

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**CONTROLE DO FOOTROT EM REBANHO OVINO NO ESTADO DO RIO
GRANDE DO SUL: USO DE VACINA AUTÓGENA E RESPOSTA
SOROLÓGICA**

Dissertação de Mestrado

Paulo Ricardo Centeno Rodrigues

**PORTO ALEGRE
2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**CONTROLE DO FOOTROT EM REBANHO OVINO NO ESTADO DO RIO
GRANDE DO SUL: USO DE VACINA AUTÓGENA E RESPOSTA
SOROLÓGICA**

Autor: Paulo Ricardo Centeno Rodrigues
Médico Veterinário

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Doenças de Pequenos Ruminantes.

Orientador: Prof. Doutor Luiz Alberto Oliveira Ribeiro

**PORTO ALEGRE
2010**

Paulo Ricardo Centeno Rodrigues

**CONTROLE DO FOOTROT EM REBANHO OVINO NO ESTADO DO RIO
GRANDE DO SUL: USO DE VACINA AUTÓGENA E RESPOSTA
SOROLÓGICA**

Aprovada em 16 ABR 2010

APROVADO POR:

Prof. Dr. Luiz Alberto Oliveira Ribeiro
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Celso Pianta
Membro da Comissão

Prof. Dr. Paulo Ricardo Loss Aguiar
Membro da Comissão

Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory
Membro da Comissão

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado à Médica Veterinária Norma Centeno Rodrigues, minha irmã e grande amiga, protetora e incentivadora das minhas diversas atividades profissionais, como Médico Veterinário, Vendedor de serviços e produtos veterinários, Administrador de Empresas, Empresário e Professor Universitário, sem ela esse caminho teria sido menor e menos intenso.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é resultado da vitória da persistência sobre as tantas adversidades que rondam homens e mulheres na luta pela evolução, tanto na esfera pessoal quanto profissional. Muitos foram os obstáculos que surgiram nessa caminhada, e foram transpostos com o auxílio de muitas pessoas, a essas pessoas faço os meus agradecimentos, muitos, certamente, não serão mencionados, mas não foram esquecidos.

Agradeço aos meus pais, Carlos e Ivette, que souberam, com seus exemplos, conduzir os filhos pelos caminhos da vida. Aos meus irmãos, José Vitor, Luiz Carlos e Norma, pelo carinho e afeto, à minha família, Beatriz, César, Natália e Bruno, pelas horas roubadas do nosso convívio.

Um agradecimento especial deve ser feito ao meu orientador, Professor Luiz Alberto Oliveira Ribeiro, amigo e cunhado, que permitiu, com sua dedicação e paciência, que esse sonho se tornasse uma realidade.

Não posso deixar de mencionar a grande colaboração do colega, Professor e Veterinário, Cláudio Chiminazzo, que foi fundamental nos dois experimentos realizados.

Aos meus alunos e ex-alunos do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil, onde ministrei aulas durante 15 anos, agradeço as lições de vida e a inspiração para manter o rumo nos momentos de desânimo.

Agradeço à Universidade Luterana do Brasil, ao Laboratório Hipra, ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, ao Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Instituições que contribuíram, com seus recursos humanos e materiais, para que esse trabalho de pesquisa chegasse a bom termo.

Finalmente, peço ao Deus de todos nós, crentes ou não, que continue através de suas bênçãos, muitas vezes incompreendidas, iluminando nosso caminho.

O mal neste mundo é que os estúpidos vivem cheios de si e os inteligentes cheios de dúvidas.

Bertrand Russel

RESUMO

O objetivo desta dissertação de mestrado foi avaliar a eficácia de uma vacina autógena no controle do footrot (FR) dos ovinos, para tanto foram desenvolvidos dois experimentos em duas propriedades rurais distintas, no Estado do Rio Grande do Sul (RS). O primeiro experimento foi conduzido em uma propriedade rural do município de Santiago, com um extenso histórico de surtos de footrot no rebanho ovino. Inicialmente foi colhido material infeccioso presente no rebanho para a produção de uma vacina autógena, posteriormente 347 ovelhas foram vacinadas (grupo V) com duas doses da vacina com 30 dias de intervalo, a dose foi 2 ml por via subcutânea. Desse grupo, 150 animais receberam a vacina na região axilar (grupo Va) e 197 animais receberam a vacina na região inguinal (grupo Vb). Um grupo de 75 ovelhas formou o grupo controle (grupo C) sem vacinação. Os dados mostraram que a prevalência do FR no grupo V que inicialmente era de 4%, sofreu uma redução para 2% na semana 23, chegando à zero na semana 30. No grupo C a prevalência de animais infectados foi de 6,7% no início do experimento, teve uma redução para 5,3% na semana 23 e ao final estava em 3,7%. Observou-se uma redução gradativa no número de ovinos infectados nos dois grupos, entretanto a eliminação seletiva ocorrida no grupo controle prejudicou a análise estatística dos dados. Amostras de sangue foram colhidas da jugular dos animais para verificar títulos de anticorpos aglutinantes contra o antígeno presente na propriedade em cinco ocasiões durante o experimento. Os resultados mostraram diferenças significativas ($p < 0,001$) entre os títulos de anticorpos aglutinantes contra *Dichelobacter nodosus* no soro de ovinos vacinados e não vacinados durante o experimento. A análise das reações vacinais locais apontou a região inguinal como o melhor local para a aplicação da vacina com adjuvante oleoso por via subcutânea e também demonstrou uma relação direta entre a idade dos ovinos e o percentual de reações vacinais locais e a severidade dessas reações. Os resultados sugerem que a vacina autógena com adjuvante oleoso obteve sucesso no controle da doença. O segundo experimento foi conduzido em uma propriedade rural do município de Glorinha, com o objetivo de avaliar a resposta imunológica provocada por uma vacina monovalente e por uma vacina polivalente (7 sorogrupos) contra o FR. Trinta fêmeas ovinas, com idades variadas, foram divididas aleatoriamente em 3 grupos de 10 animais: grupo controle (C) que não foi vacinado, grupo vacinado com vacina monovalente (Vm) e grupo vacinado com vacina polivalente (Vp). Os ovinos vacinados receberam duas doses com quatro semanas de intervalo, a dose foi de 2 ml por via subcutânea na região inguinal. Amostras de sangue foram colhidas da jugular dos animais para verificar títulos de anticorpos aglutinantes contra o *D. nodosus* em quatro ocasiões durante o experimento. Os resultados mostraram diferenças significativas ($p < 0,001$) entre os títulos médios geométricos (GMT) de anticorpos aglutinantes contra *D. nodosus* no soro de ovinos dos grupos Vm, Vp e C na quarta, sétima e 12ª semanas do experimento. Em relação aos títulos médios geométricos (GMT) entre os grupos Vm e Vp houve diferenças estatisticamente significativas na quarta e sétima semanas. A vacina monovalente induziu títulos de aglutininas superiores contra o *D. nodosus* em comparação com a vacina polivalente.

Palavras-chave: footrot, vacina autógena com adjuvante oleoso, reações vacinais, ovinos.

ABSTRACT

*The objective of this work was to evaluate the efficacy of an autogenous vaccine in the control of footrot (FR) in sheep. Two field experimental works were carried on two different farms located in the State of Rio Grande do Sul (RS), Brazil. The first experiment was conducted on a farm in the municipality of Santiago, with a long history of FR outbreaks in their sheep flock. At beginning of the trail samples from FR infected sheep were collected for the production of an autogenous vaccine. Following 347 sheep were vaccinated (group V) with two doses of 2 ml subcutaneously vaccine 30 days apart. Of this group, 150 animals received the vaccine in the axillary region (group Va) and 197 animals received the vaccine in the inguinal region (group Vb). A group of 75 sheep formed the control group (group C) without vaccination. The data showed that the prevalence of FR in the group V initially 4%, was reduced to 2% at 23 weeks, reaching to zero at week 30. In the group C the prevalence of infected animals of 6.7% at the beginning of the experiment, was reduced to 5.3% at week 23, decreasing to 3.7%, at the end. There was a gradual reduction in the number of infected sheep in both groups, however the selective elimination occurred in the group C affected the statistical analysis. Blood samples were collected from the jugular vein of the animals to see evidence of agglutinating antibodies against the antigen present on the property on five occasions during the experiment. The results showed significant differences ($p < 0,001$) between antibody titers against *Dichelobacter nodosus* in the serum of sheep vaccinated and not vaccinated during the experiment. The analysis of local vaccine reactions showed the inguinal region as the best place for the application subcutaneously oil-adjuvant vaccine and also demonstrated a direct relationship between the age of the sheep and the percentage of local vaccine reactions and the severity of these reactions. The results suggest that autogenous oil-adjuvant vaccine succeeded in controlling the disease. The second experiment was conducted on a farm in the municipality of Glorinha, in order to evaluate the immune response elicited by a monovalent and a polyvalent vaccine against FR, containing seven serogroups. Thirty ewes, of various ages were randomly divided into 3 groups of 10 animals each: control group (C) was not vaccinated, group vaccinated with monovalent vaccine (Vm) and the group vaccinated with polyvalent vaccine (Vp). The sheep were vaccinated with two doses of 2 ml subcutaneously in the inguinal region, four weeks apart. Blood samples were collected from the jugular vein of the animals to determine agglutination titers against *D. nodosus* in the beginning of the experiment (day zero) and in other three occasions, weeks 4, 7 and 12. The results showed significant differences ($p < 0,001$) between the geometric mean titers (GMT) of antibodies against *D. nodosus* in the serum of sheep of groups Vm, Vp and group C in the fourth, seventh and 12th weeks of the experiment. For the geometric mean titers (GMT) between the groups Vm and Vp there was statistically significant differences in the fourth and the seventh weeks. The monovalent vaccine induced titers of higher against *D. nodosus* compared with the polyvalent vaccine.*

Key words: footrot, autogenous oil-adjuvant vaccine, vaccine reactions, sheep.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Sorogrupos e sorotipos do <i>Dichelobacter nodosus</i> atualmente reconhecidos na Austrália.....	17
FIGURA 2 - Seqüência de eventos envolvidos na patologia do footrot.....	18
FIGURA 3 - Classificação das lesões do footrot conforme sua gravidade (EGERTON; ROBERTS, 1971).....	26
FIGURA 4 - Doenças que causam claudicação em ovinos (EGERTON, 2007; RIBEIRO, 2007).....	28
FIGURA 5 - Antibióticos parenterais em dose única para tratamento do footrot virulento (EGERTON, 2007).....	34
FIGURA 1 (Artigo 1) Temperatura média mensal e precipitação pluviométrica mensal durante o ano de 2009 na Região Central do Rio Grande do Sul (EMBRAPA, 2010).....	47
FIGURA 2 - (Artigo 1) Título médio geométrico (GMT) de aglutininas K contra o <i>Dichelobacter nodosus</i> no soro de ovinos não vacinados (grupo C) e vacinados (grupo V) e título de anticorpos considerados protetores (THORLEY; EGERTON, 1981).....	53
FIGURA 1 - (Artigo 2) Título médio geométrico (GMT) de aglutininas K contra o <i>Dichelobacter nodosus</i> no soro de ovinos não vacinados (grupo C), vacinados com vacina monovalente (grupo Vm), vacinados com vacina polivalente (grupo Vp) e títulos considerados protetores (THORLEY; EGERTON, 1981).....	66

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - (Artigo 1)	Prevalência de animais infectados no grupo de ovinos vacinados (V) e controles (C) encontrados nos diferentes períodos de inspeção.....	51
TABELA 2 - (Artigo 1)	Média e título médio geométrico (GMT) de aglutininas K contra o <i>Dichelobacter nodosus</i> no soro de ovinos não vacinados (grupo C) e vacinados (grupo V).....	53
TABELA 3 - (Artigo 1)	Resultados das reações vacinais na região axilar (grupo Va) e inguinal (grupo Vb) dos ovinos e o grau de severidade das reações vacinais em cada grupo.....	54
TABELA 4 - (Artigo 1)	Reações vacinais na região axilar (grupo Va) relacionada com a idade dos ovinos e o grau de severidade das reações vacinais.....	55
TABELA 5 - (Artigo 1)	Reações vacinais na região inguinal (grupo Vb) relacionada com a idade dos ovinos e o grau de severidade das reações vacinais....	56
TABELA 1 - (Artigo 2)	Média e título médio geométrico (GMT) de aglutininas K contra o <i>Dichelobacter nodosus</i> no soro de ovinos não vacinados (grupo C), vacinados com vacina monovalente (grupo Vm) e vacinados com vacina polivalente (grupo Vp).....	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA -	Análise de variância para medidas repetidas
ELISA -	“Enzyme-linked immunosorbent assay”
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FPBS -	Solução formalina tampão fosfato-salino
FR -	Footrot
FRB -	Footrot benigno
FRI -	Footrot intermediário
FRV -	Footrot virulento
GMT -	Título médio geométrico
HV/ULBRA -	Hospital Veterinário da Universidade Luterana do Brasil
IBGE -	Instituto Brasileiro de Estatística e Geografia
IM -	Intramuscular
K -	Antígeno de superfície
NE -	Região Nordeste
Quil A -	Saponina extraída da <i>Quillaja saponaria</i>
RS -	Rio Grande do Sul
SC -	Subcutâneo
SINDAN -	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal
TAS -	“Tripticase, arginine, serine”
ULBRA -	Universidade Luterana do Brasil
UFRGS -	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Vap -	“Virulence associated protein”
Vrl -	“Virulence related locus”

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	Etiologia	15
2.1.1	Sorogrupos e sorotipos.....	17
2.2	Patogenia	18
2.3	Patologia	20
2.4	Fatores de virulência	20
2.4.1	Fimbriação.....	21
2.4.2	“Twitching motility”.....	21
2.4.3	Ágar corrosão.....	22
2.4.4	Proteases extracelulares.....	22
2.4.5	Regiões do gene específicas para virulência.....	23
2.5	Epidemiologia	24
2.6	Sinais clínicos	25
2.7	Diagnóstico	27
2.8	Tratamento	29
2.8.1	Tratamento tópico.....	31
2.8.2	Tratamento parenteral.....	33
2.8.3	Vacinação terapêutica.....	35
2.9	Controle	35
2.9.1	Tratamento tópico via pedilúvio.....	36
2.9.2	Vacinação.....	37
2.10	Erradicação	40
3	ARTIGO 1	42
4	ARTIGO 2	60
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
	REFERÊNCIAS.....	73

1 INTRODUÇÃO

Por ordem de antiguidade, a domesticação da cabra e da ovelha sucede a domesticação do cão, alguns autores referem à abundância de detritos fósseis dessas espécies em épocas muito remotas, confirmando a generalização do seu uso. Os pequenos ruminantes, provavelmente, foram domesticados primitivamente na Ásia, de onde passaram à África e ao Sul da Europa (DOMINGUES, 1968).

A criação de ovinos pelo homem permitiu sua exploração como fonte de alimento (carne e leite) e proteção contra as intempéries, pelo uso da lã. Está presente em praticamente todos os continentes, e essa ampla distribuição se deve a facilidade com que os ovinos se adaptam a diferentes climas, relevos e vegetações. Atualmente, a ovinocultura destina-se à exploração econômica e a subsistência de famílias das zonas rurais (VIANA, 2008).

Os maiores rebanhos ovinos estão distribuídos em países da Ásia, África e Oceania, a China é o país que detém o maior rebanho, seguido da Austrália, Índia, Irã, Sudão e Nova Zelândia. A Austrália e a Nova Zelândia possuem sistemas de produção altamente tecnificados e dominam a indústria da lã e do cordeiro, seus sistemas, técnicas e raças especializadas impulsionam a ovinocultura mundialmente. A maior parte de rebanho mundial é constituído por raças laneiras e mistas, sendo a lã um dos principais produtos da ovinocultura. Os principais países produtores de lã são a Austrália, a China, a Nova Zelândia, a Argentina e o Irã. Na Europa destacam-se os rebanhos produtores de carne e leite, sendo o leite destinado para a produção de queijos especiais. A América do Sul contribui com lã e carne de qualidade para o mercado mundial. Os países da Ásia e da África, na sua grande maioria, têm sua produção voltada para o mercado interno, geralmente com sistemas extensivos e de menor produtividade (VIANA, 2008).

O Brasil é o 8º maior criador de ovinos e caprinos do mundo, segundo o IBGE, em 2008 a criação de pequenos ruminantes totalizava 9.355.220 caprinos e 16.628.571 ovinos, sendo que região Nordeste (NE) responde por 50% dos ovinos e 90% dos caprinos criados no país. Nessa região são criados ovinos de raças deslanadas, adaptadas ao clima tropical, sendo explorados para a produção de pele e carne. Os Estados da Bahia, Ceará, Piauí e Pernambuco possuem os maiores rebanhos ovinos da Região NE. O Estado do Rio Grande do Sul (RS) concentra o maior rebanho laneiro do país, sendo

responsável por 91,5% da produção de lã do país. Os municípios gaúchos de Santana do Livramento, Alegrete, Quaraí e Uruguaiana são os maiores produtores nacionais de lã.

Em 2008, segundo o IBGE, o RS possuía 4.009.938 ovinos, mantendo-se estável, entretanto chegou a ter um rebanho de 13 milhões de ovinos nas décadas de 1970 e 1980, antes da grave crise no mercado internacional da lã, que desestruturou grandemente a cadeia produtiva da ovinocultura de lã, provocando a falência da grande maioria das Cooperativas de Lãs do Estado. Nesse momento despertou o interesse dos criadores para raças produtoras carne, que tiveram um grande incremento, entretanto a cadeia produtiva da ovinocultura de carne – o mercado do cordeiro – ainda ressentia-se da inexistência de um mercado constante.

No RS a criação de ovinos está associada, na maioria das propriedades rurais, à criação de bovinos, e os números referentes ao abate de ovinos no Brasil mostram um incremento ao longo dos últimos anos, entretanto ainda não suficiente para abastecer o mercado interno, que recorre às importações, principalmente do Uruguai. Esses fatos ilustram, não só a importância da ovinocultura para o RS, como delineia perspectivas favoráveis ao incremento dessa atividade (VIANA; SILVEIRA, 2009).

Entre os diversos fatores essenciais ao bom resultado econômico da atividade pecuária, os programas sanitários que buscam prevenir e controlar enfermidades prevalentes na região despontam como fundamentais. Entre as diversas doenças que afetam a produtividade dos ovinos destacam-se as helmintoses gastrintestinais, o footrot (FR) e as clostridioses.

O FR é uma doença dos ovinos e caprinos, crônica, infecciosa, contagiosa e necrosante da epiderme interdigital, causando severa claudicação, produzindo transtornos que afetam a capacidade produtiva, levando a perda de peso, queda na quantidade e qualidade da lã e diminuindo a capacidade reprodutiva dos animais (RIBEIRO, 2007).

O agente essencial do FR é o *Dichelobacter nodosus*, que tem sua ocorrência e persistência favorecidas pelas condições ambientais de calor e umidade, características presentes nas primaveras, alguns verões e outonos no RS. Na Austrália, alguns trabalhos científicos mostraram uma redução de 8 a 10% no crescimento da lã e uma redução média de 11% no peso vivo dos animais acometidos (MARSHALL et al., 1991; SIMONS, 1978).

A enfermidade é endêmica em rebanhos ovinos brasileiros, ocasionando severas perdas na produtividade. No RS existem poucas informações sobre a mensuração das

perdas causadas pelo FR, Coe (1991) comparando um grupo de ovelhas não infectadas e infectadas de um mesmo rebanho, observou prenhez em 91% das ovelhas do primeiro grupo contra 74% de prenhez nas ovelhas do segundo grupo. Ribeiro (1978, 1985) demonstrou que o FR é endêmico em rebanhos ovinos gaúchos e demonstrou a presença do FR em rebanhos de 42 municípios que englobam 85% da população ovina do RS.

O tratamento do FR baseia-se no uso de drogas antimicrobianas através de aplicações tópicas e/ou parenterais, vacinação e medidas de manejo. E pode ser direcionado ao controle temporário da enfermidade ou à sua erradicação do rebanho (RIBEIRO, 2007).

O presente trabalho busca comprovar a eficácia de uma vacina autógena na redução dos sinais clínicos do FR em um rebanho naturalmente infectado, na tentativa de oferecer outra opção para o controle dos surtos, minimizando as perdas potenciais que a enfermidade causa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O footrot (FR) é uma doença contagiosa dos ovinos e caprinos, embora tenha sido relatada em bovinos, transmitida pelo *Dichelobacter nodosus*. Possui um caráter crônico, e na sua forma virulenta provoca necrose da epiderme interdigital e matriz do casco, causando grave manqueira em um ou mais membros, produzindo severas perdas econômicas (RIBEIRO, 2007).

São reconhecidas três formas da doença; footrot benigno (FRB), footrot intermediário (FRI) e o footrot virulento (FRV). O FRV, a mais severa forma da enfermidade, causa grandes perdas econômicas nos rebanhos ovinos acometidos, inicia-se como uma dermatite interdigital e estende-se até envolver grandes áreas da matriz do casco, com conseqüente descolamento do mesmo. No FRB a infecção é confinada principalmente à pele interdigital, atingindo o mínimo de tecido córneo adjacente (EGERTON, 1997).

2.1 Etiologia

O agente transmissor do FR é o *Dichelobacter nodosus*, uma bactéria Gram-negativa, não esporulada, obrigatoriamente anaeróbica e que se apresenta na forma de bastão. É um parasita obrigatório e seu único habitat é a epiderme interdigital dos ruminantes afetados pela enfermidade, o microorganismo não sobrevive no ambiente mais que sete dias (EGERTON, 2007).

O *D. nodosus* apresenta-se ao microscópio como um bastão com as extremidades mais grossas, como se houvesse um gorro em cada extremidade do bastão, cada qual com coloração mais intensa que o restante da célula. Ao microscópio eletrônico o microorganismo mostra longos filamentos chamados de pili (fimbrias), que emanam das extremidades, essas estruturas estão relacionadas com a fração antigênica e com os sorogrupos (EGERTON, 2007; STEWART, 1973, 1978).

No laboratório o microorganismo cresce em culturas com atmosfera contendo 10% de dióxido de carbono em jarras de anaerobiose, apresenta um crescimento fastidioso, requerendo 10% de soro equino ou pó de casco ovino no ágar (ágar casco), ou TAS ágar (“trypticase, arginine and serine”) como aditivos para o ágar ou caldo (BEVERIDGE, 1938; THOMAS, 1958; SKERMAN, 1975).

Para o isolamento e identificação do agente as amostras devem ser coletadas diretamente das lesões interdigitais ou do casco, e processadas logo após a colheita. O isolamento primário é geralmente realizado em placas contendo ágar a 4% e as subculturas em ágar a 2%, pois concentrações de ágar acima de 3% restringem o tamanho e a dispersão das outras colônias que não o *D. nodosus*. O microorganismo cresce melhor na temperatura de 37 °C e as colônias aparecem nas placas entre quatro a seis dias após a semeadura (THORLEY, 1976).

A natureza infecciosa do FR é relatada desde 1892, no entanto, foi somente em 1941 que Beveridge descreveu pela primeira vez uma bactéria anaeróbica, inicialmente denominada de *Fusiformis nodosus*, como agente causador da enfermidade. Mais tarde o agente passou a ser designado como *Bacteroides nodosus* e atualmente é conhecido como *Dichelobacter nodosus* (RIBEIRO, 2007).

O *D. nodosus* não satisfaz todos os postulados de Koch, sob condições de campo uma seqüência particular de eventos devem ocorrer para que o casco torne-se predisposto à infecção:

- Exposição dos cascos à pastagem úmida,
- Hidratação e hiperqueratose do estrato córneo da epiderme interdigital,
- Crescimento bacteriano na epiderme interdigital,
- Invasão bacteriana, incluindo aeróbios e o *Fusobacterium necrophorum*,
- Desenvolvimento de uma dermatite interdigital.

O *D. nodosus* é considerado o agente essencial, indispensável, para que ocorra um surto de FR, entretanto a presença do *F. necrophorum* é fundamental para a penetração do *D. nodosus* na epiderme interdigital (BEVERIDGE, 1941; EGERTON et al., 1969). A epiderme interdigital, que é o sítio primário da infecção, deve estar devidamente desvitalizada para que ocorra, posteriormente, a invasão bacteriana. Essa condição é usualmente obtida através da prolongada exposição à umidade e contaminação fecal. Para o estabelecimento do *D. nodosus* é necessário que ocorra, anteriormente ou simultaneamente, a infecção com o *F. necrophorum* para facilitar a invasão da epiderme (EGERTON et al., 1969; ROBERTS; EGERTON, 1969).

Dessa maneira, o desenvolvimento de novos casos de FR necessita:

- Pastagem úmida e fezes, a fonte de *F. necrophorum*,
- Temperaturas ambientais que favoreçam o crescimento bacteriano,
- Presença no rebanho de amostras virulentas do *D. nodosus*.

O *F. necrophorum* é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbica, não formadora de esporos, que se apresenta sob a forma de bastão, é um habitante normal do trato digestivo dos ovinos e está presente no ambiente. Segundo Zhou et al. (2009) enquanto várias estirpes de *D. nodosus* com distintos sorogrupos (até sete sorogrupos em um mesmo casco) podem infectar o casco de um ovino, 13 de 14 amostras de ovinos com FR foram positivas para *F. necrophorum*, e apenas uma cepa foi isolada de cada caso, sugerindo um comportamento distinto dos dois agentes.

2.1.1 Sorogrupos e sorotipos

Atualmente existem dois sistemas para a classificação sorológica do *D. nodosus*. Um sistema descrito no Reino Unido classifica o microorganismo em 17 sorogrupos (A ao R sem o I) sem a identificação de sorotipos, enquanto que outro sistema, descrito na Austrália, descreve 10 sorogrupos (A ao I e o M) e identifica alguns sorotipos, totalizando 19 subtipos (Figura 1). Alguns sorotipos do sistema Australiano, particularmente B₂, B₃ e B₄, são classificados como distintos sorogrupos no sistema utilizado no Reino Unido (CLAXTON et al., 1983; CLAXTON, 1986; DAY et al., 1986; GHIMIRE et al., 1998; RIBEIRO, 1981; SCHMITZ; GRADIN, 1980; THORLEY; DAY, 1986).

Sorogrupos	A	B	C	D	E	F	G	H	I	M
Sorotipos	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁	E ₁	F ₁	G ₁	H ₁	I ₁	M ₁
	A ₂	B ₂	C ₂		E ₂	F ₂	G ₂	H ₂		
		B ₃								
		B ₄								

Figura 1 - Sorogrupos e sorotipos do *Dichelobacter nodosus* atualmente reconhecidos na Austrália.

A sorotipagem é altamente importante na produção de vacinas, pois a proteção cruzada é bastante limitada entre distintos sorogrupos. A existência de um sistema de classificação que permite com relativa facilidade, através de reações sorológicas, a sorotipagem das amostras, pode ser utilizado como um marcador epidemiológico para identificar a infecção por cepas de *D. nodosus* dentro de um rebanho ou entre rebanhos diferentes. Essa informação é importante, porém existem evidências que o sorogrupo de

uma amostra de *D. nodosus* pode mudar, através de recombinação genética, se durante um surto da doença a infecção por vários sorogrupos estiver presente (GUIMIRE; EGERTON, 1999).

2.2 Patogenia

Os experimentos de Egerton et al. (1969) e Roberts e Egerton (1969) comprovaram que o FR é causado pela associação sinérgica de, no mínimo, duas bactérias: *D. nodosus* e *F. necrophorum*, cada qual contribuindo de modo significativo para a patogenia da enfermidade. Esses mesmos trabalhos demonstraram que sem a presença do *D. nodosus* a doença não ocorre.

A Figura 2 mostra a seqüência de eventos e a participação dos dois agentes na patologia do FR.

Agente/evento	Seqüência	Ação
<i>F. necrophorum</i> Evento 1 Evento 3	1	Invasão inicial e superficial, causando uma leve lesão na epiderme interdigital.
	2	Estabelecimento do <i>D. nodosus</i> na lesão inicial.
	3	Invasão mais profunda do <i>F. necrophorum</i> após estabelecimento do <i>D. nodosus</i> na lesão.
<i>D. nodosus</i> Evento 2 Evento 4 Evento 5	4	O <i>D. nodosus</i> produz um fator nutritivo que aumenta a capacidade de crescimento e destruição do <i>F. necrophorum</i> .
	5	O <i>D. nodosus</i> lidera o processo de invasão da junção pele-casco e inicia o processo de descolamento do casco.

Figura 2 – Seqüência de eventos envolvidos na patologia do footrot.

O *F. necrophorum* apresenta intensas, porém breves ondas de crescimento, enquanto que o *D. nodosus* possui uma capacidade de crescimento persistente, mesmo que lento, em presença de nutrientes limitados, conferindo-lhe a habilidade de persistir na lesão e sustentar a infecção por longos períodos, causando manqueira crônica (ROBERTS; EGERTON, 1969).

Nas fases iniciais da enfermidade, antes do *D. nodosus* alcançar a junção pele-casco, sua ação inflamatória e sua capacidade destrutiva são pequenas. No entanto, após atingir a junção pele-casco, ele passa a exibir uma grande afinidade pelas células epidermais da matriz do casco associado à capacidade de produzir altos níveis de uma protease termoestável. O *D. nodosus* é o único agente capaz de iniciar a invasão bacteriana da matriz do casco e desse modo causar o descolamento da parte córnea do casco causando danos ao tecido epidérmico subjacente (BEVERIDGE, 1941; DEANE; JENSEN, 1955; EGERTON et al., 1969).

Até pouco tempo atrás, alguns pesquisadores atribuíam ao *F. necrophorum* o papel de único agente infeccioso causador de surtos agudos de severa claudicação em alguns casos de dermatite interdigital em ovinos (“scald”), pesquisas recentes sugerem que o *D. nodosus* desempenha um papel importante no início da patologia, antes de iniciar o processo de descolamento do casco, fato que nem sempre ocorre, dependendo da virulência da amostra de *D. nodosus*. É questionável se o *F. necrophorum*, na ausência do *D. nodosus*, pode causar lesões com gravidade suficiente para causar aguda e severa claudicação. Trabalhos recentes demonstraram a presença de *D. nodosus* em muitos casos de dermatite interdigital ovina (“scald”), independente da severidade das lesões (MOORE et al., 2005a).

Casos de dermatite interdigital (infecção da pele entre os cascos) poderão ou não transformar-se em FR, isso vai depender de alguns fatores como: a população de *D. nodosus* envolvida, a virulência da amostra de *D. nodosus*, a suscetibilidade dos ovinos e precocidade do tratamento, que pode ser realizado antes do descolamento do casco ocorrer.

Existem 19 sorotipos de *D. nodosus* classificados dentro de 10 sorogrupos (A - I e o M), a virulência varia entre e dentro dos sorotipos e está associada ao número de pili, a ocorrência de “twitching motility” e a secreção de proteases termoestáveis que habilitam o agente a digerir a matriz do casco (BILLINGTON et al., 1996; CLAXTON, 1986; KENNAN et al., 2001; PALMER, 1993).

A virulência do *D. nodosus* está associada a colônias fimbriadas e com a produção de protease e elastase (DEPIAZZI; RICHARDS, 1979; STEWART, 1979).

2.3 Patologia

As primeiras investigações de Beveridge (1941) sobre a patologia do processo inflamatório no FR, indicaram como causas principais o acúmulo progressivo de exsudato nos espaços intercelulares produzindo cavidades, atrofia celular progressiva e descolamento da camada córnea do epitélio.

Deane e Jensen (1955) identificaram uma degeneração das camadas do epitélio, notadamente da camada granulosa e áreas superficiais da camada espinhosa. Em lesões recentes foram identificadas as seguintes patologias: degeneração hidrópica, necrose de células epiteliais e formação de grandes vacúolos com infiltração de leucócitos. Em lesões mais avançadas foi encontrada, extensa degeneração liquefativa, necrose das células epiteliais da borda da lesão na camada granulosa e células superficiais da camada espinhosa.

Os estudos de Thomas (1962a) demonstraram uma grande quantidade de *D. nodosus* invadindo o estrato lúcido, mas não foi observada a penetração do agente no estrato granuloso e no estrato espinhoso, embora as células dessas regiões evidenciassem degeneração citoplasmática. Os danos como, degeneração, descolamento, digestão liquefativa parcial das células queratinizadas do estrato lúcido e do estrato espinhoso, assim como a formação de seios e focos de necrose no casco foram associados diretamente à ação do *D. nodosus*. Esses danos foram considerados como sendo causados pela digestão de proteases queratolíticas produzidas pelo *D. nodosus*.

Os experimentos de Hine (1984) confirmaram os achados de Thomas (1962a), sugerindo que o descolamento do casco ocorre pelo ataque bacteriano direto. Esses estudos histológicos demonstraram consistentemente a associação entre o *D. nodosus* e o ponto de ruptura que se localiza na interface entre o estrato lúcido e o estrato granuloso da epiderme do casco.

2.4 Fatores de virulência

Muitas características *in vitro* do *D. nodosus* tem sido relacionadas como potenciais fatores de virulência, entre elas podemos citar: morfologia da colônia, fimbriação, “twitching motility”, corrosão do ágar e a presença de um material polar difuso na superfície da célula (DEPIAZZI; RICHARDS, 1985; DEPIAZZI et al.,1990). Alguns

genes associados à virulência também foram objeto de estudo, entretanto convém salientar que a totalidade dos fatores responsáveis pela virulência do *D. nodosus* não foram ainda completamente definidos (KATZ et al., 1991; KENNAN et al., 2001; ROOD et al., 1996; WHITLE et al., 1999).

2.4.1 Fimbriação

As pili são expansões protéicas da parede bacteriana, são estruturas curtas e finas que muitas bactérias Gram-negativas apresentam em sua superfície, e estão relacionadas com a capacidade de adesão do agente bacteriano. Em uma grande variedade de bactérias, a presença das fimbrias está associada à virulência. No *D. nodosus* o papel das fimbrias na fixação e colonização da pele ainda não foi demonstrado, porém o grau de fimbriação está correlacionado com virulência de cada amostra isolada (EVERY; SKERMAN, 1983; SKERMAN et al., 1981; STEWART; EGERTON, 1979). Entretanto, os trabalhos de Depiazzi e Richards (1985) e Stewart et al. (1986a) demonstraram a existência de algumas cepas benignas de *D. nodosus* com presença de fimbrias, ou seja, nem sempre essa correlação é absoluta.

2.4.2 “Twitching motility”

Algumas bactérias são capazes de movimentar-se sem a utilização dos flagelos, utilizando determinadas fimbrias ou pili podem mover-se através de superfícies úmidas e sólidas. A fimbria polar tipo IV realiza movimentos de extensão, fixação e retração (contração), como se fosse um gancho, permitindo a bactéria um movimento de translocação, esse tipo de movimento é conhecido como “twitching motility” (MATTICK, 2002).

Os trabalhos de Depiazzi e Richards (1985) demonstraram que “twitching motility” é mais comum em amostras virulentas do que em amostras benignas do *D. nodosus*.

Experimentos recentes de Han et al. (2008) comparando amostras mutantes de *D. nodosus*, que perderam a capacidade de realizar “twitching motility”, mas mantiveram a capacidade de aderência e secreção de proteases, contra amostras que possuíam esses três fatores de virulência, confirmaram que “twitching motility” mediada pela fimbria polar tipo IV é um fator essencial para que o *D. nodosus* cause FR em ovinos, pois as amostras mutantes tornaram-se avirulentas.

2.4.3 Ágar corrosão

Vários autores observaram uma corrosão do ágar abaixo da colônia de *D. nodosus* em crescimento em meio de ágar sólido (BEVERIDGE, 1941; EGERTON; PARSONSON, 1966; STEWART et al., 1986a).

A propriedade de causar corrosão no ágar foi correlacionada por Stewart et al. (1986a) com a virulência do agente. Whittington (1994) sugeriu que a ação corrosiva do *D. nodosus* sobre o ágar deve-se provavelmente a produção de enzimas extracelulares que degradam polissacarídeos. Outras investigações sobre esta característica de algumas cepas de *D. nodosus* não foram realizadas.

2.4.4 Proteases extracelulares

O primeiro relato sobre a secreção de enzimas proteolíticas extracelulares por parte do *D. nodosus* coube a Thomas (1964a, b). Nesses e outros experimentos essas enzimas demonstraram a capacidade de degradar vários substratos como: caseína, azocaseína, elastina, pó de casco (THOMAS, 1964a), gelatina, fibrina (BROAD; SKERMAN, 1976; THOMAS, 1964b), “hide powder azure” (BROAD; SKERMAN, 1976; KORTT et al., 1982), colágeno I, colágeno III e α -queratina (GREEN, 1985a).

A secreção de proteases por parte do *D. nodosus* tem recebido especial atenção, *in vitro*, porque permite prever a virulência *in vivo* das cepas do agente bacteriano. Vários testes foram desenvolvidos para mensurar as características proteolíticas das proteases secretadas pelo *D. nodosus*, entre eles podemos citar: o teste da capacidade degradante das proteinases e seus derivados, o teste da elastase, o zymograma teste e o ELISA protease teste (DEPIAZZI; RICHARDS, 1979; EVERY, 1982; KORTT et al., 1982; LINKS et al., 1995; STEWART, 1979).

O teste que mede a capacidade degradante das proteinases (“the degrading proteinase test”) baseou-se na tendência que as proteinases, produzidas por amostras virulentas de *D. nodosus*, possuem de permanecerem estáveis durante a incubação da cultura a 37 °C, enquanto que as enzimas produzidas por amostras benignas demonstram uma capacidade menor de estabilidade nesse mesmo ambiente. Mais tarde verificou-se que as diferenças na estabilidade entre as proteases produzidas por amostras virulentas e benignas podem ser determinadas mais rapidamente em altas

temperaturas, e que essa estabilidade varia com a concentração de íons cálcio. Avanços que foram incorporados no teste de termoestabilidade das proteases (ALEXANDER, 1962; DEPIAZZI; ROOD, 1984; EGERTON; LAING, 1978; GREEN, 1985b).

O teste da elastase utiliza um meio de cultura sólido contendo elastina (principal proteína do tecido conjuntivo de estruturas elásticas) para comparar a atividade da elastase produzida por amostras virulentas e benignas de FR. Amostras elastase-positivas produzem um clareamento das partículas de elastina em seis a sete dias de cultura. Amostras elastase-negativas não produzem clareamento antes de 21 dias, ou 28 dias em alguns casos. Existe uma alta concordância entre os resultados obtidos com o teste da elastase e o teste da capacidade degradante das proteinases utilizando as mesmas amostras isoladas, e uma forte correlação entre os resultados encontrados no teste da elastase e as informações clínicas quanto à virulência das amostras isoladas de um surto de FR. Entretanto esses testes apresentam dificuldades quanto às amostras de *D. nodosus* isoladas de surtos de FRI (STEWART et al., 1982; STEWART et al., 1986b).

O zymograma teste é utilizado para distinguir entre amostras de *D. nodosus* virulentas e benignas, tendo como base um padrão desenvolvido através de eletroforese das enzimas extracelulares (proteases) da bactéria. Amostras virulentas produzem algumas bandas que as amostras benignas não produzem (GORDON et al., 1985). O ELISA protease teste utiliza anticorpos monoclonais contra virulentas proteases e benignas proteases (WHITTINGTON; EGERTON, 1994).

Em geral existe uma boa concordância de resultados entre os diferentes testes utilizados para classificar amostras virulentas e benignas de *D. nodosus*. Entretanto, essa mesma correlação não ocorre com amostras de *D. nodosus* que causam FRI.

2.4.5 Regiões do gene específicas para virulência

Os experimentos de Katz et al. (1991, 1992) possibilitaram a identificação de três regiões do genoma do *D. nodosus* que ocorrem em alta frequência em amostras virulentas, e com baixa frequência em amostras benignas. Essas regiões foram nomeadas de “vap regions” (“virulence associated protein”). Haring et al. (1995) demonstraram a existência de “vrl” ou “virulence-related locus”, isto é, uma seqüência do DNA também presente em muitas amostras de *D. nodosus*.

Rood et al. (1996) utilizou 771 amostras de *D. nodosus* para demonstrar que há uma alta correlação entre técnicas que utilizam biologia molecular e os métodos tradicionais para identificar amostras virulentas e benignas de *D. nodosus*. Nesses experimentos foram utilizados os plasmídeos recombinantes pJIR318, pJIR314B e pJIR313, os quais contêm em seu genoma “vap” ou “vrl” regiões. Os métodos tradicionais utilizados para comparação de resultados foram o teste da elastase, o teste da termoestabilidade das proteases, o zymograma teste e morfologia das colônias, amparados por evidências clínicas dos surtos de onde foram coletadas as amostras do agente do FR.

2.5 Epidemiologia

O FR é uma enfermidade infecciosa que afeta ovinos de todas as raças, sexos e idades, e está presente em todos os países onde ovinos são criados comercialmente, causando graves problemas, como: perda de peso, perdas que se refletem na quantidade e qualidade do velo e diminuição da fertilidade dos rebanhos. Na Austrália, alguns trabalhos científicos mostraram uma redução de 8 a 10% no crescimento da lã e uma redução média de 11% no peso vivo (MARSHALL et al., 1991a; SIMONS, 1978). Ovinos da raça Merino são mais suscetíveis e animais adultos são mais atingidos que cordeiros. Caprinos também são afetados pela doença (JENSEN; SWIFT, 1982).

No Brasil a enfermidade é endêmica, afetando rebanhos ovinos e caprinos, ocasionando severas perdas na produtividade. No Estado do Rio Grande do Sul (RS), existem poucas informações sobre a mensuração das perdas causadas pelo FR, Coe (1991), comparando um grupo de ovelhas não infectadas e infectadas de um mesmo rebanho, observou prenhez em 91% das ovelhas do primeiro grupo contra 74% de prenhez nas ovelhas do segundo grupo. Ribeiro (1978, 1985) demonstrou que o FR é endêmico em rebanhos ovinos gaúchos, apresentando dados epidemiológicos e sugestões para o controle da doença, demonstrou a presença do FR em rebanhos de 42 municípios que englobam 85% da população ovina do RS.

A incidência variável do FR deve-se principalmente a variações climáticas, em especial a umidade da pastagem e a temperatura ambiente. A doença alcança maior gravidade durante a primavera, quando o tempo é quente e úmido e a umidade é de duração considerável. Na Austrália, a transmissão está associada com chuvas e pastagens luxuriantes, que lá ocorrem no outono e primavera. Alguns trabalhos apontam

que as chances de ocorrência da infecção são bastante reduzidas quando a temperatura ambiente se encontra abaixo de 10 °C (RIBEIRO, 2007).

A fonte de infecção do FR são as secreções do casco ovino infectado, que contamina o solo e persiste viável por no máximo sete dias, visto que o *D. nodosus* não é esporulado, um aspecto de grande importância no controle da doença. Muitos ovinos infectados recuperam-se espontaneamente, mas cerca de 10% persistem como portadores crônicos e não clínicos por muitos anos (BLOOD; RADOSTITS, 1991).

Egerton et al. (1983) observaram uma morbidade em torno de 70% em ovinos naturalmente infectados, durante três anos sucessivos, em uma mesma fazenda. Nesse período identificaram três classes distintas de animais em relação à suscetibilidade ao FR: um grupo, de aproximadamente 20% do rebanho, que nunca adoece; um segundo grupo de animais, que apresenta lesões podais no início do período de transmissão e permanece infectado; e um terceiro grupo de ovinos, que se infecta tardiamente e que cura naturalmente, com o advento de condições climáticas secas. A proporção de animais em cada grupo parece ser estabelecida através da relação agente/hospedeiro.

Segundo Egerton (1971) depois que um rebanho ovino tem o primeiro contato com a doença, há uma tendência de apresentar uma morbidade mais baixa e uma redução no percentual de casos graves em surtos posteriores. A infecção causa um aumento no título de anticorpos humorais, porém os títulos são baixos e passageiros, não suficientes para prevenir infecções posteriores (EGERTON; ROBERTS, 1971).

2.6 Sinais clínicos

Ovinos suscetíveis desenvolvem claudicação em um ou mais membros dentro de 10 a 20 dias após a entrada em áreas infectadas pelo agente do FR (JENSEN; SWIFT, 1982). O principal sinal clínico do FR é a claudicação, que pode ser grave. A manqueira grave dos membros anteriores pode levar os animais a pastarem ajoelhados, fazendo com que os ovinos permaneçam longos períodos deitados, favorecendo o surgimento de abscessos e miíases na região esternal. Os animais afetados perdem as condições corporais. Carneiros com o processo nas patas posteriores podem tornar-se incapazes para o serviço reprodutivo, assim como ovelhas com lesões nestes membros ficam incapacitadas para suportar o peso de um macho durante o serviço (EGERTON, 1997; RIBEIRO, 2007).

Inúmeras variáveis estão envolvidas nas manifestações clínicas do FR em ovinos e caprinos, ocasionando desde lesões benignas até formas de alta gravidade, com severas conseqüências para os animais afetados. Na intenção de facilitar os procedimentos diagnósticos, foram desenvolvidos sistemas para mensurar a gravidade das lesões causadas pelo FR. A Figura 3 mostra o sistema desenvolvido por Egerton e Roberts (1971), que é muito utilizado para classificar as lesões do rebanho em diagnósticos de campo.

Escore	Lesão
0	Casco normal.
1	Inflamação ou necrose não específica da epiderme interdigital.
2	Inflamação mais severa da epiderme interdigital, devida a infecção por <i>Dichelobacter nodosus</i> .
3	Qualquer lesão em qualquer pata que resulte em descolamento da parte macia do casco ou da sola.
4	Qualquer lesão que cause descolamento da parte dura do casco.

Figura 3 – Classificação das lesões do footrot conforme sua gravidade (EGERTON; ROBERTS, 1971)

Clinicamente o FR é classificado em três formas:

- Footrot virulento (FRV) – essa classificação é definida quando mais de 10% dos ovinos apresenta lesões com descolamento da parte dura do casco (escore 4). Neste nível da enfermidade a claudicação é suficiente para produzir perdas no ganho de peso e afeta a produtividade geral dos animais.
- Footrot intermediário (FRI) – neste caso, os ovinos que apresentam escore 4 situam-se numa faixa de amplitude entre 1 a 10% do rebanho. A gravidade das lesões é menor e a necrose é menos evidente. É uma forma da doença mais moderada que o FRV, e, com exceção dos ovinos severamente afetados, o restante do rebanho recupera-se espontaneamente assim que as condições climáticas ficarem secas.
- Footrot benigno (FRB) – nesta forma da doença a infecção está restrita a epiderme interdigital em todos ou em quase todos os ovinos afetados. Como regra geral, menos de 1% dos ovinos apresentam escore 4, e somente

amostras benignas de *D. nodosus* são isoladas desses surtos (EGERTON et al., 1989).

O FR inicia-se com uma inflamação da epiderme interdigital, que causa uma claudicação ligeira que aumenta à medida que a necrose invade o tecido córneo da fenda interdigital. Com o avanço da enfermidade, a infecção progride até atingir a matriz do casco, causando descolamento de algumas áreas. A necrose epidérmica e a separação de porções do estojo córneo se propagam ao talão e à sola e, finalmente, à parede externa do casco. Em alguns casos o casco fica ancorado somente pela coroa, e pode destacar-se. O tecido necrosado possui um odor característico. A miíase é uma seqüela comum. Uma reação sistêmica, que se manifesta por anorexia e febre, pode ocorrer em casos graves. Os animais em decúbito sofrem emaciação e muitos morrem de fome (EGERTON et al., 1989; RIBEIRO, 2007).

A morbidade em rebanhos afetados gira em torno de 70%, mas a mortalidade é desprezível. Em casos não tratados o curso da doença dura de algumas semanas até três meses ou um pouco mais. Em alguns animais a enfermidade persiste por anos, em outros a infecção pode ficar escondida em pequenos bolsões dentro do casco, onde é detectada somente após um desbaste extenso, esses ovinos atuam como portadores sub-clínicos. Quando o ambiente externo fica úmido esses bolsões tornam-se ativos dentro do casco, podem se abrir e contaminar o solo (BLOOD; RADOSTITS, 1991; EGERTON, 1997).

2.7 Diagnóstico

O diagnóstico do FR baseia-se nos aspectos epidemiológicos, nos sinais clínicos característicos e nos achados laboratoriais.

Uma doença de alta morbidade, de caráter crônico e recidivante, que gera claudicação causada por uma dermatite interdigital com posterior descolamento do casco, associada à épocas quentes e úmidas do ano, nos faz suspeitar de FR. O diagnóstico laboratorial é feito através da observação do *D. nodosus* em esfregaços corados pela técnica de Gram ou por imunofluorescência. O agente pode, também, ser isolado em meio seletivo (RIBEIRO, 2007).

Como o FR pode se expressar de formas diversas no rebanho, FRB, FRI ou FRV, dependendo da virulência da amostra de *D. nodosus* que está ocasionando o surto, uma avaliação criteriosa das lesões deve ser o ponto de partida para o diagnóstico da

gravidade da doença, pois isto determinará o tipo de intervenção que será recomendada pelo médico veterinário. A classificação da virulência da doença será baseada na prevalência de ovinos com lesão escore 4 em relação ao número de ovinos expostos ao FR (ABBOTT; LEWIS, 2005).

O diagnóstico diferencial deve considerar doenças que causam claudicação em ovinos. Na Figura 4 estão listadas as principais enfermidades que podem ser confundidas com FR, e as características que justificam a sua eliminação como causa provável de diagnóstico nesse caso.

Doença	Epidemiologia	Lesões podais	Outras lesões	Outros sinais clínicos	Resposta ao tratamento	Diagnóstico microbiológico
Ectima Contagioso	Ocorre mais em cordeiros ou adultos não vacinados durante a lactação. Alta morbidade	Lesões proliferativas elevadas com crostas na coroa do casco	Lesões quase sempre ao redor da boca	Claudicação moderada	Nenhuma	Nenhum
Dermatofilose	Ocorre após períodos intensos de chuva. Baixa morbidade	Lesões proliferativas na coroa do casco e carpo	Lã aglutinada na região lombar com crostas cônicas. Lesões crostosas na face e orelhas	Não há prurido. A claudicação, quando ocorre, é de grau leve	Boa resposta ao uso da penicilina G associada à estreptomomicina. Oxitetraciclina também é efetiva	<i>Dermatophilus congolensis</i>
Manqueira pós-banho	Doença aguda que ocorre 2 a 4 dias após banho de imersão. Alta morbidade	Alopecia e eritema na região da coroa do casco, quartela e boleto	Não há	Febre, anorexia e perda de peso	Recuperação espontânea em 10 a 14 dias. Responde bem à penicilina G	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>
Abscesso de pé	Ovinos adultos, geralmente menos de 10% são acometidos. Maior gravidade nas estações úmidas	Infecção purulenta da articulação interfalangiana distal, geralmente em um só membro	Não há	Claudicação muito grave	Boa resposta ao uso de sulfonamidas associadas ao trimetoprim ou penicilina G associada à estreptomomicina	<i>Fusobacterium necrophorum</i> e <i>Arcanobacterium pyogenes</i>

Figura 4 – Doenças que causam claudicação em ovinos (EGERTON, 2007; RIBEIRO, 2007).

Existe alguma confusão entre o diagnóstico de “scald” (pé escaldado ou dermatite interdigital ovina) e algumas formas de FR. Segundo alguns autores, “scald” ou dermatite interdigital ovina é uma enfermidade de natureza benigna, que causa uma

condição necrosante da pele interdital, causada pela infecção com *F. necrophorum*, que cura espontaneamente com a chegada do tempo seco (RIET-CORREA, 2007; THOMAS, 1962b).

Na experiência de Abbott e Lewis (2005), sempre que foram chamados para atender casos clínicos diagnosticados à campo como sendo “scald”, em que havia significativa claudicação, o agente do FR foi isolado da epiderme interdital e algum ovino do rebanho apresentava descolamento do casco. Muitos pesquisadores questionam se o *F. necrophorum*, na ausência do *D. nodosus*, pode causar lesões com gravidade suficiente para causar aguda e severa claudicação. Moore et al. (2005a) citam vários experimentos recentes que demonstraram a presença de *D. nodosus* em muitos casos de dermatite interdital ovina (“scald”), independente da severidade das lesões.

Recentemente uma nova enfermidade que causa severa claudicação em ovinos foi registrada no Reino Unido, foi denominada como dermatite digital ovina contagiosa (CODD) e sua etiologia ainda suscita alguma confusão. Alguns trabalhos sugerem que *Treponemas* participam de alguma forma na patogenia da enfermidade, e, aparentemente, o *D. nodosus* não está envolvido. A infecção começa na região da coroa do casco e não na epiderme interdital como no FR (MOORE et al., 2005b; SAYERS et al., 2009).

2.8 Tratamento

O tratamento do FR baseia-se no uso de drogas antimicrobianas através de aplicações tópicas e/ou parenterais, vacinação e medidas de manejo. E pode ser direcionado ao controle temporário da enfermidade ou à sua erradicação do rebanho. Durante o período chuvoso o controle temporário deve ser o objetivo, deixando a metodologia utilizada na erradicação para o período seco, quando a possibilidade de sucesso será maior (RIBEIRO, 2007).

A estratégia de tratamento desta enfermidade deve ser elaborada de modo consensual entre o médico veterinário e o proprietário do rebanho, baseando-se na relação custo/benefício, que levará em conta os diversos aspectos econômicos envolvidos em cada situação específica (RODRIGUES et al., 2001; SALMAN et al., 1988).

Uma série de medidas terapêuticas poderão ser utilizadas, e essa escolha dependerá de fatores como época do ano (regime de chuvas e temperatura), número de animais

acometidos, gravidade das lesões, mão-de-obra disponível, instalações adequadas, número de poteiros, etc. Entre essas medidas podemos destacar o isolamento dos animais enfermos, apara dos cascos, pedilúvio com drogas antimicrobianas, antimicrobianos de uso parenteral, vacinação e descarte de animais cronicamente infectados (HOISE, 2004; RIBEIRO, 2007; SALMAN et al., 1988).

Conforme Egerton (2007) a estratégia global da terapia será determinada pelo diagnóstico de FRB ou FRV no rebanho. No primeiro caso o uso de pedilúvio com drogas antimicrobianas sem necessidade de casqueamento é suficiente para controlar a manqueira. Uma estrutura com seis metros de comprimento e 10 cm de profundidade, contendo sulfato de zinco a 10%, com as ovelhas passando lentamente pelo lava-pés é adequada. Se as condições ambientais forem favoráveis ao FR, o pedilúvio deve ser repetido semanalmente até que os sinais de claudicação diminuam. No segundo caso, FRV, uma apara de cascos cuidadosa será necessária para que o tratamento tópico em pedilúvio tenha êxito. O manejo do rebanho após os tratamentos será bem mais complexo.

A apara dos cascos ou casqueamento é utilizada para remover o tecido córneo do casco que cresceu de modo excessivo ou que sofreu descolamento durante a infecção pelo FR. Em muitos países, os criadores de ovinos realizam o casqueamento do rebanho como uma estratégia para o controle do FR, e uma grande parcela desses criadores considera que o casqueamento pode prevenir o surgimento do FR no rebanho (WASSINK; GREEN, 2001). Entretanto, não existe qualquer evidência que suporte essa crença, o conhecimento sobre a maneira como a doença desenvolve-se num casco recentemente infectado e os experimentos de campo apontam que o casqueamento não exerce um papel preventivo no desenvolvimento do FR (EGERTON et al., 1969; LEWIS; STUBBINGS, 2003; WASSINK et al., 2003). A infecção pelo FR pode conduzir ao crescimento excessivo do casco e a sua deformidade, entretanto o crescimento excessivo do tecido córneo e posterior deformação do casco não conduzem ao FR (STEWART, 1989).

Em geral, a apara cuidadosa dos cascos, antes do tratamento tópico com produtos antimicrobianos, melhora a eficácia do tratamento contra o FR (LAMBELL et al., 1986; SKERMAN et al., 1983a).

2.8.1 Tratamento tóxico

A aplicação de drogas antimicrobianas individualmente em ovinos é muito demorada e deve ser reservada para aquelas ocasiões em que a apara dos cascos é necessária, e cada ovino será manipulado e “sentado” para tal finalidade. Em geral, o uso de antimicrobianos em pedilúvio é o modo mais rápido para tratar um grande número de ovinos e facilita a repetição dos tratamentos (STEWART, 1989).

Tradicionalmente, os tratamentos curativos envolvem um desbaste cuidadoso do casco, para que todo tecido córneo afetado seja removido e para que todo tecido necrosado seja exposto, e aplicação de produtos químicos no pedilúvio. As soluções mais utilizadas são formalina 5 a 10%, sulfato de cobre 5 a 10% e sulfato de zinco 10 a 20%. Outros produtos feitos exclusivamente para o tratamento do FR em ovinos incluem uma solução de sulfato de zinco/lauril sulfato de sódio (Footrite ®) e uma solução de CHF – 1020 a 10% (nitrato de cobre trihidratado/cloridrato de cobre dihidratado em água) (Radicate ®) (MALECKI; COFFEY, 1987; REED; ALLEY, 1996; RIBEIRO, 2007). Existem, no mercado de produtos veterinários, soluções bactericidas prontas para uso, para aplicação por aerossol, que são utilizadas no tratamento de um número reduzido de animais.

A formalina, formol ou formaldeído, solução a 37%, é um composto líquido claro, com variadas aplicações, sendo utilizada como preservativo, desinfetante e anti-séptico. A formalina é utilizada no pedilúvio em concentrações que variam de 2,5 a 10%. O produto deve ser diluído para o pedilúvio sem levar em consideração a sua concentração (37%), ou seja, para preparar uma solução a 10% devemos colocar uma parte de formalina para nove partes de água. A sua utilização é um tanto desagradável, devido ao seu odor irritante e o risco de provocar injúrias oculares, reações alérgicas e dermatites, além de ser potencialmente cancerígena para o homem quando inalada (ABBOTT; LEWIS, 2005). Em ovinos, tratamentos freqüentes com formalina no pedilúvio, particularmente em concentrações acima de 10%, causam severa queratinização da pele do espaço interdigital, podendo levar a infecções e claudicação (HOOPER; JONES, 1972).

A formalina possui uma ação bactericida, sendo efetiva no tratamento do FR em concentrações tão baixas como 2,5%, e tem a grande vantagem de manter a sua eficácia em presença de matéria orgânica como fezes e urina (STEWART, 1954).

O sulfato de cobre é efetivo no pedilúvio em concentrações que variam de 5 a 10%, entretanto seu uso tem diminuído por manchar a lã, ser corrosivo para metais, apresentar o risco potencial de causar intoxicação pelo cobre e sofrer redução na sua eficácia quando em presença de matéria orgânica (KIMBERLING; ELLIS, 1990; STEWART, 1954).

Muitos trabalhos registram a eficácia do sulfato de zinco no pedilúvio, em soluções de 10 a 20%, destacando suas vantagens em relação ao sulfato de cobre e a formalina. Alguns trabalhos demonstram um aumento na sua eficácia quando é adicionado à solução um surfactante como o lauril sulfato de sódio a 1%, que aumenta a penetração do sulfato de zinco no tecido córneo do casco, diminuindo a necessidade do casqueamento desde que o tempo que o ovino permaneça no pedilúvio seja aumentado (LAMBELL et al., 1986; MALECKI; COFFEY, 1987; MALECKI; McCAUSLAND, 1982).

Alguns pesquisadores realizaram experimentos sobre o tempo que os ovinos devem permanecer no pedilúvio, de modo que possa ser efetivo o contato entre a droga disponibilizada no pedilúvio e os agentes causadores do FR. Assim temos várias recomendações, 2 minutos (SKERMAN et al., 1983b), 5 minutos (SKERMAN et al., 1983a), 30 minutos no sulfato de zinco (MULVANEY et al., 1986), 1 hora quando utilizado o sulfato de zinco a 20% com surfactante, sem apara de cascos (MALECKI; COFFEY, 1987). Na grande maioria dos trabalhos não houve uma preocupação em determinar um tempo ideal de exposição dos ovinos ao pedilúvio, em geral tratamentos utilizando tempos menores que 2 minutos obtiveram sucesso, pois os tratamentos eram repetidos com frequência, diariamente, a cada 2-3 dias, ou semanalmente, por 2-6 semanas (CROSS; PARKER, 1981; PARAJULI; GODDARD, 1989).

Conforme Egerton (2007) em pedilúvio com comprimento entre seis a doze metros, com os ovinos progredindo lentamente através da solução do banho, o contato com a droga antimicrobiana será efetivo no tratamento do FR. Existem algumas recomendações provenientes de observações de campo sobre a limpeza dos cascos, quando necessária, antes da passagem no pedilúvio contendo produtos químicos, ou seja, caminhada em piso duro com posterior passagem em pedilúvio contendo somente água. Da mesma forma é sugerido que após o banho os ovinos permaneçam em piso seco, pedra ou concreto, por um tempo entre 15 minutos a 2 horas (HOSIE, 2004; REED; ALLEY, 1996; SKERMAN et al., 1983a).

Recentemente, durante um “workshop” sobre “Footrot and lameness in sheep”, que contou com a participação de 14 veterinários especializados nesse tema, foram relacionadas algumas medidas que devem ser seguidas para que o pedilúvio seja efetivo no tratamento do FR:

- Utilização de formalina a 3% com os ovinos passando lentamente pelo pedilúvio (de preferência com oito metros de comprimento), ou a utilização de sulfato de zinco a 10% com os ovinos permanecendo com os cascos imersos na solução por 30 minutos no mínimo,
- Os ovinos devem passar em pedilúvio com água antes de passar no pedilúvio com o produto antimicrobiano, para remover sujidades dos cascos,
- Após o pedilúvio devem permanecer em um local seco, de concreto ou de pedra,
- Escolher um dia seco para realizar o pedilúvio,
- Mover os ovinos para uma pastagem limpa, que esteja no mínimo cinco dias sem ovinos.

A repetição do tratamento é necessária durante o período de transmissão da doença, sendo que o número de tratamentos no pedilúvio é variável entre o grupo de animais infectados e não infectados. O intervalo entre os tratamentos pode ser a cada cinco dias ou no máximo a cada 14 dias, caso os ovinos estejam sendo colocados em pastagens limpas entre cada tratamento. Muitos trabalhos apontam percentuais de cura entre 50 a 80 % com a utilização de drogas antimicrobianas no pedilúvio (HOSIE, 2004).

2.8.2 Tratamento parenteral

A utilização de drogas antimicrobianas de uso parenteral, quimioterápicos e antibióticos, no tratamento do FR, geralmente é reservada, por motivos financeiros, para casos severos da doença ou para animais de alto valor econômico (KIMBERLING; ELLIS, 1990).

Alguns antimicrobianos demonstraram ser efetivos contra o FR, após uma única aplicação intramuscular (IM). Na Figura 5 estão identificados alguns antibióticos para uso na terapia do FRV.

Antibiótico	Dose	Carência
Penicilina G procaína + diidroestreptomicina	70.000 UI/kg + 70 mg/kg	28 dias
Oxitetraciclina L/A	20 mg/kg	42 dias
Lincomicina + espectinomicina	5 mg/kg + 10 mg/kg	28 dias

Figura 5 – Antibióticos parenterais em dose única para tratamento do footrot virulento (EGERTON, 2007).

Egerton et al. (1968) demonstraram a importância de manter os ovinos tratados com antimicrobianos parenterais em ambiente seco por no mínimo 24 horas após a injeção em dose única. Nesse experimento, ovinos tratados com penicilina G + diidroestreptomicina, conforme referido na Figura 5, que receberam uma leve apara nos cascos e passaram em pedilúvio com formalina a 5%, obtiveram taxa de cura acima de 92% quando mantidos em ambiente seco por 24 horas, contra taxa de cura de 70% nos ovinos que receberam o mesmo tratamento, porém retornaram à poteiros com pastagem úmida após a terapia. Nesse mesmo experimento, ovinos que receberam uma leve apara de cascos e passaram no pedilúvio com formalina a 5%, sendo mantidos em ambiente seco por 24 horas, porém não recebendo quimioterapia parenteral, obtiveram taxa de cura de 50%, demonstrando a importância e a eficiência da terapia parenteral. Esse experimento foi realizado em 585 ovinos com FR, destes, 455 ovinos receberam tratamento parenteral associado ou não a outros procedimentos, 80 ovinos foram tratados somente com formalina a 5% no pedilúvio e 50 ovinos não receberam qualquer tratamento.

Rendell e Callinan (1997) obtiveram 97 a 98,4% de sucesso no tratamento de ovinos com FR em três fazendas, com a utilização de sulfato de zinco a 10% no pedilúvio associado à oxitetraciclina na dose de 20 mg/kg IM. Nessas mesmas propriedades obtiveram de 93,7 a 98,7 de sucesso quando o antibiótico foi a eritromicina na dose de 10 mg/kg IM.

Sagliyan et al. (2008) obtiveram 92,5% de sucesso utilizando sulfato de zinco a 10% no pedilúvio por 15-20 minutos, a cada 2 dias, durante 2 semanas, associado a oxitetraciclina 20 mg/kg IM, 1 vez ao dia, durante 5 dias, contra 95% de sucesso utilizando o mesmo tratamento, porém com a associação da penicilina G procaína 20.000 UI/kg IM + diidroestreptomicina 20 mg/kg IM, 1 vez ao dia, durante 5 dias, como antibioticoterapia parenteral no tratamento de ovinos com FRV. Um terceiro

grupo que recebeu somente o tratamento tópico obteve uma taxa de cura de 45%. Um total 240 ovinos receberam os três tratamentos.

Ribeiro et al. (2008a) obtiveram uma taxa de cura de 78,6% com a utilização de Florfenicol na dose de 20 mg/kg IM, 2 aplicações com intervalo de 48 horas, mantendo os ovinos em campos alagadiços, e com uma precipitação pluviométrica de 300 mm durante os 20 dias de duração do experimento, 30 ovinos com FR foram tratados.

Segundo Ribeiro et al. (2008b) a enrofloxacin foi 100% efetiva no tratamento de 19 ovinos infectados com FR, de um rebanho de 472 ovinos criados em condições extensivas. Foi utilizada a dose de 500 mg/ovino IM, em dose única, independente do peso vivo. Durante o período de duração do experimento (30 dias) a precipitação pluviométrica foi de 133 mm.

Outros antimicrobianos podem ser utilizados, desde que indicados pelo antibiograma (EGERTON, 1997, 2007; MALECKI; McCAUSLAND, 1982; RIBEIRO et al., 2008a).

2.8.3 Vacinação terapêutica

A vacinação terapêutica é uma alternativa à antibioticoterapia parenteral e pode ser usada durante um surto de FR. A vacinação do rebanho é aconselhável durante o período de transmissão da doença (chuva e calor) se uma alta proporção do rebanho estiver infectado e houver um histórico de insucesso com os tratamentos convencionais nessas mesmas condições, nessa mesma propriedade. Uma única dose produz uma taxa de recuperação ao redor de 20%, e duas doses com intervalo de três a seis semanas causa recuperação em 80% do rebanho. A resposta clínica inicia dois a três dias após a vacinação, sendo uma alternativa importante, quando não houver condições para tratar e manejar o rebanho adequadamente (HOSIE, 2004).

2.9 Controle

O controle refere-se às estratégias que serão implantadas para prevenir ou restringir a taxa de transmissão do FR entre os ovinos de um rebanho infectado. Geralmente essas medidas são aplicadas um pouco antes ou durante o período de transmissão da doença. O principal objetivo é manter uma baixa incidência de casos de FR no rebanho e impedir que os animais com FR desenvolvam lesões severas (ABBOTT; LEWIS, 2005).

As duas ferramentas principais, utilizadas nos programas de controle, são o tratamento tópico via pedilúvio e a vacinação.

2.9.1 Tratamento tópico via pedilúvio

O uso de drogas no pedilúvio foi abordado anteriormente no texto, ao referirmos sobre tratamento tópico. Esse tipo de tratamento desempenha um papel muito importante nos programas de controle, pois inibe o desenvolvimento das lesões e reduz a contaminação do ambiente.

Ao iniciar um programa de controle devemos seguir alguns passos fundamentais:

- Examinar cuidadosamente as patas de todos os ovinos, realizando o casqueamento quando necessário,
- Separar os ovinos em dois grupos, animais sadios e animais infectados,
- O grupo não-infectado passará pelo pedilúvio com a droga escolhida, permanecendo algumas horas em piso seco, e depois será enviado a um potreiro sem ovinos há 14 dias,
- O grupo infectado sofrerá o mesmo processo, com a diferença de que passará pelo pedilúvio quatro vezes com intervalo de uma semana entre cada tratamento, e será colocado sempre em poteiros livres de ovinos no mínimo há uma semana,
- Os ovinos considerados intratáveis, crônicos, serão enviados ao abate,
- O grupo dos animais infectados será incorporado ao grupo dos animais sadios ao final do tratamento, se forem considerados curados, após minucioso exame dos cascos (RIBEIRO, 1995, 2007).

A formalina 5% e o sulfato de zinco 10% proporcionam um período de proteção muito curto (1-2 dias) após o pedilúvio (SKERMAN et al., 1983b), porém uma hora no pedilúvio contendo sulfato de zinco/ lauril sulfato de sódio proporciona proteção contra reinfecção acima de duas semanas (MARSHALL et al., 1991b).

2.9.2 Vacinação

A infecção natural com o FR produz uma resposta pequena no título de anticorpos contra a doença, insuficiente para proteger o ovino de reinfecções com amostras homólogas de *D. nodosus* (EGERTON; ROBERTS, 1971).

A primeira tentativa de imunização de ovinos contra o FR coube a Beveridge (1941), que inoculou uma ovelha três vezes por via subcutânea com uma cultura morta de *D. nodosus* e mais tarde desafiou esse ovino com material infectante de um caso natural de FR. Esse animal desenvolveu lesões da enfermidade, porém foram consideradas mais moderadas do que a forma usual da doença.

Egerton (1970) demonstrou a eficácia da vacinação contra o FR, tanto na prevenção quanto na cura das lesões causadas pela doença. Ele descreveu três níveis de resposta em ovelhas vacinadas: a maioria não apresentou sinais clínicos de FR, algumas sofreram infecção na pele interdigital e curaram-se completamente, outras contraíram a enfermidade, mas as lesões foram menos severas quando comparadas ao grupo não-vacinado.

Egerton e Roberts (1971) compararam a eficácia de vacinas inativadas em formalina contendo *F. necrophorum*, *D. nodosus* e *F. necrophorum* e *D. nodosus* emulsificadas em igual volume de adjuvante incompleto de Freund. A maior resistência à infecção foi associada aos ovinos que desenvolveram altos títulos de anticorpos contra *D. nodosus*, conferidas pelas vacinas que continham esse agente bacteriano. Em um dos experimentos desse trabalho a ação curativa da vacinação contra o *D. nodosus* foi mais uma vez confirmada.

Egerton e Thorley (1981) compararam a eficácia de duas vacinas contra o FR, a primeira utilizou o sulfato de alumínio e potássio como adjuvante e a segunda utilizou um adjuvante oleoso (10% de Arlcel + 90% de Marcol). Os ovinos foram vacinados duas vezes com intervalo de seis semanas e os resultados obtidos mostraram que a vacina com adjuvante oleoso protegeu os animais por oito semanas enquanto que a vacina com adjuvante de sulfato de alumínio e potássio manteve a proteção por apenas quatro semanas.

Thorley e Egerton (1981) compararam a eficácia de vacinas emulsificadas em óleo, com anterior ou não adsorção em sulfato de alumínio e potássio, e cada uma dessas vacinas foi preparada com células piliadas e não-piliadas de *D. nodosus*. Os melhores

resultados foram obtidos com vacinas que utilizaram amostras piliadas e foram primeiramente adsorvidas em sulfato de alumínio e potássio antes da emulsificação em óleo. Nesse experimento os autores correlacionaram com uma razoável resistência à infecção por cepas homólogas título de aglutininas acima de 3200.

As vacinas contra o FR testadas até o momento oferecem boa proteção contra infecção por cepa homóloga, entretanto essa proteção, após duas doses com intervalo de três a seis semanas, é curta, em torno de 12 semanas. As diferentes vacinas testadas: com células piliadas de *D. nodosus*, somente com pili ou produzidas através de recombinação com *Pseudomonas aeruginosa* produziram resultados protetores semelhantes (EGERTON et al., 1987; MATTICK et al., 1987; RAADSMA et al., 1994a; STEWART et al., 1986a).

Segundo Fialho e Ribeiro (1995) o uso de vacina com adjuvante oleoso com amostras de *D. nodosus* prevalentes na região onde vai ser utilizada, oferece proteção em torno de quatro meses. Estudos realizados no RS e Uruguai mostraram que as amostras mais prevalentes foram E, D, e B no RS e os sorogrupos F, E, e A no Uruguai (FIALHO; RIBEIRO, 1995; RIBEIRO, 1995). A vacina deve ser utilizada estrategicamente, prevenindo surtos em épocas favoráveis à enfermidade, no RS recomenda-se a vacinação em fevereiro e revacinação em março para prevenir surtos no outono; e vacinação em julho e revacinação em agosto para prevenir surtos na primavera (RIBEIRO, 2007).

Alguns autores relataram que vacinas autógenas podem ser utilizadas na prevenção e na erradicação do FR com sucesso. Além disso, a vacinação durante o tratamento dos surtos reduziu significativamente os sinais clínicos da doença (EGERTON et al., 2002; GURUNG et al., 2006).

A diversidade sorológica das amostras que compõe uma vacina contra o FR é muito importante, pois a proteção contra cepas heterólogas é limitada nesta enfermidade, sendo que uma grande variedade de sorogrupos pode estar envolvida em um surto. Devido a grande diversidade de sorogrupos identificados em muitos países, uma vacina comercial contendo dez sorotipos (Footvax®), produzida pelo Laboratório Schering-Plough, foi avaliada e aceita para uso na União Européia, Estados Unidos, Malásia, Austrália e Nova Zelândia (ABBOTT; LEWIS, 2005; CLAXTON, 1986; EGERTON; MORGAN, 1972; SCHMITZ; GRADIN, 1980; THORLEY; DAY, 1986).

No Brasil uma vacina comercial contendo sete sorotipos (Foot-Vac®), produzida pelo Laboratório Hipra foi aprovada para uso em ovinos e caprinos, é uma cultura piliada de *D. nodosus* emulsificada em óleo mineral (SINDAN, 2009).

A combinação de diversos sorotipos de *D. nodosus* em uma mesma vacina tem como resultado uma menor resposta imunológica quando há uma comparação com cada sorotipo administrado isoladamente, esse fenômeno deve-se a uma competição antigênica, que foi fartamente demonstrada em diversos experimentos comparativos entre vacinas monovalentes e vacinas multivalentes, usadas para prevenção ou tratamento do FR (ABBOTT; LEWIS, 2005; RAADSMA et al., 1994b).

A combinação da vacinação e pedilúvio com drogas antimicrobianas é geralmente mais efetiva que esses tratamentos usados isoladamente, principalmente quando o início do surto é esperado entre a primeira e a segunda doses da vacina, nesse momento o uso do pedilúvio será importante para retardar a transmissão enquanto a proteção vacinal não se desenvolve (EGERTON, 2007).

As principais desvantagens da vacinação são o custo e as reações vacinais no local da injeção, aspectos largamente compensados pelo grande número de vantagens fartamente comprovadas por inúmeros experimentos e testes de campo (RIBEIRO, 2007).

No terceiro capítulo de sua tese de Doutorado Claxton (1981) compara a eficácia da vacina contra o FR preparada com diferentes adjuvantes e demonstra as reações vacinais locais causadas por essas substâncias. Os adjuvantes são necessários nas vacinas onde o agente não tem a capacidade imunogênica necessária para produzir títulos de anticorpos protetores. Em um dos experimentos as reações locais produzidas pelos diferentes adjuvantes foram mensuradas por área (cm²), perda da lã e a presença ou não de secreções. Os adjuvantes testados foram sulfato de alumínio e potássio (AP), sulfato de alumínio e potássio + Quil A (APQ), sulfato de alumínio e potássio + óleo (APO) e óleo (O). A vacina APO demonstrou os melhores resultados na produção de altos títulos de anticorpos e na manutenção de títulos protetores (16 semanas), entretanto as reações locais foram as mais severas e mais duradouras. A vacina com adjuvante oleoso (O) produziu altos títulos de anticorpos e manteve a proteção por 12 semanas, porém as reações locais foram menos severas e tiveram uma resolução mais rápida que a vacina APO. As vacinas AP e APQ protegeram os ovinos por menos tempo.

2.10 Erradicação

O objetivo dos programas de erradicação é eliminar do rebanho todas as amostras de *D. nodosus* capazes de causar FRV. Diferente dos programas de controle, onde a maioria dos processos ocorre um pouco antes ou, na maioria das vezes, dentro do período de transmissão da doença; as atividades nos programas de erradicação serão realizadas durante o período onde não ocorre a transmissão da enfermidade (período seco). E serão direcionadas para identificar todos os ovinos ou caprinos infectados.

Na Austrália, quatro características importantes sobre o FR nortearam as ações dos programas de erradicação:

- O *D. nodosus* não sobrevive fora do casco do ruminante mais do que sete dias (BEVERIDGE, 1941),
- Durante o período de não-transmissão da doença, todas as pastagens estão livres do agente essencial do FR, porque os ovinos estão refratários à enfermidade,
- Durante o período de não-transmissão da doença, as únicas lesões de FRV ainda presentes são crônicas, não são infecções novas ou inaparentes,
- As amostras de *D. nodosus* que causam FRV não são usualmente associadas com lesões sub-clínicas, ou com o estado de portador clinicamente sadio. Os ovinos ou caprinos infectados podem ser identificados por inspeção visual (EGERTON, 1989).

A experiência tem demonstrado que o método de erradicação baseado na inspeção e na eliminação seletiva, com ou sem quimioterapia parenteral é mais provável de obter sucesso, para isso alguns passos devem ser seguidos:

- Durante o período de não-transmissão da doença (período seco), que varia dependendo do país e das regiões de cada país, os cascos de todos os ovinos e caprinos da propriedade serão minuciosamente examinados três vezes com intervalo de três a quatro semanas,
- O clima deve estar seco e os cascos dos ovinos e caprinos devem estar secos,
- Todos os ovinos e caprinos infectados ou suspeitos devem ser eliminados do rebanho,

- Deve haver boas condições para que as inspeções sejam bem executadas, sombra, instalações adequadas, mão-obra treinada e suficiente para virar e examinar todos os animais.

Na prática, o sucesso de um programa de erradicação é diretamente proporcional ao sucesso obtido pela propriedade no seu programa de controle do FR, ou seja, durante o início do período de não-transmissão da doença a prevalência da infecção deve ser no máximo de 5%.

Na primeira inspeção os animais infectados serão tratados ou eliminados, os animais selecionados para tratamento devem ser segregados e receber quimioterapia parenteral; na segunda inspeção todos os animais infectados serão eliminados, incluindo os animais que não responderam ao tratamento realizado na primeira inspeção; na terceira inspeção também todos os animais infectados serão eliminados (EGERTON, 2007).

Após o início de processo de erradicação, a vigilância sobre os animais deve ser aumentada, principalmente ao longo do período úmido, onde qualquer animal que esteja com claudicação deve ser minuciosamente examinado e eliminado se o FR for diagnosticado.

A prevenção da re-introdução do FR na propriedade é obtida através do estabelecimento de quarentena para todos os novos animais que serão adquiridos. Que deverão sofrer o mesmo processo a que foram submetidos os animais que agora estão livres do FR (HOSIE, 2004).

Em muitas regiões da Austrália, o período de não-transmissão se estende por todo o verão que é seco, facilitando os programas de erradicação e controle, entretanto em muitos países o período de não-transmissão é inconsistente e relativamente curto, tornando a erradicação uma meta muito difícil de ser alcançada (WASSINK et al., 2003).

3 ARTIGO 1

O presente artigo científico foi elaborado e formatado conforme as normas da Revista Veterinária em Foco (ISSN 1679-5327).

USO DE VACINA AUTÓGENA NO CONTROLE DO FOOTROT EM UM REBANHO OVINO NO ESTADO DE RIO GRANDE DO SUL

Use of an autogenous vaccine in the control of footrot in a sheep flock in the State of Rio Grande do Sul

RODRIGUES, Paulo Ricardo Centeno – Médico Veterinário, Especialista, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS

RIBEIRO, Luiz Alberto de Oliveira – Médico Veterinário, Doutor, Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS

CHIMINAZZO Cláudio – Médico Veterinário, Mestre, Laboratório Hipra

CORREA, Luis Felipe Dutra – Médico Veterinário, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS

LEHUGEUR, Carla Menger – Médica Veterinária, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS

SOUZA, Fernando Magalhães de – Acadêmico da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS

GRACIA, Luis Fernando Guerrero - Acadêmico da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS

LOPES, Gustavo Felipe – Médico Veterinário autônomo

Endereço para correspondência: Rua Buenos Aires, 402 apart. 202, bairro Jardim Botânico, Porto Alegre (RS). CEP: 90670-130. E-mail: priccenteno@hotmail.com

RESUMO

Este trabalho avaliou a eficácia de uma vacina autógena com adjuvante oleoso no controle do footrot em ovinos de uma propriedade rural do município de Santiago/RS. Foram vacinados 347 ovinos, duas doses com intervalo de 30 dias por via subcutânea (SC), administradas na região axilar (150 animais) e na região inguinal (197 animais). Um grupo de 75 animais não recebeu a vacina, constituindo o grupo controle. Os dados mostraram que a prevalência do footrot no grupo de ovinos vacinados (V) que inicialmente era de 4%, sofreu uma redução para 2% na semana 23, chegando à zero na semana 30. No grupo controle (C) a prevalência de animais infectados foi de 6,7% no início do experimento, teve uma redução para 5,3% na semana 23 e ao final estava em 3,7%. Observou-se uma redução gradativa no número de ovinos infectados nos dois grupos, entretanto a eliminação seletiva ocorrida no grupo controle prejudicou a análise estatística dos dados. Amostras de sangue foram colhidas da jugular dos animais para verificar títulos de anticorpos aglutinantes contra o antígeno presente na propriedade em cinco ocasiões durante o experimento. Os resultados mostraram diferenças significativas ($p < 0,001$) entre os títulos de anticorpos aglutinantes contra *Dichelobacter nodosus* no soro de ovinos vacinados e não vacinados durante o experimento. A análise das reações vacinais locais apontou a região inguinal como o melhor local para a aplicação da vacina com adjuvante oleoso por via SC e também demonstrou uma relação direta entre a idade dos ovinos e o percentual de reações vacinais locais e a severidade dessas reações. Os resultados sugerem que a vacina autógena com adjuvante oleoso obteve sucesso no controle da doença.

Palavras-chave: footrot, vacina autógena com adjuvante oleoso, ovinos.

ABSTRACT

This study evaluated the efficacy of autogenous vaccine with oil-adjuvant in the control of footrot in sheep from a farm in the municipality of Santiago/RS. 347 sheep were vaccinated, two doses with an interval of 30 days by subcutaneously administered in the axillary region (150 animals) and in the inguinal region (197 animals). A group of 75 animals did not receive the vaccine, constituting the control group. The data showed that the prevalence of footrot in the group of sheep vaccinated (V) initially set at 4%, was reduced to 2% in 23 weeks, reaching zero at the last inspection. In the control group (C) the prevalence of infected animals was 6.7% at baseline, was reduced to 5.3% at week 23 and the end was 3.7%. There was a gradual reduction in the number of infected sheep in both groups, however the selective elimination occurred in the control group affected the statistical analysis. Blood samples were collected from the jugular vein of the animals to see evidence of agglutinating antibodies against the antigen present on the property on five occasions during the experiment. The results showed significant differences ($p < 0,001$) between antibody titers against *Dichelobacter nodosus* in the serum of sheep vaccinated and not vaccinated during the experiment. The analysis of local vaccine reactions showed the inguinal region as the best place for the application subcutaneously oil-adjuvant vaccine and also demonstrated a direct relationship

between the age of the sheep and the percentage of local vaccine reactions and the severity of these reactions. The results suggest that autogenous oil-adjuvant vaccine succeeded in controlling the disease.

Key words: footrot, autogenous oil-adjuvant vaccine, sheep.

INTRODUÇÃO

O footrot (FR) é uma enfermidade específica dos ovinos e outros ruminantes, que sob condições ambientais favoráveis é altamente contagiosa (EGERTON, 1971, 2007). É uma doença crônica, necrosante, da epiderme interdigital e matriz do casco, que na sua forma virulenta, leva à manqueira, com graves prejuízos a saúde geral do animal, causando perda de peso, queda na produção de lã e diminuição da fertilidade dos rebanhos acometidos (JENSEN; SWIFT, 1982; RIBEIRO, 2007).

O agente essencial desta doença é o *Dichelobacter nodosus*, um bastonete Gram-negativo, obrigatoriamente anaeróbico, pois sua presença é indispensável para que ocorra um surto de FR, entretanto a presença do *Fusobacterium necrophorum* é fundamental para a penetração do *D. nodosus* na epiderme interdigital (BEVERIDGE, 1941; EGERTON et al., 1969). A epiderme interdigital, que é o sítio primário da infecção, deve estar devidamente desvitalizada para que ocorra, posteriormente, a invasão bacteriana. Essa condição é usualmente obtida através da prolongada exposição à umidade e contaminação fecal. Para o estabelecimento do *D. nodosus* é necessário que ocorra, anteriormente ou simultaneamente, a infecção com o *F. necrophorum* para facilitar a invasão da epiderme (EGERTON et al., 1969; ROBERTS; EGERTON, 1969).

A doença afeta ovinos de todas as idades e sexos e está presente em todos os países onde ovinos são criados comercialmente, no Brasil a enfermidade é endêmica, afetando rebanhos ovinos e caprinos, ocasionando severas perdas na produtividade (BLOOD; RADOSTITS, 1991; RIBEIRO, 2007). Ribeiro (1978, 1985) demonstrou que o FR é endêmico em rebanhos ovinos no Estado do Rio Grande do Sul (RS) e comprovou clínica e laboratorialmente a presença do FR em rebanhos de 42 municípios que englobam 85% da população ovina desse Estado do Brasil.

Os trabalhos iniciais com vacinas contra o FR demonstraram que a imunidade está associada à presença na vacina de amostra de *D. nodosus* antigenicamente semelhante à causadora do surto. Trabalhos de identificação sorológica do agente mostraram uma variedade de sorogrupos e sorotipos, na Austrália o sistema para a classificação sorológica do *D. nodosus* descreve 10 sorogrupos (A ao I e o M) e identifica alguns sorotipos, totalizando 19 subtipos (CLAXTON et al., 1983; CLAXTON, 1986; DAY et al., 1986; GHIMIRE et al., 1998; RIBEIRO, 1981).

Segundo Ribeiro (1995) no RS foram identificados, até o momento presente, sete sorogrupos: A, B, C, D, E, F e H, sendo os mais prevalentes o E, D e B, nessa ordem de importância.

Segundo Egerton et al. (1994) a combinação de múltiplos sorotipos de *D. nodosus* em uma mesma vacina resulta numa resposta imunológica menor para cada sorotipo quando comparada com a administração de cada sorotipo isoladamente. Esse fenômeno é conhecido como competição antigênica e foi observado em vários experimentos onde vacinas monovalentes demonstraram sua superioridade em prevenir e curar o FR, quando comparadas com vacinas multivalentes. Thorley e Egerton (1981) utilizaram vacinas contra o FR com posterior desafio por amostras homólogas e correlacionaram com uma razoável resistência à infecção títulos de aglutininas acima de 3200 (GMT 11,64).

Egerton et al. (2002) realizaram um experimento em ovinos e caprinos (aproximadamente 9500 animais), submetidos a um programa de erradicação do footrot virulento (FRV), em uma região do Nepal onde a enfermidade é endêmica, comparando o uso de vacina autógena administrada duas vezes (grupo A), vacina comercial multivalente seguida de vacina autógena, uma dose de cada (grupo B), vacina comercial multivalente administrada duas vezes (grupo C) e animais não vacinados (grupo D), demonstraram a superioridade do uso da vacinação específica (grupo A) na redução da prevalência da infecção e na manutenção de títulos de anticorpos protetores por mais tempo que nos outros grupos (6 meses).

O uso de vacina autógena monovalente foi utilizada por Gurung et al. (2006) para tratar e prevenir a reinfecção por amostra virulenta de *D. nodosus* em ovinos no Butão. Nesse experimento a vacinação foi utilizada em todo rebanho (605 ovinos) durante dois anos consecutivos (1999-2000), e nenhum outro tratamento contra o FR foi utilizado a partir desse instante. Nenhum dos 88 animais infectados do rebanho apresentou sinais de FR 30 dias após a primeira dose de vacina, e o rebanho manteve-se livre da doença durante os quatro anos de duração desse programa de erradicação.

Na Austrália, Dhungyel et al. (2008) obtiveram sucesso na erradicação de FRV e footrot intermediário (FRI) em dois rebanhos acometidos pela doença, utilizando vacinas autógenas monovalentes, sorogrupo F e C respectivamente. No primeiro caso houve uma redução no número de animais infectados de 44% (antes da vacinação) para 2% em três meses, 0,5% em 4 meses, sem casos clínicos aos 5 meses, e mantendo-se livres por 16 meses após a vacinação. No segundo caso a prevalência era de 8,5% antes da vacinação, reduziu para 2% em 3 meses, 0,3% aos 6 meses, e sem casos clínicos aos 18 meses após a vacinação.

Tendo em vista os resultados obtidos com o uso de vacinas autógenas no controle do FR em outros países e não havendo informações sobre a utilização de vacinas autógenas em rebanhos brasileiros, foi montado o presente experimento. Os objetivos deste experimento foram a utilização e avaliação da eficácia de uma vacina autógena no controle do FR em um rebanho naturalmente infectado. E ainda, estimar o título de anticorpos contra *D. nodosus* em ovinos vacinados, assim como, avaliar as reações vacinais locais.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na fazenda Liberdade, localizada no 4º distrito do município de Santiago/RS. Foi utilizado um rebanho ovino cruza Texel, com 650 animais entre carneiros, ovelhas, borregas, cordeiros machos e fêmeas, durante o ano de 2009.

Localização e histórico da propriedade

O município de Santiago localiza-se na região centro-ocidental Rio-grandense, numa altitude de 409 m acima do nível do mar, latitude $-29^{\circ} 11' 30''$ e longitude $54^{\circ} 52' 02''$, possui clima sub-tropical úmido. Na região predominam os solos do tipo neossolo, latossolo e argissolo. Os dados climatológicos dessa região durante o ano de 2009 estão demonstrados na Figura 1.

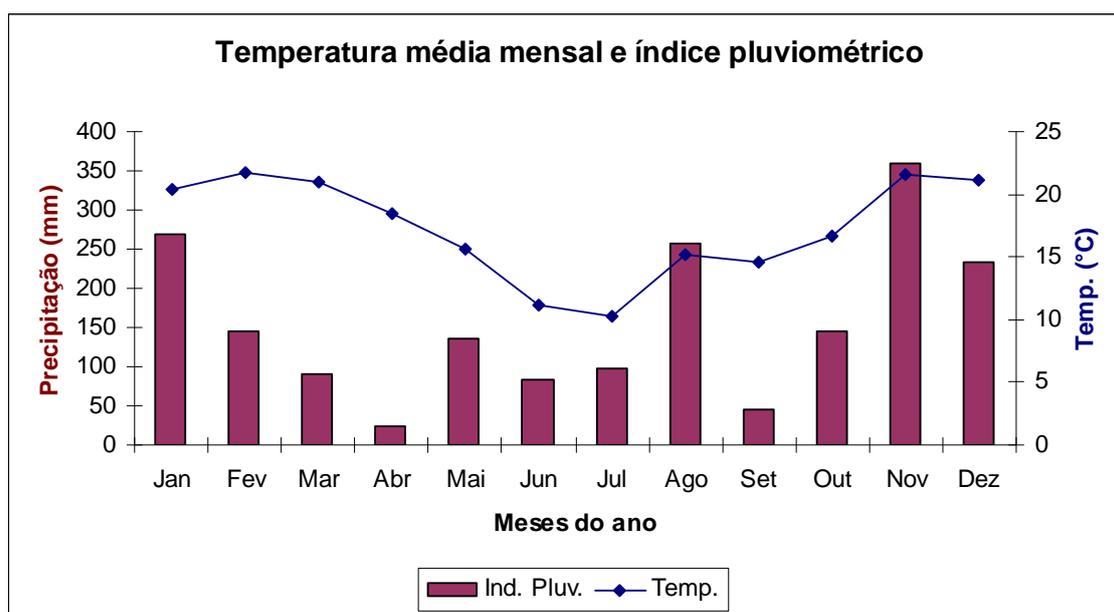


Figura 1 – Temperatura média mensal e precipitação pluviométrica mensal durante o ano de 2009 na Região Central do Rio Grande do Sul (EMBRAPA, 2010).

A fazenda Liberdade ocupa uma área de 715 ha, dividida em nove poteiros de tamanhos variáveis. Na propriedade são criados bovinos e ovinos de corte e a produção de soja ocupa uma área de 200 ha.

Os ovinos são criados extensivamente e alimentados com pastagem nativa e azevém semeado nos poteiros após a colheita da soja. O manejo sanitário dos animais consiste em vacinações anuais contra clostridioses e aplicações de vermífugos em períodos determinados pelo proprietário.

A partir de 2005 o rebanho ovino começou a sofrer surtos de FR com graves prejuízos à produtividade geral. No primeiro grande surto, em 2005, os animais foram tratados com sulfato de cobre 5 a 10% no pedilúvio, quimioterapia parenteral nos casos mais graves e

descarte dos animais renitentes aos tratamentos. No ano de 2006 todo o rebanho recebeu duas doses, com intervalo de 30 dias, da vacina Foot-vac® do Laboratório Hipra, antes da primavera, diminuindo muito o surgimento de casos novos na primavera e verão seguintes. Em 2007 houve um surto grave no inverno e, em 2008, outro surto ocorreu durante a primavera.

Colheita e processamento de amostras

No início do experimento foi colhido material necrótico das partes mais ativas do espaço interdigital de oito ovinos naturalmente infectados com lesões de FR. Para tanto utilizou-se palitos portugueses estéreis, que impregnados do material das lesões foram introduzidos em tubos contendo meio de transporte de Thorley estéril, sendo mantidos sob refrigeração a 8 °C, e transportados em caixa de isopor com gelo para processamento no laboratório (THORLEY, 1976).

Posteriormente o material foi semeado em placas de Petry contendo meio de cultura ágar casco a 4%, e incubadas em anaerobiose a 37 °C por 96 horas. Até dez colônias de cada placa foram semeadas em placas de ágar casco a 4%, usando 1/4 de cada placa para cada cultura. As placas foram novamente incubadas anaerobicamente a 37 °C por 96 horas. As amostras purificadas foram semeadas em ágar casco a 2 % e incubadas nas mesmas condições acima referidas. As colônias foram identificadas através de sua morfologia característica e pela coloração de Gram, conforme Ribeiro (1981). As placas com crescimento puro de *D. nodosus* foram lavadas com solução formalina tampão fosfato-salino (FPBS), pH 7,4, e o conteúdo armazenado em frascos mantidos sob refrigeração a 4 °C para posterior processamento.

Preparação da vacina

Uma vacina monovalente com adjuvante oleoso contendo amostras de *D. nodosus* colhidas na propriedade foi produzida. O antígeno anteriormente preparado foi emulsificado em óleo Montanide. A proporção da suspensão de células no óleo foi

40:60. A preparação conteve aproximadamente 5×10^8 *D. nodosus* células/ml da vacina (GURUNG et al., 2006).

Preparação do antígeno para sorologia

As culturas puras de *D. nodosus*, cultivadas em placas de Petry com ágar casco a 2%, foram colhidas em 0,4-0,5 ml de FPBS e sua concentração foi ajustada até conter aproximadamente 5×10^8 células/ml, equivalente ao tubo 3,5 da escala de MacFarland (BIER, 1990).

Vacinação

O grupo experimental foi formado com 422 fêmeas ovinas, divididas aleatoriamente em dois grupos, grupo vacinado (V) e grupo controle (C), e identificados com brincos numerados. O grupo vacinado (V) foi composto com 347 ovelhas e recebeu duas doses, 2 ml por dose, da vacina autógena por via subcutânea, com 30 dias de intervalo. O grupo vacinado foi dividido em dois subgrupos: grupo Va (n=150) – vacinado na região axilar esquerda e grupo Vb (n=197) – vacinado na região inguinal esquerda. Os animais restantes (n=75) foram mantidos como controles sem vacinação (grupo C).

Avaliação das lesões podais

Todos os ovinos do grupo experimental tiveram seus cascos avaliados no início do experimento (dia zero), 23 e 30 semanas após. Nessas ocasiões os ovinos tiveram suas lesões classificadas conforme o método desenvolvido por Egerton e Roberts (1971), que estabelece uma escala de lesões com escores que vão de zero a quatro, onde zero corresponde à ausência de FR e quatro à lesão mais grave, envolvendo descolamento das partes duras do casco. Foram considerados infectados ovinos que apresentaram, no mínimo, um dos cascos com escore dois.

Colheita de sangue para sorologia

Foram realizadas colheitas de sangue diretamente da veia jugular, utilizando tubos vacutainer® sem anti-coagulante (Becton-Dickinson, Rutherford, NJ, USA) de dez ovinos do grupo controle e dez ovinos do grupo vacinado, em cinco ocasiões durante o experimento, para determinar os títulos de aglutininas K (antígeno de superfície) contra o *D. nodosus*. Logo após a colheita as amostras de sangue foram deixadas coagular a temperatura ambiente, sendo os soros coletados, identificados e mantidos a – 20 °C até serem processados. As amostras foram colhidas no início do experimento (dia zero), e as quatro, sete, 23 e 30 semanas.

Teste de aglutinação em tubos

O teste de aglutininas K foi realizado usando a técnica descrita por Egerton (1973), que consiste na adição de 0,1 ml de soro ovino a 0,9 ml de solução fisiológica em um tubo de ensaio, produzindo uma diluição inicial 1/10. Diluições com 0,5 ml de solução fisiológica foram preparadas. A seguir, 0,5 ml de uma suspensão de antígeno contendo aproximadamente 5×10^8 células/ml foi adicionado a cada tubo. O teste foi incubado por no mínimo quatro horas a 37 °C. O título final foi a mais alta diluição em que foi observada aglutinação flocular. Com esses dados foi calculado o título médio geométrico (GMT) para os dois grupos em cada ocasião.

Avaliação das lesões vacinais

Os ovinos dos grupos Va e Vb foram avaliados em relação às reações vacinais locais 30 dias após a vacinação. As reações foram classificadas quanto à gravidade em R₁, R₂, R₃ e R₄. Sendo R₁ granuloma vacinal com até 2 cm de diâmetro, R₂ de 2 a 4 cm, R₃ de 4 a 6 cm e R₄ acima de 6 cm.

Análise estatística

O Teste Exato de Fisher foi utilizado para comparar animais infectados e não infectados dentro da mesma semana e o Teste Q de Cochran foi utilizado para comparar diferenças entre as semanas. Os resultados sorológicos foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas. O Teste Qui-quadrado foi utilizado para comparar a ocorrência de lesões vacinais nos dois locais de vacinação e a correlação entre a idade dos ovinos e as lesões vacinais. O Teste de Mann-Whitney foi utilizado para verificar a diferença entre os locais de vacinação em relação à gravidade das lesões vacinais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes à prevalência de animais infectados por FR no grupo de ovinos vacinados (V) e controles (C) encontrados nos diferentes períodos de inspeção, estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Prevalência de animais infectados no grupo de ovinos vacinados (V) e controles (C) encontrados nos diferentes períodos de inspeção.

Grupos	Número de ovinos / Semanas					
	zero		23		30	
	Examinados	Infectados (%)	Examinados	Infectados (%)	Examinados	Infectados (%)
V	347	14 (4)	153	3 (2)	104	0 (0)
C	75	5 (6,7)	38	2 (5,3)	27	1 (3,7)

Os dados mostraram que a prevalência do FR no grupo de ovinos vacinados (V) que inicialmente era de 4%, sofreu uma redução para 2% na semana 23, chegando à zero na última inspeção. No grupo controle (C) a prevalência de animais infectados foi de 6,7% no início do experimento, teve uma redução para 5,3% na semana 23 e ao final estava em 3,7%. Na comparação entre os dois grupos dentro da mesma semana, e entre semanas diferentes, não houveram diferenças estatisticamente relevantes.

Por razões alheias ao experimento, durante o período experimental houve uma redução significativa no número de animais nos dois grupos (V e C), que conduziram a um resultado inesperado no percentual de animais infectados no grupo controle. Na semana zero haviam cinco ovinos infectados (n° 52, 53, 54, 55 e 56) no grupo controle, que foram eliminados e não foram avaliados nas semanas 23 e 30; na semana 23, um dos dois ovinos infectados (n° 72) também foi eliminado e tampouco foi avaliado na semana 30. Do início do trabalho até a semana 23 houve uma redução de 49% no número de animais do grupo controle, e de 64% em relação à semana 30. Certamente os animais infectados nas semanas zero e 23, e que não foram avaliados na semana 30, estariam infectados na última avaliação, aumentando a taxa de infecção nesse grupo, sem contar os 42 ovinos que pertenciam ao grupo controle, não foram avaliados na semana 30, e poderiam estar infectados. Com isso, no mínimo, teríamos sete animais infectados na última inspeção, elevando a taxa de infecção no grupo controle para 9,3%.

Os dados encontrados na avaliação do grupo vacinado (V) se assemelham aos observados por Gurung et al. (2006), que obtiveram remissão total das lesões em um rebanho de 605 ovinos, dos quais 88 estavam infectados por FR, utilizando uma vacina autógena administrada duas vezes com intervalo de 30 dias. Quatro anos após essa medida, sem qualquer outro tratamento contra o FR, o rebanho permanecia livre da doença. Na Austrália, Dhungyel et al. (2008) obtiveram sucesso na erradicação de FR utilizando vacinas autógenas monovalentes, com resultados semelhantes aos obtidos neste experimento.

O resultado surpreendentemente baixo na taxa de infecção do grupo controle, mesmo com condições ambientais altamente favoráveis à disseminação da enfermidade, deveu-se a eliminação seletiva realizada pelo proprietário, especialmente visando animais cronicamente infectados pelo FR. Essas duas medidas, vacinação e eliminação seletiva, constituem a base dos programas de erradicação do FR (ABBOTT; LEWIS, 2005; HOSIE, 2004). Durante o ano de 2009 nenhum outro tratamento contra o FR foi utilizado na propriedade, além da vacinação com a vacina autógena.

Em cinco ocasiões foi colhido sangue para medir os títulos de aglutininas contra o *D. nodosus* no soro dos ovinos. Os títulos médios e o título médio geométrico (GMT) de aglutininas K estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Títulos médios e título médio geométrico (GMT) de aglutininas K contra o *Dichelobacter nodosus* no soro de ovinos não vacinados (grupo C) e vacinados (grupo V).

Semana	Grupo C		Grupo V	
	Média	GMT	Média	GMT
0	160	7,22 ^a	176	7,42 ^a
4*	176	7,42 ^a	4992	11,82 ^b
7	128	6,92 ^a	12800	13,52 ^c
23	144	7,12 ^a	320	8,22 ^d
30	160	7,22 ^a	232	7,72 ^a

^{a,b,c,d} Valores não seguidos da mesma letra diferem significativamente ($p < 0,001$).

* Revacinação.

Os dados da Tabela 2 podem ser mais bem visualizados na Figura 2.

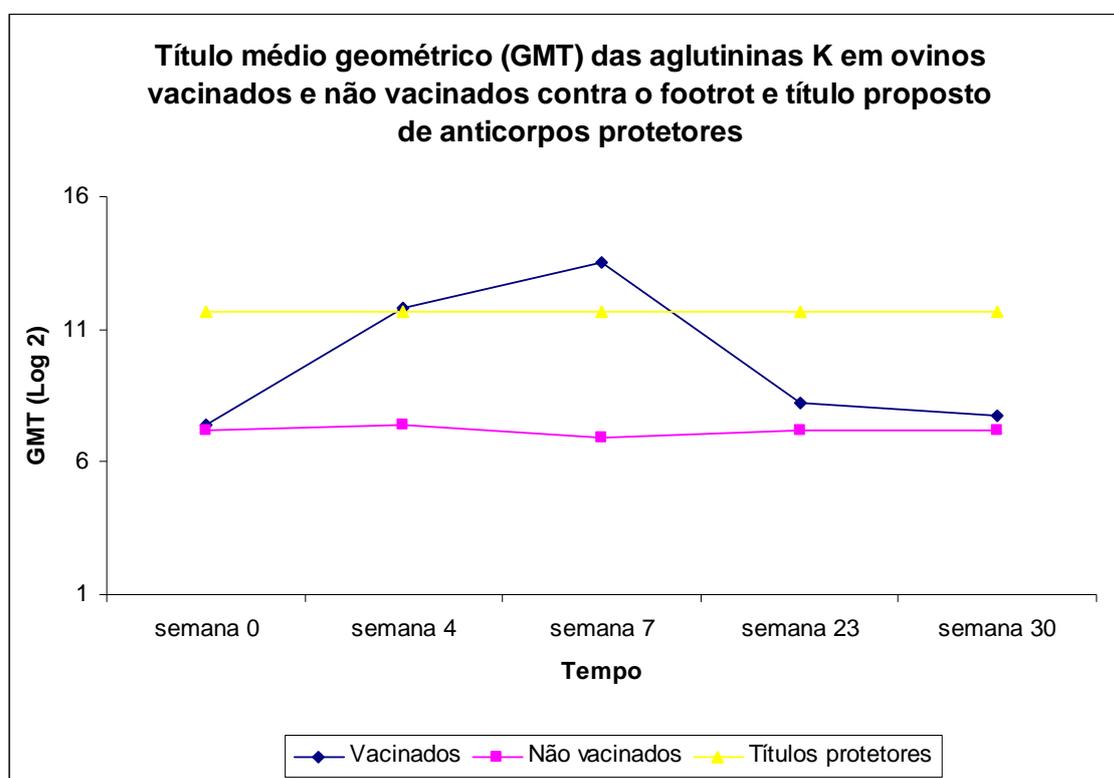


Figura 2 - Título médio geométrico (GMT) de aglutininas K contra o *Dichelobacter nodosus* no soro de ovinos não vacinados (grupo C) e vacinados (grupo V) e título de anticorpos considerados protetores (THORLEY; EGERTON, 1981).

Os resultados das provas sorológicas foram submetidos à análise estatística e demonstraram uma diferença significativa ($p < 0,001$) entre os títulos de aglutininas K do grupo não vacinado e vacinado na quarta, sétima e 23 semanas do experimento, comprovando a eficácia da vacinação e da revacinação na proteção contra o *D. nodosus*, ao mesmo tempo, no grupo vacinado somente entre as semanas 0 e 30 não verificaram-

se diferenças significativas. Estes resultados estão de acordo com Egerton e Thorley (1981) e Gurung et al. (2006), que encontraram títulos médios de anticorpos de 7825 e 3020 em animais vacinados com vacina oleosa às seis e quatro semanas, respectivamente, após a vacinação; e quatro semanas após a revacinação encontraram títulos médios de 16750 e 12770.

Trinta dias após a vacinação, foram avaliadas as reações vacinais em dois locais diferentes de aplicação, região axilar e região inguinal. Os resultados estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados das reações vacinais na região axilar (grupo Va) e inguinal (grupo Vb) dos ovinos e o grau de severidade das reações vacinais em cada grupo.

Grupo	Nº ovinos	Lesões (%)		Reações vacinais (%)			
		Sem	Com	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Va	120	68 (56,7)	52 (43,3)	25 (20,8)	17 (14,1)	5 (4,2)	5 (4,2)
Vb	176	138 (78,4)	38 (21,6)	23 (13,1)	12 (6,8)	2 (1,1)	1 (0,6)

•R₁ granuloma vacinal com até 2 cm de diâmetro, R₂ de 2 a 4 cm, R₃ de 4 a 6 cm e R₄ acima de 6 cm.

Os resultados apresentados na Tabela 3 foram submetidos à análise estatística, e demonstraram uma diferença significativa ($p < 0,001$) entre as reações vacinais encontradas em cada local de administração, sendo a região inguinal o local onde ocorreu um número muito menor de reações.

Em relação ao grau de severidade das reações vacinais locais, os resultados demonstraram uma diferença significativa ($p < 0,001$) entre a administração na região axilar e inguinal. Dos ovinos que receberam a vacina na região axilar, 8,4% tiveram reações mais graves e 34,9% tiveram reações de menor gravidade. Dos ovinos que receberam a vacina na região inguinal, 1,7% tiveram reações mais graves e 19,9% tiveram reações de menor gravidade. A ocorrência de miíases não chegou a ser um problema nos dois grupos, pois somente três animais foram infectados, dois no grupo da região axilar e um no grupo da região inguinal.

Claxton (1981) avaliou as reações vacinais locais em 19 ovinos que receberam vacina contra o FR com adjuvante oleoso por via SC na base da orelha esquerda, e observou que as reações desenvolveram-se lentamente, atingindo o nível máximo na 4ª semana,

com a regressão ocorrendo rapidamente, entre seis a sete semanas após a vacinação. Observou ruptura e saída de secreções em 78,9% dos animais, e perda da lã em 84,2% dos ovinos, com área média de 7,45 cm². O aumento de volume observado foi medido em cm², a maior medida foi de 25,9 cm² na 4ª semana após a vacinação.

A principal queixa dos criadores de ovinos em relação ao uso de vacinas contra o FR eram as reações vacinais no local de aplicação, os experimentos de Claxton (1981) demonstraram essa preocupação, entretanto os resultados encontrados nesse experimento diferem muito dos observados por Claxton, certamente a evolução dos adjuvantes oleosos usados atualmente pela indústria farmacêutica explica essa diferença.

Os resultados obtidos com a avaliação das reações vacinais e o grau de severidade dessas reações observadas na região axilar, relacionadas com a idade desses animais, constatada através do exame dos dentes, estão demonstrados na Tabela 4. Conforme Silva (2005) a idade dos ovinos pode ser determinada através do exame dos incisivos, animais com dentes de leite (DL) tem menos de um ano de idade, com as duas pinças (2D) possuem em torno de 18 meses de idade, com as duas pinças e os dois primeiros médios (4D) possuem em torno de dois anos de idade, com as duas pinças, os dois primeiros médios e os dois segundos médios (6D) possuem em torno de três anos de idade, com as duas pinças, os primeiros e segundos médios e os dois cantos (8D) possuem acima de 4 anos de idade, os animais com oito dentes são também chamados de “boca cheia” (BC).

Tabela 4 – Reações vacinais na região axilar (grupo Va) relacionada com a idade dos ovinos e o grau de severidade das reações vacinais.

Idade	Nº ovinos	Lesões (%)		Reações vacinais (%)			
		Sem	Com	R ₁ •	R ₂ •	R ₃ •	R ₄ •
DL*	26	20 (76,9)	6 (23,1)	2 (7,7)	3 (11,6)	1 (3,8)	-
2D*	12	6 (50)	6 (50)	4 (33,4)	1 (8,3)	-	1 (8,3)
4D*	10	7 (70)	3 (30)	1 (10)	2 (20)	-	-
6D*	25	12 (48)	13 (52)	6 (24)	4 (16)	-	3 (12)
BC*	47	23 (48,9)	24 (51,1)	12 (25,6)	7 (14,9)	4 (8,5)	1 (2,1)
Total	120	68 (56,7)	52 (43,3)	25 (20,8)	17 (14,1)	5 (4,2)	5 (4,2)

* Idade dos ovinos pelo exame dos dentes, DL significa dente de leite, 2D dois dentes, 4D quatro dentes, 6D seis dentes e BC boca cheia.

•R₁ granuloma vacinal com até 2 cm de diâmetro, R₂ de 2 a 4 cm, R₃ de 4 a 6 cm e R₄ acima de 6 cm.

Os resultados obtidos com a avaliação das reações vacinais e o grau de severidade dessas reações observadas na região inguinal, relacionadas com a idade dos ovinos, constatada através do exame dos dentes, estão demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5 - Reações vacinais na região inguinal (grupo Vb) relacionada com a idade dos ovinos e o grau de severidade das reações vacinais.

Idade	Nº ovinos	Lesões (%)		Reações vacinais (%)			
		Sem	Com	R ₁ •	R ₂ •	R ₃ •	R ₄ •
DL*	36	36 (100)	-	-	-	-	-
2D*	18	16 (88,9)	2 (11,1)	-	2 (11,1)	-	-
4D*	11	10 (90,9)	1 (9,1)	1 (9,1)	-	-	-
6D*	29	22 (75,9)	7 (24,1)	5 (17,2)	2 (6,9)	-	-
BC*	82	54 (65,9)	28 (34,1)	17 (20,7)	8 (9,8)	2 (2,4)	1 (1,2)
Total	176	138 (78,4)	38 (21,6)	23 (13,1)	12 (6,8)	2 (1,1)	1 (0,6)

* Idade dos ovinos pelo exame dos dentes, DL significa dente de leite, 2D dois dentes, 4D quatro dentes, 6D seis dentes e BC boca cheia.

•R₁ granuloma vacinal com até 2 cm de diâmetro, R₂ de 2 a 4 cm, R₃ de 4 a 6 cm e R₄ acima de 6 cm.

Os resultados obtidos e apresentados nas Tabelas 4 e 5, foram submetidos à análise estatística e demonstraram que há uma associação estatisticamente relevante ($p < 0,001$) entre a idade dos ovinos e o percentual de animais com lesões vacinais e também uma correlação estatisticamente significativa ($p < 0,001$) entre a idade dos animais e a severidade das lesões vacinais, considerando os dois locais de vacinação. Ficou demonstrada uma relação direta entre a idade dos ovinos e o percentual de reações vacinais locais e a severidade dessas reações.

CONCLUSÃO

A análise dos dados obtidos no presente trabalho, permitiu as seguintes conclusões:

1. A vacina autógena com adjuvante oleoso induziu resposta imune nos animais vacinados, sugerindo uma ação eficaz no controle do FR nesta propriedade.
2. O título médio geométrico (GMT) de anticorpos aglutinantes presentes no soro dos animais vacinados e revacinados demonstraram ser protetores contra o FR.
3. A análise das reações vacinais indicou a região inguinal como o melhor local para a aplicação da vacina oleosa por via SC.

4. Foi comprovada uma relação direta entre a idade dos animais e a ocorrência e severidade das reações vacinais locais.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos ao Laboratório Hipra pelo auxílio na produção da vacina e dos antígenos para as provas sorológicas. À laboratorista Jane Mendes Brasil, à Médica Veterinária Marília Scartezzini e estagiários do laboratório de microbiologia do HV/ULBRA pelo auxílio nos testes sorológicos, ao motorista Valter Velasques Alves da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS pelo auxílio nos trabalhos de campo, ao Sandro Madeira Cardinal e todos os campeiros da Fazenda Liberdade, sem os quais este trabalho não teria sido possível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, K. A; LEWIS, C. J. Current approaches to the management of ovine footrot. **The Veterinary Journal**, v. 169, p. 28-41, 2005.
- BEVERIDGE, W. I. B. Footrot in sheep: a transmissible disease due to infection with *Fusiformis nodosus*. **Council for Scientific and Industrial Research Bulletin**. Council for Scientific and Industrial Research, Melbourne, v. 140, p. 1-53, 1941.
- BIER, O. Técnicas Bacteriológicas. In: **Microbiologia e Imunologia**. 30^a ed., São Paulo: Melhoramentos, 1990. 931 p.
- BLOOD, D. C; RADOSTITS, O. M. **Clínica Veterinária**. 7^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1263 p.
- CLAXTON, P, D. **Studies on *Bacteroides nodosus* vaccines**. Sydney: The University of Sydney, 1981. Thesis of Doctor of Philosophy, Faculty of Veterinary Science, The University of Sydney, 1981.
- CLAXTON, P. D; RIBEIRO, L. A; EGERTON, J. R. Classification of *Bacteroides nodosus* by agglutination tests. **Australian Veterinary Journal**, v. 60, p.331-334, 1983.
- CLAXTON, P. D. Serogrouping of *Bacteroides nodosus* isolates. In: STEWART, D. J; PETERSON, J. E; MCKERN, N. M AND EMERY, D. L, (eds). Footrot in Ruminants. **Proceedings of a workshop**, Melbourne 1985, CSIRO Division of Animal Health/Australian Wool Corporation, Glebe, NSW, p: 131-134, 1986.

DAY, S. E. J; THORLEY, C. M; BEESLEY, J. E. Serotyping of *Bacteroides nodosus*: a proposal for 9 serotypes (J-R) and a study of the antigenic complexity of *B. nodosus* pili. In: STEWART, D. J; PETERSON, J. E; MCKERN, N. M AND EMERY, D. L, (eds). Footrot in Ruminants. **Proceedings of a workshop**, Melbourne 1985, CSIRO Division of Animal Health/Australian Wool Corporation, Glebe, NSW, p. 147-159, 1986.

DHUNGYEL, O. P; LEHMANN, D. R; WHITTINGTON, R. J. Pilot trials in Australia on eradication of footrot by flock specific vaccination. **Veterinary Microbiology**, v. 132, p. 364-371, 2008.

EGERTON, J.R; ROBERTS, D.S; PARSANSON, I.M. The aetiology and pathogenesis of ovine foot-rot. I. A histological study of the bacterial invasion. **Journal of Comparative Pathology**, v. 79, p. 207-216, 1969.

EGERTON, J. R. Epidemiology and control of foot-rot. In: The importance of disease control in the livestock economy. Post-graduate Committee in Veterinary Science, University of Sydney, **Proceedings**. v. 11, p. 130-137, 1971.

EGERTON, J.R; ROBERTS, D.S. Vaccination against ovine foot-rot. **Journal of Comparative Pathology**, v. 81, p. 179-185, 1971.

EGERTON, J. R. Surface and somatic antigen of *Fusiformis nodosus*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 83, p. 151-159, 1973.

EGERTON, J. R; THORLEY, C. M. Effect of alum-precipitated or oil-adjuvant *Bacteroides nodosus* vaccines on the resistance of sheep to experimental foot rot. **Research in Veterinary Science**, v. 30, p. 28-31, 1981.

EGERTON, J. R; RAADSMA, H. W; O'MEARA, T. J; ATTARD, G; KRISTO, C. L. Antigenic competition in host immune response to defined vaccines. In: **Proceedings of the Australian Sheep Veterinary Society Annual Conference**, Canberra, p. 37-40, 1994.

EGERTON, J.R; GHIMIRE, S.C; DHUNGYEL, O.P; SHRESTHA, H.K; JOSHI, H.D; JOSHI, B.R; ABBOTT, K.A; KRISTO, C. Eradication of virulent Footrot from sheep and goats in an endemic area of Nepal and an evaluation of specific vaccination. **The Veterinary Record**, v. 151, p. 290-295, 2002.

EGERTON, J.R. Diseases of the feet. In: AITKEN, I.D. **Diseases of Sheep**. 4^a ed. Edinburgh: Blackwell, 2007. 610 p.

EMBRAPA. Dados climatológicos da Região Central do Rio Grande do Sul em 2009. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br> Acesso em 10 mar. 2010.

GHIMIRE, S. C; EGERTON, J. R; DHUNGYEL, O. P; JOSHI, H. D. Identification and characterization of serogroup M among Nepalese isolates of *Dichelobacter nodosus*, the transmitting agent of footrot in small ruminants. **Veterinary Microbiology**, v. 62, p. 217-233, 1998.

GURUNG, R.B; DHUNGYEL, O.P; TSHERING, P; EGERTON, J.R. The use an autogenous *Dichelobacter nodosus* vaccine to eliminate clinical signs of virulente footrot in a sheep flock in Bhutan. **The Veterinary Journal**, v. 172, p. 356-363, 2006.

HOSIE, B. Footrot and lameness in sheep. **The Veterinary Record**, v. 154, p. 37-38, 2004.

JENSEN, R; SWIFT, B. L. **Diseases of Sheep**. 2^a ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1982. 330 p.

RIBEIRO, L.A.O. Foot-rot dos ovinos no Rio Grande do Sul. I. Epidemiologia. **Boletim do IPVDF**, v. 5, p. 67-70, 1978.

RIBEIRO, L.A.O. **The epidemiology of ovine Foot-rot**. Sydney: The University of Sydney, 1981. Thesis of Master of Veterinary Science, Faculty of Veterinary Science, The University of Sydney, 1981.

RIBEIRO, L.A.O. Situação do Foot-rot dos ovinos no Rio Grande do Sul e sugestões para seu controle. **A Hora Veterinária**, v. 26, p. 33-35, 1985.

RIBEIRO, L.A.O. Avances en la prevención y control del foot-rot en Rio Grande del Sur. In: PESCE, L; BERMUDEZ, J; BONINO, J; RIMBAUD, E. **Enfermedades Podales de los Rumiantes**. Montevideo: Hemisferio Sur, 1995.

RIBEIRO, L.A.O. Footrot dos Ovinos. In: RIET-CORREA, F; SCHILD, A. L; MÉNDEZ, M. C; LEMOS, R. A. A. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3^a ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. 998 p.

RIBEIRO, L. A. O; REZLER, U; LEHUGEUR, C. M; LOPES, G. F; ACKER, M.C. Uso de florfenicol no controle do footrot dos ovinos em período úmido do ano. **A Hora Veterinária**, v. 163, p. 47-49, 2008.

ROBERTS, D.S; EGERTON, J.R. The aetiology and pathogenesis of ovine foot-rot. II. The pathogenic association of *Fusiformis nodosus* and *Fusiformis necrophorus*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 79, p. 217-227, 1969.

SILVA, R. A. M. S. Determinação da idade dos ovinos baseada na dentição. 2005. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/CPAP/56627> Acesso em 28 fev. 2010.

THORLEY, C. M. A simplified method for the isolation of *Bacteroides nodosus* from ovine footrot and studies on its colonial morphology and serology. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 40, p. 301-309, 1976.

THORLEY, C. M; EGERTON, J. R. Comparison of alum-absorbed or non-alum-absorbed oil emulsion vaccines containing either pilate or non-pilate *Bacteroides nodosus* cells in inducing and maintaining resistance of sheep to experimental foot rot. **Research in Veterinary Science**, v. 30, p. 32-37, 1981.

4 ARTIGO 2

O presente artigo científico foi elaborado e formatado conforme as normas da Revista Veterinária em Foco (ISSN 1679-5327).

RESPOSTA IMUNOLÓGICA CONTRA O FOOTROT DOS OVINOS PROMOVIDA POR VACINA MONOVALENTE E POR VACINA COMERCIAL POLIVALENTE

Immunological response against ovine footrot promoted by monovalent and a commercial polyvalent vaccine

RODRIGUES, Paulo Ricardo Centeno – Médico Veterinário, Especialista, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS

RIBEIRO, Luiz Alberto de Oliveira – Médico Veterinário, Doutor, Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS

CHIMINAZZO Cláudio – Médico Veterinário, Mestre, Laboratório Hipra

CORREA, Luis Felipe Dutra – Médico Veterinário, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS

LEHUGEUR, Carla Menger – Médica Veterinária, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS

CANELLAS, Leonardo Canali – Médico Veterinário, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFRGS

SOUZA, Fernando Magalhães de – Acadêmico da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS

Endereço para correspondência: Rua Buenos Aires, 402 apart. 202, bairro Jardim Botânico, Porto Alegre (RS). CEP: 90670-130. E-mail: priccenteno@hotmail.com

RESUMO

Este trabalho avaliou a resposta imunológica provocada por uma vacina monovalente e por uma vacina polivalente (7 sorogrupos) contra o footrot. Trinta fêmeas ovinas, com idades variadas, foram divididas aleatoriamente em 3 grupos de 10 animais: grupo controle (C) que não foi vacinado, grupo vacinado com vacina monovalente (Vm) e grupo vacinado com vacina polivalente (Vp). Os ovinos vacinados receberam duas doses com quatro semanas de intervalo, a dose foi de 2 ml por via subcutânea na região inguinal. Amostras de sangue foram colhidas da jugular dos animais para verificar títulos de anticorpos aglutinantes contra o *Dichelobacter nodosus* no início do experimento (dia zero) e em outras três ocasiões, semanas 4, 7 e 12. Os resultados mostraram diferenças altamente significativas ($p < 0,001$) entre os títulos médios geométricos (GMT) de anticorpos aglutinantes contra *Dichelobacter nodosus* no soro de ovinos vacinados (Vm e Vp) e não vacinados (C) na quarta, sétima e 12ª semanas do experimento. Em relação aos títulos médios geométricos (GMT) entre os grupos Vm e Vp houve diferenças estatisticamente significativas na quarta e sétima semanas. A vacina monovalente induziu títulos de aglutininas superiores contra o *Dichelobacter nodosus* em comparação com a vacina polivalente.

Palavras-chave: footrot, vacina monovalente, vacina polivalente.

ABSTRACT

This study evaluated the immune response elicited by a monovalent and a polyvalent vaccine (7 serogroups) against footrot. Thirty ewes, of various ages were randomly divided into 3 groups of 10 animals: control group (C) was not vaccinated, group vaccinated with monovalent vaccine (Vm) and the group vaccinated with polyvalent vaccine (Vp). The sheep were vaccinated with two doses four weeks apart, the dose was 2 ml subcutaneously in the inguinal region. Blood samples were collected from the jugular vein of the animals to determine agglutination titers against *Dichelobacter nodosus* in the beginning of the experiment (day zero) and in other three occasions, weeks 4, 7 and 12. The results showed highly significant differences ($p < 0,001$) between the geometric mean titers (GMT) of antibodies against *Dichelobacter nodosus* in the serum of sheep vaccinated (Vm e Vp) and unvaccinated (C) in the fourth, seventh and 12th weeks of the experiment. For the geometric mean titers (GMT) between the Vm and Vp groups there was statistically significant differences in the fourth and the seventh weeks. The monovalent vaccine induced titers of higher against *Dichelobacter nodosus* compared with the polyvalent vaccine.

Key words: footrot, monovalent vaccine, polyvalent vaccine.

INTRODUÇÃO

O footrot (FR) é uma enfermidade contagiosa dos ovinos e caprinos transmitida pelo *Dichelobacter nodosus*, uma bactéria Gram-negativa, não esporulada e obrigatoriamente anaeróbica, que não sobrevive mais que sete dias fora do casco dos ruminantes (EGERTON, 2007). Na sua forma virulenta causa grave claudicação, podendo afetar um ou mais membros do animal, acarretando severo prejuízo ao seu estado produtivo geral (EGERTON, 1997; RIBEIRO, 2007).

Alguns trabalhos relataram a presença de níveis de anticorpos contra *D. nodosus* no soro dos ovinos. Egerton e Merrit (1970) demonstraram a presença de anticorpos com poder bactericida em ovinos vacinados e não vacinados. Mais tarde Egerton e Roberts (1971) descreveram níveis de anticorpos aglutinantes em ovinos vacinados e não vacinados, que foram experimentalmente desafiados com amostras virulentas de *D. nodosus*. Egerton e Merrit (1973) demonstraram a presença de anticorpos aglutinantes contra antígenos de superfície (K) e somáticos (O) através dos diferentes tipos de aglutinação que eles causam e demonstraram um aumento de 100 vezes no título de aglutininas K e O após vacinação contra o FR utilizando vacinas com adjuvante oleoso ou sulfato de alumínio e potássio.

Estudos posteriores, conduzidos por Stewart (1973) e Walker et al. (1973) revelaram que o *D. nodosus* possuía estruturas da parede celular identificadas como pili com capacidade de gerar resposta imunogênica em coelhos e ovinos. Egerton (1973) classificou 33 isolados de *D. nodosus* em três diferentes sorogrupos: A, B e C, tendo como base seus antígenos de superfície K. Stewart (1978) demonstrou que vacinas contra o FR que utilizaram pili purificadas foram capazes de proteger ovinos desafiados com amostras homólogas, entretanto vacinas com outros extratos antigênicos, contendo antígenos O e lipopolissacarídeos da parede celular, não foram capazes de oferecer a mesma proteção.

Thorley e Egerton (1981) compararam a eficácia de vacinas emulsificadas em óleo, com anterior ou não adsorção em sulfato de alumínio e potássio, e cada uma dessas vacinas foi preparada com células piliadas e não-piliadas de *D. nodosus*. Os melhores resultados

foram obtidos com vacinas que utilizaram amostras piliadas e foram primeiramente adsorvidas em sulfato de alumínio e potássio antes da emulsificação em óleo. Nesse experimento os autores correlacionaram com uma razoável resistência à infecção por cepas homólogas título de aglutininas acima de 3200 (título médio geométrico = 11,64).

Os resultados encontrados por Raadsma et al. (1994) demonstraram a influência da competição antigênica na redução dos títulos de aglutininas K quando vacinas polivalentes confeccionadas com pili de *D. nodosus* são utilizadas. Conforme O'Meara (1993) as vacinas monovalentes recombinantes que utilizam pili são superiores na indução de altos títulos de aglutininas K e na produção de imunidade de mais longa duração. Por outro lado, segundo o mesmo autor, as vacinas polivalentes, a cada incorporação adicional de sorogrupo, acarreta uma redução nos títulos de anticorpos aglutinantes e no poder de proteção frente à agressão experimental.

A eficiência de vacinas autógenas monovalentes como estratégia de controle do FR em propriedades rurais foi demonstrada por Egerton et al. (2002) e Gurung et al. (2006), onde o poder de proteção e terapêutico da vacina esteve associado a altos títulos de anticorpos aglutinantes.

O presente trabalho teve como objetivo comparar a resposta imunológica, medida pelos títulos de anticorpos aglutinantes, produzida por uma vacina autógena monovalente e uma vacina comercial polivalente.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na fazenda da Saudade, localizada no município de Glorinha, no Estado do Rio Grande do Sul, região Sul do Brasil. Glorinha localiza-se na latitude $-29^{\circ} 52' 50''$ e longitude $50^{\circ} 46' 59''$, numa altitude de 58 m acima do nível do mar, o solo predominante é do tipo planossolo e argissolo.

Foi utilizado um rebanho ovino cruza Texel com 50 animais, entre setembro de 2009 e janeiro de 2010. Os ovinos são criados extensivamente e alimentados com pastagem nativa. O manejo sanitário dos animais consiste em vacinações anuais contra

clostridioses e aplicações de vermífugos em períodos determinados pelo proprietário. Foram escolhidas aleatoriamente 30 fêmeas ovinas com idades variáveis, e identificadas através de brincos numerados. A seguir foram formados três grupos experimentais com dez animais em cada grupo: grupo Vm – vacinado com vacina monovalente, grupo Vp – vacinado com vacina polivalente e grupo C – grupo controle sem vacinação. Os ovinos foram avaliados quanto à idade, através do exame dos dentes, e lesões de FR nos cascos. Durante todo o experimento nenhum ovino apresentou lesões de FR. Os grupos Vm e Vp foram vacinados no dia zero e revacinados quatro semanas após, com 2 ml por via subcutânea (SC), na região inguinal direita na vacinação e na região inguinal esquerda na revacinação.

Vacinas utilizadas

Uma vacina monovalente e outra vacina polivalente (contendo sete sorogrupos) com adjuvante oleoso (Montanide) contendo amostras de *D. nodosus* foram cedidas pelo Laboratório Hipra. A proporção da suspensão de células no óleo foi 40:60. A preparação conteve aproximadamente 5×10^8 *D. nodosus* células/ml em cada vacina (GURUNG et al., 2006).

Preparação do antígeno para sorologia

Culturas puras de *D. nodosus* que serviram para a produção das vacinas foram cultivadas em placas de Petry com ágar casco a 2%, foram colhidas em 0,4-0,5 ml de uma solução formalina tampão fosfato-salino (FPBS), pH 7, e sua concentração foi ajustada até conter aproximadamente 5×10^8 células/ml, equivalente ao tubo 3,5 da escala de MacFarland (BIER, 1990). O antígeno utilizado para avaliar os títulos de anticorpos aglutinantes produzidos pela vacina polivalente foi do sorogrupo B.

Colheita de sangue para sorologia

Foram realizadas colheitas de sangue diretamente da veia jugular, utilizando tubos vacutainer® sem anti-coagulante (Becton-Dickinson, Rutherford, NJ, USA) dos dez

ovinos de cada um dos grupos, em quatro ocasiões durante o experimento, para determinar os títulos de aglutininas contra o *D. nodosus*. Logo após a colheita as amostras de sangue foram deixadas coagular a temperatura ambiente, sendo os soros coletados, identificados e mantidos a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até serem processados. As amostras foram colhidas no início do experimento (dia zero), e as quatro, sete e 12 semanas.

Teste de aglutinação em tubos

O teste de aglutininas K foi realizado usando a técnica descrita por Egerton (1973), que consiste na adição de 0,1 ml de soro ovino a 0,9 ml de solução fisiológica em um tubo de ensaio, produzindo uma diluição inicial 1/10. Diluições com 0,5 ml de solução fisiológica foram preparadas. A seguir, 0,5 ml de uma suspensão de antígeno contendo aproximadamente 5×10^8 células/ml foi adicionada a cada tubo. O teste foi incubado por no mínimo quatro horas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. O título final foi a mais alta diluição em que foi observada aglutinação flocular. Com esses dados foi calculado o título médio geométrico (GMT) para os três grupos em cada ocasião.

Análise estatística

Os resultados sorológicos encontrados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em quatro ocasiões foi colhido sangue para medir os títulos de aglutininas contra o *D. nodosus* no soro dos ovinos. Os títulos médios e o GMT de aglutininas K estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Títulos médios e título médio geométrico (GMT) de aglutininas K contra o *Dichelobacter nodosus* no soro de ovinos não vacinados (grupo C), vacinados com vacina monovalente (grupo Vm) e vacinados com vacina polivalente (grupo Vp).

Semana	Grupo C		Grupo Vm		Grupo Vp	
	Média	GMT	Média	GMT	Média	GMT
0	152	7,02 ^{a,1}	168	7,22 ^{a,1}	168	7,22 ^{a,1}
4*	144	7,02 ^{a,1}	5248	11,92 ^{b,2}	1728	10,62 ^{b,3}
7	160	7,22 ^{a,1}	13824	13,42 ^{c,2}	4736	11,92 ^{c,3}
12	208	7,52 ^{a,1}	5120	11,82 ^{b,2}	2752	10,92 ^{b,2}

^{a,b,c} Valores em cada coluna não seguidos da mesma letra diferem significativamente ($p < 0,001$).

^{1,2,3} Valores em cada linha não seguidos do mesmo número diferem significativamente ($p < 0,001$).

* Revacinação.

Os dados da Tabela 1 podem ser mais bem visualizados na Figura 1.

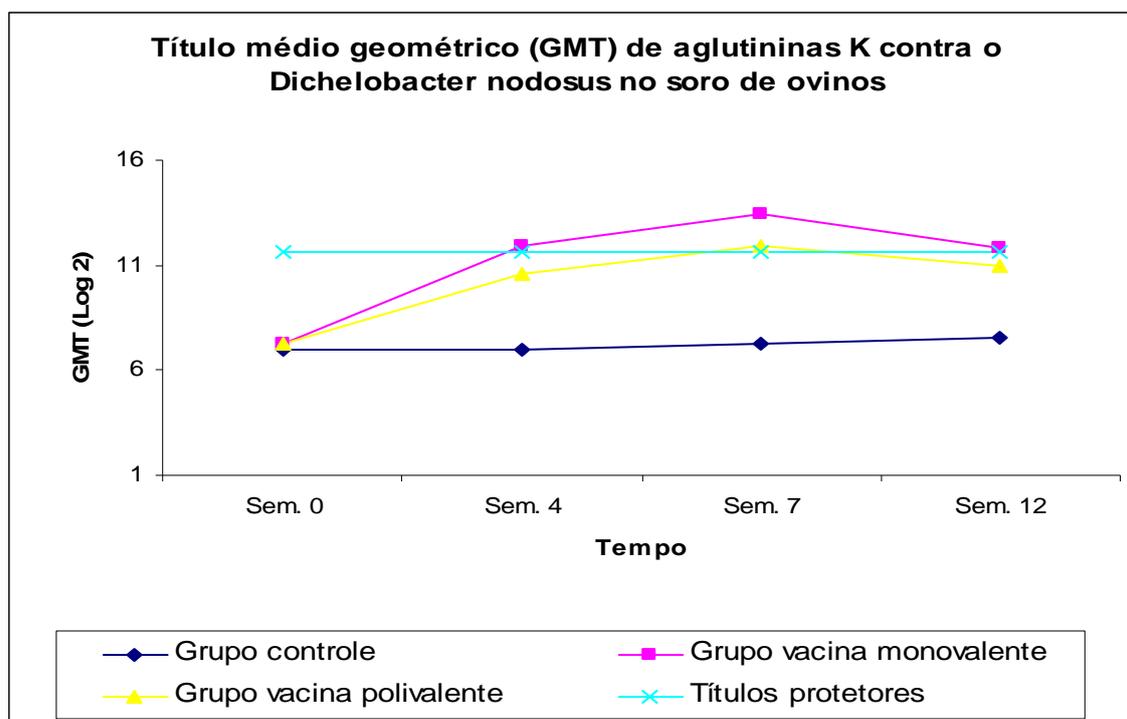


Figura 1 – Título médio geométrico (GMT) de aglutininas K contra o *Dichelobacter nodosus* no soro de ovinos não vacinados (grupo C), vacinados com vacina monovalente (grupo Vm), vacinados com vacina polivalente (grupo Vp) e títulos considerados protetores (THORLEY; EGERTON, 1981).

Os resultados das provas sorológicas foram submetidos à análise estatística e demonstraram uma diferença significativa ($p < 0,001$) entre os títulos do grupo não vacinado (C) e vacinado (Vm e Vp) na quarta, sétima e 12ª semanas do experimento, ao mesmo tempo verificaram-se diferenças significativas ($p < 0,001$) entre o grupo Vm e Vp

na quarta e sétima semanas. As diferenças observadas entre o grupo C e os grupos Vm e Vp demonstraram a eficácia das duas vacinas em produzir resposta imune nos ovinos vacinados. As diferenças observadas entre os títulos médios geométricos (GMT) dos grupos Vm e Vp, na quarta e sétima semanas, são provavelmente resultado da competição antigênica que ocorreu entre os sete sorogrupos que compõe a vacina polivalente, conforme anteriormente sugerido por O'Meara (1993) e Raadsma et al. (1994).

Na quarta semana, a média dos títulos de aglutininas no grupo Vm foi de 5248 e no grupo Vp de 1728, resultados semelhantes foram encontrados por Schwartzkoff et al. (1993), que estudando os efeitos da competição antigênica sobre a eficácia das vacinas multivalentes contra o FR, encontraram médias de 19020 e 2070, respectivamente, ao comparar duas vacinas, a primeira, monovalente de pili purificada, emulsificada em adjuvante incompleto de Freund, a segunda, polivalente de células inteiras e piliadas, contendo oito sorogrupos, adsorvida em hidróxido de alumínio e posteriormente emulsificada em óleo, avaliando o sorogrupo A. Em estudo anterior, Ribeiro (1981) encontrou resultados semelhantes, quando comparou três vacinas monovalentes (sorogrupos A, C e D) com uma vacina polivalente, contendo os mesmos três sorogrupos em sua formulação, na produção de anticorpos aglutinantes contra *D. nodosus*. As vacinas foram adsorvidas em sulfato de alumínio e potássio com posterior emulsificação em óleo. A média dos títulos das vacinas monovalentes, quatro semanas após a vacinação, foi 5096, 485, 8914, para os sorogrupos A, C e D, respectivamente, e a média dos títulos da vacina polivalente foi 422, 844 e 1114 para os mesmos sorogrupos. Somente a média dos títulos do sorogrupo C foi maior na vacina polivalente. Resultados parecidos foram encontrados por Egerton et al. (2002), que comparou a produção de anticorpos aglutinantes contra *D. nodosus* entre uma vacina autógena monovalente (sorogrupo E) e uma vacina comercial contendo 10 sorogrupos, e verificou um aumento de duas vezes nos títulos da vacina monovalente quando comparada à vacina polivalente, ao mesmo tempo verificou que os títulos considerados protetores produzidos pela vacina monovalente persistiram por seis meses.

Segundo Ribeiro (1981) o poder terapêutico e protetor das vacinas contra o FR está relacionado à identidade entre a amostra presente na vacina e a amostra de *D. nodosus* presente no surto. Os títulos de anticorpos capazes de acelerar a cura de lesões de FR

não foram ainda claramente determinados. Como o poder protetor da vacina está relacionado a altos títulos de anticorpos aglutinantes no soro de ovinos vacinados, pode-se presumir que o poder terapêutico esteja também associado a altos títulos. Essa hipótese é reforçada pelos excelentes resultados obtidos no controle e até mesmo na erradicação do FR, quando vacinas monovalentes ou no máximo bivalentes foram utilizadas (EGERTON et al., 2002; GURUNG et al., 2006).

Novos experimentos devem ser conduzidos para que o título terapêutico das vacinas contra o FR possa ser estimado.

CONCLUSÃO

A análise dos dados obtidos no presente trabalho, permitiu as seguintes conclusões:

1. As vacinas monovalente e polivalente com adjuvante oleoso induziram resposta imune nos animais vacinados.
2. O título médio geométrico (GMT) de anticorpos aglutinantes presentes no soro dos animais vacinados e revacinados, produzidos pela vacina monovalente, demonstraram ser protetores contra o FR na quarta, sétima e 12^a semanas.
3. O título médio geométrico (GMT) de anticorpos aglutinantes presentes no soro dos animais vacinados e revacinados, produzidos pela vacina polivalente, avaliada em relação ao sorogrupo B, demonstraram ser protetores contra o FR na sétima semana.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos ao Laboratório Hipra pela doação das vacinas e dos antígenos utilizados neste experimento. Aos profissionais do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Médicos Veterinários Augusto César da Cunha e Sandra Maria Borowski, e aos laboratoristas Erenice Oliveira da Silva e Fábio Gomes pelo auxílio nos testes sorológicos. Aos alunos do Projeto de Extensão Universitária Bovinos de Leite (2009/2) do Curso de Medicina Veterinária da ULBRA/RS e campeiros da Fazenda da

Saudade pelo auxílio nos trabalhos de campo, sem os quais este trabalho não teria sido possível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIER, O. Técnicas Bacteriológicas. In: **Microbiologia e Imunologia**. 30^a ed., São Paulo: Melhoramentos, 1990. 931 p.

EGERTON, J. R; MERRIT, G. C. The occurrence of bactericidal antibodies against *Fusiformes nodosus* in sheep serum. **Journal of Comparative Pathology**, v. 80, p. 369-376, 1970.

EGERTON, J.R; ROBERTS, D.S. Vaccination against ovine foot-rot. **Journal of Comparative Pathology**, v. 81, p. 179-185, 1971.

EGERTON, J. R. Surface and somatic antigen of *Fusiformis nodosus*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 83, p. 151-159, 1973.

EGERTON, J. R; MERRIT, G. C. Serology of foot-rot: antibodies against *Fusiformes nodosus* in normal, affected, vaccinated and passively immunised sheep. **Australian Veterinary Journal**, v. 49, p. 139-145, 1973.

EGERTON, J. R. Foot rot In: **Manual Merck de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário**. 7^a ed. São Paulo: Roca, 1997. 2169 p.

EGERTON, J.R; GHIMIRE, S.C; DHUNGYEL, O.P; SHRESTHA, H.K; JOSHI, H.D; JOSHI, B.R; ABBOTT, K.A; KRISTO, C. Eradication of virulent Footrot from sheep and goats in an endemic area of Nepal and an evaluation of specific vaccination. **The Veterinary Record**, v. 151, p. 290-295, 2002.

EGERTON, J.R. Diseases of the feet. In: AITKEN, I.D. **Diseases of Sheep**. 4^a ed. Edinburgh: Blackwell, 2007. 610 p.

GURUNG, R.B; DHUNGYEL, O.P; TSHERING, P; EGERTON, J.R. The use an autogenous *Dichelobacter nodosus* vaccine to eliminate clinical signs of virulente footrot in a sheep flock in Bhutan. **The Veterinary Journal**, v. 172, p. 356-363, 2006.

O'MEARA, T. J; EGERTON, J. R; RAADSMA, H. W. Recombinant vaccines against ovine footrot. **Immunology and Cell Biology**, v. 71, p. 473-488, 1993.

RAADSMA, H. W; O'MEARA, T. J; EGERTON, J. R; LEHRBACH, P. R; SCHWARTZKOFF, C. L. Protective antibody titres and antigenic competition in multivalent *Dichelobacter nodosus* fimbrial vaccines using characterized rDNA antigens. **Veterinary Immunology and immunopathology**, v. 40, p. 253-274, 1994.

RIBEIRO, L.A.O. **The epidemiology of ovine Foot-rot**. Sydney: The University of Sydney, 1981. Thesis of Master of Veterinary Science, Faculty of Veterinary Science, The University of Sydney, 1981.

RIBEIRO, L.A.O. Footrot dos Ovinos. In: RIET-CORREA, F; SCHILD, A. L; MÉNDEZ, M. C; LEMOS, R. A. A. **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos**. 3ª ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. 998 p.

SCHWARTZKOFF, C. L; EGERTON, J. R; STEWART, D. J; LEHRBACH, P. R; ELLEMAN, T. C; HOYNE, P. A. The effects of antigenic competition on the efficacy of multivalent footrot vaccines. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, p. 123-126, 1993.

STEWART, D.J. An electron microscopic study of *Fusiformis nodosus*. **Research in Veterinary Science**, v. 13, p. 132, 1973.

STEWART, D.J. The role of various antigenic fractions of *Bacteroides nodosus* in eliciting protection against foot-rot in vaccinated sheep. **Research in Veterinary Science**, v. 24, p. 14-19, 1978.

THORLEY, C. M; EGERTON, J. R. Comparison of alum-absorbed or non-alum-absorbed oil emulsion vaccines containing either pilate or non-pilate *Bacteroides nodosus* cells in inducing and maintaining resistance of sheep to experimental foot rot. **Research in Veterinary Science**, v. 30, p. 32-37, 1981.

WALKER, P. D; SHORT, J; THOMSON, R. O; ROBERTS, D. S. The fine structure of *Fusiformis nodosus* with special reference to the location of antigen associated with immunogenicity. **Journal of General Microbiology**, v. 77, p. 351-361, 1973.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta dissertação de Mestrado envolveu uma abrangente revisão de literatura sobre uma das enfermidades mais importantes na produção de pequenos ruminantes, o footrot. Uma doença infecciosa que acomete ovinos e caprinos mundialmente e causa elevados prejuízos aos criadores dessas espécies. Foram abordados aspectos sobre sua etiologia, patogenia, patologia, fatores de virulência do agente, epidemiologia, sinais clínicos, diagnóstico, tratamento, controle e medidas para sua erradicação com a intenção de rever, aprofundar e propor novas alternativas que possam diminuir o impacto econômico dessa doença infecciosa, sem, entretanto, esgotar o tema.

O trabalho experimental que foi desenvolvido sobre esse tema concentrou-se em verificar a eficácia de uma alternativa viável para o controle dessa enfermidade. Dentro dessa premissa foi proposto produzir e administrar uma vacina autógena, avaliar sua eficácia, avaliar a resposta imune dos animais e as reações vacinais locais em dois sítios distintos. Para tanto, foi escolhida uma propriedade com um histórico de grandes dificuldades para controlar o FR, e que permitisse desenvolver o experimento sem grandes interferências, fato esse que mais tarde revelou-se um problema, pois houve uma grande eliminação seletiva conduzida pelo proprietário nos dois grupos que constituíam o experimento. Essa decisão do proprietário dificultou a análise estatística dos resultados encontrados, pois o grupo controle que era constituído por 75 animais chegou ao final dos oito meses de duração do experimento com somente 27 animais, ou seja, uma redução de 64% no número de animais.

Esses fatos impediram que a análise estatística mostrasse diferença entre o número de animais infectados nos dois grupos experimentais (vacinado e controle), entretanto não podemos deixar de registrar que o grupo vacinado chegou ao final do experimento sem nenhum animal infectado, e atravessou todo o período crítico de transmissão do FR sem receber nenhum tratamento contra a doença. Em relação às lesões vacinais locais causadas pela vacina, que é uma queixa antiga dos criadores quando do uso de vacinas contra o FR, foi constatada uma diferença estatisticamente significativa na ocorrência das lesões e na gravidade dessas lesões, entre os dois locais escolhidos para sua administração. Os testes sorológicos foram conduzidos em duas propriedades distintas, e revelaram que a diferença no nível de anticorpos aglutinantes contra *D. nodosus* foi estatisticamente significativa entre os grupos de animais vacinados e não vacinados, demonstrando a eficácia das vacinas (monovalente e polivalente) em induzir resposta

imune nos animais. No experimento conduzido em Glorinha/RS, ficou demonstrada a superioridade de uma vacina monovalente frente a uma vacina polivalente (7 sorogrupos) na produção de títulos de anticorpos aglutinantes contra *D. nodosus*. Os títulos produzidos pela vacina monovalente apresentaram valores superiores e mantiveram-se por mais tempo em níveis protetores contra a doença.

Os experimentos realizados com rebanhos comerciais, diferentemente dos experimentos conduzidos nas estações experimentais de pesquisa, oferecem a vantagem de utilizar um grande número de animais em condições naturais de desafio, mas, por outro lado, podem reservar algumas surpresas desagradáveis, criando novas variáveis que podem afetar direta ou indiretamente o experimento. Esses fatos, entretanto, não devem inibir e a utilização de rebanhos comerciais em projetos de pesquisa, pois a experiência de conduzir trabalhos científicos nessas condições é fundamental para o desenvolvimento dos futuros pesquisadores.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, K. A; LEWIS, C. J. Current approaches to the management of ovine footrot. **The Veterinary Journal**, v. 169, p. 28-41, 2005.
- ALEXANDER, T. M. The differential diagnosis of footrot in sheep. **Australian Veterinary Journal**, v. 38, p. 366-367, 1962.
- BEVERIDGE, W. I. B. Investigations on the viability of the contagion of footrot in sheep. **Council for Scientific and Industrial Research Bulletin**. Council for Scientific and Industrial Research , Melbourne, v. 11, p. 4-13, 1938.
- BEVERIDGE, W. I. B. Footrot in sheep: a transmissible disease due to infection with *Fusiformis nodosus*. **Council for Scientific and Industrial Research Bulletin**. Council for Scientific and Industrial Research , Melbourne, v. 140, p. 1-53, 1941.
- BILLINGTON, S. J; JOHNSTON, J. L; ROOD, J. I. Virulence regions and virulence factors of the ovine footrot pathogen *Dichelobacter nodosus*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 145, p. 147-156, 1996.
- BLOOD, D. C; RADOSTITS, O. M. **Clínica Veterinária**. 7^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1263 p.
- BROAD, T. E; SKERMAN, T. M. Partial purification and properties of extracellular proteolytic activity of *Bacteroides nodosus*. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 19, p. 317-322, 1976.
- CLAXTON, P, D. **Studies on *Bacteroides nodosus* vaccines**. Sydney: The University of Sydney, 1981. Thesis of Doctor of Philosophy, Faculty of Veterinary Science, The University of Sydney, 1981.
- CLAXTON, P. D; RIBEIRO, L. A; EGERTON, J. R. Classification of *Bacteroides nodosus* by agglutination tests. **Australian Veterinary Journal**, v. 60, p.331-334, 1983.
- CLAXTON, P. D. Serogrouping of *Bacteroides nodosus* isolates. In: STEWART, D. J; PETERSON, J. E; MCKERN, N. M AND EMERY, D. L, (eds). Footrot in Ruminants. **Proceedings of a workshop**, Melbourne 1985, CSIRO Division of Animal Health/Australian Wool Corporation, Glebe, NSW, p: 131-134, 1986.
- COE, A. **Observações da produção ovina na região da fronteira do Rio Grande do Sul**. Santana do Livramento: Edigraf, p. 37, 1991.
- CROSS, R. F; PARKER, C. F. Zinc sulphate foot bath for control of ovine foot rot. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 178, p. 706-707, 1981.

DAY, S. E. J; THORLEY, C. M; BEESLEY, J. E. Serotyping of *Bacteroides nodosus*: a proposal for 9 serotypes (J-R) and a study of the antigenic complexity of *B. nodosus* pili. In: STEWART, D. J; PETERSON, J. E; MCKERN, N. M AND EMERY, D. L, (eds). Footrot in Ruminants. **Proceedings of a workshop**, Melbourne 1985, CSIRO Division of Animal Health/Australian Wool Corporation, Glebe, NSW, p. 147-159, 1986.

DEANE, H. M; JENSEN, R. The pathology of contagious foot rot in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v. 16 (59), p. 203-208, 1955.

DEPIAZZI, L.J; RICHARDS, R.B. A degrading proteinase test to distinguish benign and virulent ovine isolates of *Bacteroides nodosus*. **Australian Veterinary Journal**, v. 55, p. 25-28, 1979.

DEPIAZZI, L. J; ROOD, J. I. The thermostability of proteases from virulent and benign strains of *Bacteroides nodosus*. **Veterinary Microbiology**, v. 9, p. 227-236, 1984.

DEPIAZZI, L.J; RICHARDS, R.B. Motility in relation to virulence of *Bacteroides nodosus*. **Veterinary Microbiology**, v. 10, p. 107-116, 1985.

DEPIAZZI, L.J; HENDERSON, J; PENHALE, W. J. Measurement of protease thermostability, twitching motility and colony size of *Bacteroides nodosus*. **Veterinary Microbiology**, v. 22, p. 353-363, 1990.

DOMINGUES, O. **Introdução à Zootecnia**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Fundação IBGE, 1968. 392 p.

EGERTON, J. R; PARSONSON, I. M. Isolation of *Fusiformis nodosus* from cattle. **Australian Veterinary Journal**, v. 42, p. 425-429, 1966.

EGERTON, J. R; PARSONSON, I. M; GRAHAM, N. P. H. Parenteral chemotherapy of ovine foot-rot. **Australian Veterinary Journal**, v. 44, p. 275-283, 1968.

EGERTON, J.R; ROBERTS, D.S; PARSONSON, I.M. The aetiology and pathogenesis of ovine foot-rot. I. A histological study of the bacterial invasion. **Journal of Comparative Pathology**, v. 79, p. 207-216, 1969.

EGERTON, J. R. Successful vaccination of sheep against foot-rot. **Australian Veterinary Journal**, v. 46, p. 114-115, 1970.

EGERTON, J. R. Epidemiology and control of foot-rot. In: The importance of disease control in the livestock economy. Post-graduate Committee in Veterinary Science, University of Sydney, **Proceedings**. v. 11, p. 130-137, 1971.

EGERTON, J.R; ROBERTS, D.S. Vaccination against ovine foot-rot. **Journal of Comparative Pathology**, v. 81, p. 179-185, 1971.

EGERTON, J. R; MORGAN, I. R. Treatment and prevention of footrot in sheep with *Fusiformis nodosus* vaccine. **The Veterinary Record**, v. 91, p. 453-457, 1972.

EGERTON, J. R; LAING, E. A. Characteristics of *Bacteroides nodosus* isolated from cattle. **Veterinary Microbiology**, v. 3, p. 269-279, 1978.

EGERTON, J. R; THORLEY, C. M. Effect of alum-precipitated or oil-adjuvant *Bacteroides nodosus* vaccines on the resistance of sheep to experimental foot rot. **Research in Veterinary Science**, v. 30, p. 28-31, 1981.

EGERTON, J. R; RIBEIRO, L. A; KIERAN, P. J; THORLEY, C. M. Onset and remission of ovine footrot. **Australian Veterinary Journal**, v. 60 (11), p. 334-336, 1983.

EGERTON, J. R; COX, P. T; ANDERSON, B. J; KRISTO, C; NORMAN, M; MATTICK, J. S. Protection of sheep against footrot with a recombinant DNA-based fimbrial vaccine. **Veterinary Microbiology**, v. 14, p. 393-409, 1987.

EGERTON, J. R. Foot rot In: **Manual Merck de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário**. 7^a ed. São Paulo: Roca, 1997. 2169 p.

EGERTON, J. R. Control and eradication of footrot at the farm level – the role of veterinarians. In: **Proceedings of the Second International Congress for Sheep Veterinarians**. Massey University, New Zealand, p. 215-218, 1989.

EGERTON, J. R; YONG, W. K; RIFFIKIN, G. G. **Footrot and Foot Abscess of Ruminants**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1989. 262 p.

EGERTON, J.R; GHIMIRE, S.C; DHUNGYEL, O.P; SHRESTHA, H.K; JOSHI, H.D; JOSHI, B.R; ABBOTT, K.A; KRISTO, C. Eradication of virulent Footrot from sheep and goats in an endemic area of Nepal and an evaluation of specific vaccination. **The Veterinary Record**, v. 151, p. 290-295, 2002.

EGERTON, J.R. Diseases of the feet. In: AITKEN, I.D. **Diseases of Sheep**. 4^a ed. Edinburgh: Blackwell, 2007. 610 p.

EVERY, D. Proteinase isoenzyme patterns of *Bacteroides nodosus*: distinction between ovine virulent isolates, ovine benign isolates and bovine isolates. **Journal of General Microbiology**, v. 128, p. 809-812, 1982.

EVERY, D; SKERMAN, T. M. Surface structure of *Bacteroides nodosus* in relation to virulence and immunoprotection in sheep. **Journal of General Microbiology**, v. 129, p. 225-234, 1983.

FIALHO, M; RIBEIRO, L.A.O. Experiencia a campo con vacuna contra foot-rot en ovinos en Uruguay. In: PESCE, L; BERMUDEZ, J; BONINO, J; RIMBAUD, E. **Enfermedades Podales de los Rumiantes**. Montevideo: Hemisferio Sur, 1995.

GHIMIRE, S. C; EGERTON, J. R; DHUNGYEL, O. P; JOSHI, H. D. Identification and characterization of serogroup M among Nepalese isolates of *Dichelobacter nodosus*, the transmitting agent of footrot in small ruminants. **Veterinary Microbiology**, v. 62, p. 217-233, 1998.

GHIMIRE, S. C; EGERTON, J. R. PCR-RFLP of outer membrane proteins gene of *Dichelobacter nodosus*: a new tool in the epidemiology of footrot. **Epidemiology and Infection**, v. 122, p. 521-528, 1999.

GORDON, L. M; YONG, W. K; WOODWARD, C. A. M. Temporal relationships and characterization of extracellular proteases from benign and virulent strains of *Bacteroides nodosus* as detected in zymogram gels. **Research in Veterinary Science**, v. 39, p. 165-172, 1985.

GREEN, R. S. Characterization of certain proteinase isoenzymes produced by benign and virulent strains of *Bacteroides nodosus*. **Journal of General Microbiology**, v. 131, p. 2871-2876, 1985a.

GREEN, R. S. A method to differentiate between virulent and benign isolates of *Bacteroides nodosus* based on the thermal stability of their extracellular proteinases. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 33, p. 11-13, 1985b.

GURUNG, R.B; DHUNGYEL, O.P; TSHERING, P; EGERTON, J.R. The use an autogenous *Dichelobacter nodosus* vaccine to eliminate clinical signs of virulente footrot in a sheep flock in Bhutan. **The Veterinary Journal**, v. 172, p. 356-363, 2006.

HAN, X; KENNAN, R. M; DAVIES, J. K; REDDACLIFF, L. A; DHUNGYEL, O. P; WHITTINGTON, R. J; TURNBULL, L; WHITCHURCH, C. B; ROOD, J. I. Twitching Motility Is Essential for Virulence in *Dichelobacter nodosus*. **Journal of Bacteriology**, v. 190 (9), p. 3323-3335, 2008.

HARING, V; BILLINGTON, S. J; WRIGHT, C. L; HUGGINS, A. S; KATZ, M. E; ROOD, J. I. Delineation of the virulence-related locus (vrl) of *Dichelobacter nodosus*. **Microbiology**, v. 141, p. 2081-2089, 1995.

HINE, P. M. Ovine footrot: histopathology of a synergic disease, in *Models of Anaerobic Infections*. The Hague Academy: Martinus Nijhoff, 85, 1984.

HOOPER, R. S; JONES, T. W. Corono-pedal abscessation following the excessive use of formalin as a treatment for foot-rot in sheep. **The Veterinary Record**, v. 90, p. 697-699, 1972.

HOSIE, B. Footrot and lameness in sheep. **The Veterinary Record**, v. 154, p. 37-38, 2004.

IBGE. Pesquisa Pecuária Municipal, 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>
Acesso em 22 fev 2010.

JENSEN, R; SWIFT, B. L. **Diseases of Sheep**. 2^a ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1982. 330 p.

KATZ, M. E; HOWARTH, P. M; YONG, W. K; RIFFKIN, G. C; DEPIAZZI, L. J; ROOD, J. I. Identification of three gene regions associated with virulence in

- Dichelobacter nodosus*, the causative agent of ovine footrot. **Journal of General Microbiology**, v. 137, p. 2117-2124, 1991.
- KATZ, M. E; STRUGNELL, R. A; ROOD, J. I. Molecular characterization of a genomic region associated with virulence in *Dichelobacter nodosus*. **Infection and Immunity**, v. 60, p. 4586-4592, 1992.
- KENNAN, R. M; DHUNGYEL, O. M. P; WHITTINGTON, R. J; EGERTON, J. R; ROOD, J. I. The type IV fimbrial subunit gene (fimA) of *Dichelobacter nodosus* is essential for virulence, protease secretion and natural competence. **Journal of Bacteriology**, v. 183, p. 4451-4458, 2001.
- KIMBERLING, C. V; ELLIS, R. P. Advances in the control of foot rot in sheep. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 6 (3), p. 671-681, 1990.
- KORTT, A. A; O'DONNELL, I. J. O; STEWART, D. J; CLARK, B. L. Activities and partial purification of extracellular proteases of *Bacteroides nodosus* from virulent and benign footrot. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 35, p. 481-489, 1982.
- LAMBELL, R. G; ATKINS, J. W; BRIGHTLING, A. The use of a zinc sulphate formulation for the eradication of footrot during a period unfavorable for the spread of the disease. In: STEWART, D. J; PETERSON, J. E; MCKERN, N. M AND EMERY, D. L, (eds). Footrot in Ruminants. **Proceedings of a workshop**, Melbourne 1985, CSIRO Division of Animal Health/Australian Wool Corporation, Glebe, NSW, p. 47-49, 1986.
- LEWIS, C; STUBBINGS, L. **Sheep Farmer**, v. July/August, p. 22-23, 2003.
- LINKS, I. J; STEWART, D. J; EDWARDS, R. D; VAUGHAN, J. A. Protease tests on *Dichelobacter nodosus* from ovine footrot – comparison of protease ELISA and Gelatin Gel tests. **Proceedings Australian Sheep Veterinary Society Annual Conference**, Melbourne, p. 45-48, 1995.
- MALECKI, J.C; McCAUSLAND, I.P. In vitro penetration and absorption of chemicals into the ovine hoof. **Research in Veterinary Science**, v. 33, p. 192-197, 1982.
- MALECKI, J. C; COFFEY, L. Treatment of ovine virulent footrot with zinc sulphate/sodium lauryl sulphate footbathing. **Australian Veterinary Journal**, v. 64, p. 301-304, 1987.
- MARSHALL, D.J; WALKER, R.I; CULLIS, B.R; LUFF, M.F. The effect of footrot on body weight and wool growth of sheep. **Australian Veterinary Journal**, v. 68, p. 45-49, 1991a.
- MARSHALL, D.J; WALKER, R.I; COVENY, R. E. Protection against ovine footrot using a topical preparation of zinc sulphate. **Australian Veterinary Journal**, v. 68, p. 186-187, 1991b.

- MATTICK, J. S; BILLS, M. M; ANDERSON, B, J; DALRYMPLE, B; MOTT, M. R; EGERTON, J. R. Morphogenetic expression of *Bacteroides nodosus* fimbriae in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, v. 169, p. 33-41, 1987.
- MATTICK, J. S. Type IV pili and twitching motility. **Annual Review of Microbiology**, v. 56, p. 289-314, 2002.
- MOORE, L. J; WASSINK, G. J; GREEN, L. E; GROGONO-THOMAS, R. The detection and characterization of *Dichelobacter nodosus* from cases of ovine footrot in England and Wales. **Veterinary Microbiology**, v. 108, p. 57-67, 2005a.
- MOORE, L. J; WOODWARD, M. J; GROGONO-THOMAS, R. The occurrence of treponemes in contagious ovine digital dermatitis and the characterisation of associated *Dichelobacter nodosus*. **Veterinary Microbiology**, v. 111(3-4), p. 199-209, 2005b.
- MULVANEY, C. J; JACKSON, R; JOPP, A. J. A revised concept of ovine footrot control. In: STEWART, D. J; PETERSON, J. E; MCKERN, N. M AND EMERY, D. L, (eds). Footrot in Ruminants. **Proceedings of a workshop**, Melbourne 1985, CSIRO Division of Animal Health/Australian Wool Corporation, Glebe, NSW, p: 63-67, 1986.
- PALMER, M. A. A gelatin test to detect activity and stability of proteases produced by *Dichelobacter (Bacteroides) nodosus*. **Veterinary Microbiology**, v. 36, p. 113-122, 1993.
- PARAJULI, B; GODDARD, P. J. A comparison of the efficacy of footbaths containing formalin or zinc sulphate in treating ovine foot-rot under field conditions. **British Veterinary Journal**, v. 145, p. 467-472, 1989.
- RAADSMA, H.W; EGERTON, J.R; WOOD, D; KRISTO, C; NICHOLAS, F.W. Disease resistance in Merino. III. Genetic variation in resistance to Footrot following challenge and subsequent vaccination with homologous rDNA pilus vaccine under both induce and natural conditions. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 111, p. 367-390, 1994a.
- RAADSMA, H. W; O'MEARA, T. J; EGERTON, J. R; LEHRBACH, P. R; SCHWARTZKOFF, C. L. Protective antibody titres and antigenic competition in multivalent *Dichelobacter nodosus* fimbrial vaccines using characterized rDNA antigens. **Veterinary Immunology and immunopathology**, v. 40, p. 253-274, 1994b.
- REED, G. A; ALLEY, D. U. Efficacy of a novel cooper-based footbath preparation for the treatment of ovine footrot during the spread period. **Australian Veterinary Journal**, v. 74, p. 375-382, 1996.
- RENDELL, D. K; CALLINAN, A. P. Comparison of erythromycin and oxytetracycline for the treatment of virulent footrot in grazings sheep. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, p. 354, 1997.
- RIBEIRO, L.A.O. Foot-rot dos ovinos no Rio Grande do Sul. I. Epidemiologia. **Boletim do IPVDF**, v. 5, p. 67-70, 1978.

- RIBEIRO, L.A.O. **The epidemiology of ovine Foot-rot**. Sydney: The University of Sydney, 1981. Thesis of Master of Veterinary Science, Faculty of Veterinary Science, The University of Sydney, 1981.
- RIBEIRO, L.A.O. Situação do Foot-rot dos ovinos no Rio Grande do Sul e sugestões para seu controle. **A Hora Veterinária**, v. 26, p. 33-35, 1985.
- RIBEIRO, L.A.O. Avances en la prevención y control del foot-rot en Rio Grande del Sur. In: PESCE, L; BERMUDEZ, J; BONINO, J; RIMBAUD, E. **Enfermedades Podales de los Rumiantes**. Montevideo: Hemisferio Sur, 1995.
- RIBEIRO, L.A.O. Footrot dos Ovinos. In: RIET-CORREA, F; SCHILD, A. L; MÉNDEZ, M. C; LEMOS, R. A. A. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3ª ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. 998 p.
- RIBEIRO, L. A. O; REZLER, U; LEHUGEUR, C. M; LOPES, G. F; ACKER, M.C. Uso de florfenicol no controle do footrot dos ovinos em período úmido do ano. **A Hora Veterinária**, v. 163, p. 47-49, 2008a.
- RIBEIRO, L. A. O; MARTINO, J. C. L; LOPES, G. F; SOUZA, F. M. Enrofloxacino 10% (Kinetomax – Bayer) no tratamento de lesões graves de footrot em ovinos. **A Hora Veterinária**, v. 164, p. 21-23, 2008b.
- RIET-CORREA, F. Dermatite Interdigital. In: RIET-CORREA, F; SCHILD, A. L; MÉNDEZ, M. C; LEMOS, R. A. A. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3ª ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. 998 p.
- ROBERTS, D.S; EGERTON, J.R. The aetiology and pathogenesis of ovine foot-rot. II. The pathogenic association of *Fusiformis nodosus* and *Fusiformis necrophorus*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 79, p. 217-227, 1969.
- RODRIGUES, C. A; MENDES, L. C. N; PEIRÓ, J. R; FEITOSA, F. L. F. Ocorrência de um surto de “footrot” em um rebanho de ovinos na região de Araçatuba; SP; Brasil. **Revista de Educação Continuada CRMV-SP**, v. 4, p. 12-19, 2001.
- ROOD, J. I; HOWARTH, P. A; HARING, V; BILLINGTON, S. J; YONG, W. K; LIU, D; PALMER, M. A; PITMAN, D. R; LINKS, I; STEWART, D. J; VAUGHAN, J. A. Comparison of gene probe and conventional methods for the differentiation of ovine footrot isolates of *Dichelobacter nodosus*. **Veterinary Microbiology**, v. 52, p. 127-141, 1996.
- SAGLIYAN, A; GUNAY, C; HAN, M. C. Comparison of the effects of oxytetracycline and penicillin+streptomycin in the treatment of footrot in sheep. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 7(8), p. 986-990, 2008.
- SALMAN, M. D; DARGATZ, D. A, KIMBERLING, C. V; ELLIS, R. P. An economic evaluation of various treatments for contagious footrot in sheep, using decision analysis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193 (2), p. 195-204, 1988.

SAYERS, G; MARQUES, P. X; EVANS, N. J; O'GRADY, L; DOHERTY, M. L; CARTER, S. D; NALLY, J. E. Identification of Spirochetes associated with Contagious Ovine Digital Dermatitis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47(4), p.1199-1201, 2009.

SCHMITZ, J.A; GRADIN, J.L. Serotypic and biochemical characterization of *Bacteroides nodosus* isolates from Oregon. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 44, p. 440-446, 1980.

SIMONS, L.S.A. Experimental footrot, wool growth and body mass. **Australian Veterinary Journal**, v. 54, p. 362-363, 1978.

SINDAN – Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal. **Compêndio de Produtos Veterinários**. Disponível em: <<http://www.sindan.org.br>> Acesso em 18 jan. 2009.

SKERMAN, T. M. Determination of some in vitro growth requirements of *Bacteroides nodosus*. **Journal of General Microbiology**, v. 87, p. 107-119, 1975.

SKERMAN, T. M; ERASMUSON, S. K; EVERY, D. Differentiation of *Bacteroides nodosus* biotypes and colony variants in relation to their virulence and immunoprotective properties in sheep. **Infection and Immunity**, v. 32, p. 788-795, 1981.

SKERMAN, T. M; GREEN, R. S; HUGHES, J. M; HERCEG, M. Comparison of footbathing treatments for ovine footrot using formalin or zinc sulphate. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 31, p. 91-95, 1983a.

SKERMAN, T. M; MOORHOUSE, S. R; GREEN, R. S. Further investigations of zinc sulphate footbathing for the prevention and treatment of ovine footrot. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 31, p. 100-102, 1983b.

STEWART, D. F. The treatment of contagious footrot in sheep with particular reference to the value of chloromycetin. **Australian Veterinary Journal**, v. 30, p. 380-387. 1954.

STEWART, D.J. An electron microscopic study of *Fusiformis nodosus*. **Research in Veterinary Science**, v. 13, p. 132, 1973.

STEWART, D.J. The role of various antigenic fractions of *Bacteroides nodosus* in eliciting protection against foot-rot in vaccinated sheep. **Research in Veterinary Science**, v. 24, p. 14-19, 1978.

STEWART, D.J. The role of elastase in the differentiation of *Bacteroides nodosus* infection in sheep and cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 27, p. 99-105, 1979.

STEWART, D. J; EGERTON, J. R. Studies on the ultrastructural morphology of *Bacteroides nodosus*. **Research in Veterinary Science**, v. 26, p. 227-235, 1979.

- STEWART, D. J; CLARK, B. L; JARRET, R. G. Observations on strains of *Bacteroides nodosus* of intermediate virulence to sheep. **Australian Advances in Veterinary Science, Australian Veterinary Association**, p, 74-76, 1982.
- STEWART, D. J; CLARK, B. L; EMERY, D. L; PETERSON, J. E; JARRETT, R. G; O'DONNELL, I. J. Cross-protection from *Bacteroides nodosus* vaccines and interaction of pili and adjuvants. **Australian Veterinary Journal**, v. 63, p. 101-106, 1986a.
- STEWART, D. J; PETERSON, J. E; VAUGHAN, J. A; CLARK, B. L; EMERY, D. L; CALDWELL, J. B; KORTT, A. A. The pathogenicity and cultural characteristics of virulent, intermediate and benign strains of *Bacteroides nodosus* causing ovine footrot. **Australian Veterinary Journal**, v. 63, p. 317-326, 1986b.
- STEWART, D. J. Footrot of sheep. In: EGERTON, J. R; YONG, W. K; RIFFIKIN, G. G. **Footrot and Foot Abscess of Ruminants**. Boca Raton, Florida: CRC Press, p. 5-45, 1989. 262 p.
- THOMAS, J. H. A simple medium for the isolation and cultivation of *Fusiformis nodosus*. **Australian Veterinary Journal**, v.34, p. 411, 1958.
- THOMAS, J. H. The bacteriology and histopathology of footrot in sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 13, p. 725, 1962a.
- THOMAS, J. H. The differential diagnosis of footrot in sheep. **Australian Veterinary Journal**, v. 38, p. 159-163, 1962b.
- THOMAS, J. H. The pathogenesis of footrot in sheep with reference to proteases of *Fusiformes nodosus*. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 15, p. 1001-1016, 1964a.
- THOMAS, J. H. Proteolytic enzymes produced in liquid media by *Fusiformes nodosus*. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 15, p. 417-426, 1964b.
- THORLEY, C. M. A simplified method for the isolation of *Bacteroides nodosus* from ovine footrot and studies on its colonial morphology and serology. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 40, p. 301-309, 1976.
- THORLEY, C. M; EGERTON, J. R. Comparison of alum-absorbed or non-alum-absorbed oil emulsion vaccines containing either pilate or non-pilate *Bacteroides nodosus* cells in inducing and maintaining resistance of sheep to experimental foot rot. **Research in Veterinary Science**, v. 30, p. 32-37, 1981.
- THORLEY, C. M; DAY, S. E. J. Serotyping survey of 1296 strains of *Bacteroides nodosus* isolated from sheep and cattle in Great Britain and western Europe. In: STEWART, D. J; PETERSON, J. E; MCKERN, N. M AND EMERY, D. L, (eds). **Footrot in Ruminants. Proceedings of a workshop**, Melbourne 1985, CSIRO Division of Animal Health/Australian Wool Corporation, Glebe, NSW, p. 135-142, 1986.
- VIANA, J, G, A. Panorama geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, v. 12, 2008.

VIANA, J, G, A; SILVEIRA, V, C, P. Cadeia produtiva da ovinocultura no Rio Grande do Sul: um estudo descritivo. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 2 (1), p. 9-20, 2009.

WASSINK, G. J; GREEN, L. E. Farmers practices and attitudes towards footrot in sheep. **The Veterinary Record**, v. 149, p. 489-490, 2001.

WASSINK, G. J; GREEN, L. E; GROGONO-THOMAS, R; MOORE, L. Risk factors associated with the prevalence of footrot in sheep from 1999 to 2000. **The Veterinary Record**, v. 152, p. 351-358, 2003.

WHITTINGTON, R. J; EGERTON, J. R. Application of ELISA to serological diagnosis of virulent ovine footrot. **Veterinary Microbiology**, v. 41, p. 147-161, 1994.

WHITTLE, G; BLOOMFIELD, G. A; KATZ, M. E; CHEETHAM, B. F. The site-specific integration of genetic elements may modulate thermostable protease production, a virulence factor in *Dichelobacter nodosus*, causative agent of ovine footrot. **Microbiology**, v. 145, p. 2845-2855, 1999.

ZHOU, H; BENNETT, G; HICKFORD, J. G. H. Variation in *Fusobacterium necrophorum* strains present on the hooves of footrot infected sheep, goats and cattle. **Veterinary Microbiology**, v. 135 (3-4), p. 363-367, 2009.