico ribossomal

S2 – segunda vértebra sagrada
SC – sub-cutâneo
SH2-B β – proteína de adaptação
SIDA – Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
Smcl – esfingomielase C
SNC – sistema nervoso central
spp. – espécies
TNF- α – factor de necrose tumoral alfa
TSA – teste de sensibilidade aos antibióticos
UI – Unidades Internacionais
UI/kg – Unidades Internacionais por quilograma
VASP – *Vasodilator-stimulated phosphoprotein*
VIH – vírus da imunodeficiência humana

Introdução

O presente relatório vem na sequência do estágio de domínio fundamental do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora, realizado durante quatro meses, sob orientação científica do Dr. José Miguel Leal da Costa e coordenação do Prof. Dr. José Alberto Caeiro Potes. O estágio decorreu no Hospital Veterinário Muralha de Évora (HVME), entre os meses de Fevereiro e Maio e abrangeu principalmente as áreas de Sanidade Animal, Clínica e Cirurgia de Espécies Pecuárias.

A escolha deste estágio teve como principais objectivos o contacto com a realidade profissional nas diferentes áreas de intervenção no âmbito das espécies pecuárias, a realização de um complemento à formação académica, a consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo do curso de Medicina Veterinária na Universidade de Évora, bem como a aquisição de novos conhecimentos e a articulação entre os conhecimentos teóricos e a sua aplicação prática.

Este relatório pretende descrever as actividades desenvolvidas durante o período de estágio e subdivide-se em duas partes: a primeira compreende a descrição das actividades desenvolvidas; a segunda consiste numa revisão bibliográfica subordinada ao tema “Listeriose”, que termina com a apresentação de um caso clínico relacionado com a forma nervosa desta doença em caprinos.

Caracterização da área de trabalho

A área de acção do HVME, no que diz respeito à Clínica de Espécies Pecuária, é bastante abrangente. Com a excepção de algumas explorações às quais prestam assistência, a maior parte das acções são levadas a cabo nos distritos de Évora e Beja.

A agricultura e a pecuária são as actividades que marcam o perfil social e económico da sociedade alentejana, pois o desenvolvimento industrial e o sector dos serviços sempre foram bastante modestos (Monte-ACE, 2007).

No que diz respeito à geografia da região, a peneplanície alentejana apresenta uma ondulação suave a uma cota média de 240 metros e é pontuada por alguns relevos de pequena altitude (Câmara Municipal de Évora, 2010).

Apesar das transformações verificadas nos últimos anos, a paisagem da região ainda se caracteriza pela cultura de cereais em regime extensivo, com zonas de pastagens e manchas de floresta de sobro e azinho. O olival, as vinhas e as culturas de regadio são outras marcas características (Monte-ACE, 2007).

O clima da região é tipicamente mediterrânico, por vezes com influência atlântica, com precipitação distribuída ao longo do ano de forma desigual, com o pico no Inverno, alternando com Verões quentes e secos (Câmara Municipal de Évora, 2010).

O período seco é, em regra de 3 a 4 meses (Junho, Julho, Agosto e Setembro), sendo que a ocorrência de anos secos e chuvosos é aleatória. Neste sentido, as limitações para a agricultura são grandes (Monte-ACE, 2007).

O valor da temperatura média anual é de cerca de 16°C, com temperaturas médias mensais, no Verão, superiores a 20°C e no Inverno inferiores aos 10°C. Em suma, Verões muito quentes (média anual de 128 dias com temperatura média superior a 25°C) opõem-se a Invernos muito frios (90 dias por ano com média inferior a 5°C) (Câmara Municipal de Évora, 2010).

Nos últimos anos, o clima da região apresenta grandes variações, assim como toda a Europa, acentuando os cenários mais extremos de calor e frio (Monte-ACE, 2007, Câmara Municipal de Évora, 2010).

Esta é uma região de solos pouco férteis, que devido a este tipo de clima, com Verões quentes e com valores baixos de pluviosidade, leva invariavelmente à

necessidade de complementar os animais 'à mão', fornecendo rações, forragens, palhas e/ou fenos, vários meses por ano, levando a elevados custos de produção.

As características desta região levaram à predominância da pecuária em regimes de produção do tipo extensivo e semi-extensivo.

A exploração pecuária é actualmente a actividade mais importante da zona, com elevado efectivo bovino e ovino.

Em relação aos bovinos, são exploradas principalmente raças autóctones, Alentejana e/ou Mertolenga, muitas vezes cruzadas com *Limousine* e *Charolês*. As raças autóctones conferem a rusticidade necessária para adaptação às difíceis condições presentes no Alentejo, valorizando também a descendência, principal produto comerciável. Os animais pastam todo o ano, sendo fornecido alimento nas épocas de escassez.

Os ovinos também são essencialmente explorados em regime extensivo para a produção de carne. As raças Merino Branco e *Île de France* são as mais comuns. Em algumas explorações de leite, pratica-se o regime semi-intensivo e podem encontrar-se exemplares da raça *Lacaune*.

As explorações de caprinos situam-se normalmente em zonas de maiores relevos e matos ou associadas com a exploração de ovinos.

Parte I - Descrição das actividades desenvolvidas

1. Sanidade Animal

Para a realização das actividades de sanidade animal foi possível acompanhar várias brigadas sanitárias da Organização de Produtores Pecuários (OPP) coordenadas por médicos veterinários do hospital. Os médicos veterinários em questão coordenam brigadas sanitárias nas OPP de Évora, Monforte, Beja e Coruche. Desta forma, as práticas sanitárias realizaram-se em várias regiões do Alentejo. Na área de sanidade animal realizaram-se rastreios de brucelose, em pequenos ruminantes, e de brucelose, tuberculose, leucose enzoótica e peripneumonia contagiosa em bovinos.

No caso dos pequenos ruminantes o rastreio da brucelose é realizado a 25% do total do efectivo e à totalidade dos machos, sendo o número mínimo de colheitas efectuadas a 50 animais, não contando com os machos. Aos restantes animais procede-se à identificação para epidemiovigilância da brucelose.

Em relação aos bovinos efectua-se a prova intradérmica da tuberculina em todos as fêmeas com idade superior a seis semanas e aos machos adultos. Procede-se à colheita de sangue em todos os animais com idade superior a um ano para a pesquisa de brucelose em todas as amostras e peripneumonia contagiosa bovina a 10% das amostras, escolhidas aleatoriamente. A pesquisa de leucose apenas é efectuada nas amostras de animais com idade superior a dois anos.

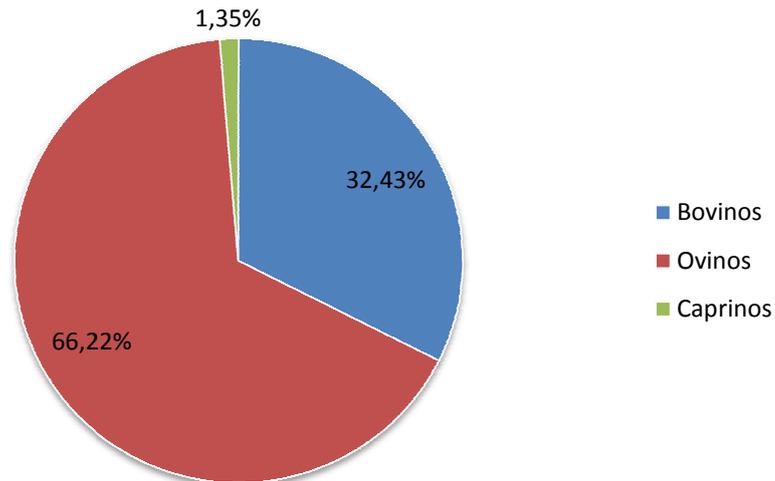


Gráfico 1 - Apresentação das frequências relativas (%) referentes ao número de animais saneados em cada espécie animal, durante o período de estágio ($n=10386$). Sendo que n representa o número total de animais prospectados nas diferentes espécies.

No total foram prospectados 10386 animais, sendo todos eles ruminantes.

Como se pode observar no gráfico 1, os ovinos foram a espécie mais representativa em termos de serviços de sanidade, representando 66,22% do total de animais saneados. A segunda espécie mais representativa foram os bovinos e seguidamente os caprinos, que representam apenas uma pequena parte (1,35%) dos animais saneados e normalmente encontram-se associados a explorações maioritariamente de ovinos.



Imagem 1 - Acções de sanidade numa exploração de ovinos (original do autor).

No entanto, se tivermos em conta o número de explorações visitadas para cada espécie, podemos observar (gráfico 2) que foram realizados serviços de saneamento em mais explorações de bovinos (61,36%) do que de ovinos (34,09%). Isto deve-se ao facto de nas explorações vocacionadas para ovinos os encabeçamentos serem mais elevados, ou seja, normalmente existe um maior número de animais em explorações ovinas do que em explorações bovinas.

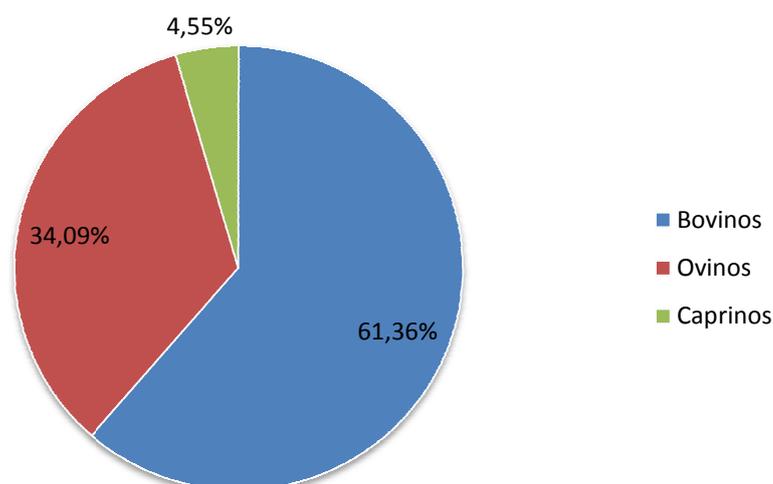


Gráfico 2 - Apresentação das frequências relativas (%) referentes ao número de explorações de cada espécie, visitadas em serviços de sanidade (n=44). Sendo que n representa o número total de explorações visitadas nestes serviços.

Estes serviços de sanidade englobam os saneamentos anuais obrigatórios, os testes de pré-movimentação e as reinspecções de tuberculose e brucelose. Nos saneamentos anuais obrigatórios, os animais eram também vacinados contra as clostridioses com uma vacina polivalente contendo antigénios de *Clostridium perfringens* (tipo A, B, C, D), toxóide alfa, toxóide beta, toxóide épsilon, toxóide de *Clostridium novyi*, toxóide de *Clostridium septicum*, toxóide de *Clostridium tetani*, toxóide de *Clostridium sordellii* e anacultura de *Clostridium chauvoei* (Multivac 9[®]) e desparasitados contra parasitas internos e externos com ivermectina (Noromectin[®] injectável ou *Pour-on*, Virbamec[®] injectável ou *Pour-on*). Durante estes serviços procedia-se também às acções de identificação animal. No caso dos ovinos, estes eram também vacinados contra o agente da Língua Azul.

2. Profilaxia

As acções profiláticas têm um papel preponderante na clínica de espécies pecuárias, auxiliando na prevenção de algumas doenças importantes em termos de produção animal.

2.1. Vacinação

A vacinação contra as clostridioses é realizada por rotina em conjunto com as acções de sanidade, o que justifica o elevado número de animais vacinados que se observa no quadro 1.

Vacina	Doença	Número de animais		
		Bovinos	Ovinos	Caprinos
Multivac 9 [®]	Clostridiose	3694	7088	640
Leptavoid [®]	Leptospirose	189		
Rispoval 4 [®]	IBR, BVD, PI3 e BRSV	769		
Triangle 9 [®]	Leptospirose, IBR, BVD, PI3 e BRSV	212		
Micogalaxia [®]	Agaláxia contagiosa			70

Quadro 1 - Vacinações realizadas no âmbito da profilaxia.

As vacinações contra leptospirose, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia vírica bovina (BVD), parainfluenza (PI3) e vírus respiratório sincicial bovino (BRSV) são cada vez mais adoptadas pelos produtores. Esta preocupação crescente está relacionada com a elevada mortalidade e perdas económicas associadas ao aparecimento destas doenças.

A vacinação contra o agente etiológico da agaláxia contagiosa foi realizada numa exploração de caprinos de aptidão leiteira onde começaram a surgir sinais clínicos da doença.

2.2. Desparasitação

No que diz respeito à desparasitação, em grande parte das explorações era realizada anualmente e, tal como a vacinação contra as clostridioses, esta acção era levada a cabo juntamente com as acções de sanidade, o que justifica o elevado número de animais desparasitados (quadro 2).

Acção	Número de animais		
	Bovinos	Ovinos	Caprinos
Desparasitação	3694	7008	640

Quadro 2 - Desparasitações realizadas no âmbito da profilaxia.

Nos pequenos ruminantes era utilizada uma associação de closantel e mebendazol (Seponver Plus[®] oral) ou ivermectina (Noromectin[®] injectável). Os bovinos eram desparasitados com ivermectina (Noromectin[®] injectável ou *Pour-on*, Virbamec[®] injectável ou *Pour-on*).

3. Clínica Médica em Bovinos

No gráfico 3 é visível a distribuição dos casos observados, classificados pelos vários sistemas. Os sistemas mais representativos são o reprodutor (27,54%), o digestivo (25,12%) e o músculo-esquelético (23,67%), sendo nestes que incidiu a maior parte dos casos observados durante o estágio.

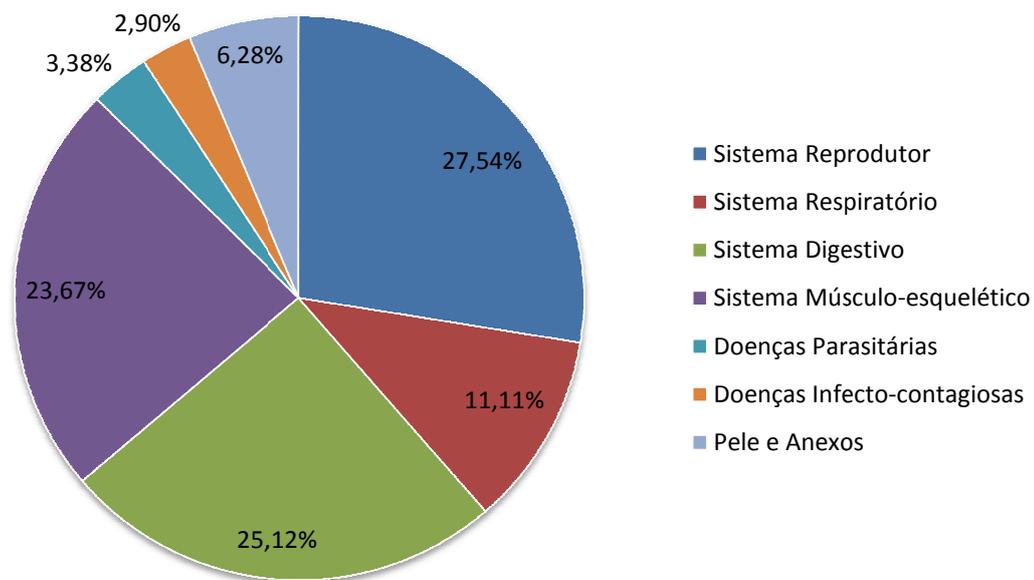


Gráfico 3 - Frequência relativa (%) do número de casos observados por sistema (n=207). Sendo que *n* representa o total de casos observados na área da clínica médica.

3.1. Sistema Reprodutor

Durante a realização do estágio, os partos distócicos (61,40%) representaram o motivo pelo qual os clínicos do HVME mais vezes se deslocaram às explorações no âmbito da clínica médica do sistema reprodutor. Os prolapso uterinos (15,79%) foram também muitas vezes motivo de deslocação às explorações (gráfico 4).

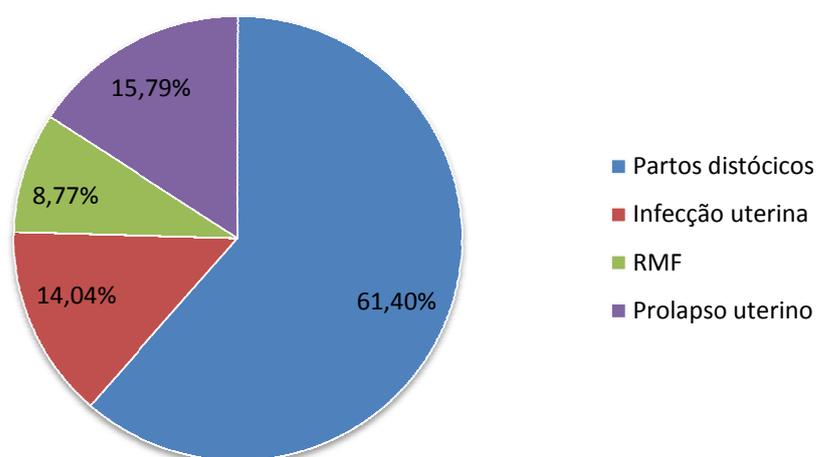


Gráfico 4 - Frequência relativa (%) das diferentes doenças observadas no sistema reprodutor (n=57). Sendo que *n* representa o número total de casos observados neste sistema.

A doença menos frequente (8,77%) neste sistema foi a retenção das membranas fetais (RMF), o que se pode dever ao facto de se administrar ocitocina por rotina em todos os partos distócicos assistidos.

3.1.1. Partos distócicos

Pode-se considerar distócico um parto difícil ao ponto de necessitar de intervenção humana. O seu diagnóstico e tratamento constituem a maior e mais importante actividade da clínica obstétrica (Arthu *et al.*, 1991).

É importante referir também que as dificuldades de parto afectam a performance reprodutiva nas vacas.

A apresentação longitudinal do feto, em direcção anterior ou posterior é considerada normal, no entanto, mais de 95% dos fetos de bovino apresentam direcção anterior com a cabeça e os membros anteriores a entrar no cérvix (Momont, 2005).

As distócias podem ser de origem fetal: associadas a gigantismo, disposição anormal (deficiente apresentação, posição e/ou postura), morte fetal, tamanho excessivo ou gestação gemelar; de origem materna: associadas a défices hormonais, inércia uterina, constrição do canal obstétrico (pélvis inadequada ou dilatação insuficiente do útero, cérvix, vagina ou vulva) ou torção uterina; ou desproporção feto-materna, que se deve a uma disparidade entre o tamanho do feto e o tamanho da pélvis materna (Arthur *et al.*, 1991, Hafez & Hafez, 2000).

Os bovinos são a espécie que mais frequentemente apresenta distócias, sendo estas mais comuns em vacas primíparas (Arthur *et al.*, 1991, Momont, 2005). As causas mais frequentes de distócia fetal são as apresentações anormais e o excessivo tamanho dos bezerros, sendo estas mais frequentes do que as causas maternas. Quanto às causas maternas, a torção uterina é a mais frequente (Arthur *et al.*, 1991).

A desproporção feto-materna, no entanto, é a causa mais comum de distócia em bovinos (Momont, 2005).

Os machos apresentam normalmente mais peso ao nascimento do que as fêmeas, originando assim maiores dificuldades de parto (Arthur *et al.*, 1991, Momont, 2005).

Partos prematuros tendem a ser distócicos devido a inércia uterina, dilatação insuficiente do canal obstétrico e alterações na posição do feto, assim como em gestações prolongadas as dificuldades de parto também estão aumentadas devido a excessivo tamanho do feto.

Frequentemente encontram-se fetos mortos e enfisematosos (imagem 2), no entanto, este achado não é uma causa primária de distócia, mas sim uma consequência da mesma (Arthur *et al.*, 1991).

Para a resolução de uma distócia deve considerar-se em primeiro lugar a possibilidade de parto pela via natural. O tempo decorrido desde o

aparecimento da distócia até à solicitação de ajuda profissional varia bastante, sendo este um facto decisivo para a tomada de decisões para cada caso. Nos casos em que este período de tempo é grande, normalmente encontram-se partes do feto presas na pélvis materna e a maioria dos líquidos fetais já foram eliminados, tudo isto provoca grande dificuldade para realizar a propulsão da parte do feto que se encontra presa. Além disto, a pele fetal e a mucosa vaginal perdem a sua lubrificação natural e a vagina e a vulva apresentam-se enfisematosas, complicando ainda mais a manipulação obstétrica (Arthur *et al.*, 1991).

Caso a apresentação seja normal e a distócia seja motivada por tamanho excessivo do feto, deve tentar-se em primeiro lugar a tracção controlada, sendo importante lubrificar o feto e a vagina.



Imagem 2 - Parto distócico. Feto morto e enfisematoso (original do autor).

Quando estamos perante uma distócia recente, em que o feto está vivo e o útero está em boas condições, se a obstrução for provocada por um aumento ligeiro do tamanho do feto, como frequentemente acontece em novilhas, é relativamente simples a aplicação de laços obstétricos nas extremidades do feto e a extracção por tracção. Normalmente as vacas mantêm-se em estação enquanto se colocam os laços, mas é frequente que estas se deitem no momento em que a cabeça do feto passa a vulva. Em vacas múltíparas, ainda que a desproporção feto-materna aconteça muitas vezes, a causa mais

frequente de distócia é a alteração da posição do feto. Caso se comprove que o espaço requerido para efectuar a correcção vai diminuindo devido aos esforços de expulsão, deve recorrer-se à anestesia epidural (Arthur *et al.*, 1991).

É importante que estes procedimentos se realizem num local o mais limpo e seco possível e que possibilite espaço suficiente para evitar traumatismos no feto e permitir fazer extracção do mesmo, caso seja necessário (Momont, 2005).

Se os esforços efectuados para retirar o feto pelo canal natural não resultarem em progresso, deve considerar-se a cesariana, no caso de este estar vivo, ou a fetotomia, caso esteja morto (Arthur *et al.*, 1991, Momont, 2005).

Estas foram, na sua essência, as abordagens seguidas nos partos assistidos durante o estágio. Após a resolução de uma distócia através de tracção eram proporcionados os devidos cuidados ao recém-nascido, no caso de estar vivo. Em relação à vaca, normalmente era administrada ocitocina (Placentol[®]), para promover a involução uterina e a expulsão das membranas fetais, e um anti-inflamatório não esteróide (AINE), carprofeno (Rimadyl[®]). Em alguns casos foi necessário recorrer a episiotomia ou cesariana.

No caso de existir uma elevada frequência de distócias devido a desproporção feto-materna, os produtores são aconselhados a elaborar planos reprodutivos para evitar a ocorrência de fetos demasiado grandes em vacas com canal de parto menos desenvolvido. A escolha de novilhas reprodutoras deve basear-se no tamanho e não na idade e para a sua cobertura devem ser escolhidos touros da mesma raça ou de uma raça que não dê origem a fetos demasiado grandes (Hafez & Hafez, 2000).

Durante a realização do estágio foi possível verificar a grande frequência de partos distócicos associados a desproporção feto-materna, com apresentação anterior ou posterior e de fetos mortos enfisematosos (quadro 3). O elevado número de casos de desproporção feto-materna pode dever-se ao número de vacas primíparas assistidas, frequentemente cobertas por touros de raças de maior porte.

Distócias observadas	nº de casos observados
Apresentação anterior/flexão de um membro	1
Apresentação anterior/desproporção feto-materna	15
Apresentação posterior/gemelar	1
Apresentação posterior/desproporção feto-materna	5
Apresentação anterior/desvio lateral da cabeça	2
Morte fetal/feto enfisematoso	10
Torção uterina	1
Total	35

Quadro 3 - Distribuição das diferentes distócias observadas.

3.1.2. Prolapsos uterinos

Os prolapsos uterinos são mais frequentes em bovinos do que nas outras espécies domésticas, sendo mais comum em vacas multíparas. Na lista de causas predisponentes figuram hipocalcémia, distócia, partos gemelares ou bezerros de grandes dimensões e traumatismo do canal obstétrico (Momont, 2005).

Geralmente ocorrem nas 12 a 14 horas após o parto, no entanto, podem ocorrer alguns dias depois, dificultando a recolocação uterina devido à involução do cervix.

É importante informar os proprietários acerca da necessidade de restringir a movimentação destes animais, diminuindo assim as hipóteses de ocorrer ruptura da artéria uterina ou separação da artéria ilíaca interna que conduzem a hemorragia e conseqüentemente morte do animal (Wenzel *et al.*, 1998, Miesner & Anderson, 2008).

O diagnóstico é óbvio em todos os casos, uma vez que é visível o corno uterino prolapsado. Muitas vezes contêm a placenta e toda a superfície uterina está contaminada com terra, fezes e/ou alimento.

Se não for tratado imediatamente, o prolapso uterino complica-se progressivamente devido a edema dos tecidos, necrose, hemorragias, prolapso da bexiga e choque. É importante isolar a vaca num local limpo, seco e bem iluminado, quando possível. Seguidamente deve levar-se a cabo um exame físico e tratar o choque.

É mais fácil recolocar o útero em vacas em estação, mas se tal não for possível devem colocar-se em decúbito esternal com os membros posteriores estendidos caudalmente. Isto vai permitir que a pélvis se incline para a frente e aliviar a pressão exercida pelas vísceras abdominais, facilitando assim o retorno do útero à cavidade abdominal (Momont, 2005).

Pode-se administrar anestesia epidural para minimizar o esforço e a motilidade gastrointestinal, diminuindo assim a contaminação fecal do tracto genital. O útero é inspeccionado e lavado com uma solução antisséptica diluída e bastante água limpa. Qualquer hemorragia ou laceração significativas devem ser suturadas e a placenta removida, caso seja possível. Se a placenta não for facilmente destacável não é aconselhada à sua remoção (Wenzel *et al.*, 1998, Momont, 2005). Manter o útero elevado em relação à pélvis ajuda a restaurar o fluxo sanguíneo e reduzir o edema (que também pode ser conseguido por lavagem com solução hipertónica de glicose, por exemplo), permitindo também que a bexiga e os intestinos regressem ao abdómen, se estes se encontrarem no interior do útero prolapsado (Momont, 2005). Facilita também a micção, resultando em maior conforto para o animal e redução das contracções (Miesner & Anderson, 2008). O processo de reposição inicia-se ao exercer pressão sobre o útero exposto que se encontra junto à vulva. Deve ser usada a palma da mão e os dedos para permitir uma superfície de pressão mais ampla e evitar traumatismos e perfurações. É melhor empurrar apenas quando a vaca está relaxada, parando quando esta se contrai. À medida que o útero desliza para dentro da pélvis, a mão do clínico é colocada na extremidade do corno uterino e este é empurrado o mais possível para dentro do abdómen, assegurando-se que todo o útero permanece cranial ao cervix e perfeitamente desinvaginado (Momont, 2005).



Imagem 3 - Resolução de um prolapso uterino (original do autor).

Após a resolução do prolapso normalmente colocam-se suturas de retenção, sendo que as opções mais comuns são a técnica de Buhner ou a colocação de agrafes de Flessa. Existe alguma controvérsia quanto ao valor das suturas de retenção na prevenção da recorrência dos prolapsos, no entanto, continuam a ser utilizadas pela maioria dos clínicos. As vacas devem ser monitorizadas cuidadosamente devido à possibilidade de recorrência (Momont, 2005). A administração de ocitocina é útil para aumentar o tônus uterino, controlar hemorragias e promover a involução uterina (Wenzel *et al.*, 1998, Miesner & Anderson, 2008). O valor da aplicação de antibióticos locais é também controverso, mas todas as vacas devem ser tratadas com antibióticos sistêmicos durante alguns dias (Momont, 2005).

Durante a realização do estágio a resolução de prolapsos uterinos passava pela administração de adrenalina (Adrilan[®]) e carprofeno (Rimadyl[®]) para tratamento do choque, pelo posicionamento da vaca e pela lavagem do útero para depois o recolocar na sua posição anatômica, conforme já descrito (imagem 3). Para retenção eram aplicados alfinetes obstétricos, como mostra a imagem 4. Após a resolução eram também administradas oxitetraciclina (Calimicina[®]) e ocitocina (Placentol[®]).



Imagem 4 - Colocação de alfinetes obstétricos após resolução de um prolapso uterino (original do autor).

3.2. Sistema Digestivo

No gráfico 5 é possível observar a grande dominância das diarreias neonatais (80,77%) entre todos os casos observados no sistema digestivo. A segunda doença mais frequente neste sistema é a indigestão simples (13,46%).

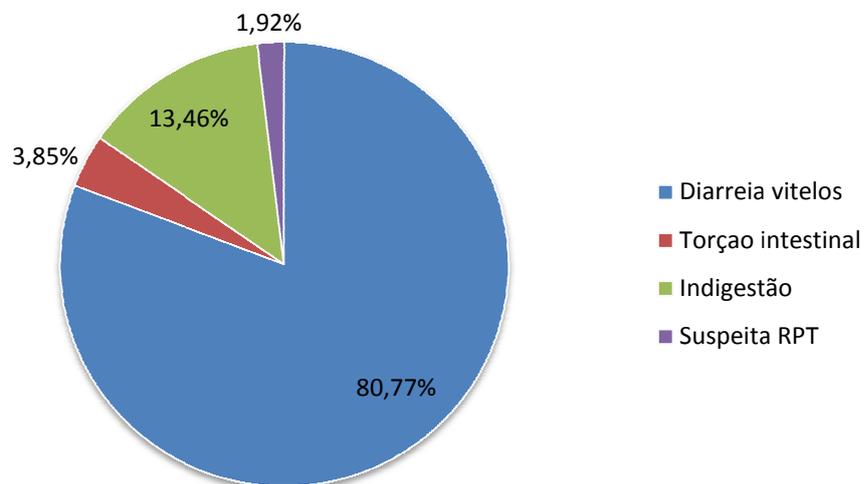


Gráfico 5 - Frequência relativa (%) das diferentes doenças observadas no sistema digestivo (n=52). Sendo que n representa o número total de casos observados neste sistema.

3.2.1. Diarreias neonatais

Quanto às diarreias neonatais, o período mais crítico para o aparecimento da doença são os primeiros dias de vida dos bezerros.

A diarreia e os outros sinais clínicos característicos da doença são causados pela interacção de algumas das várias causas infecciosas possíveis com factores predisponentes, como falha da transferência passiva de anticorpos através da ingestão de colostro, má nutrição e aspectos ambientais.

Esta doença é caracterizada por diarreia, desidratação progressiva e morte. Os bezerros apresentam diarreia amarela aquosa, cinzenta ou esverdeada contendo muco e pode estar tingida de sangue. É frequente haver vestígios de fezes diarreicas nos membros posteriores e na cauda. Inicialmente os animais podem aparentar estar alerta mas rapidamente se recusam a comer e tornam-se deprimidos, fracos e incapazes de se levantarem (Bicknell & Noon, 1993). A desidratação ocorre como resultado da perda de fluidos resultante da diarreia severa e é caracterizada por olhos fundos, pele seca, fraqueza generalizada e aumento do tempo de retracção da prega cutânea (Smith, 2009). Se a doença progride sem tratamento a desidratação e as perdas de electrólitos rapidamente conduzem à morte do animal (Bicknell & Noon, 1993, Smith, 2009).

A diarreia ocorre quando a capacidade do intestino para absorver fluidos está comprometida. A interferência nesta capacidade de absorção do intestino pode ocorrer por duas vias. Os danos nas células que revestem o intestino podem dever-se a destruição celular por certos agentes infecciosos, resultando na inflamação do intestino e na perda das capacidades de absorção e digestão. Outros agentes infecciosos produzem toxinas que levam os enterócitos a produzir mais fluido do que absorvem (Bicknell & Noon, 1993, Smith, 2009).

As seis principais causas de diarreia nos bezerros são: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, rotavírus, coronavírus, *Cryptosporidium parvum* tipo II e nutricional (Naylor, 2002, Constable, 2009). Podem também estar associadas outros agentes como *Clostridium* spp. ou BVD (Naylor, 2002).

A incidência dos vários agentes etiológicos varia com a idade do bezerro (quadro 4) e este facto é útil para estabelecer a probabilidade de determinado agente estar envolvido (Naylor, 2002).

Agente	Idade vitelo (dias)	Tipo de diarreia	Prevalência
<i>E. coli</i>	1 - 5	Hipersecretora (conteúdo hiperosmótico)	Reduzida
Coronavírus	7 - 21	Destruição da parede = Má absorção	Média
Rotavírus	7 - 15	Destruição da parede = Má absorção	Frequente
<i>Clostridium</i>	> 15	Hipersecretora (conteúdo hiperosmótico)	Rara
<i>Salmonella</i>	qualquer	Edema das vilosidades – perda de água	Reduzida
Alimentar	qualquer	Hiperosmótica	Frequente
<i>Cryptosporidium</i>	> 15	Edema das vilosidades	Frequente

Quadro 4 - Tipo e prevalência das diarreias em vitelos em função da idade e agente etiológico (Stilwell, 2008).

Independentemente da etiologia, os bezerros com diarreia frequentemente apresentam aumento do número de coliformes no intestino delgado (Berchtold, 2009, Constable, 2004). Este sobrecrescimento bacteriano gera um aumento da produção de ácido láctico devido à fermentação bacteriana no tracto gastrointestinal, conduzindo a acidémia, fraqueza e ataxia (Berchtold, 2009, Constable, 2009).

Os principais objectivos da terapia são tratar ou evitar a septicémia e bacterémia por Gram negativos, diminuir o número de coliformes, aumentar a resistência não-específica, providenciar nutrientes e analgesia para reduzir o stress do animal.

Para tal é aconselhado o uso de antibióticos de espectro predominantemente Gram negativo, anti-inflamatórios não esteróides (AINE's) e administração de leite (Constable, 2009). Para um tratamento eficaz da diarreia crónica devem

também administrar-se soluções de rehidratação oral (Smith, 2009) contendo acetato e propionato, assim como proporcionar vitaminas do complexo B e vitaminas lipossolúveis por via parental (Constable, 2009).

Os antibióticos devem ser administrados a todos os animais com diarreia que apresentem sinais sistémicos de doença (desidratação, letargia, pirécia) ou apresentem sangue ou muco nas fezes (Constable, 2004, Constable, 2009). A administração parental de antibióticos é preferida em relação à administração oral (Constable, 2009).

Os anti-inflamatórios, além do seu efeito analgésico, vão contribuir para uma diminuição da inflamação do tracto gastrointestinal e dos efeitos da endotoxémia e septicémia secundárias à passagem de bactérias entéricas através do epitélio intestinal danificado (Constable, 2009).

É importante não esquecer a reposição de fluidos e electrólitos, que deve ser instituída o mais cedo possível. A fluidoterapia vai ajudar também na resolução da acidose metabólica, bacterémia, e endotoxémia (Berchtold, 2009). Existem fórmulas comerciais já preparadas para hidratação oral, que podem ser administradas por via orogástrica (Bicknell & Noon, 1993). Estas soluções, além do já referido, vão também providenciar suporte nutricional aos animais (Smith, 2009). A administração de leite no período de rehidratação é controversa, porque apesar de fornecer energia ao animal, aumenta o volume fecal (Kahn, 2005). Em bezerros com desidratação severa (>8%) é indispensável a administração endovenosa de fluidos (Bicknell & Noon, 1993, Kahn, 2005, Berchtold, 2009).

O tratamento das diarreias neonatais dos vitelos durante o estágio era abordado de maneira diferente consoante o estado do animal e a história da exploração.

A rehidratação oral dos vitelos era feita através de entubação orogástrica e era utilizada uma fórmula comercial que contém vitamina A, vitamina E, selénio, *Enterococcus faecium*, citrato de sódio, propionato de sódio, farinha de semente de Guar e pectina de limão (Boviferm plus[®]) diluída em água morna. Este produto substitui os electrólitos, promove a rehidratação, aporta energia ao vitelo, previne a acidose metabólica, estabiliza a flora intestinal e protege as mucosas.

Quando o nível de desidratação do animal assim o exigia, a fluidoterapia endovenosa era realizada com a administração de cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, cloreto de magnésio e lactato de sódio (Soroplasma[®], aquecido, cerca de 2L para um bezerro de 50kg) e bicabornato de sódio (Bicabornato de sódio 8,4% Braun) quando necessário. Na imagem 5 pode observar-se a administração de fluidoterapia endovenosa num bezerro que apresentava diarreia. A administração de aminoácidos, vitaminas do complexo B, electrólitos e dextrose (Duphalyte[®]) pode também ser benéfica, ao auxiliar na reposição do balanço electrolítico, no fornecimento de energia, aminoácidos e vitaminas.

Por vezes recorria-se também à administração parental de fósforo e vitamina B12 (Catosal[®]) e/ou um multivitamínico do complexo B (Bê-complex[®]), para fornecer vitaminas ao animal.

As escolhas para a antibioterapia normalmente recaiam sobre: gentamicina (Gentayet[®]) parental e por vezes também oral (visto que, segundo Constable [2009], esta não ser bem absorvida no tracto gastrointestinal), associação entre trimetropim e sulfadiazina (Tribissen injectável[®]), danofloxacin (A180[®]) ou associação de penicilina com dihidroestreptomicina (Shotapen LA[®]). O anti-inflamatório de eleição era o carprofeno (Rimadyl[®]).



Imagem 5 - Tratamento de uma diarreia neonatal (original do autor).

Para a prevenção das diarreias existem vacinas que estimulam a imunidade activa das vacas em avançado estado de gestação a fim de aumentar o nível

de anticorpos no colostro contra agentes patogénicos da diarreia neonatal dos vitelos, conferindo assim imunidade passiva através do colostro. Em Portugal estão disponíveis algumas vacinas que contêm rotavírus bovino inactivado, coronavírus bovino inactivado e antigénio *E. coli* inactivado (Lactovac[®] C e Rotavec Corona[®]), promovendo assim imunidade contra rotavírus, coronavírus e *E. coli*.

3.3. Sistema Músculo-esquelético e Sistema Nervoso Periférico

Nestes sistemas é notória, observando o gráfico 6, a grande frequência de casos de “vaca caída” (42,86%) e de claudicação (38,78%). Surgiram também alguns casos de abscessos de casco, fracturas em bezerros (imagem 6) e poliartrite (imagem 7). Apenas foi observado um caso de hérnia inguinal (2,04%).

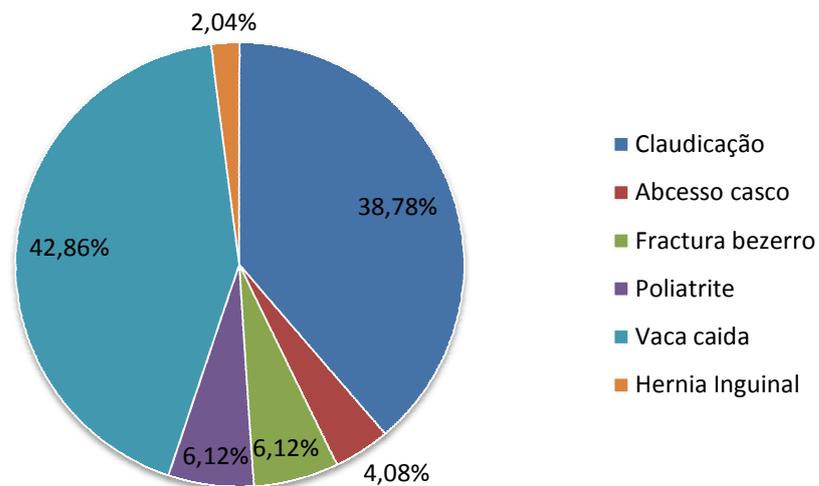


Gráfico 6 - Frequência relativa (%) das diferentes doenças observadas no sistema músculo-esquelético e no sistema nervoso periférico (n=49). Sendo que n representa o número total de casos observados nestes sistemas.



Imagem 6 - Bezerro com fractura do membro anterior esquerdo (original do autor).



Imagem 7 - Poliartrite num bezerro (original do autor).

Nas claudicações estão englobados todos os casos não diagnosticados ou não referidos nos outros pontos, como fracturas e afecções musculares em animais adultos.

3.3.1. Síndrome da vaca caída

“Vacac caídas” é um síndrome que pode ter várias origens, como por exemplo hipocalcémia, subnutrição, metrite, toxémia, traumatismos e problemas podais.

Os casos observados durante a realização do estágio eram na sua maioria pós-parto e em vacas de aptidão de carne, suspeitando-se então de lesões por compressão nos nervos obturador e/ou ciático.

As lesões nestes nervos são comuns após distócias, principalmente em novilhas primíparas, provocando paralisias pós-parto (Divers, 2004). Esta paralisia pode dever-se a compressão bilateral do nervo ciático ou danos na sexta raiz nervosa lombar, que origina os nervos obturador e ciático (Kahn, 2005).

A necrose isquémica dos músculos, secundária a compressão, e as rupturas musculares adquiridas em tentativas de se levantarem, também contribuem para esta paralisia. Adicionalmente podem ocorrer também problemas metabólicos como hipocalcémia que complicam este síndrome (Kahn, 2005).

Relativamente ao tratamento, antes de qualquer tentativa de colocar os animais em estação, estes deverão ser movidos para um local com piso não escorregadio, se possível (Divers, 2004). Se os animais estiverem em decúbito lateral esta posição deve ser alterada e os mesmos devem permanecer, preferencialmente, em decúbito esternal. Diariamente devem ser levadas a cabo tentativas de levantar o animal e a sua posição deve ser corrigida ou alterada várias vezes ao dia para evitar úlceras de decúbito (George, 2002). Os animais devem ter água e alimento à disposição.

Além dos procedimentos já descritos, durante a realização do estágio, a abordagem terapêutica destes casos de síndrome da “vaca caída” por compressão nervosa era realizada através da administração de vitamina B1 (BÊ-FORTIL[®]) e carprofeno (Rimadyl[®]). No caso de existirem outros problemas concomitantes estes eram também abordados.

3.4. Sistema Respiratório

A única patologia observada no sistema respiratório, como se pode observar no quadro 5, foi a doença respiratória bovina, com o aparecimento de 23 casos.

Doença	nº casos observados
Doença Respiratória Bovina	23

Quadro 5 - Número total de casos observados no sistema respiratório.

3.4.1. Doença respiratória bovina

A doença respiratória bovina (DRB) resulta da interacção de múltiplos factores, como a presença de microrganismos bacterianos e víricos, o ambiente e os sistemas de manejo animal, conduzindo a graves perdas económicas (Kahn, 2005).

As doenças respiratórias afectam essencialmente os bezerros e podem ocorrer em explorações de leite ou de carne, dependendo da natureza das condições epidemiológicas envolvidas.

Podemos destacar alguns factores que favorecem a ocorrência de DRB, nomeadamente: a elevada densidade animal, manutenção dos animais em locais pouco ou excessivamente ventilados, alterações acentuadas no clima, stress associado ao desmame e ao transporte, problemas nutricionais, coabitação de animais provenientes de diferentes explorações e ausência de planos de vacinação face aos principais agentes (Ames *et al.*, 2002).

No que diz respeito a agentes patogénicos podem-se referir dois grupos principais: vírus e bactérias. No caso dos bovinos, alguns dos agentes infecciosos que podem estar presentes são:

- Vírus (actuam usualmente em combinação com outros agentes): herpesvírus bovino tipo 1 (IBR), vírus da diarreia viral bovina (BVDV), vírus da parainfluenza tipo 3 (PI3), vírus respiratório sincicial bovino (BRSV), coronavírus respiratório bovino, alcelaphine herpesvírus tipo 1 e 2, adenovírus, rinovírus, calicivirus, etc. (Ames *et al.*, 2002);

- Agentes bacterianos e outros: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma dispar*, *Ureaplasma* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Moraxella* spp., *Salmonella* spp., *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* sp., *Chlamydia* spp., etc. (Ames *et al.*, 2002).

Alguns dos agentes virais apenas dão origem a sinais clínicos moderados quando actuam sozinhos, mas quando combinados com outros agentes virais ou bacterianos e stress, podem dar origem a doença severa e morte.

Se os animais são submetidos a factores de stress, os seus mecanismos de defesa podem estar comprometidos e estabelece-se a infecção.

Estes animais estão deprimidos e afastam-se do grupo, podem apresentar descarga nasal e/ou ocular, aumento da frequência respiratória, febre e anorexia (Apley, 2006). A cabeça distendida e as visíveis dificuldades respiratórias são frequentemente os sinais para detectar os animais afectados (Perino & Apley, 1999).

A terapêutica instituída durante o estágio normalmente passava pela administração de um antibiótico de longa acção, como florfenicol (Nuflor[®]) ou enrofloxacina (Baytril[®]) e de um AINE, o carprofeno (Rimadyl[®]).

Nos casos mais severos de dispneia administrava-se um mucolítico, a bromexina (Eres injectável[®]) para facilitar a eliminação das secreções produzidas.

Era também rotineiramente utilizado um multivitamínico (Duphrafal Multi[®]), com o intuito de melhorar o estado imunitário do animal e corrigir as carências vitamínicas (Perino & Apley, 1999, Ames *et al.*, 2002).

Quanto à prevenção, é importante ter em atenção a transferência de imunidade passiva nos neonatos e elaborar um bom plano vacinal (Perino & Apley, 1999). É prática comum em algumas explorações elaborar planos profiláticos que incluam vacinas que oferecem protecção contra IBR, BVD, PI3 e BRSV (Rispoval 4[®]) ou que, para além de conferirem protecção contra os mesmos vírus, protegem também contra infecções por algumas serovarietades de *Leptospira* (Triangle 9[®]).

O ideal será vacinar os animais pelo menos duas semanas antes dos momentos de stress (desmame, transporte, agrupamento, entre outros). A vacinação dos animais jovens pode não ser recomendável se houver forte probabilidade de existirem em circulação anticorpos de origem materna. Em caso de dúvida será sempre de reforçar a vacinação logo que se considere que essa imunidade decresceu (> 12 semanas) (Stilwell & Matos, n. d.).

3.5. Pele e Anexos

No quadro 6 é possível observar que nas doenças associadas com a pele e órgãos anexos a mastite foi aquela que deu origem a mais casos observados (6 casos).

Doença	nº casos observados
Ferida prepúcio	3
Ferida membros	4
Mastite	6
Total	13

Quadro 6 - Número total de casos observados na pele e anexos.

3.5.1. Mastites

Mastite é a designação atribuída ao processo inflamatório da glândula mamária, sendo quase sempre devido a infecções por agentes bacterianos ou fúngicos. As alterações patológicas nas células epiteliais secretoras de leite devido ao processo inflamatório frequentemente levam a uma diminuição na capacidade funcional do animal (Kahn, 2005).

Apesar da maioria das infecções resultarem em processos inflamatórios sub-clínicos, casos mais severos podem gerar agaláxia ou mesmo envolvimento sistémico grave, resultando na morte do animal (Kahn, 2005).

As mastites clínicas e sub-clínicas causam perdas económicas significativas devido à diminuição da produção leiteira, custos de tratamento e substituição dos animais mortos ou não produtivos (Tyler & Cullor, 2002).

A mastite pode resultar da introdução de microorganismos através do esfíncter do teto. O curso clínico da doença depende da capacidade de colonização da bactéria, da sua sobrevivência nas secreções da glândula mamária, da sua virulência e do tipo, magnitude e duração da resposta imunitária do hospedeiro (Tyler & Cullor, 2002).

Em geral, as mastites podem ser subdivididas em dois grandes grupos, com base na fonte da infecção: mastite contagiosa e mastite ambiental (Tyler & Cullor, 2002).

No caso das mastites contagiosas a fonte de infecção são os quartos infectados, havendo disseminação de um quarto infectado para outro são do mesmo animal ou entre animais, ocorrendo a infecção principalmente através da máquina de ordenha ou mesmo através do ordenhador (Kahn, 2005). Como principais agentes contagiosos destacam-se o *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Mycoplasma bovis* (Archbald, 1999, Tyler & Cullor, 2002)

Relativamente às mastites ambientais, os agentes são habitantes comuns do meio ambiente. A exposição do quarto não infectado ao agente pode ocorrer em qualquer momento na ordenha, entre ordenhas, nas camas ou durante o período seco (Kahn, 2005). Como agentes ambientais destacam-se: *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia* sp. e *Proteus* sp. (Tyler & Cullor, 2002).

Além de agentes bacterianos, podem estar envolvidos nas mastites fungos (*Trichosporon* spp., *Aspergillus* spp.) e leveduras (*Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*) (Archbald, 1999).

De um modo geral, o diagnóstico de mastite clínica pode ser efectuado com base no aspecto macroscópico do leite (descoloração e/ou formação de coágulos) e da glândula mamária (aumento de volume e de temperatura, presença de dor e endurecimento) e podem estar presentes sinais sistémicos. As mastites sub-clínicas podem ser detectadas através das alterações citológicas e bioquímicas do leite (Archbald, 1999).

No que diz respeito ao tratamento, este depende de factores como o tipo de mastite presente, o agente etiológico (caso este seja conhecido), o estado geral do animal, a presença ou não de envolvimento sistémico, a experiência do Médico Veterinário, etc. Em termos de antibioterapia, esta pode ser parenteral e/ou intramamária. A aplicação parenteral deve ser considerada nos casos de mastite com envolvimento sistémico acentuado ou em casos em que a glândula mamária esteja acentuadamente aumentada de volume, visto ser improvável que as substâncias administradas pela via intramamária se difundam adequadamente em todas as regiões do tecido glandular. Nestes casos de mastite clínica aguda ou hiperaguda com sinais sistémicos (anorexia, temperatura rectal aumentada, desidratação e decúbito) o tratamento envolve fluidoterapia, anti-inflamatórios, antibioterapia sistémica e antibioterapia intramamária (Archbald, 1999, Tyler & Cullor, 2002).

Relativamente à selecção do antibiótico para o tratamento de mastites, sempre que possível, deve basear-se na identificação do agente e em testes de sensibilidade a antibióticos (TSA). Contudo, nos casos de mastite clínica aguda e hiperaguda em vacas leiteiras é urgente a aplicação de terapêutica e impossível aguardar por resultados laboratoriais, de forma a orientar a selecção do antibiótico mais adequado (Tyler & Cullor, 2002).

Tyler e Cullor (2002) referem o uso parental de oxitetraciclina devido ao seu baixo custo e boa distribuição na glândula mamária ou ceftiofur devido ao curto período de intervalo de segurança para carne e leite.

A administração de ocitocina e a ordenha frequente dos quartos afectados apresentam também vantagens pois melhoram a perfusão do úbere durante a infecção, diminuem a acumulação de mediadores inflamatórios e ajudam na eliminação do agente etiológico (Archbald, 1999).

Durante o estágio, a maioria dos animais assistidos eram de aptidão cárnica e o tratamento efectuado aos animais assistidos consistiu na infusão intramamária de um dos seguintes princípios activos: associação de amoxicilina e ácido clavulânico (Synulox Suspensão Intramamária[®]) ou cefoperazona (Pathozone Suspensão Intramamária[®]). Nos animais com maior envolvimento sistémico recorreu-se também à administração parenteral de antibiótico, gentamicina (Gentayet[®]), ceftiofur (Excenel[®]) ou cefalexina

(Ceporex[®]), administração de anti-inflamatório não esteróide, como carprofeno (Rimadyl[®]) e fluidoterapia intravenosa.

3.6. Doenças Parasitárias

Em bovinos, os únicos casos de doença parasitária estavam associados ao aparecimento de sinais clínicos típicos de hemoparasitoses, tendo sido observados 7 animais, como se pode observar no quadro 7.

Doença	nº casos observados
Hemoparasitose (Babesiose, Theileriose ou Anaplasmosse)	7

Quadro 7 - Número total de casos observados de doenças parasitárias.

O número de casos de hemoparasitoses observado foi significativo, o que demonstra a importância das mesmas na região do Alentejo. O período no qual decorreu o estágio foi marcado pelo aumento crescente do número de ixodídeos, devido essencialmente à alteração das condições climáticas, levando assim ao aparecimento de um número considerável de hemoparasitoses.

Os principais hemoparasitas que afectam os bovinos nesta região são: *Babesia bovis*, *B. divergens*, *B. bigemina*, *Theileria annulata* e *Anaplasma marginale*.

3.6.1. Babesiose

A babesiose, também conhecida como Febre do Texas, Ferrujão ou Febre da Carraça, é uma doença parasitária provocada por protozoários do género *Babesia*, que invadem e se multiplicam dentro dos eritrócitos (Kahn, 2005).

Os sinais clínicos de babesiose têm início duas a três semanas após a inoculação do parasita pela carraça. Muitas vezes o primeiro sinal observável é o isolamento do animal do seu grupo habitual. O indivíduo afectado mostra sinais de depressão, procura sítios de sombra e fica prostrado. O primeiro sinal

clínico que se detecta é a presença de febre. Posteriormente surge anorexia e atonia ruminal (Center for Food Security and Public Health [CFSPH], 2008).

Menos frequentemente, o animal apresenta o dorso arqueado (devido a dor abdominal) e o pêlo áspero. A concentração de eritrócitos infectados nos capilares sanguíneos leva a um início de disfunção dos órgãos vitais e a hemólise resulta em descompensação no fornecimento de oxigénio aos tecidos, podendo sobrevir assim sinais de dispneia e taquicardia. As mucosas podem mostrar-se, inicialmente, ligeiramente congestionadas, tornando-se bastante pálidas com o agravamento da anemia. Também a bilirrubinémia (em resultado da presença de elevadas quantidades de hemoglobina livre no sangue) se revela com o aparecimento de icterícia. A urina apresenta cor vermelha escura (hemoglobinúria) (CFSPH, 2008).

A anemia é o principal factor da patogénese da babesiose. É responsável pela astenia e perda de condição corporal conduzindo, invariavelmente, nos casos não tratados, à morte do animal (CFSPH, 2008).

A manifestação clínica aguda tem a duração de cerca de uma semana mas, em caso de sobrevivência, o animal pode apresentar perda continuada de peso, quebras de produção, episódios de aborto e infertilidade.

O primeiro indicador necessário para o diagnóstico de babesiose é a presença da carraça vector (*Boophilus spp.*) (Kahn, 2005).

Deve sempre suspeitar-se de babesiose em animais que apresentem febre, anemia, icterícia e hemoglobinúria (CFSPH, 2008).

O diagnóstico passa normalmente pela identificação dos protozoários nos esfregaços sanguíneos. As amostras de sangue podem ser recolhidas a partir da veia da cauda, da orelha ou do focinho. O método de preparação microscópica consiste na coloração pelo método de Giemsa, revelando organismos de forma piriforme, redondos ou anelares (Kahn, 2005). Estes organismos podem visualizar-se no interior dos eritrócitos ou livres no plasma, devido à hemólise.

3.6.2. Theileriose

À semelhança da babesiose, também a theileriose é uma parasitose que pode resultar em perdas graves de produção e mortalidade elevada nos animais susceptíveis.

Esta doença parasitária resulta da infecção por organismos do género *Theileria*, um protozoário intracelular obrigatório.

Podemos identificar duas espécies principais com grande importância em Medicina Veterinária: *Theileria parva* e *Theileria annulata*. As theilerioses bovinas receberam diferentes denominações segundo a localização onde foram diagnosticadas e o agente etiológico envolvido: *Theileria parva*, agente da Febre da Costa Oriental (do inglês *East Coast Fever*), ocorre numa vasta zona do continente africano desde o sul do Sudão até à África do Sul; e *Theileria annulata*, que causa a theileriose tropical, encontra-se disseminada pelo Norte de África, Sul da Europa (incluindo Portugal), Rússia e Médio-Oriente. Existem ainda outras espécies que são, no entanto, apenas causa de infecções assintomáticas (Center for Food Security and Public Health [CFSPH], 2009b).

O período de incubação da theileriose tropical é de 1 a 3 semanas. É uma doença que afecta especialmente os ruminantes, caracterizada por um quadro sintomático de febre, linfadenomegália, icterícia, anemia e mucosas pálidas, hemoglobínúria em alguns casos, anorexia, diarreia e caquexia.

Outros sinais podem incluir rinorreia, opacidade da córnea e taquipneia. Numa fase avançada, os animais desenvolvem edema pulmonar, dispneia severa e rinorreia que se caracteriza por ser visivelmente espumosa (Kahn, 2005, CFSPH, 2009b). Os casos de theileriose também podem desenvolver uma condição fatal designada por *turning sickness*, nesta forma de doença, as células infectadas bloqueiam os capilares do SNC, provocando embolias e causando sinais neurológicos de acordo com as zonas afectadas. No entanto, a *turning sickness* não é frequentemente associada à theileriose tropical em bovinos.

A morte é bastante comum nos animais susceptíveis, mas muito rara nas áreas endémicas devido à imunidade estabelecida nessas populações. Contudo, os

animais recuperados mantêm-se portadores assintomáticos sendo notória a redução dos seus índices de produtividade, crescimento e fertilidade (CFSPH, 2009b).

A suspeita de theileriose deve ser sempre colocada a partir do momento em que estamos perante uma situação de animais com febre e linfadenomegália, numa área onde seja evidente a presença de carraças (*Hyalomma* spp. no caso da *T. annulata*).

Em animais vivos a theileriose é diagnosticada a partir da observação microscópica dos merontes em esfregaços de sangue e linfonodos, ou ainda em biópsias de fígado.

Os achados de necrópsia podem servir como auxiliares no diagnóstico e a observação de piroplasmas intraeritrócitários em cortes histológicos também é bastante usual. A técnica *polymerase chain reaction* (PCR) é, hoje em dia, bastante utilizada na identificação das várias espécies deste parasita (CFSPH, 2009b).

3.6.3. Anaplasmose

A anaplasmose é uma doença que afecta ruminantes, causada por *Anaplasma* spp., um hemoparasita intracelular obrigatório (Kahn, 2005). A espécie mais comum nos bovinos é *Anaplasma marginale* e encontra-se no interior dos eritrócitos dos animais afectados. O principal vector de transmissão de anaplasmose é a carraça e a mais importante fonte de infecção são os animais portadores assintomáticos. Também certos insectos (como os mosquitos) podem transmitir a doença mas são muito menos eficientes do que as carraças. A transmissão mecânica através de instrumentos e materiais também é possível, designa-se por infecção iatrogénica e verifica-se principalmente em consequência de procedimentos tais como injeções, castrações ou descornas (Richey & Palmer, 2003, Whittier *et al.* 2009).

Os bezerros nascidos a partir de mães imunes recebem protecção temporária através dos anticorpos maternos veiculados pelo colostro. Assim, os bezerros expostos à anaplasmose no período em que a resistência adquirida por via

maternal é elevada, raramente exibem sinais clínicos desenvolvendo uma imunidade sólida e duradoura. Desta forma, dependendo do nível de imunidade presente na exploração, é possível a ocorrência simultânea de *Anaplasma marginale* e de carrças sem que isso, no entanto, signifique perdas de produção ou manifestação de doença clínica (Kahn, 2005).

Se os animais não estão expostos ao agente durante o seu crescimento, a sua resistência diminui e os animais adultos tornar-se-ão normalmente susceptíveis. Desta forma, se o animal susceptível estiver em contacto com animais infectados e/ou na presença de carrças, a probabilidade de ocorrência de anaplasmoze é bastante elevada (Kahn, 2005).

Podemos definir o curso clínico desta doença em quatro fases: incubação, desenvolvimento, convalescença e estado de portador.

A incubação corresponde à origem da infecção e resulta na invasão de cerca de 1% do volume total de eritrócitos, durando 3 a 8 semanas segundo a carga parasitária a que o animal é exposto. Nesta fase inicia-se o processo de reprodução do parasita sem que, no entanto, o animal infectado manifeste qualquer sinal clínico.

Durante a fase de desenvolvimento, com duração de 4 a 9 dias, surgem os sinais característicos de anaplasmoze. Devido à presença do parasita, os eritrócitos sofrem lise surgindo sinais de anemia, febre, quebra abrupta da produção leiteira e depressão. Os primeiros sinais clínicos observáveis são a palidez das mucosas e a fraqueza generalizada do animal que, por vezes, se encontra isolado. Mais tarde, o animal manifesta constipação, excitação, rápida perda de peso e, eventualmente, as mucosas aparecem ictéricas e a urina castanha devido ao aumento da concentração sérica dos pigmentos biliares. No final desta fase, os animais estão caídos sem capacidade de se levantar sozinhos, acabando por morrer (Richey & Palmer, 2003).

Os animais que sobrevivem à fase clínica da doença entram em convalescença. Este período, que se prolonga entre 2 a 3 meses, é caracterizado por sinais muito variados tais como perda de peso e episódios de aborto. Nesta altura, as mortes registadas vão diminuindo à medida que esta fase progride.

Após convalescença, a maioria dos animais fica portadora de *Anaplasma*. A medicação adequada pode, no entanto, diminuir a incidência do parasita numa população de bovinos (Richey & Palmer, 2003).

Os animais portadores não exibem quaisquer sintomas uma vez que os níveis sanguíneos de *Anaplasma* se mantêm extremamente baixos. Contudo, a sua importância epidemiológica não deve ser negligenciada, pois os animais portadores são certamente a principal fonte de infecção dentro de uma exploração (Richey & Palmer, 2003).

Os sinais clínicos e as lesões *post-mortem* são muitas vezes sugestivos de anaplasmosose, no entanto, é impossível fazer um diagnóstico definitivo com base nestes sinais isolados.

O diagnóstico de anaplasmosose pode ser realizado através da detecção dos corpos marginais nos eritrócitos em esfregaços sanguíneos corados pela técnica de Giemsa. Os métodos serológicos habituais para pesquisa de anticorpos séricos também são aplicáveis no diagnóstico desta parasitose (Kahn, 2005).

3.6.4. Tratamento

Durante o estágio, os animais com sinais clínicos de infecção por hemoparasitas foram tratados com oxitetraciclina (Calimicina[®]), dexametasona (Dexafort[®]) e um multivitamínico (Duphrafal Multi[®]). Era realizado um esfregaço de sangue periférico para confirmar o diagnóstico e o agente etiológico. Após esta confirmação, os casos de anaplasmosose e babesiose eram tratados com imidocarb (Imizol[®]). Os animais que apresentavam exoparasitas, nomeadamente carraças, eram desparasitados com ivermectina.

A prevenção destas doenças passa pelo controlo dos vectores.

3.7. Doenças Infecto-contagiosas

Durante a realização do estágio observei um caso de suspeita de IBR/BVD e cinco casos de suspeita de leptospirose (quadro 8), normalmente associados a surtos, ou seja, aparecimento de mais de um caso na mesma exploração.

Doença	nº surtos
Suspeita IBR/BVD	1
Suspeita de Leptospirose	5
Total	6

Quadro 8 - Número total de casos observados de doenças infecto-contagiosas.



Imagem 8 - Sinais clínicos de leptospirose numa vaca adulta. Hemoglobinúria (original do autor).

3.7.1. Leptospirose

A leptospirose é uma zoonose bacteriana, economicamente importante e que afecta as espécies pecuárias. Esta doença ocorre em todo o mundo e é causada pela infecção com a espiroqueta *Leptospira*. As leptospiras patogénicas eram antigamente classificadas como membros da espécie *Leptospira interrogans*, mas o género foi recentemente reorganizado e as

leptospiras patogénicas são agora identificadas em 7 genoespécies de *Leptospira* (Bolin, 2003).

A transmissão da infecção entre hospedeiros específicos é normalmente directa e envolve contacto com urina infectada, fluidos placentais ou leite. Pode ser também transmitida venereamente ou transplacentariamente. Entre hospedeiros específicos a transmissão é eficiente e a incidência é relativamente elevada.

A transmissão entre hospedeiros acidentais é indirecta, através do contacto com áreas contaminadas com urina dos hospedeiros reservatórios. A sobrevivência das leptospiras no ambiente é favorecida pela humidade e por temperaturas amenas/quentes. Perante estas condições o organismo pode permanecer durante dias ou semanas no exterior dos hospedeiros (Bolin, 2003).

As leptospiras estão amplamente distribuídas entre os animais silvestres, o que os torna prováveis fontes de infecção para os animais domésticos (Rodrigues *et al.*, 1999).

O serovar *hardjo* é específico dos bovinos e o serovar *pomona* inclui também os bovinos nos seus hospedeiros específicos (Bolin, 2003).

A leptospirose aguda pode ser severa para os bezerros. Os animais podem apresentar febre (40,5-41°C), anorexia, dispneia (congestão pulmonar), icterícia, hemoglobinúria (imagem 8), e anemia hemolítica. O serovar *pomona* normalmente dá origem a doença mais severa, no entanto, outros serovares podem dar origem a sinais clínicos similares. O serovar *hardjo*, devido à sua adaptação ao hospedeiro, tipicamente não dá origem à forma aguda da doença. A morbidade e a mortalidade são mais elevadas nos bezerros do que nos bovinos adultos (Kahn, 2005).

Nos bovinos adultos, os sinais variam muito e o diagnóstico é mais complicado. As vacas infectadas com o serovar *hardjo*, que normalmente resulta em alterações no leite, são mais facilmente identificadas em explorações leiteiras do que em explorações de carne. A produção de leite diminui e o leite é denso, amarelado e tingido de sangue. O úbere é tipicamente mole e flácido (Kahn, 2005).

As formas crónicas de leptospirose apresentam como sinais clínicos abortos e nados-mortos e ocorrem com infecções pelos serovares *pomona* e *hardjo*. Podem também originar partos prematuros ou bezerros fracos infectados. A fertilidade está também reduzida, existem dificuldades de concepção e perdas embrionárias precoces (Lewis, 1999, Kahn, 2005).

Quanto às lesões encontradas nestes animais, na forma aguda podemos encontrar anemia, icterícia, hemoglobinúria. Os rins estão edemaciados e escuros, com hemorragias petequiais multifocais, desenvolvendo mais tarde focos de infiltração celular. O fígado pode estar edemaciado, pálido e friável, com algumas áreas de necrose focal (Kahn, 2005).



Imagem 9 - Necropsia de um bezerro com lesões típicas de leptospirose. Hemoglobinúria (original do autor).

Quanto ao tratamento, Kahn (2005) refere o uso eficaz de oxitetraciclina e tetraciclina no tratamento de fases iniciais nos casos agudos. A oxitetraciclina, a amoxicilina e a enrofloxacina podem ser úteis no tratamento da forma crónica.

A melhor forma de controlar a doença é a vacinação, no entanto, os antibióticos são úteis para reduzir o número de leptospiras nos rins e outros tecidos até ser induzida a imunidade vacinal (Bolin, 2003, Kahn, 2005).

Para este controlo, em explorações abertas, deve ser considerada a vacinação duas vezes por ano. Outros métodos de manejo que ajudam a reduzir a transmissão são o controlo de roedores, evitar o acesso dos animais a lagoas e

ribeiros e introduzir apenas animais provenientes de explorações soronegativas para leptospirose (Lewis, 1999, Bolin, 2003, Kahn, 2005).

Durante a realização do estágio, o diagnóstico de leptospirose era maioritariamente *post-mortem*, identificando as lesões típicas durante a realização da necrópsia. Nas imagens 9 e 10 é possível identificar algumas destas lesões. Algumas vezes era realizado exame físico a animais afectados e visualizavam-se sinais de hemoglobinúria no solo.



Imagem 10 - Necrópsia de um bezerro com lesões típicas de leptospirose. Fígado edemaciado, pálido e friável (original do autor).

O tratamento com oxitetraciclina (Calimicina[®]) não demonstrou ser efectivo, talvez devido ao facto de os animais já se encontrarem numa fase tardia da doença e morrerem em poucas horas.

Os proprietários eram então aconselhados a vacinar todos os animais da exploração com uma vacina que contem antigénios de *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*, demonstrando também protecção cruzada contra *Leptospira borgpetersenii* serovar *hardjo* (Leptavoid H[®]) ou uma vacina que além de garantir protecção contra *L. canicola*, *L. pomona*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. grippityphosa*, protege também contra IBR, BVD, PI3 e BRSV (Triangle 9[®]).

4. Outros procedimentos médicos em bovinos

Este ponto engloba as necrópsias e eutanásia assistidas durante o período de estágio (quadro 9).

Procedimentos médicos	nº casos observados
Necrópsias	12
Eutanásia	3
Total	15

Quadro 9 - Número total de casos observados de outros procedimentos médicos.

Recorreu-se à eutanásia nos casos em que a resolução do problema era impossível ou inviável, como fracturas antigas em vacas adultas.

As necrópsias foram realizadas com o objectivo de identificar a etiologia das doenças. Das 12 necrópsias realizadas, foram visíveis lesões típicas de listeriose em 8 (7 jovens e 1 adulto), lesões típicas de enterotoxémia em 3 animais jovens e 1 caso de deslocamento do abomaso associado a torção intestinal numa vaca adulta. Na imagem 11 pode observar-se a realização de uma necrópsia num bezerro.



Imagem 11 - Realização de uma necrópsia num bezerro (original do autor).

5. Clínica Cirúrgica em Bovinos

Foram realizadas um total de 11 intervenções cirúrgicas durante o estágio. A intervenção que mais vezes foi realizada, como se pode observar no gráfico 7, foi a episiotomia, com 4 casos (36,36%).

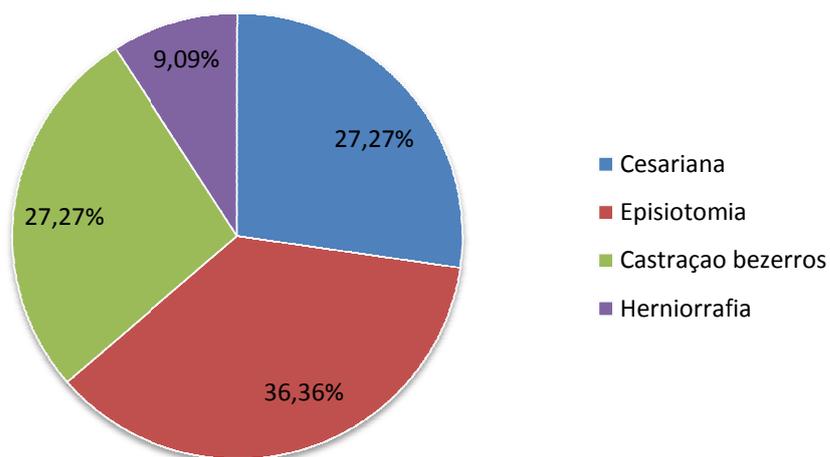


Gráfico 7 - Frequência relativa (%) dos diferentes procedimentos cirúrgicos (n=11). Sendo que n representa o número total de procedimentos cirúrgicos observados.

A episiotomia é uma técnica que consiste em fazer uma pequena incisão na vulva com o intuito de facilitar a extração de fetos em casos de desproporção feto-materna ou fetos enfisematosos.



Imagem 12 - Castração em bezerros (original do autor).

Seguem-se a cesariana e a castração de bezerros (imagem 12), com 3 intervenções em cada caso (27,27%). Foi realizada também uma herniorrafia num bezerro recém-nascido com hérnia inguinal (9,09%).

Devido à frequência com que é realizada e aos riscos associados a esta cirurgia, a cesariana será abordada com mais detalhe.

5.1. Cesariana

A cesariana é potencialmente indicada em casos cujas distócias de origem materna e/ou fetal não podem ser corrigidas com o uso de substâncias lubrificantes, ou quando a extração forçada colocar em risco a sobrevivência do bezerro e/ou da vaca. Uma outra indicação é a inadequada dilatação cervical, restringindo o uso da fetotomia.

Existem oito tipos de técnicas cirúrgicas utilizadas em bovinos:

- Animal em estação: laparotomia paralombar no lado esquerdo (ventrolateral esquerda); laparotomia paralombar no lado direito (ventrolateral direita) e incisão oblíqua no lado esquerdo;
- Animal prostrado: laparotomia paralombar no lado esquerdo; laparotomia paralombar no lado direito; laparotomia ventral paramediana; laparotomia ventrolateral e incisão mediana (Bicalho, 2009).

Cada uma apresenta as suas vantagens e desvantagens. A escolha da técnica deve basear-se no tipo de distócia, na condição da vaca, nas condições do ambiente, na disponibilidade de assistência e na preferência do cirurgião (Bicalho, 2009).

O objectivo principal durante a realização duma cesariana é limitar a contaminação da cavidade peritoneal com conteúdos uterinos. A contaminação da cavidade peritoneal, particularmente em vacas com fetos mortos e enfisematosos, aumenta grandemente o risco de peritonite, limita as hipóteses de sobrevivência desta fêmea e a sua produtividade.

A exteriorização do útero é importante. Isto ajuda a limitar o nível de contaminação da cavidade peritoneal, auxiliando assim na prevenção de peritonite.

A técnica de preferência dos clínicos que exercem funções no HVME é a laparotomia paralombar do lado esquerdo, com o animal em estação.

A preparação cirúrgica passa por fazer tricotomia do flanco esquerdo, abrangendo toda a zona em redor do local de incisão e preparação asséptica do mesmo local. Seguidamente procede-se à sedação do animal com xilazina endovenosa (Seton 2%[®]) e à anestesia local em “L” invertido com lidocaína (Anestésin[®]), como demonstra a imagem 13. Após isto, faz-se uma incisão vertical no flanco esquerdo, com comprimento suficiente para permitir a extracção do feto. Realiza-se uma incisão nos músculos: oblíquo externo, oblíquo interno e o transverso do abdómen, na mesma linha em que se incide a pele (imagem 14). Identifica-se o útero, procurando os membros do feto e tenta-se exteriorizá-lo (não é muito simples nesta abordagem), caso não seja possível, este deve ser manipulado numa posição tão próxima da incisão quanto possível. Faz-se a incisão na face dorsal do útero e exterioriza-se o mesmo à medida que se vai removendo o feto (imagem 15), no sentido de evitar a contaminação da cavidade abdominal por fluidos (Wenzel *et al.*, 1998).



Imagem 13 - Cesariana. Anestesia local em "L" invertido (original do autor).



Imagem 14 - Cesariana. Incisão da cavidade abdominal (original do autor).



Imagem 15 - Cesariana. Exteriorização do útero (original do autor).

O útero é encerrado através de uma sutura invaginante contínua (Cushing) (imagem 16) e a cavidade abdominal é encerrada por camadas (duas ou três) através de sutura contínua simples ou ancorada (imagem 17) (Newman, 2008). Para o encerramento da pele pode-se usar a sutura simples, contínua ancorada ou agrafos (imagem 18).

Antes do encerramento da cavidade abdominal é instilada localmente uma penicilina associada a estreptomicina (Shotapen®).



Imagem 16 - Cesariana. Encerramento do útero (original do autor).



Imagem 17 - Cesariana. Encerramento da cavidade abdominal (original do autor).



Imagem 18 - Cesariana. Encerramento da pele (original do autor).

A abordagem pós-cirúrgica passa pela administração de um AINE, carprofeno (Rimadyl[®]) e um antibiótico por via intramuscular, como a associação de penicilina com estreptomicina (Shotapen[®]) ou oxitetraciclina (Calimicina[®]).

6. Clínica Médica em Pequenos Ruminantes

6.1. Ovinos

Neste ponto a maiorias dos casos referem-se a doenças de rebanho. É também de destacar que muitas vezes estas doenças eram identificadas no momento das acções de sanidade.

Ovinos	
Doença	nº surtos
Fotossensibilidade	1 Rebanho
Sarna	4 Rebanhos
Peeira	2 Rebanhos
Ectima contagioso	1 Rebanho

Quadro 10 - Número de casos de clínica média observados em ovinos.

Como se pode verificar no quadro 10, a doença que mais vezes foi observada nos ovinos foi a ronha ou sarna psorótica, tendo sido diagnosticada esta parasitose em 4 rebanhos. O diagnóstico baseou-se nos sinais característicos da doença. Foram também observados: dois casos de peeira, um caso de fotossensibilidade e um caso de ectima contagioso (imagem 19).

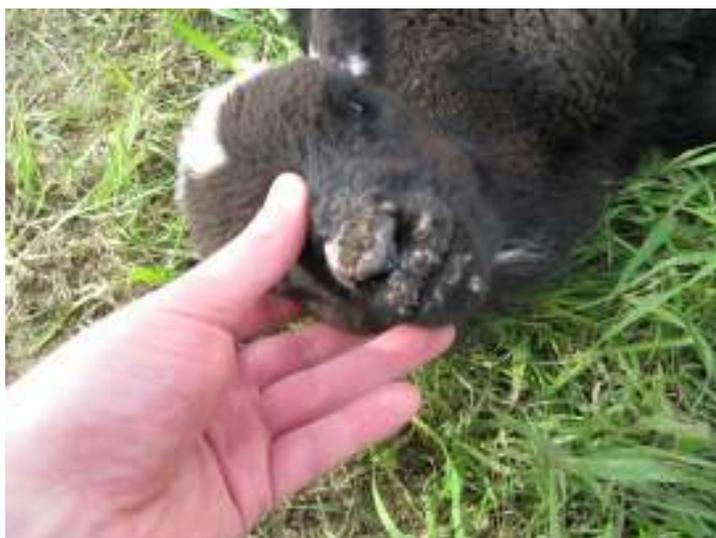


Imagem 19 - Borrego com sinais clínicos de ectima contagioso (original do autor).

6.1.1. Sarna psoróptica

A ronha ou sarna psoróptica dos ovinos é uma dermatite alérgica contagiosa e altamente pruriginosa causada pelo ácaro *Psoroptes ovis* (Center for Food Security and Public Health [CFSPH], 2009a).

Os efeitos sobre o bem-estar e a produção animal são graves e o controlo da doença é imprescindível (Ariznabarreta *et al.*, 2002).

Nas ovelhas, os ácaros *Psoroptes ovis* vivem na base da lã e alimentam-se dos exsudados da pele. Este organismo permanece durante todo o ciclo de vida no mesmo hospedeiro e em todos os estádios (larvas, ninfas e adultos) se alimenta no mesmo (CFSPH, 2009a).

A transmissão é efectuada por contacto directo entre animais, mas o parasita pode também ser disseminado através de fomites, como as cercas e os tractores (Ariznabarreta *et al.*, 2002). Os ácaros podem sobreviver no ambiente entre 5 dias e 7 semanas, dependendo das condições (CFSPH, 2009a).

Os casos moderados e as fases iniciais de doença severa são caracterizados por exsudados serosos e pequenas máculas eritematosas, com coloração amarelada ou alaranjada da lã próxima da pele. Estas máculas inicialmente aparecem em grande parte nos ombros e pescoço. À medida que a doença progride os ovinos afectados desenvolvem lesões amplas, escamosas, e com formação de crosta, acompanhadas de danos na lã e na pele. Estas lesões aparecem maioritariamente nas zonas com mais lã. As crostas estão pouco aderentes à pele com um fluido viscoso. A lã começa a soltar-se e cai em “tufos”, podendo dar origem a alopecia extensa. Nas áreas de alopecia a pele pode tornar-se mais espessa e desenvolver hiperqueratose, com muitos pequenos abscessos. Podem estar visíveis colónias castanhas de ácaros em alguns casos. As lesões são altamente pruríticas e é comum o aparecimento de lesões secundárias porque os animais se esfregam e se mordem.

Podem ocorrer infecções bacterianas secundárias e perda de peso em animais não tratados. As ovelhas gestantes afectadas parem borregos mais pequenos e os borregos infectados podem rapidamente perder condição corporal e morrer.

A sarna psoróptica pode ser tratada com ivermectina, doramectina ou moxidectina injectáveis, ou com acaricidas administrados em banhos ou spray (CFSPH, 2009a).

Durante a realização do estágio, frequentemente nos deparávamos com rebanhos visivelmente afectados aquando da realização dos saneamentos. Nestes casos os produtores eram aconselhados a desparasitar os seus animais com ivermectina injectável (Noromectin injectável®).

6.2. Caprinos

No que diz respeito aos caprinos, foi identificado um rebanho com sinais clínicos característicos de agaláxia contagiosa e um animal com listeriose, possivelmente associada a um surto (quadro 11). Devido às suas implicações na saúde pública optei por abordar a listeriose na segunda parte deste relatório.

Caprinos	
Doença	nº surtos
Listeriose	1
Agaláxia contagiosa	1 Rebanho

Quadro 11 - Número de casos de clínica média observados em caprinos.

Parte II - Revisão Bibliográfica: Listeriose

1. Introdução

A listeriose é uma infecção bacteriana esporádica que afecta uma grande variedade de animais, incluindo domésticos, silvestres e o homem. É uma doença de distribuição mundial, mais frequente em climas temperados e frios (Kahn, 2005).

Nas espécies pecuárias a listeriose é caracterizada por três manifestações clínicas distintas: meningoencefalite, abortos ou nados-mortos e septicémia neonatal (Schneider, 2004, Börkü *et al.*, 2006). No entanto, podem ocorrer também mastites e queratoconjuntivites (Schneider, 2004).

Enquanto a meningoencefalite ocorre mais frequentemente em ruminantes, a septicémia é mais comum em monogástricos e ruminantes jovens. A doença é rara em humanos e, com excepção da forma cutânea da doença, é muitas vezes fatal (Schneider, 2004).

2. História

A primeira descrição de listeriose data dos anos 20, como uma doença infecciosa dos roedores e outros pequenos mamíferos. Em 1926 foi descrita uma doença séptica em coelhos que incluía monocitose periférica, e como consequência foi atribuído o nome de *Bacterium monocytogenes* a este organismo (Pan American Health Organization [PAHO], 2001). No ano seguinte foi isolada uma bactéria semelhante no fígado de vários gerbos, e foi-lhe atribuído o nome de *Listerella hepatolytica* (Gray & Killinger, 1966). Em 1929 observou-se uma doença em ovelhas no País de Gales que foi denominada *circling disease*, nome ainda hoje aplicado quando nos referimos à forma neurológica de listeriose em ruminantes. Dois anos mais tarde conseguiu-se isolar a bactéria a partir de tecidos cerebrais de animais afectados e foi possível estabelecer uma relação entre esta e a doença. No entanto, apenas

seis anos depois foi determinada a verdadeira identidade da bactéria (Gray & Killinger, 1966).

Segundo Gray e Killinger (1966) o primeiro relato de listeriose em humanos data de 1929, quando se isolou a bactéria em três pacientes. No entanto Crum (2002) refere que a primeira descrição de listeriose humana data de 1936, quando foi identificada em três crianças que apresentavam bacteremia e/ou meningite.

O nome do gênero foi primeiramente alterado para *Listerella* e depois para *Listeria* em honra de Lord Lister (Crum, 2002), um conhecido pioneiro no campo da bacteriologia (Gray & Killinger, 1966). Apesar de monocitose não estar frequentemente associada à infecção nos humanos, a espécie *monocytogenes* permaneceu e o organismo é denominado *Listeria monocytogenes* (PAHO, 2001).

Este organismo foi identificado como causador de doença nos humanos durante a segunda guerra mundial, com vários casos documentados de septicemia neonatal e meningites. Com a introdução dos agentes quimioterapêuticos nos anos 50 e 60, a listeriose foi cada vez mais reconhecida como uma infecção importante nos adultos imunocomprometidos. Desde então muitos factores, como o uso crescente de agentes imunossupressores (corticoesteróides), o aumento da frequência de transplantes de órgãos e diálises renais e o envelhecimento da população transformaram a listeriose numa preocupação crescente. Nas últimas duas décadas, dois eventos adicionais chamaram a atenção dos clínicos para a infecção por *Listeria monocytogenes*. O primeiro foi a epidemia de HIV que começou em 1981 e o segundo foi o aparecimento de surtos de listeriose relacionados com a alimentação.

Hoje em dia, a infecção por *L. monocytogenes* é reconhecida como causa de bacteriémias, infecções no sistema nervoso central (meningites e encefalites), infecções perinatais, gastroenterites, e uma variedade de outras manifestações clínicas menos comuns (Crum, 2002).

3. Etiologia

O género *Listeria* pertence à família Listeriaceae (CFSPH, 2005), ordem *Bacillales*, classe *Bacilli* e divisão *Firmicutes*. O género inclui seis espécies: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* e *L. grayi* (Vázquez-Boland *et al.*, 2001).

A *L. murrayi*, segundo Liu (2008), foi identificada como uma subespécie de *L. grayi*.

Duas destas espécies, *L. monocytogenes* e *L. ivanovii*, são potencialmente patogénicas e a doença infecciosa causada pelas mesmas é conhecida como listeriose (Vázquez-Boland *et al.*, 2001).

A espécie mais patogénica para humanos e animais é *L. monocytogenes* (PAHO, 2001).

Listeria monocytogenes é um pequeno cocobacilo gram positivo, não-esporulado, catalase positivo, oxidase negativo (Crum, 2002) e não álcool ácido resistente (AAR) (Weinstock *et al.*, 1995). Os bastonetes observam-se frequentemente em agrupamentos discretos com aparência difteroides (Crum, 2002). Este organismo é um agente patogénico intracelular facultativo (CFSPH, 2005, Börkü *et al.*, 2006). Apresenta dimensões de 0,5 a 2,0 µm de comprimento por 0,5 µm de diâmetro (Pearson & Marth, 1990, PAHO, 2001), é móvel, exhibe flagelos peritricos e movimento “em cambalhota” quando cresce entre 20 e 25°C (Gray & Killinger, 1966, Pearson & Marth, 1990, Crum, 2002) e não apresenta cápsula (Vázquez-Boland *et al.*, 2001).

Existem 12 serotipos principais de *L. monocytogenes* baseados na comparação dos antígenos somático e flagelar: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e e 7 (Liu, 2008).

Como a bactéria está amplamente distribuída na natureza, a serotipagem de isolados ambientais é necessária para confirmar a sua associação com os surtos de doença (Smith & Sherman, 1994).

Os trabalhos realizados por Nappi *et al.* (2005) demonstraram que os serotipos 4b, 1/2a e 1/2b são os principais responsáveis pelos casos de doença em humanos e animais.

O serotipo 1/2 (subtipos a e b) é o mais prevalente nas espécies pecuárias. O subtipo 1/2b parece estar exclusivamente relacionado com encefalite, enquanto os outros subtipos, inclusive o 1/2a, podem ser associados com qualquer das formas clínicas de listeriose. O serotipo 4b é responsável pela maior parte das infecções em humanos (George, 2002).

A *L. ivanovii* é ocasionalmente associada a casos de abortos em ovelhas e vacas ou septicémia em ovelhas. Foram relatados casos raros de infecção por *L. ivanovii* e *L. seeligeri* em humanos (CFSPH, 2005).

4. Epidemiologia

4.1. Ocorrência geográfica

Apesar de haver registos de listeriose em todo o mundo, a sua ocorrência é mais frequente em países e regiões com climas temperados ou frios (Börkú *et al.*, 2006), como Nova Zelândia, Austrália, Europa e Reino Unido (Schneider, 2004). É de notar também um aumento de ocorrência no final do Inverno, início da Primavera (Schneider, 2004, Scott, 2007a) e Outono (Smith & Sherman, 1994, Wesley *et al.*, 2002).

Os relatos de listeriose em animais domésticos têm vindo a aumentar em todo o mundo (Wesley *et al.*, 2002).

4.2. Fontes de infecção

Os reservatórios da infecção são o solo e o tracto intestinal de portadores assintomáticos, incluindo mamíferos selvagens e silvestres, aves, peixes e crustáceos (CFSPH, 2005, Scott, 2007a). O organismo já foi isolado a partir de aproximadamente 42 espécies de mamíferos domésticos e selvagens e 22 espécies de aves, assim como de peixes, crustáceos, insectos, esgotos, água, silagem, leite, queijo, mecónio, fezes e solo (Kahn, 2005).

Os animais infectados excretam *L. monocytogenes* nas fezes, leite e descargas uterinas. Esta pode também ser encontrada em fetos abortados e ocasionalmente na urina e descargas nasais de animais que apresentem manifestações clínicas. A contaminação fecal do solo resulta na presença da bactéria nas plantas e na silagem (CFSPH, 2005). Desta forma, a ocorrência de doença pode estar relacionada com o consumo de silagem, que pode conter números elevados de *L. monocytogenes* (Carter & Wise, 2004).

As espécies pecuárias podem estar directamente expostas ao agente no solo e na pastagem, no entanto, a dose infectante por via oral é possivelmente muito baixa para causar infecção. Por outro lado, silagem de má qualidade (pH > 5,0 a 5,5) que tenha sido inicialmente contaminada pelo solo ou vegetação pode

permitir a multiplicação da bactéria para números elevados (Nightingale *et al.*, 2004).

Um estudo realizado por Wiedmann e colaboradores (1996) confirmou a importância da silagem como fonte de infecção em surtos de listeriose em ruminantes, assim como o facto de *L. monocytogenes* não sobreviver nem crescer em silagem correctamente fermentada (pH < 5).

É interessante notar que a silagem de milho, segundo Boerlin e colaboradores (2003), foi identificada como um factor de risco mais importante que a silagem de erva.

Podem ocorrer surtos ocasionais de listeriose em ovinos sem acesso a silagem. Nestes casos as fontes de infecção podem ser as fezes de animais portadores ou vegetação degradada na pastagem ou em comedouros.

Evans e colaboradores (2004) referem também o aparecimento de infecções oculares em bovinos, caprinos e ovinos e identificam como fonte de infecção a silagem contaminada com a qual os animais eram alimentados ao nível da cabeça ou superior, expondo os olhos ao alimento contaminado.

A *Listeria monocytogenes* pode ser excretada no leite em caprinos clinicamente afectados, assim como em portadores assintomáticos. A excreção é menos provável na forma nervosa da listeriose do que nas formas septicémica e abortiva (Smith & Sherman, 1994).

Zundel e Bernard (2006) e Boerlin e colaboradores (2003) referem que, apesar da mastite causada por *L. monocytogenes* ser rara, o leite cru é sobretudo contaminado através do ambiente, provavelmente por fezes, durante processos de ordenha sem as devidas condições de higiene.

A contaminação do leite das ovelhas é significativamente mais elevada em explorações onde existem também bovinos, comparativamente com explorações somente de ovinos. Este facto pode dever-se à contaminação ambiental produzida pelas fezes de bovinos ou à partilha de silagem contaminada por ovinos e bovinos (Wesley *et al.*, 2002).

4.3. Formas de transmissão

A transmissão entre animais ocorre maioritariamente pela via feco-oral (Scott, 2007a).

A maioria das infecções são adquiridas por ingestão, mas a *Listeria* pode ser transmitida por inalação ou contacto directo. A transmissão venérea também é possível (CFSPH, 2005).

Em neonatos a transmissão é normalmente vertical, sendo a infecção adquirida transplacentariamente ou através do canal de parto infectado (CFSPH, 2005).

4.4. Factores de risco

4.4.1. Factores de risco devidos ao hospedeiro

Como refere Schneider (2004), as espécies mais afectadas entre as domésticas são os caprinos, ovinos e bovinos. Os animais de todas as idades são susceptíveis (Carter & Wise, 2004).

A alimentação com silagem mostrou estar relacionada com efeitos imunossupressores nos ovinos, levando a uma diminuição do número de leucócitos e das proteínas totais em circulação. Este facto pode adicionalmente agravar a susceptibilidade dos animais para a *L. monocytogenes* presente no alimento (Smith & Sherman, 1994).

A forma neurológica ocorre esporadicamente em borregos desmamados e aparece em apenas pequenas proporções dos borregos em risco. A encefalite manifesta-se 4 a 32 dias após desmame e das 6 às 12 semanas de idade. Apenas 0,7% a 1,6% dos borregos em risco desenvolvem a infecção (George, 2002).

A elevada prevalência desta forma associada a certas idades está relacionada com a mudança de dentição. Suspeita-se que *L. monocytogenes* atinge os terminais nervosos do nervo trigémio nos dentes e provoca neurite ascendente e meningoencefalite (Schneider, 2004, Borucki *et al.*, 2005).

A exposição a alimentos contaminados parece ser suficiente para causar doença em pequenos ruminantes. Em bovinos a manifestação de doença requiere a contribuição de factores adicionais, como a combinação da exposição a subtipos particularmente virulentos da bactéria e factores predisponentes do hospedeiro (Nightingale *et al.*, 2004).

Uma grande variedade de factores de risco contribuem para a ocorrência de listeriose bovina, tais como: via de entrada, dose, resposta imunitária do hospedeiro, gestação e doenças concomitantes (Borucki *et al.*, 2005).

Segundo Johnson e colaboradores (1995), entre os pequenos ruminantes, a mieloencefalite é mais comum em ovinos do que em caprinos. No entanto, Navarre (2007) e Smith e Sherman (1994) afirmam que a forma neurológica de listeriose afecta mais frequentemente caprinos do que bovinos ou ovinos.

Nightingale e colaboradores (2004) referem que os animais expostos a *L. monocytogenes* através de silagem contaminada multiplicam o agente, o que leva a uma maior contaminação das fezes em relação aos alimentos. Em pequenos ruminantes a prevalência no alimento é superior à das fezes, sendo menos provável que multipliquem a *Listeria* ingerida.

Segundo Zundel e Bernard (2006) a infecção do tracto digestivo parece não depender tanto das condições predisponentes e do estado imunitário dos animais, dependendo mais particularmente da dose ingerida e da idade do animal.

4.4.2. Factores de risco devidos ao agente etiológico e sobrevivência no meio ambiente

Um estudo realizado por Nightingale e colaboradores (2004) mostrou que a diversidade de populações de *L. monocytogenes* em explorações de bovinos é maior do que em explorações de pequenos ruminantes. Ou seja, as explorações de pequenos ruminantes são afectadas por um ou poucos subtipos que causam doença em pequenos ruminantes, enquanto as explorações de bovinos mantêm uma grande diversidade populacional de *L.*

monocytogenes, estando os animais frequentemente expostos a múltiplos subtipos.

L. monocytogenes pode sobreviver durante longos períodos no ambiente e em portadores assintomáticos, consegue multiplicar-se a baixas temperaturas ambientais e é resistente às influências ambientais (George, 2002, CFSPH, 2005).

A bactéria não apresenta um crescimento fastidioso. Pode sobreviver nas fezes, leite, solos, água, silagem e plantas (Pearson & Marth, 1990), embora seja facilmente destruída por detergentes (Smith & Sherman, 1994). Cresce a temperaturas entre 1 e 45°C e pode proliferar a temperaturas de refrigeração em alimentos contaminados. Tolerância a pH entre 5,5 e 9,6 (Smith & Sherman, 1994, Scott, 2007a) e conteúdos de 20% de sal (Pearson & Marth, 1990, CFSPH, 2005). No entanto, o pH ideal de crescimento é neutro ou ligeiramente alcalino e a temperatura ótima é entre 30 a 37°C (Pearson & Marth, 1990). *L. monocytogenes* é uma bactéria aeróbia e microaerófila (Pearson & Marth, 1990, Smith & Sherman, 1994, Scott, 2007a).

Uma vez no ambiente, a bactéria pode resistir durante 2 anos em solos secos, resiste ao congelamento e ao descongelamento no solo, mas não sobrevive mais de 1 a 2 semanas em silagens bem preservadas. Prolifera em vegetação putrefacta sob condições aeróbias e pH superior a 5,4. A incidência de listeriose pode aumentar devido ao uso de silos horizontais, que resultam num maior número de material deteriorado no fundo (George, 2002).

As práticas modernas de produzir silagem em fardos largos cobertos com polietileno favorecem o crescimento de *L. monocytogenes* em comparação com os métodos mais tradicionais, o que pode explicar em parte o recente aumento aparente da incidência de listeriose em animais domésticos (Liu, 2008).

4.5. Morbidade e mortalidade

O número de animais envolvidos clinicamente num surto da forma nervosa da listeriose normalmente não ultrapassa os 1-2%, mas excepcionalmente pode alcançar os 30% num rebanho de cabras ou ovelhas e os 10% em vacas (Scott, 2007a).

Wesley e colaboradores (2002) demonstraram que, mesmo quando todos os ovinos são expostos à mesma alimentação contaminada, não mais do que 5-10% dos animais desenvolvem manifestações clínicas.

Em casos não tratados a taxa de mortalidade é quase 100%, sendo a taxa de sobrevivência em animais tratados consideravelmente maior do que em animais não tratados (George, 2002).

A manifestação da doença em pequenos ruminantes é tendencialmente mais aguda e resulta em maior taxa de mortalidade do que em bovinos (Johnson *et al.*, 1995).

4.6. Risco zoonótico

A listeriose é uma saproozoonose com grande impacto económico e social. Os graves surtos de listeriose humana que têm ocorrido nas últimas décadas, associadas ao consumo de alimentos contaminados, atestam a importância sanitária de *L. monocytogenes* e são o motivo pelo qual este é o agente bacteriano mais estudado nos últimos vinte anos (Guerra & Bernardo, 2004).

Embora relativamente pouco frequente, a incidência global anual é de 2 a 5 casos por milhão de habitantes. A listeriose é uma doença muito grave, uma vez que é responsável por taxas de mortalidade entre 20 e 40% em humanos (Mena *et al.*, 2004). A frequência de portadores assintomáticos humanos é de 2 a 6%, podendo atingir valores mais elevados (> 30%) na população que contacta directamente com os pacientes atingidos por listeriose. A *L. monocytogenes* é isolada principalmente nas fezes de pessoas saudáveis e não ao nível da orofaringe (Guerra & Bernardo, 2004).

Na América estima-se que ocorrem cerca de 2500 casos de listeriose humana por ano, resultando em 500 mortes (Nightingale *et al.*, 2004, Borucki *et al.*, 2005).

Na Europa ocorrem entre 1600 a 8400 casos por ano, resultando em 320 a 2500 mortes (Lundén *et al.*, 2004).

A incidência de listeriose na Europa e na América do Norte aumentou bastante nos anos 80, no entanto, não é claro se este aumento é real ou se é devido a um melhor conhecimento da doença, melhorias no diagnóstico ou melhores métodos de detecção e isolamento do organismo.

A situação real da listeriose em Portugal não é conhecida e existe pouca informação sobre a prevalência de *L. monocytogenes* nos alimentos consumidos. Contudo, a listeriose não é uma doença de declaração obrigatória em Portugal (Mena *et al.*, 2004).

4.6.1. População em risco

Existem grupos de risco muito bem categorizados que incluem as grávidas e os seus fetos, os recém-nascidos, os idosos e os adultos com um sistema imunitário deprimido e cuja resistência à doença é baixa (doentes de SIDA, transplantados). As manifestações clínicas de listeriose humanas dependem, além destes factores, da porta de entrada no organismo (Guerra & Bernardo, 2004, Borucki *et al.*, 2005).

4.6.2. Fontes de infecção e formas de transmissão

O carácter ubiqüitário de *L. monocytogenes* facultá-lhe numerosas vias potenciais através das quais pode ser transmitida aos humanos. A listeriose é geralmente considerada de origem alimentar embora estejam descritas outras vias de transmissão (Guerra & Bernardo, 2004).

A porta de entrada pode ser oral, ocular, respiratória ou urogenital. Os casos de listeriose cutânea, conjuntivite e listeriose pneumónica têm sido verificados em indivíduos que contactam directamente com animais infectados (Guerra & Bernardo, 2004, CFSPH, 2005).

Os alimentos normalmente implicados nos surtos de listeriose são os lacticínios, carne, vegetais, alimentos provenientes do mar e *fast-food* (Nightingale *et al.*, 2004, Mena *et al.*, 2004, Borucki *et al.*, 2005).

A contaminação de produtos lácteos por *Listeria* é um problema de saúde pública. Foram investigados surtos relacionados com leite pasteurizado, queijo mole e curado. A ocorrência no queijo leva à conclusão que a bactéria sobrevive ao processo de pasteurização. A eliminação da bactéria, apenas ocorre a 76,4°C durante 15,4 segundos (George, 2002).

A localização intraleucocitária de alguns dos organismos no leite provavelmente contribui para a sua resistência à pasteurização (Smith & Sherman, 1994).

Os hábitos alimentares da população portuguesa não são muito diferentes dos outros países do Sul da Europa e, para além dos alimentos ocidentais comuns,

são consumidas variadas iguarias locais e queijo tradicional de cabra e ovelha. Segundo um estudo realizado nos alimentos consumidos em Portugal, o risco para os consumidores é elevado, sobretudo em alimentos como o queijo fresco (Mena *et al.*, 2004).

Com a exceção da mastite, animais de produção com infecções sistémicas por *L. monocytogenes* provavelmente pouco põem em causa a entrada da bactéria na cadeia alimentar pois são retirados do consumo humano após diagnóstico. No entanto pode ocorrer contaminação cruzada entre os animais e o ambiente nos sistemas de produção após casos de listeriose abortiva (Liu, 2008).

4.6.3. Período de incubação

O período de incubação em adultos expostos à infecção varia de 3 a 70 dias, estimando-se que o período médio de incubação é de três semanas (Vázquez-Boland *et al.*, 2001, CFSPH, 2005).

4.6.4. Manifestações clínicas da doença

No Homem a listeriose apresenta-se como uma infecção oportunista, com manifestações clínicas severas.

Uma descrição parcial dos sinais clínicos que podem ocorrer, inclui septicémia, meningite e encefalite, conjuntivite, infecção cutânea, endocardite, hepatite, aborto, parto prematuro, osteomielite, peritonite, infecção pleural e pneumonia (Vázquez-Boland *et al.*, 2001).

As mulheres grávidas podem apresentar sintomas benignos semelhantes aos de uma síndrome gripal, com febre, arrepios, cefaleias, ligeiras tonturas ou sintomas gastrointestinais, mas a infecção pode também ser assintomática (Vázquez-Boland *et al.*, 2001, CFSPH, 2005). Após um período que pode ir de alguns dias a algumas semanas pode ocorrer um aborto, o nascimento de um nado morto, um parto prematuro ou uma septicémia do recém-nascido. Os

recém-nascidos podem ser infectados no útero ou durante o parto, pelas bactérias presentes na vagina (PAHO, 2001, Vázquez-Boland *et al.*, 2001, CFSPH, 2005). Estes recém-nascidos podem contrair uma septicemia, uma granulomatose generalizada, uma infecção respiratória ou uma meningite; os sintomas podem estar presentes à data do nascimento ou manifestar-se ao fim de alguns dias ou de algumas semanas (CFSPH, 2005). Nas pessoas idosas, imunocomprometidas ou debilitadas, *L. monocytogenes* pode causar meningites, meningoencefalites ou, menos frequentemente, septicemia (Alonzo *et al.*, 2009).

5. Patogenia

Listeria monocytogenes é um agente patogénico invasivo multissistémico, capaz de colonizar múltiplos tecidos no hospedeiro, originando várias formas clínicas. Algumas destas condições, nomeadamente meningoencefalite e abortos, são mais comuns do que outras, demonstrando o tropismo específico da bactéria para o cérebro e a placenta. Na maioria dos casos, as manifestações clínicas de listeriose ocorrem em animais debilitados ou imunocomprometidos, podendo então considerar-se *L. monocytogenes* como um agente patogénico oportunista (Liu, 2008).

As manifestações clínicas e patológicas de listeriose são, na sua essência, similares em humanos e animais.

A fonte primária de infecção para a listeriose, epidémica ou esporádica, é quase sempre o alimento contaminado, sendo portanto o trato gastrointestinal a principal via de entrada de *L. monocytogenes* no hospedeiro (Kuhn *et al.*, 2008).

Outras fontes possíveis de infecção incluem:

- A transmissão directa via pele, caracterizada por uma erupção cutânea piogranulomatosa (geralmente nas mãos ou braços) que é esporadicamente observada entre tratadores de gado e veterinários

expostos a secreções genitais ou fetos de casos abortivos de listeriose em ruminantes (Vázquez-Boland *et al.*, 2001).

- Uma forma particular de listeriose de origem alimentar que ocorre em ruminantes, na qual *L. monocytogenes*, veiculada por silagem contaminada, atinge o encéfalo ascendendo pelos nervos cranianos através da propagação de célula para célula, após invasão local das terminações nervosas na boca, nasofaringe, ou mesmo nos olhos.
- Transmissão vertical através da placenta, que ocorre na listeriose de origem fetomaternal, apesar da infecção da progenitora ser primariamente adquirida via alimentação contaminada (Kuhn *et al.*, 2008).

Existem dois mecanismos através dos quais a bactéria pode entrar no hospedeiro através das células da mucosa intestinal. Um deles é a invasão directa dos enterócitos que formam as microvilosidades, conduzindo assim à infecção (Vázquez-Boland *et al.*, 2001). Este mecanismo envolve interacções específicas entre ligandos e receptores e ocorre apenas em animais cujos enterócitos expressam os receptores para as invasinas listeriais (Kuhn *et al.*, 2008).

A outra porta de entrada envolve a fagocitose pelas células M das placas de Peyer (Vázquez-Boland *et al.*, 2001). Este segundo mecanismo é inespecífico (ou seja, as espécies não patogénicas são transportadas com a mesma eficácia que *L. monocytogenes*), ocorre nos hospedeiros que não expressam os receptores específicos para as invasinas listeriais e pensa-se que é menos eficiente do que aquele que envolve a invasão dos enterócitos.

Seja qual for o mecanismo de entrada inicial, na sua sequência a bactéria localiza-se nos fagócitos e nas células apresentadoras de antigénios nos focos inflamatórios, na lâmina própria, mais propriamente no tecido folicular subepitelial, onde ocorre a multiplicação bacteriana.

Os mecanismos de apresentação de antigénios durante a fase intestinal da infecção por *L. monocytogenes* podem ser cruciais para o rápido desencadear da resposta imunitária, importante para prevenir a rápida propagação do

agente dentro ou fora dos órgãos alvo (Vázquez-Boland *et al.*, 2001, Kuhn *et al.*, 2008).

Os principais órgãos alvo são o fígado e o baço, sendo atingidos pela bactéria via hemática e linfática, a partir dos linfonodos mesentéricos (Zundel & Bernard, 2006). A maior parte da carga bacteriana (aproximadamente 90%) localiza-se no parênquima hepático. Os hepatócitos são altamente susceptíveis à infecção por *L. monocytogenes* em termos de entrada da bactéria na célula e de multiplicação intracelular, sendo considerados o principal local de multiplicação bacteriana após entrada no hospedeiro via intestinal (Vázquez-Boland *et al.*, 2001). Formam-se focos infecciosos discretos provavelmente por disseminação de célula a célula. Estes focos são imediatamente rodeados por neutrófilos e mais tarde por macrófagos, dando origem a lesões piogranulomatosas típicas (Kuhn *et al.*, 2008).

Em hospedeiros imunocompetentes, os focos de multiplicação bacteriana nos principais órgãos alvo são contidas com eficiência pelos linfócitos T citotóxicos CD8+, conduzindo a uma resolução completa dos piogranulomas 6 a 7 dias após a infecção (Portnoy *et al.*, 2002, Kuhn *et al.*, 2008). Estas fases iniciais da infecção por *L. monocytogenes* são essencialmente subclínicas (Zundel & Bernard, 2006). Os referidos acontecimentos podem ser seguidos de recuperação, desenvolvimento do estado de portador assintomático, ou progressão para doença mais severa. Quando os animais desenvolvem doença clínica podem morrer em dois dias ou apresentar um curso clínico com duração de semanas.

Como a taxa de morbidade é frequentemente baixa em surtos de listeriose septicémica, presume-se que muitos animais controlam a bacterémia e tornam-se apenas infectados subclínicamente (Smith & Sherman, 1994).

Em hospedeiros debilitados, com comprometimento da resposta imunitária celular, os focos primários de infecção não são contidos eficientemente, resultando na libertação da bactéria na corrente sanguínea. Se esta bacteriémia se prolonga o suficiente, a infecção por *L. monocytogenes* pode progredir para listeriose clínica na forma septicémica, infecção localizada no encéfalo ou infecção localizada na unidade fetoplacentar (Vázquez-Boland *et al.*, 2001).

Há evidências de que *L. monocytogenes* se dissemina no corpo dos hospedeiros usando um mecanismo “cavalo de Troia”, sendo transportada dentro dos fagócitos (Kuhn *et al.*, 2008).

Assim, a infecção por *L. monocytogenes* é um processo que envolve múltiplas fases, no qual a bactéria tem primeiro que ultrapassar a barreira intestinal, depois estabelecer e multiplicar-se nos órgãos alvo primários e finalmente atravessar mais duas barreiras, a barreira endotelial (principalmente ao nível dos microcapilares no encéfalo) e a barreira materno-fetal, para então se estabelecer e multiplicar nos órgãos alvo secundários onde origina manifestações clínicas (Kuhn *et al.*, 2008).

Como já referido anteriormente, na forma neurológica da doença, a bactéria consegue atingir as terminações nervosas na cavidade oral através de lesões na mucosa provocadas por alimento grosseiro, abrasão dentária ou perda de dentição. Seguidamente migra pelos nervos até ao tronco cerebral, onde é estimulada uma resposta inflamatória localizada, na forma de microabcessos compostos maioritariamente por neutrófilos (Smith & Sherman, 1994, Vázquez-Boland *et al.*, 2001, Schneider, 2004).

Os microabcessos são mais comuns na medula e levam à destruição dos núcleos dos nervos cranianos. Os défices dos nervos cranianos observados clinicamente reflectem este processo.

Ocasionalmente pode ocorrer meningite generalizada em conjunto com a encefalite focal (Smith & Sherman, 1994).

5.1. Mecanismos de sobrevivência no hospedeiro e virulência

Listeria spp., particularmente *L. monocytogenes*, têm a capacidade de tolerar as condições de pH, temperatura e baixa actividade da água do exterior, o que permite a sua sobrevivência no meio ácido do estômago dos mamíferos sem serem totalmente destruídas. A bactéria produz um factor sigma σ^B para regulação dos vários genes de resposta a estas condições (por exemplo, *opuCA*, *Imol1421* e *bsh*) e das proteínas relacionadas (Liu, 2008).

No interior do organismo, além da sua multiplicação nos macrófagos, *L. monocytogenes* tem a capacidade de induzir a sua própria internalização em células que normalmente não têm funções fagocitárias (Vázquez-Boland *et al.*, 2001, Tham *et al.*, 2010), conseguindo transferir-se de célula para célula como se descreve em seguida, sem contactar com o ambiente extracelular. Para aderir e invadir as células do hospedeiro, esta bactéria utiliza várias proteínas conhecidas como invasivas ou internalinas (InIA e InIB), que interagem com receptores celulares de membrana, permitindo assim a internalização da bactéria na célula hospedeira (passo 1 da imagem 20). Através da ligação a uma proteína de adesão, a E-caderina, nos enterócitos do hospedeiro, a InIA facilita a entrada nas células epiteliais levando a rearranjos locais no citoesqueleto. A InIB interage com o receptor do factor de crescimento dos hepatócitos (Met), abrindo caminho para a entrada de *L. monocytogenes* nos hepatócitos e outras células do hospedeiro (Gao *et al.*, 2009, Levraud, 2009, Tham *et al.*, 2010).

No ambiente intracelular a bactéria segrega a proteína listeriolisina O (LLO) e fosfatidilinositol-fosfolipase C (PlcA ou PI-PLC), responsáveis pela sua capacidade de invasão e virulência, uma vez que é capaz de lisar o vacúolo fagocítico e transitar para o citoplasma (passo 2 da imagem 20) (Portnoy *et al.*, 1992, Liu, 2008). Foi recentemente demonstrado o papel do *Posttranslocation Chaperone (prsA2)* na virulência, contribuindo para a secreção e actividade de LLO e para a actividade da PlcA (Alonzo *et al.*, 2009, Zemansky *et al.*, 2009).

Para sobreviver à destruição dentro do vacúolo, a bactéria dispõe de algumas estratégias, uma delas é a produção de superóxido dismutase citoplasmática, que contribui também para a saída do vacúolo, contrariando os mecanismos bactericidas do fagossoma. *Listeria* codifica ainda outra enzima, a *peptidoglycan N-deacetylase* (PgdA) que tem um papel crítico na sobrevivência dentro dos vacúolos, conferindo resistência à lisozima (Cossart & Toledo-Arana, 2008).

Ao ser libertada para o citoplasma a bactéria pode disseminar-se com a ajuda da proteína de superfície actina A (ActA) (através da activação do complexo celular Arp2/3) e da fosfatidilcolina-fosfolipase C (PlcB ou PC-PLC), utilizando os filamentos de actina da célula hospedeira para formar uma “cauda de cometa” que produz uma força propulsiva que lhe permite deslocar-se até à

membrana plasmática (passos 3 e 4 da imagem 20) (Cossart & Toledo-Arana, 2008, Liu, 2008). A proteína de adaptação SH2-B β tem também um papel importante na organização da actina e na motilidade da bactéria, sendo que a sua função depende da *Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein* (VASP) (Diakonova *et al.*, 2007).

Quando atinge a membrana plasmática induz a formação de um pseudópode que inclui a bactéria (passo 5 da imagem 20). Este pseudópode é internalizado pelas células vizinhas e a bactéria fica então rodeada por uma membrana dupla (passos 6 e 7 da imagem 20) (Kuhn *et al.*, 2008).

Com a ajuda de PlcB e uma metaloprotease (Mpl), a LLO interrompe o vacúolo de dupla camada que se forma e o ciclo repete-se na nova célula hospedeira (passo 8 da imagem 20). Através deste ciclo, *L. monocytogenes* consegue deslocar-se de célula em célula nos tecidos do hospedeiro sem abandonar o citoplasma das células hospedeiras, mantendo-se indetectável pelo sistema imunológico (Portnoy *et al.*, 2002, Cossart & Toledo-Arana, 2008, Kuhn *et al.*, 2008).

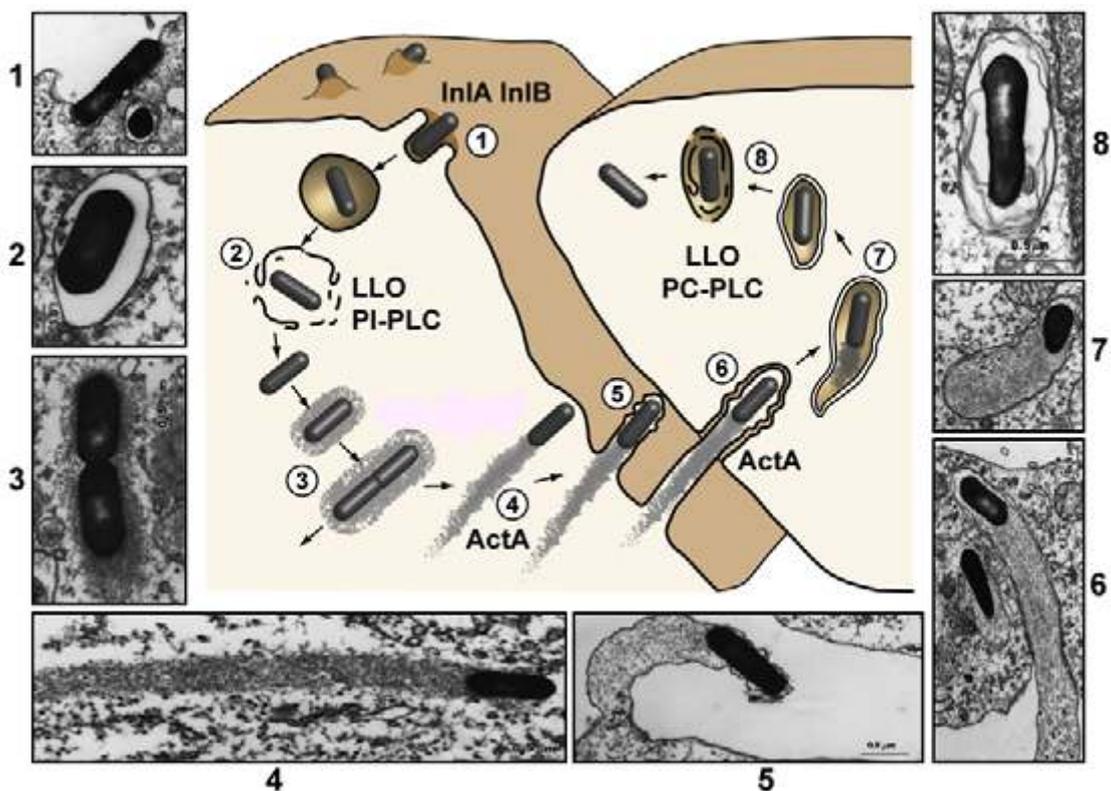


Imagem 20- Representação esquemática da sucessão de passos envolvidos no processo de infecção celular, estando indicados os principais factores de virulência (InIA e InIB - Internalinas A e B, LLO - Listeriolisina O, PI-PLC - fosfatidilinositol-fosfolipase C, ActA - *bacterial actin nucleator*, PC-PLC - fosfatidilcolina-fosfolipase C). Adaptado de Cossart & Toledo-Arana (2008).

A proteína p60, codificada pelo gene *iap*, é considerada um produto genético essencial para a virulência de *L. monocytogenes*, demonstrando particular importância na formação da cauda de actina que promove a disseminação de célula para célula (Pilgrim *et al.*, 2003).

A proteína de superfície, *immunogenic surface protein* (IspC), é uma autolisina capaz de degradar a parede celular da própria bactéria. Na virulência da *L. monocytogenes* funciona como adesina e é necessária para ultrapassar a barreira entre os capilares sanguíneos e o líquido cefalorraquidiano (LCR), sendo essencial na virulência *in vivo*. É também reconhecida como alvo da resposta imunitária (Wang & Lin, 2008).

Outra proteína, a *PsaA-Like Membrane Protein* (LpeA), actua como invasina e está envolvida no processo de entrada mas não na sobrevivência intracelular de *L. monocytogenes* (Réglier-Poupet *et al.*, 2003).

As proteínas associadas com a virulência, PlcA, LLO (codificado por *hly*), Mpl, ActA e PlcB são codificadas por cinco genes adjacentes que estão localizados numa ilha de patogenicidade (*Listeria pathogenicity island 1* ou LIPI-1) (Vázquez-Boland *et al.*, 2001, Mena *et al.*, 2004, Liu, 2008). Esta ilha de patogenicidade é regulada completamente por um regulador de virulência, o regulador positivo factor A (PrfA), codificado pelo gene *prfA*. O gene *prfA* possui dois promotores, um dos quais é reconhecido por PrfA (mecanismo de auto-regulação) e o outro pelo factor sigma σ^B (Severino *et al.*, 2007, Liu, 2008).

Após a entrada da bactéria no citoplasma das células infectadas o PrfA é activado e induz a expressão dos produtos dos genes necessários para a multiplicação intra-celular e a disseminação de célula para célula. Tem, portanto, um papel importante na regulação da expressão dos produtos genéticos virulentos consoante a localização celular da bactéria (Port & Freitag, 2007, Sabet *et al.*, 2008, Alonzo *et al.*, 2009).

A LIPI-1 é também encontrada na espécie patogénica *L. ivanovii* e na espécie não patogénica *L. seeligeri*. No entanto nota-se uma fraca ligação entre PrfA e os promotores dependentes do mesmo na *L. seeligeri*, enquanto *L. monocytogenes* e *L. ivanovii* demonstram uma elevada eficiência nesta ligação.

Isto pode explicar a menor virulência de *L. seeligeri* comparativamente com as outras duas espécies. O facto das restantes espécies, *L. innocua*, *L. welshimeri* e *L. grayi* não possuírem este importante grupo de genes virulentos pode explicar parcialmente a sua aparente falta de virulência e patogenicidade (Liu, 2008).

Além da InIA e da InIB, outra internalina produzida por *L. monocytogenes*, a InIJ mostrou ter um papel na virulência da bactéria contribuindo parcialmente para a sua bem sucedida passagem pela barreira intestinal e as sucessivas fases de infecção. Visto que o gene correspondente, o *inIJ*, apenas existe nos serotipos virulentos, este torna-se um bom meio para rapidamente diferenciar estirpes virulentas de não virulentas (Sabet *et al.*, 2008).

Como InIA, InIB e InIJ estão apenas presentes em *L. monocytogenes*, a entrada de *L. ivanovii* nos enterócitos do hospedeiro têm de depender de outras internalinas. A InIC está presente em ambas as espécies patogénicas, estando ausente nas restantes, podendo então ter um papel na invasão celular de *L. ivanovii*. Já foi também identificado um grupo de internalinas exclusivas desta espécie. Parece que, além da LIPI-1, *L. ivanovii* alberga uma segunda ilha de patogenicidade (*Listeria pathogenicity island 2* ou LIPI-2) que codifica 10 internalinas e fosfocolinesterases que permitem uma eficiente internalização nos eritrócitos dos ruminantes. Isto pode explicar a susceptibilidade dos ruminantes à infecção por *L. ivanovii*.

Esta bactéria possui também um gene, o *smcL*, que codifica uma proteína, a esfingomielase C (SmcL), que intervém na saída do vacúolo fagocítico e na migração para o citoplasma, actuando assim sinergicamente com a ivanolisina O (ILO) na ruptura do compartimento vacuolar (Liu, 2008).

Para a sua deslocação no meio extracelular, *L. monocytogenes* produz 5 a 6 flagelos peritricos. A expressão dos genes da mobilidade flagelar (*flaA*), parece ser regulada por uma proteína reguladora, a *transcriptional repressor* (MogR). Esta proteína tem um papel importante na repressão do gene da mobilidade dependente da temperatura durante o crescimento extracelular e no gene da mobilidade independente da temperatura durante a invasão intracelular (Grundling *et al.*, 2004).

5.2. Mecanismos de defesa do hospedeiro

Após contacto com as bactérias invasoras, os mamíferos imunocompetentes iniciam a resposta imunitária que é caracterizada pela activação e proliferação das células *natural killer* (NK) e dos linfócitos T auxiliares CD4+. Estes tipos celulares são potentes produtores de interferão gama (IFN- γ), que activa os macrófagos para secreção de factor de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 12 (IL-12). Subsequentemente são destruídas as células infectadas.

As bactérias sobreviventes utilizam LLO para romper a membrana vacuolar, o que aumenta ainda mais a expressão de IFN- γ a partir de NK e linfócitos T auxiliares CD4+, aumentando também a apresentação de antígenos e a activação dos macrófagos. Isto leva à expansão de linfócitos T citotóxicos CD8+ específicos para os antígenos e consequente eliminação de *L. monocytogenes* (Berg *et al.*, 2003, Liu, 2008). Os linfócitos T citotóxicos CD8+ podem também actuar de forma não específica, produzindo IFN- γ (Berg *et al.*, 2003).

A geração de linfócitos T CD8+ memória resulta em respostas rápidas no caso de posteriores exposições ao mesmo agente patogénico (Berg *et al.*, 2003).

Além disto, várias proteínas associadas com a invasão e virulência de *L. monocytogenes* são reconhecidas pelo sistema imunitário humoral do hospedeiro induzindo a produção de anticorpos específicos. No entanto, o papel da resposta imunitária humoral contra a listeriose não está totalmente esclarecido (Liu, 2008).

Num estudo realizado por Miettinen e colaboradores (1990) em cabras infectadas experimentalmente com *Listeria monocytogenes*, os animais mais jovens mostraram ser mais susceptíveis à infecção. A maior capacidade dos adultos para resistir à listeriose tem sido associada à resposta imunitária celular, no entanto, as diferenças na flora microbiana gastrointestinal nestes animais podem também estar também envolvidas. Nos animais mais jovens registou-se um aumento dos anticorpos IgG, enquanto os animais mais velhos já eram seropositivos. Os anticorpos pré-existentes estão associados com a rápida eliminação de *L. monocytogenes* do tracto gastrointestinal e a ausência

de sinais clínicos, contribuindo para a resistência contra a bactéria. Estes resultados sugerem que a resposta imunitária humoral também está envolvida na eliminação de *L. monocytogenes*.

O facto de não se terem detectado anticorpos IgM, que são normalmente produzidos durante uma resposta imunitária primária, pode indicar contactos prévios com *Listeria* ou bactérias antigenicamente relacionadas (Miettinen *et al.*, 1990).

A seroconversão é marcada em caprinos após listeriose septicémica mas menos marcada na forma nervosa da doença (Smith & Sherman, 1994).

Cossart e Archambaud (2009) referem que, devido à sua localização intracelular, a bactéria não pode ser atingida por anticorpos. Sendo assim, a recuperação das infecções é essencialmente mediada por linfócitos T.

5.3. Períodos de incubação

O período de incubação na forma nervosa pode ser de duas a três semanas (Smith & Sherman, 1994).

Segundo Schneider (2004), em ovelhas, as manifestações clínicas de meningoencefalite podem ocorrer 30 dias depois da introdução da silagem contaminada. Em inoculações experimentais realizadas na polpa dentária e lábios de ovinos e caprinos, o período de incubação variou entre 14 e 28 dias.

Na forma septicémica, o período de incubação pode ser de apenas um dia.

6. Sinais clínicos

As principais manifestações clínicas de listeriose são: septicémia em neonatos, abortos, mortalidade neonatal, oftalmite, septicémia e diarreia nas ovelhas e afecções neurológicas (Weinstock *et al.*, 1995, George, 2002, CFSPH, 2005). Normalmente apenas uma manifestação clínica ocorre durante um surto, sendo que apenas um serotipo é isolado nos animais com manifestações clínicas. A forma neurológica de listeriose pode manifestar-se como afecção multifocal do tronco cerebral, meningoencefalite difusa ou mielite da medula espinal. Frequentemente apenas alguns indivíduos são afectados, mas ocasionalmente pode afectar vários animais num rebanho (George, 2002).

6.1. Forma neurológica

Os sinais neurológicos de listeriose em adultos reflectem disfunções do tronco encefálico caudal, pedúnculo cerebelar ou medula (George, 2002). Animais com infecção por *Listeria* no sistema nervoso central podem apresentar febre, anorexia, depressão, défices proprioceptivos, *head-pressing*, deficiências associadas a lesões nos nervos cranianos a nível central (PAHO, 2001) e diminuição da produção de leite (Smith & Sherman, 1994). A depressão é o resultado de lesões no sistema reticular activado (Morin, 2004, Scott, 2007b). Os défices proprioceptivos são causados por interferências entre as vias motoras descendentes e as fibras proprioceptivas ascendentes no tronco encefálico e pode preceder ou ocorrer simultaneamente com disfunção nos nervos cranianos (Morin, 2004, George, 2002). A febre ocorre no início do curso da doença e muitas vezes desaparece 3 a 5 dias depois. O andar propulsivo ou andar às voltas e o *head-pressing* devem-se a lesões no gânglio basal (George, 2002, Morin, 2004).

Nos animais com listeriose são frequentes disfunções nos nervos cranianos (nc) V a XII. Pacientes com o nc V (trigémio) afectados apresentam a mandíbula caída ou assimétrica e analgesia ou anestesia facial (Morin, 2004, Scott, 2007b). No caso de lesões no nc VI (abducente) apresentam estrabismo medial

do lado ipsilateral à lesão (George, 2002). Quando se trata de lesões no nc VII (facial) os animais perdem o reflexo de ameaça e o reflexo palpebral, apresentam ptose palpebral, orelha caída, perda de função do músculo elevador nasolabial e diminuição do tônus labial (George, 2002, Morin, 2004, Scott, 2007a). A paralisia do músculo *orbicularis oculi* resulta na exposição do olho, provocando queratites e em casos crônicos panoftalmite (George, 2002). A perda de função da musculatura labial e da face é facilmente detectada através da ocorrência de sialorreia do lado afectado da boca (George, 2002, Schneider, 2004).

Animais com lesões no nc VIII (vestibulococlear) manifestam nistagmus, que pode ser horizontal, vertical ou rotatório e muitas vezes é inconstante (George, 2002, Morin, 2004). Outros sinais incluem *head tilt* e tendência para andar em círculos ou cair para o lado da lesão (Morin, 2004, Scott, 2007a). Os ovinos podem apresentar decúbito lateral, com a cabeça inclinada para o tronco e curvada com o lado lesionado para o chão (imagem 21) (Smith & Sherman, 1994, George, 2002). Os animais infectados apresentam também hipertonia e hiperreflexia moderadas dos membros do lado oposto ao da lesão (George, 2002).



Imagem 21 - Caprino com listeriose, apresentando inclinação da cabeça (Rissi et al., 2006).

Quando existem lesões graves nos pares cranianos IX, X e XII os animais manifestam ruídos respiratórios e disfagia. As lesões no nervo craniano XII

(hipoglosso) levam também a paralisia da língua, com protusão para o lado da lesão, em caso desta ser unilateral (George, 2002).

A progressão da doença está associada a perda de consciência, coma e convulsões (Schneider, 2004).

Os borregos podem desenvolver mielite da medula espinal sem lesões no tronco cerebral o que resulta em paraparésia ou hemiparésia sem evidência de sinais de disfunção do tronco cerebral. Os sinais clínicos associados a mielite incluem tetraparésia, tetraplegia, paraparésia, paraplegia, défices proprioceptivos e decúbito. As sensações e o apetite podem ser normais ou estar marcadamente diminuídos em alguns dos animais afectados (George, 2002).

6.2. Forma septicémica

As primeiras manifestações clínicas da forma septicémica são: depressão, anorexia, diminuição da produção de leite e febre ($T > 42^{\circ}\text{C}$). Nestes casos a febre pode persistir e o animal fica cada vez mais fraco durante os primeiros dias. Normalmente não se desenvolvem sinais nervosos, mas pode ocorrer diarreia sanguinolenta em caprinos. Os animais podem morrer ao fim de alguns dias ou permanecer doentes algumas semanas. Fêmeas gestantes abortam alguns dias após o início da septicémia, podendo não manifestar sinais clínicos severos da mesma (Smith & Sherman, 1994).

6.3. Abortos

O aparecimento de abortos esporádicos é mais comum em bovinos do que em caprinos ou ovinos. Após abortos em fase tardia da gestação é frequente haver retenções placentárias e febre. Pode ocorrer morte da progenitora após retenção do feto. As ovelhas abortam 7 a 11 dias após infecção e são assintomáticas antes do aborto (Schneider, 2004).

6.4. Infecções oculares

Estão documentadas infecções oculares devido a *L. monocytogenes* em ovinos, caprinos, bovinos, cavalos e humanos. A maioria destas infecções oculares apresenta sinais clínicos comuns, como edema, conjuntiva hiperémica, epífora, fotofobia, turvação e focos brancos dispersos na córnea (Evans *et al.*, 2004).

7. Quadro lesional

7.1. Forma nervosa

As lesões macroscópicas não são comuns mas pode ser observada congestão das meninges e turvação do líquido cefalorraquidiano. Ocasionalmente, em cortes transversais do tronco encefálico, observam-se focos de malácia castanho-amarelados (George, 2002, CFSPH, 2005, Rissi *et al.*, 2006).

Em alguns casos as meninges podem estar mais volumosas e levemente amareladas ou opacas como resultado da infiltração por células mononucleares ou podem estar congestionadas e edematosas (Schneider, 2004).

Histologicamente, as lesões são geralmente caracterizadas pela presença de microabcessos multifocais, degeneração axonal, infiltrado inflamatório neutrofílico e mononuclear perivascularares e infiltrado mononuclear nas meninges (imagem 22) (George, 2002, Guedes *et al.*, 2007).

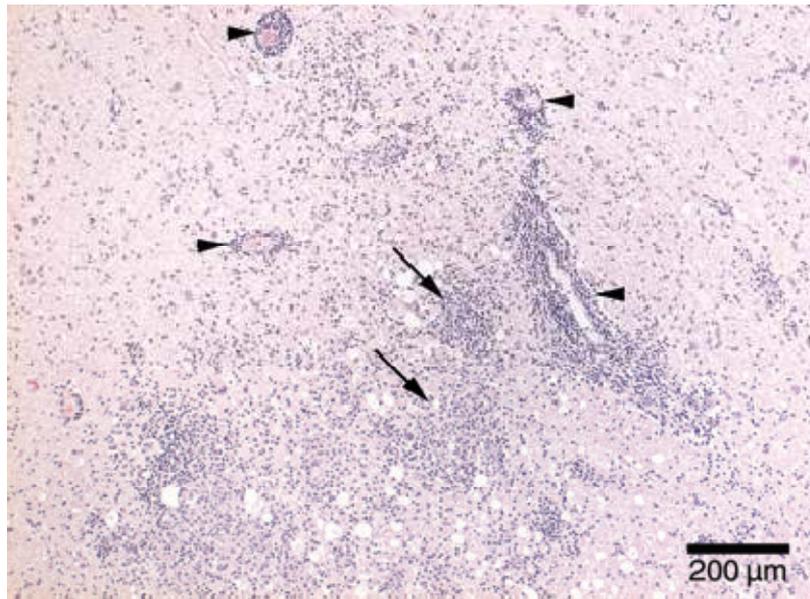


Imagem 22 - Lesões histopatológicas do tecido cerebral. Notar a infiltração inflamatória perivascular (cabeças de seta) e os microabscessos (setas), H&E (Loeb, 2004).

Essas lesões distribuem-se de modo assimétrico, principalmente no bulbo e na ponte, mas podem ocorrer em qualquer local do tronco encefálico, desde o tálamo até à medula espinhal cervical (Rissi *et al.*, 2006).

As estruturas neurológicas normalmente mais afectadas são a formação reticular, e os nervos cranianos V e VII a X (George, 2002).

As lesões no tronco cerebral podem ou não conter antigénios, mas caracteristicamente estão presentes células inflamatórias, incluindo neutrófilos, macrófagos e alguns linfócitos (Shin *et al.*, 2000). Os antigénios bacterianos estão exclusivamente localizados em áreas de malácia ou nos microabscessos.

7.2. Abortos

As lesões associadas com a metrite e o aborto não são patognomónicas de listeriose (Weinstock *et al.*, 1995).

Nos casos de aborto, os fetos podem estar algo autolisados, apresentam fluidos claros ou sanguinolentos nas cavidades serosas e erosões superficiais na mucosa abomasal. Podem encontrar-se focos de necrose no fígado e por vezes nos pulmões, baço ou outros órgãos. Os cotilédones placentários e as áreas intercotilédonares podem também apresentar lesões necróticas (Schneider, 2004, CFSPH, 2005).

7.3. Forma septicémica

A forma septicémica é tipicamente associada com focos necróticos nos órgãos internos, particularmente no fígado.

8. Diagnóstico

8.1. Sinais clínicos/diagnóstico diferencial

Um estudo realizado por Loeb (2004) em ruminantes mostrou que os sinais clínicos que com mais frequência estão associados à doença são a descoordenação motora e a hipersialia, enquanto os outros sinais clínicos aparecem dispersos em pequeno número dentro do grupo analisado. Isto levou a concluir que o diagnóstico clínico não pode depender apenas de um sinal clínico característico, mas que todos eles devem ser tidos em conta na altura de fazer um diagnóstico.

Muitos animais com sinais avançados de listeriose desenvolvem acidose metabólica como resultado das perdas de bicarbonato através da salivação (George, 2002, Navarre, 2007).

O diagnóstico da forma nervosa num animal vivo é baseado num minucioso exame neurológico.

A listeriose pode diferenciar-se de toxémia de gestação e poliencefalomalácia através de um exame clínico atento, tendo em conta que pode existir paralisia do nervo facial como consequência de traumatismo ou decúbito lateral.

Animais com abscessos cerebrais ou cenurose podem manifestar também sinais clínicos como andar em círculos ou défices proprioceptivos, mas não défices dos nervos cranianos (Scott, 2007a).

Os sinais clínicos de doença multifocal do tronco cerebral, como febre em ruminantes, são sugestivos de listeriose, infecção por *Haemophilus sommus* (bovinos), ou migrações erráticas de parasitas (Navarre, 2007).

8.2. Meios complementares de diagnóstico

8.2.1. Composição do líquido cefalorraquidiano

Podem ser recolhidas amostras de LCR em ovelhas, sob anestesia local, para auxiliar no diagnóstico. Resumidamente, insere-se uma agulha com as dimensões adequadas para o animal em causa no espaço lombossacral (entre

L6 e S2) previamente preparado cirurgicamente, até se atingir o espaço subaracnóide. Uma aspiração cuidadosa vai permitir obter 1 a 2 ml de LCR para análise laboratorial (Scott, 2007a).

O exame do líquido cefalorraquidiano (LCR) é útil para confirmar o diagnóstico de listeriose, mas as concentrações celular e proteica não se correlacionam com a severidade dos sinais clínicos nem com o prognóstico. Elevações nas proteínas e nas células mononucleares também podem ser observadas no decorrer de outras doenças (Navarre, 2007). A concentração de proteínas no LCR deve ser superior a 40µg/dl e a contagem de leucócitos deve ser superior a 12 células por microlitro (George, 2002, Navarre, 2007).

8.2.2. Análises Bacteriológicas e Identificação Molecular

O agente raramente é isolado a partir do LCR mas é facilmente recuperado de tecidos nervosos refrigerados (George, 2002).

Para isolamento do agente, as amostras de eleição são: o cérebro de animais com envolvimento do sistema nervoso central ou fetos e placentas em casos de aborto. Se as primeiras tentativas de isolamento não forem bem sucedidas, devem ser usados meios selectivos ou a técnica *cold enrichment* (Scott, 2007a).

Johnson e colaboradores (1995) referem que, entre espécies de ruminantes com listeriose diagnosticada histopatologicamente, existe uma maior dificuldade em isolar *Listeria* a partir de tecidos cerebrais de bovinos, mesmo quando são enviadas as amostras apropriadas. As culturas bacterianas não são positivas em todos os casos de ruminantes e os casos em que a cultura é negativa, particularmente os de bovinos, podem ser associados a poucas ou nenhuma bactérias existentes nas lesões.

Para o seu crescimento a bactéria requiere biotina, riboflavina, tiamina, ácido tiótico e alguns aminoácidos (Pearson & Marth, 1990). A energia é fornecida pela glicose, que é fermentada e oxidada pela bactéria com produção de ácido láctico e ácido acético, mas não gás, sendo que o produto final da fermentação é sobretudo ácido láctico (Liu, 2008). A gelatina, a caseína e o leite não são

hidrolisados (Gray & Killinger, 1966, Pearson & Marth, 1990). O crescimento é estimulado com 5-10% de dióxido de carbono (Carter & Wise, 2004, Schneider, 2004).

O organismo cresce bem nos meios mais habituais, mas é rotineiramente isolado em agar sangue (Carter & Wise, 2004). As colónias de *L. monocytogenes*, quando cultivadas em agar sangue, produzem uma zona estreita de beta-hemólise causada por uma hemolisina, a listeriolisina O (LLO) (Pearson & Marth, 1990, Crum, 2002). As colónias de *L. ivanovii* formam uma zona mais ampla de beta-hemólise (PAHO, 2001).

A capacidade única que esta bactéria possui de sobreviver numa ampla gama de temperaturas, incluindo temperaturas de refrigeração de 4 a 10°C, diferencia-a da maioria dos outros organismos. Esta característica permite o seu isolamento a partir de culturas mistas, através da técnica *cold enrichment* (Crum, 2002). Para a aplicação desta técnica é usado um caldo não selectivo e a incubação é feita a 4°C por mais de 8 semanas para aumentar o número de *L. monocytogenes* (Pearson & Marth, 1990). São realizadas semanalmente repicagens a partir da cultura anterior (Scott, 2007b). Esta técnica é útil para o isolamento do organismo a partir do tecido cerebral, mas não a partir de tecidos placentais ou fetais (Kahn, 2005).

O uso de meios selectivos demonstrou ser mais eficiente do que a técnica *cold enrichment* (Crum, 2002). Segundo Pearson e Marth (1990), os melhores meios para recuperação de *L. monocytogenes*, facilitando a detecção de colónias, são o MLA (*McBride Listeria Agar*, que contém feniletanol, cloreto de lítio e sangue de ovelha), o MLA modificado (com cicloheximida e sem sangue de ovelha), o GBNA (*Gun base nalidixic acid*), e o *Agar Despierrez* modificado (contém ácido nalidíxico, polimixina B e acriflavina).

Mais recentemente, Wagner e McLauchlin (2008) referem que os meios selectivos recomendados para isolar *Listeria* spp. em amostras não estéreis são o PALCAM e o OXFORD. Nestes meios, a *Listeria* spp. cresce de forma típica, levando à formação de uma depressão na área central da colónia. O primeiro meio cromogénico específico para esta bactéria é o ALOA (*Listeria agar as described by Ottaviani and Agosti*) e as colónias formadas são tipicamente azul-turquesa, com diâmetro de 1mm.

Em esfregaços corados aparecem pequenos bacilos gram positivos, isolados, aos pares, ou em cadeias curtas (Carter & Wise, 2004).

O isolamento da bactéria na ausência de lesões não tem valor diagnóstico (Johnson *et al.*, 1995).

Cada vez mais se utilizam métodos com base nas sequências de ADN características para diferenciar linhagens da bactéria, como por exemplo, *arbitrarily primed – polymerase chain reaction* (AP-PCR), *random amplified polymorphic DNA – polymerase chain reaction* (RAPD-PCR) e *rRNA gene fingerprinting* (ribotipagem), que permitem a identificação da espécie e a tipagem (Wiedmann *et al.*, 1994, Nappi *et al.*, 2005).

Wiedmann e colaboradores (1994) comprovaram a grande discriminação do RAPD-PCR em comparação com a sorotipagem e, num estudo posterior, afirmam também a sua maior discriminação em relação à ribotipagem (Wiedmann *et al.*, 1996).

8.2.3. Análises Serológicas

A serologia (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* - ELISA, Imunofluorescência, fixação do complemento) não é usada rotineiramente como meio de diagnóstico. (Scott, 2007a).

Os métodos serológicos, como aglutinação e fixação do complemento podem ser usados para determinar os níveis de anticorpos durante o período de infecção, no entanto, a detecção de anticorpos contra a *L. monocytogenes* não confirma o estado activo da infecção. Uma grande percentagem dos animais possui anticorpos contra este agente, mesmo na ausência de infecção (Börkú *et al.*, 2006).

Boerlin e colaboradores (2003) afirmam que o uso do teste ELISA pode ser útil na confirmação do diagnóstico em casos de abortos e mastites relacionados com *Listeria*, no entanto, não parece indicado para o diagnóstico de encefalite em bovinos, visto que a resposta humoral em ruminantes com encefalite por *Listeria* é baixa. Afirmam também que o uso simultâneo dos antígenos

listeriolisina O e internalina A pode aumentar a especificidade dos testes serológicos no diagnóstico destas infecções.

Bourry e colaboradores (1997) demonstraram que, através do teste ELISA realizado no leite, é possível detectar animais (cabras, ovelhas e vacas) com infecções intramamárias provocadas por *L. monocytogenes* e que este método é mais rápido e menos dispendioso que os métodos bacteriológicos de rotina.

8.2.4. Histopatologia

Segundo o estudo realizado por Johnson e colaboradores (1995), as técnicas de imunohistoquímica são o mais rápido meio de diagnóstico, tendo em conta que os procedimentos da técnica *cold enrichment* requerem normalmente 30 dias para o isolamento bem sucedido de *Listeria*. No mesmo estudo foi também possível verificar que a imunohistoquímica é uma ferramenta eficiente no diagnóstico e pode ser muito útil para confirmar casos de encefalite por *Listeria*.

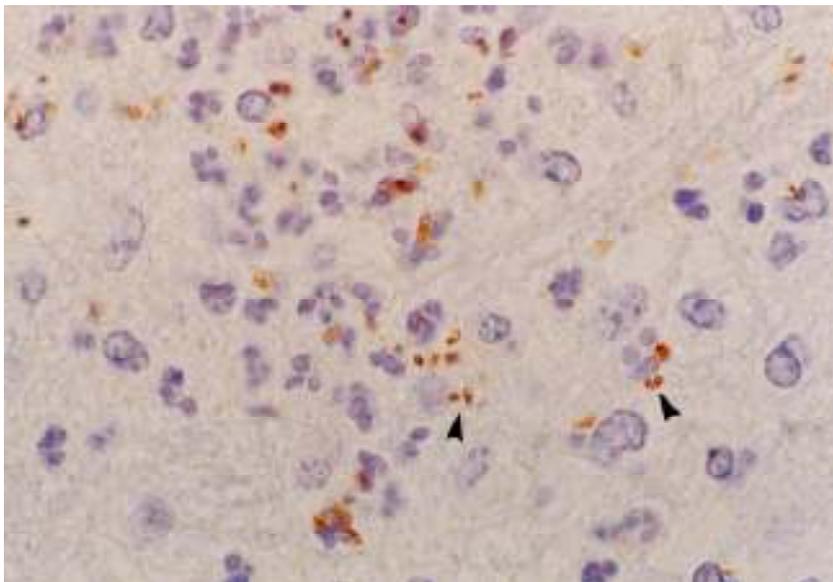


Imagem 23 - Presença de *L. monocytogenes* (setas), identificada por imunohistoquímica num microabscesso do tronco cerebral de um ovino (Wesley *et al.*, 2002).

Weinstock e colaboradores (1995) referem também as vantagens da imunohistoquímica e afirmam que, para um bom diagnóstico, utilizando esta técnica, a escolha da secção de tecidos é importante.

A imunohistoquímica tem sido usada com sucesso para a detecção de antígenos de *L. monocytogenes* em tecidos incluídos em parafina de casos naturais de listeriose em ovinos, caprinos, bovinos, camelídeos e aves. Em geral as bactérias são visualizadas nos microabscessos (imagem 23), no citoplasma de neutrófilos e macrófagos e também em neurónios normais ou degenerados (imagem 24). Situações onde a coloração por imunohistoquímica apresenta superioridade no diagnóstico da listeriose incluem: lesões com número reduzido de bactérias ou pouca quantidade de antígeno, quando o material a ser testado é enviado já fixado em formol para o laboratório e quando o cultivo ou a coloração de Gram resultam negativos (Rissi *et al.*, 2006).

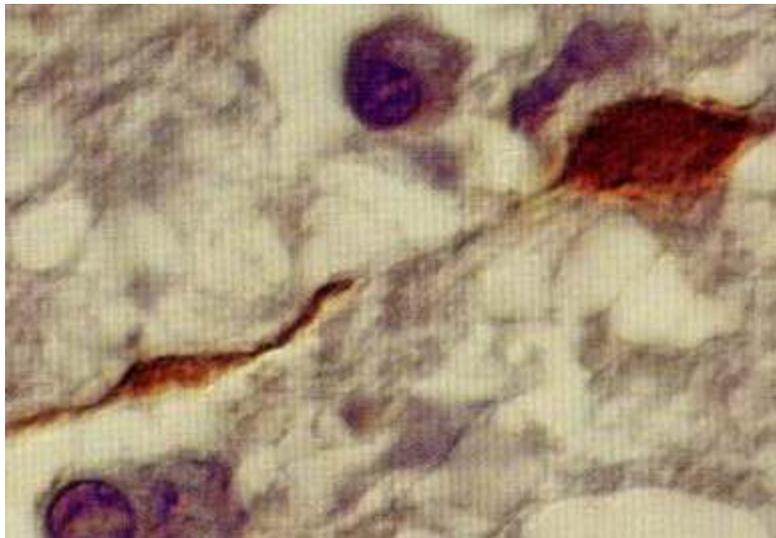


Imagem 24 - Detecção de antígenos listeriais por imunohistoquímica num axónio localizado no tronco cerebral de um ovino com listeriose (Johnson *et al.*, 1995).

A confirmação do diagnóstico é baseada na identificação de microabscessos multifocais no tronco cerebral por histopatologia e no isolamento de *L. monocytogenes* a partir do tecido cerebral infectado (Weinstock *et al.*, 1995, George, 2002).

9. Tratamento

Os animais prostrados, comatosos ou convulsivos raramente sobrevivem, mesmo com antibioterapia intensiva e terapia de suporte (George, 2002, CFSPH, 2005). A taxa de recuperação é melhor se o tratamento for administrado na fase inicial da doença na maioria dos casos o tratamento deve ser administrado durante um longo período, sendo que a recuperação pode durar cerca de um mês (George, 2002).

Visto que a listeriose pode ocorrer em vários animais dentro da mesma exploração, é importante ter em atenção a história da exploração na resposta aos tratamentos (Navarre, 2007).

A terapia em pequenos ruminantes é pouco frequente devido ao seu baixo valor económico e ao curso rápido da doença (Johnson *et al.*, 1995).

9.1. Antibioterapia

A bactéria é susceptível aos antibióticos mais comuns. O tratamento recomendado é a administração de oxitetraciclina (10-20 mg/kg, IV, BID), ou penicilina G. As indicações específicas para a terapia com penicilina incluem: administração de um dose inicial de 40000 UI/kg, intravenosamente, administrada 3 a 4 vezes por dia, durante 7 dias e depois 22000 UI/Kg de penicilina G procaína, intramuscular, uma vez ao dia, durante mais 14 a 21 dias (George, 2002); ou 22000 a 44000 UI/kg, endovenosamente, quatro vezes ao dia ou intramuscular, duas vezes ao dia (Morin, 2004).

Segundo Navarre (2007), as tetraciclina e as penicilinas são eficazes se o tratamento for instituído atempadamente. Alguns casos parecem responder a um destes, mas não ao outro, portanto, prever qual vai funcionar em determinado caso é difícil. Se não se obtiverem resultados com nenhum dos dois em 48 horas, a terapia deve ser alterada.

Segundo Carter e Wise (2004), os antibióticos de eleição são as tetraciclina, administrados na dose máxima. As cefalosporinas não são recomendadas

devido à sua limitada penetração nas meninges. As sulfonamidas, a penicilina e as tetraciclinas podem ser usadas profilacticamente.

Hof e colaboradores (1997) afirmam que a melhor escolha para a antibioterapia é a combinação de ampicilina ou amoxiciclina com aminoglicosídeos, visto que estes potenciam a acção bactericida das penicilinas, reduzindo assim a carga bacteriana extracelular. Estes fármacos têm a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica.

Para o tratamento da encefalite, a adição de fármacos com acção intracelular, como o rifampicina pode ser benéfica, no entanto, este pode interferir com a acção extracelular da ampicilina.

Nestes animais a taxa de mortalidade é elevada apesar da administração da antibioterapia recomendada e observa-se com frequência recorrência após melhoria da sintomatologia (Hof *et al.*, 1997).

9.2. Tratamento de suporte

As concentrações plasmáticas de bicarbonato e potássio devem ser avaliadas e devem ser corrigidas através de fluidoterapia. Devem também ser administrados fluidos de manutenção (George, 2002).

A administração de anti-inflamatórios (esteróides e não esteróides) e terapias de suporte são também muito importantes (Navarre, 2007).

10. Prevenção/profilaxia

As respostas serológicas à flagelina e à listeriolisina O desenvolvem-se após administração oral de estirpes virulentas de *L. monocytogenes* e correlacionam-se com protecção contra a bacterémia provocada por *Listeria*. A resposta imunitária celular também é importante nesta protecção. As vacinas de bactéria atenuada ou neutralizada têm sido usadas com sucesso para proteger pequenos ruminantes (George, 2002).

Smith e Sherman (1994) referem que, apesar de o número de casos não diminuir em animais vacinados, a severidade da doença diminui e a resposta ao tratamento é melhor.

No entanto, o carácter esporádico da doença leva a pensar na relação custo-benefício da aplicação da vacina (Scott, 2007b).

Apesar da existência de poucos casos de listeriose, ocorrem surtos ocasionais em explorações de caprinos, ovinos ou bovinos, estando invariavelmente associados com níveis elevados de contaminação ambiental. Nestes casos, a forragem e a silagem devem ser examinadas para a presença de *L. monocytogenes*. Os alimentos estragados devem ser rejeitados e os animais devem ser impedidos de aceder a áreas contaminadas (George, 2002).

O risco de listeriose pode ser diminuído em ruminantes através da alimentação com silagem de boa qualidade e baixo pH. Os animais que vão ser introduzidos no rebanho devem ficar de quarentena, de modo a ser possível isolar os animais com sinais clínicos de listeriose. A placenta e o feto devem ser removidos após um aborto. (CFSPH, 2005).

Caso Clínico: Listeriose em caprinos

Este caso clínico que seguidamente se descreve reporta o aparecimento de um caprino com sintomatologia nervosa numa exploração de animais de aptidão leiteira na Igrejinha. Relato apenas o caso de um animal ao qual o HVME foi solicitado para prestar assistência, apesar de terem ocorrido mais quatro casos semelhantes, na mesma exploração, que não receberam acompanhamento médico.

1. Caracterização e História recente da exploração

A exploração da Igrejinha encontra-se em regime intensivo, com 290 caprinos, de aptidão leiteira, de raça Mursiana. Os caprinos encontram-se em estabulação permanente durante todo o ano, saindo apenas para pequenos parques exteriores quando as condições climáticas o permitem (imagens 25 a 27). A maioria dos caprinos adultos apresentava boa condição corporal, sem sinais clínicos de doença. No entanto, as condições de higiene e manejo da exploração não eram as mais adequadas. Os cabritos apenas tinham contacto com os animais adultos enquanto recebiam o colostro, posteriormente eram colocados num parque onde recebiam aleitamento artificial.



Imagem 25 - Parques exteriores da exploração da Igrejinha (original do autor).



Imagem 26 - Parques interiores da exploração da Igrejinha (original do autor).



Imagem 27 - Sala de ordenha da exploração (original do autor).

Os animais adultos eram alimentados com silagem de azevém.

A exploração em causa tem historial de abortos relacionados com *Chlamydophila abortus* (aborto enzoótico dos caprinos).

Num curto espaço de tempo surgiram cinco casos de cabras com sinais clínicos característicos de envolvimento nervoso. Destes casos, dois são anteriores ao que seguidamente é relatado, enquanto os outros dois são posteriores.

2. Identificação do animal

Cabra adulta em lactação, de raça Mursiana, com cerca de 3 anos. Pesava cerca de 50kg (imagem 28).



Imagem 28 - Caprino de raça Mursiana, visivelmente prostrado (original do autor).

3. Sinais clínicos

No dia da primeira visita o animal estava em decúbito esternal e apresentava anorexia, depressão, défices proprioceptivos, orelha esquerda caída (imagem 29), mandíbula caída, diminuição do tônus labial, paralisia e protusão da língua para o lado esquerdo (imagem 30), sialorreia e ptose palpebral. A temperatura rectal era 39,5°C. Passados dois dias, a evolução dos sinais clínicos era notória, o animal estava em decúbito lateral ou esternal, encostado a uma parede, e apresentava, além dos sinais clínicos já referidos, hipertonia moderada dos membros, cabeça torcida e nistagmus.



Imagem 29 - Sinais clínicos apresentados no primeiro dia, onde é bem visível a orelha esquerda caída (original do autor).



Imagem 30 - Sinais clínicos apresentados no primeiro dia, onde é bem visível a protusão da língua para o lado esquerdo (original do autor).

4. Diagnóstico diferencial e diagnóstico presuntivo

O diagnóstico diferencial inclui doenças que afectam o sistema nervoso central dos caprinos, como toxémia de gestação, poliencefalomalácia, abscessos ou tumores no tronco cerebral, intoxicação por chumbo, cenurose, meningite bacteriana, artrite encefalite caprina, raiva, migrações erráticas de parasitas, otite média e/ou interna, traumatismo e listeriose (Smith & Sherman, 1994, Morin, 2004, Schneider, 2004, Scott, 2007a, Scott, 2007b).

No entanto, apenas otite, listeriose, abscessos ou tumores no tronco cerebral, migrações erráticas de parasitas e traumatismo podem originar défices multifocais dos nervos cranianos (Morin, 2004). Como o animal apresentava sinais que demonstram défice nos nervos cranianos, as restantes hipóteses podem ser excluídas.

Animais com otite média ou/e interna estão normalmente alerta e apresentam apenas envolvimento do nervo facial ou vestibulococlear. Tumores ou abscessos no tronco cerebral são raros. Migrações erráticas de parasitas envolvem normalmente a espinal medula. Lesões traumáticas normalmente são evidentes no exame físico e/ou na história do animal (Morin, 2004).

Quando estão presentes sinais unilaterais de lesões nos nervos cranianos trigémio e facial, podemos presumir o envolvimento de *L. monocytogenes* (Scott, 2007a).

Com base nos sinais clínicos e no facto de os animais estarem a ser alimentados com silagem de má qualidade, suspeitou-se de listeriose.

5. Tratamento

Baseado nesta suspeita foi instituído um tratamento que incluía a administração via SC de um AINE, carprofeno (Rimadyl[®], 50mg/ml), e a administração via IM de um antibiótico, associação de penicilina G procaína, penicilina G benzatina e dihidroestreptomicina. As doses utilizadas foram: 14000 UI/kg de penicilina G procaína, 14000 UI/kg de penicilina G benzatina e 28 mg/kg de dihidroestreptomicina (7 ml de Shotapen[®]). Quanto ao carprofeno, foi administrada uma dose de 2mg/kg (2 ml Rimadyl[®]).

O animal acabou por morrer dias depois.

Foi aconselhada também uma alteração na silagem distribuída aos animais.

6. Diagnóstico *post-mortem*

Após a morte do animal procedeu-se à recolha de LCR e do tronco cerebral. O tronco cerebral foi dividido em duas amostras, sendo que uma foi refrigerada e a outra fixada em formol. As amostras foram enviadas para o laboratório Exopol. Os resultados revelaram a presença de *L. monocytogenes*, confirmada pelo isolamento microbiológico do agente e pela detecção de anticorpos contra Listeriolisina O sorotipo 1 e 4, através da técnica de Imunofluorescência.

7. Discussão

Os sinais clínicos que o animal apresentava são sugestivos de envolvimento do sistema reticular activado (depressão); das vias propioceptivas (défices propioceptivos); do sistema vestibular (head tilt); dos nervos trigémio (mandíbula caída), facial (protusão da orelha, ptose palpebral, diminuição do tónus labial, sialorreia), vestibulococlear (nistagmus) e outros. Estas manifestações estão de acordo com os sinais clínicos característicos de listeriose descritos por George (2004), Morin (2004) e Scott (2007a). O aparecimento de sinais unilaterais, como orelha esquerda caída e protusão da língua para o mesmo lado, são também típicos da forma nervosa da listeriose (Scott, 2007a). Tendo em conta que estes sinais são geralmente ipsilaterais ao local da lesão (Morin, 2004), é possível assumir que o animal apresentava lesões no hemisfério esquerdo.

O animal não apresentava aumento da temperatura rectal, o que é normal. Segundo George (2004) e Morin (2004) a febre ocorre apenas no início do curso da doença.

O acondicionamento da silagem não era o mais adequado, as coberturas da mesma estavam danificadas e era possível visualizar algumas zonas de silagem em mau estado, o que leva a suspeitar que esta poderia ser a fonte de infecção. Segundo Johnson e colaboradores (1995), em caprinos, os animais afectados normalmente são produtores de leite alimentados com silagem.

É importante também referir que após alteração da silagem distribuída aos animais não houve relato de mais casos semelhantes.

Na exploração em causa apareceram, no total, 5 animais com sinais clínicos semelhantes num curto período de tempo, dois deles anteriores e dois posteriores ao caso relatado. Como existem, nesta exploração, cerca de 290 caprinos, isto representa uma taxa de morbilidade inferior a 2%. Estes dados estão de acordo com o descrito por Scott (2007a), quando afirma que o número de animais envolvidos em surtos de listeriose normalmente não ultrapassa os 1-2%.

Segundo Schneider (2004), a taxa de mortalidade associada a animais com meningoencefalite é muitas vezes 100%, o que se confirma neste caso, visto que todos os animais afectados acabaram por morrer.

Apesar de os métodos serológicos não serem os meios de diagnóstico mais indicados para o diagnóstico de listeriose (Scott, 2007a), a existência de anticorpos confirmada por imunofluorescência, em conjunto com o isolamento microbiológico do agente e com os sinais clínicos presentes, são suficientes para confirmar o diagnóstico. Poderiam ter sido utilizadas outras técnicas, como imunohistoquímica, que é uma ferramenta útil para confirmar casos de encefalite por *Listeria* (Johnson *et al.*, 1995, Loeb, 2004) ou a identificação de lesões características por histopatologia (George, 2002, Morin, 2004).

A técnica de imunofluorescência usada pelo laboratório baseia-se na detecção de anticorpos frente a listeriolisina O, serotipos 1 e 4. Como o resultado foi positivo, é possível assumir a presença de um destes dois serotipos, ou de ambos. Estes dados estão de acordo com os trabalhos realizados por Nappi e colaboradores., que demonstraram que estes serotipos são os principais responsáveis pelos casos de doença em humanos e animais.

Seria útil identificar o serotipo associado a este surto, visto que, por se tratar de uma exploração leiteira, existem riscos zoonóticos acrescidos, principalmente no caso de se tratar do serotipo 4b, que é o responsável pela maioria das infecções em humanos (George, 2002).

O laboratório providenciou também informação acerca da sensibilidade aos antibióticos (TSA). Com base nesta informação é possível confirmar que a bactéria era sensível aos princípios activos escolhidos para a antibioterapia (penicilinas e estreptomicina). Muitos dos autores consultados (Hof *et al.*, 1997, Carter & Wise, 2004, George, 2002, Morin, 2004 e Navarre, 2007) referem as penicilinas e as tetraciclinas como os antibióticos de eleição para o tratamento da forma nervosa da listeriose. No entanto o tratamento só é eficaz se for instituído na fase inicial da doença (Navarre, 2007). No caso das penicilinas, deve ser utilizada uma dose elevada (22000 a 44000 UI/kg) e durante vários dias, visto que a recuperação pode ser demorada (George, 2002, Morin, 2004).

Tendo em conta a escolha do antibiótico e a dose total de penicilina G administrada neste caso (28000 UI/kg), podemos afirmar que, em termos de

antibioterapia e dosagem, a abordagem foi correcta. Por sua vez, a frequência de administrações poderia ter sido superior. Morin (2004) recomenda a administração intramuscular, duas vezes por dia.

O uso de anti-inflamatórios é também recomendado como tratamento adjuvante da listeriose (Navarre, 2007).

O animal em causa acabou por morrer em pouco tempo, possivelmente porque já se encontrava numa fase avançada da doença quando foi assistido. O curso da doença é rápido e o prognóstico no caso dos pequenos ruminantes é mau, especialmente quando estes já se encontram prostados (Morin, 2004). Nestes animais a taxa de mortalidade é elevada apesar da administração da antibioterapia recomendada (Hof *et al.*, 1997).

A prevenção nestes casos é simples, existem vacinas de rebanho eficazes que os laboratórios de diagnóstico se propõem a elaborar com brevidade.

Conclusão

A realização deste estágio permitiu-me sedimentar e aplicar os conhecimentos adquiridos durante o curso, assim como adquirir conhecimentos essenciais para a clínica de campo.

O contacto com a rotina diária de uma equipa de Médicos Veterinários e com o seu trabalho foi benéfico na minha formação devido à qualidade e quantidade de conhecimentos e experiências, com as quais tive oportunidade de contactar.

Durante o estágio tive a oportunidade de por em prática aquilo que tinha aprendido até então e de lidar com a realidade da “clínica de campo”, que tantos ensinamentos e experiências nos transmite.

A própria elaboração deste relatório contribuiu para o aumento do meu interesse sobre determinados temas.

Tudo isto tornou possível o meu crescimento como profissional e como pessoa. Cresceu o meu gosto pela procura diária de informação e a vontade de levar este sonho até ao fim, alcançando o êxito profissional.

Bibliografia

Alonzo, F., Port, G. C., Cao, M. & Freitag, N. E. (2009). The posttranslocation chaperone PrsA2 contributes to multiple facets of *Listeria monocytogenes* pathogenesis. *Infection and Immunity*, 77(7), 2612-2623.

Ames, T. R., Baker, J. C. & Wikse, S. E. (2002). Lower Respiratory Tract Diseases. In B. P. Smith (Ed.), *Large Animal Internal Medicine* (3rd Ed.). (pp. 550-570). USA: Mosby, Inc.

Apley, M. (2006). Bovine Respiratory Disease: Pathogenesis, Clinical Signs, and Treatment in Lightweighth Calves. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 22, 399-411.

Archbald, L. F. (1999). Reproductive Diseases. In J. L. Howard & R. A. Smith, *Current Veterinary Therapy 4: Food Animal Practice*. (pp. 563-568). USA: Saunders Company.

Ariznabarreta, A., Garcia-Pérez, A., Garcia-Sanmartin, J., Juste, R. Y. & Berriatua, E. (2002). Estudio clínico de brotes de sarna psoróptica en rebaños ovinos del País Vasco. In *Proceedings of XXVII Jornadas Científicas y VI Jornadas Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia*, Valência, España, Septiembre, pp. 494-498.

Arthur, G. H., Noakes, D. E. & Pearson, H. (1991). *Reproduccion y Obstetricia Veterinaria* (6^a Ed.). (pp. 191-360). Madrid, España: McGraw-Hill – Interamericana de España.

Berchtold, J. (2009). Diarrhea: Intravenous Fluid Therapy. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 25, 73-99.

Berg, R. E., Crossley, E., Murray, S. & Forman, J. (2003). Memory CD8+ cells provide innate immune protection against *Listeria monocytogenes* in the absence of cognate antigen. *The Journal of Experimental Medicine*, 198(10), 1583-1593.

Bicalho, R. C. (2009). Revisão de técnicas de cesariana: melhorar o prognóstico com feto enfisematoso. *Revista Portuguesa de Buiatria*, 13(14), 19-21.

Bicknell, E. J. & Noon, T. H. (1993). Neonatal Calf Diarrhea. *Animal Care and Health Maintenance*, 93, 19-23.

Boerlin, P., Boerlin-Petzold, F. & Jemmi, T. (2003). Use of Listeriolysin O and Internalin A in a seroepidemiological study of listeriosis in Swiss Dairy Cows. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(3), 1055-1061.

Bolin, C. A. (2003). Diagnosis and Control of Bovine Leptospirosis. In *Proceedings of the 6th Western Dairy Management Conference*. Reno, USA, 12-14 March, pp. 155-158.

Börkücü, M. K., Ural, K., Gazyagci, S., Özkanlar, Y., Babür, C. & Kiliç, S. (2006). Serological detection of listeriosis at a farm. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30, 279-282.

Borucki, M. K., Gay, C. C., Reynolds, J., McElwain, L., Kim, S. H., Call, D. R. & Knowles, D. P. (2005). Genetic diversity of *Listeria monocytogenes* strains from a high-prevalence dairy farm. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(10), 5893-5899.

Bourry, A., Cochard, T. & Poutrel (1997). Serological diagnosis of bovine, caprine, and ovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes* by using an Enzyme-Linked Immunoabsorven Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(6), 1606-1608.

Câmara Municipal de Évora (2010). *Caracterização do Concelho*. Acedido em Julho 7, 2010, disponível em: <http://www.cm-evora.pt/pt/conteudos/concelho/Caracterizacao%20do%20concelho/Caracterizacao%20do%20Concelho.htm>

Carter, G. R. & Wise, D. J. (2004). *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*. (6th ed.). Iowa: Iowa State Press, Blackwell Publishing Company.

Center for Food Security and Public Health (2005). *Listeriosis*. Ames, USA: Iowa State University.

Center for Food Security and Public Health (2008). *Bovine Babesiosis*. Ames, USA: Iowa State University.

Center for Food Security and Public Health (2009a). *Sheep Scab*. Ames, USA: Iowa State University.

Center for Food Security and Public Health (2009b). *Theileriosis*. Ames, USA: Iowa State University.

Constable, P. D. (2004). Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18, 8-17.

Constable, P. D. (2009). Treatment of Calf Diarrhea: Antimicrobial and Ancillary Treatments. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 25, 101-120.

Cossart, P. & Archambaud, C. (2009). The bacterial pathogen *Listeria monocytogenes*: an emerging model in prokaryotic transcriptomics. *Journal of Biology*, 8, 107.1-107.4.

Cossart, P. & Toledo-Arana, A. (2008). *Listeria monocytogenes*, a unique model in infection biology: an overview. *Microbes and Infection*, 10, 1041-1050.

Crum, N. F. (2002). Update on *Listeria monocytogenes* infection. *Current Gastroenterology Reports*, 4, 287-296.

Diakonova, M., Helfer, E., Seveau, S., Swanson, J. A., Kocks, C., Rui, L., Carlier, M. F. & Carter-Su, C. (2007). Adapter protein SH2-B β stimulates actin-based motility of *Listeria monocytogenes* in a vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP)-dependent fashion. *Infection and Immunity*, 75(7), 3581-3593.

Divers, T. J. (2004). Acquired spinal cord and peripheral nerve disease. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 20, 231-242.

Evans, K., Smith, M., McDonough, P., Wiedmann, M. (2004). Eye infections due to *Listeria monocytogenes* in three cows and one horse. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 16, 464-469.

Gao, X., Lorinczi, M., Hill, K. S., Brooks, N. C., Dokainish, H., Ireton, K. & Elferink, L. A. (2009). Met receptor tyrosine kinase degradation is altered in response to leucine-rich repeat of the *Listeria* invasion protein internalin B. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(2), 774-783.

George, L. W. (2002). Peripheral Nerve Disorders. In B. P. Smith (Ed.), *Large Animal Internal Medicine* (3rd Ed.). (pp. 1013-1017). USA: Mosby, Inc.

George, L. W. (2002). Listeriosis. In B. P. Smith. *Large Animal Internal Medicine* (3rd ed.). (pp. 946-948). USA: Mosby, Inc.

Gray, M. L. & Killinger, A. H. (1966). *Listeria monocytogenes* and Listeric Infections. *Bacteriological Reviews*, 30(2), 309-371.

Grundling, A., Burrack, L. S., Bouwer, H. G. A. & Higgins, D. E. (2004). *Listeria monocytogenes* regulates flagellar motility gene expression through MogR, a transcriptional repressor required for virulence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(33), 12318-12323.

Guedes, K. M. R., Riet-Correa, F., Dantas, A. F. M., Simões, S. V. D., Neto, E. G. M., Nobre, V. M. T. & Medeiros, R. M. T. (2007). Doenças do sistema nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 27(1), 29-38.

Guerra, M. M., Bernardo, F. A. (2004). O risco da listeriose e a identificação do perigo – Revisão. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 99, 69-76.

Hafez, E. S. E. & Hafez, B. (2000). *Reproduction in Farm Animals* (7th Ed.). USA: Lippincott Williams & Wilkins.

Hof, H., Nichterlein, T. & Kretschmar, M. (1997). Management of listeriosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(2), 345-357.

Johnson, G. C., Fales, W. H., Maddox, C. W. & Ramos-Vara, J. A. (1995). Evaluation of laboratory tests for confirming the diagnoses of encephalitic listeriosis in ruminants. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 7, 223-228.

Kahn, C. M. (Ed.). (2005). *The Merck Veterinary Manual* (9th ed.). USA: Merck & Co., Inc.

Kuhn, M., Scotti, M. & Vázquez-Boland, J. A. (2008). Pathogenesis. In D. Liu (Ed.), *Handbook of Listeria monocytogenes*. (pp. 97-138). USA: CRC Press, Taylor & Francis Group.

Levraud, J. P., Disson, O., Kissa, K., Bonne, I., Cossart, P., Herbomel, P. & Lecuit, M. (2009). Real time observation of *Listeria monocytogenes*-phagocyte interactions in living zebrafish larvae. *Infections and Immunity*, 77(9), 3651-3660.

Lewis, C. (1999). Living with Bovine Leptospirosis. *Holstein Journal*, 1, 56.

Liu, D. (2008). Epidemiology. In D. Liu (Ed.), *Handbook of Listeria monocytogenes*. (pp. 27-61). USA: CRC Press, Taylor & Francis Group.

Loeb, E. (2004). Encephalitic listeriosis in ruminants: Immunohistochemistry as a diagnostic tool. *Journal of Veterinary Medicine*, 51, 453-455.

Lundén, J., Tolvanen, R. & Korkeala, H. (2004). Human listeriosis outbreaks linked to dairy products in Europe. *Journal of Dairy Science*, 87, E6-E11.

Mena, C., Almeida, G. A., Carneiro, L., Teixeira, P., Hogg, T., Gibbs, P. A. (2004). Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food Microbiology*, 21, 213-216.

Miesner, M. D. & Anderson, D. E. (2008). Management of uterine and vaginal prolapsed in the bovine. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 24, 409-419.

Miettinen, A., Husu, J. & Tuomi, J. (1990). Serum antibody response to *Listeria monocytogenes*, Listerial excretion, and clinical characteristics in experimentally infected goats. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(2), 340-343.

Momont, H. (2005). Bovine reproductive emergencies. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 21, 711-727.

Monte-ACE (2007). *Caracterização da Região Alentejo Central*. Acedido em Julho 7, 2010, disponível em: http://www.monte-ace.pt/Caracterizacao_ZI.pdf

Morin, D. E. (2004). Brainstem and cranial nerve abnormalities: listeriosis, otitis media/interna, and pituitary abcess syndrome. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 20, 243-273.

Nappi, R., Bozzetta, E., Serra, R., Grattarola, C., Decastelli, L., Florio, C. & Caramelli, M. (2005). Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* strains associated with outbreaks of listeriosis in humans and ruminants and food products by serotyping and automated ribotyping. *Veterinary Research Communications*, 29, 249-252.

Navarre, C. B. (2007). *Central nervous system diseases in goats*. In Proceedings of the North America Veterinary Conference: Orlando, Florida, USA, 13-27 Jan. 2007.

Naylor, J. M. (2002). Neonatal Ruminant Diarrhea. In B. P. Smith (Ed.), *Large Animal Internal Medicine* (3rd Ed.). (pp. 352-366). USA: Mosby, Inc.

Newman, K. D. (2008). Bovine Cesarean Section in the Field. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 24, 273-293.

Nightingale, K. K., Schukken, Y. H., Nightingale, C. R., Fortes, E. D., Ho, A. J., Her, Z., Grohn, Y. T., McDonough, P. L. & Wiedmann, M. (2004). Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(8), 4458-4467.

Pan American Health Organization (2001). *Zoonoses and communicable diseases common to man and animals* (3rd ed.). Washington, D. C., USA: Pan American Health Organization.

Pearson, L. J. & Marth, E. H. (1990). *Listeria monocytogenes* – Threat to a safe food supply: a review. *Journal of Dairy Science*, 73, 912-928.

Perino, L. J. & Apley, M. (1999). Bovine Respiratory Disease. In J. L. Howard & R. A. Smith, *Current Veterinary Therapy 4: Food Animal Practice*. (pp. 446-454). USA: Saunders Company.

Pilgrim, S., Kolb-Maurer, A., Gentschev, I., Goebel, W., Kuhn, M. (2003). Deletion of the gene encoding p60 in *Listeria monocytogenes* leads to abnormal cell division and loss of actin-based motility. *Infection and Immunity*, 71(6), 3473-3484.

Port, G. C., Freitag, N. E. (2007). Identification of novel *Listeria monocytogenes* secreted virulence factors following mutational activation of the central virulence regulator, PrfA. *Infection and Immunity*, 75(12), 5886-5897.

Portnoy, D. A., Auerbuch, V. & Glomski, I. J. (2002) The cell biology of *Listeria monocytogenes* infection: the intersection of bacterial pathogenesis and cell-mediated immunity. *The Journal of Cell Biology*, 158(3), 409-414.

Portnoy, D. A., Chakraborty, T., Goebel, W. & Cossart, P. (1992). Molecular determinants of *Listeria monocytogenes* pathogenesis. *Infection and Immunity*, 60(4), 1263-1267.

Réglier-Poupet, H., Pellegrini, E., Charbit, A. & Berche, P. (2003). Identification of LpeA, a PsaA-like membrane protein that promotes cell entry by *Listeria monocytogenes*. *Infection and Immunity*, 71(1), 474-482.

Rickey, E. J. & Palmer, G. (2003). *Anaplasmosis in Beef Cattle*. Acedido em Ago. 19, 2010, em <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/VM/VM03600.pdf>

Rissi, D. R., Rech, R. R., Barros, R. R., Kommers, G. D., Langohr, I. M., Pierezan, F. & Barros, C. S. L. (2006). Forma nervosa de listeriose em caprinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 26(1), 14-20.

Rodrigues, C. G., Müller, E. E. & Freitas, J. C. (1999). Leptospirose Bovina: Serologia na bacia leiteira da região de Londrina, Paraná, Brasil. *Ciência Rural*, 29(2), 309-314.

Sabet, C., Toledo-Arana, A., Personnic, N., Lecuit, M., Dubrac, S., Poupel, O., Gouin, E., Nahori, M. A., Cossart, P. & Bierne, H. (2008). The *Listeria monocytogenes* virulence factor InlJ is specifically expressed in vivo and behaves as an adhesion. *Infection and Immunity*, 76(4), 1368-1378.

Schneider, D. J., (2004) Listeriosis. In J. A. W. Coetzer & R. C. Tustin (Eds.), *Infectious diseases of livestock*. (2nd ed.). (pp. 1904-1907). Oxford, England: Oxford University Press Southern.

Scott, P. R. (2007a). Listeriosis. In I. D. Aitken (Ed.). *Diseases of Sheep*. (4th ed.). (pp. 255-258). Iowa, USA: Blackwell Publishing.

Scott, P. R. (2007b). *Sheep Medicine*. (pp. 178-183). London, England: Manson Publishing.

Severino, P., Dussurget, O., Vêncio, R. Z. N., Dumas, E., Garrido, P., Padilla, G., Piveteau, P., Lemaitre, J. P., Kunst, F., Glaser, P. & Buchrieser, C. (2007). Comparative transcriptome analysis of *Listeria monocytogenes* strains of the major lineages reveals differences in virulence, cell wall, and stress response. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(19), 6078-6088.

Shin, T., Weinstock, D., Castro, M. D., Acland, H., Walter, M., Kim, H. Y. & Purchase, H. G. (2000). Immunohistochemical study of constitutive neuronal and inducible nitric oxide synthase in the central nervous system of goat with natural listeriosis. *Journal of Veterinary Science*, 1(2), 77-80.

Smith, G. W. (2009). Treatment of Calf Diarrhea: Oral Fluid Therapy. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 25, 55-72.

Smith, M. C. & Sherman, D. M. (1994). *Goat Medicine*. (pp. 141-144). USA: Lea & Febiger

Stilwell, G. & Matos, M. (n. d.). *Doença Respiratória Bovina*. Pfizer Saúde Animal.

Stilwell, G. (2008). *Apontamentos de Clínica de Espécies Pecuárias*. Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa.

Tham, T. N., Gouin, E., Rubinstein, E., Boucheix, C., Cossart, P. & Pizarro-Cerda, J. (2010). Tetraspanin CD81 is required for *Listeria monocytogenes* invasion. *Infection and Immunity*, 78(1), 204-209.

Tyler, J. W. & Cullor, J. S. (2002). Mammary Gland Health and Disorders. In B. P. Smith (Ed.), *Large Animal Internal Medicine* (3rd Ed.). (pp. 1019-1038). USA: Mosby, Inc.

Vázquez-Boland, J. A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Domínguez-Bernal, G., Goebel, W., González-Zorn, B., Wehland, J. & Kreft, J. (2001). *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(3), 584-640.

Wagner, M. & McLauchlin, J. (2008). Biology. In D. Liu (Ed.), *Handbook of Listeria monocytogenes*. (pp. 1-27). USA: CRC Press, Taylor & Francis Group.

Wang, L. & Lin, M. (2008). A novel cell wall-anchored peptidoglycan hydrolase (autolysin), IspC, essential for *Listeria monocytogenes* virulence: genetic and proteomic analysis. *Microbiology*, 154, 1900-1913.

Weinstock, D., Horton, S. B. & Rowland, P. H. (1995). Rapid diagnosis of *Listeria monocytogenes* by immunohistochemistry in formalin-fixed brain tissue. *Veterinary Pathology*, 32, 193-195.

Wenzel, J. G. W., Baird, A. N., Wolfe, D. F., Carson, R. C., Powe, T. A. & Pugh, D. G. (1998). Surgery of the uterus. In D. F. Wolfe & H. D. Moll (Eds.), *Large Animal Urogenital Surgery*. (pp. 413-435). USA: Lippincott Williams & Wilkins.

Wesley, I. V., Larson, D. J., Harmon, K. M, Luchansky, J. B. & Schwartz, A. R. (2002). A case report of sporadic ovine listerial meningoencephalitis in Iowa with an overview of livestock and human cases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 14, 314-321.

Whittier, D., Currin, N. & Currin, J. F. (2009). *Anaplasmosis in Beef Cattle*. Acedido em Ago. 20, 2010, em <http://pubs.ext.vt.edu/400/400-465/400-465.html>

Wiedmann, M., Bruce, J. L., Knorr, R., Bodis, M., Cole, E. M., McDowell, C. I., McDonough, P. I. & Batt, C. A. (1996). Ribotype diversity of *Listeria monocytogenes* strains associated with outbreaks of listeriosis in ruminants. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(5), 1086-1090.

Wiedmann, M., Czajka, J., Bsat, N., Bodis, M., Smith, M. C., Divers, T. J. & Batt, C. A. (1994). Diagnosis and epidemiological association of *Listeria monocytogenes* strains in two outbreaks of listerial encephalitis in small ruminants. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(4), 991-996.

Zemansky, J., Kline, B. J., Woodward, J. J., Leber, J. H., Marquis, H. & Portnoy, D. A. (2009). Development of a *mariner*-based transposon and identification of *Listeria monocytogenes* determinants, including the peptidyl-prolyl isomerase PrsA2, that contribute to its hemolytic phenotype. *Journal of Bacteriology*, 191(12), 3950-3964.

Zundel, E. & Bernard, S. (2006). *Listeria monocytogenes* translocates throughout the digestive tract in asymptomatic sheep. *Journal of Medical Microbiology*, 55, 1717-1723.