

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
COMISSÃO DE GRADUAÇÃO**

**CERATOCONJUNTIVITE EM OVINOS: ESTUDO DE CASOS E
CONTROLES**

Autora: Rafaela Teixeira dos Santos

PORTO ALEGRE

2019/2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
COMISSÃO DE GRADUAÇÃO

**CERATOCONJUNTIVITE EM OVINOS: ESTUDO DE CASOS E
CONTROLES**

Autora: Rafaela Teixeira dos Santos

Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para a obtenção da graduação em Medicina Veterinária

Orientadora: Prof^ª. Dra. Raquel Fraga S. Raimondo

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Beatriz Riet Correa Rivero

PORTO ALEGRE

2019/2

Rafaela Teixeira dos Santos

CERATOCONJUNTIVITE EM OVINOS: ESTUDO DE CASOS E CONTROLE

Aprovado em 13 de DEZ 2019

APROVADO POR:

Prof. Dra. Raquel Fraga da Silva Raimondo
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dra. Beatriz Riet Correa Rivero
Coorientadora e Membro da Comissão

Prof. Dra. Monique Tomazele Rovani
Membro da Comissão

Prof. Dra. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso
Membro da Comissão

Dedico ao Núcleo RuminAção, às professoras e colegas de estágio, vocês foram de suma importância na minha formação e na realização desse trabalho.

Obrigada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, Carolina e José, por todo o apoio em todos os momentos da minha vida, incluindo na decisão da minha profissão. Obrigada por nunca medirem esforços para me proporcionar a melhor educação. Vocês me deram todas as oportunidades para me tornar a pessoa e a profissional que venho construindo ao longo desses anos, eu amo muito vocês.

Agradeço aos meus amigos, vó, tios, primos e sogros, por compreenderem a minha ausência em muitas situações, principalmente em função de estágios, estudo e saídas de campo. Obrigada por me apoiarem e entenderem o meu afastamento nos últimos “corridos” anos.

Ao meu namorado, Fábio, a palavra obrigada é muito pouco para agradecer por todo o apoio que representasses para mim ao longo dos últimos dois anos. Tu és a minha base e meu futuro. Te amo.

Agradeço aos ovinocultores que me receberam ao longo desses anos de estágio, André Camozzato, Dilermando Barros, Ricardo Serpa e Rossana por abrirem as portas de suas propriedades para o nosso aprendizado. Agradeço também à Médica Veterinária MSc. Natália Gaeta doutoranda do PCVet FMVZ - USP pelo apoio e contribuição para a minha pesquisa, e à equipe do Laboratório de Bacteriologia da Favet-UFRGS em especial à Professora Franciele Maboni Siqueira pelo auxílio na realização das análises e por todo o conhecimento a mim transmitido.

Agradeço aos meus amigos e futuros colegas de profissão: Nathália, Yasmin, William, Juliana, Nicole e Lucas por todas as dificuldades e alegrias que passamos juntos nesses anos de faculdade, nossos momentos vou guardar pra sempre.

Agradeço imensamente ao RuminAção. Nesse setor eu descobri uma paixão, a ovinocultura; nele eu também fiz amigas e parceiras que levarei para sempre na minha vida: Andressa, Brenda, Emília, Gabriela, Luana, Aline e Mariana, vocês são o meu “rebanho”, sozinha eu jamais chegaria até aqui, muito obrigada por tudo.

As professoras Raquel, Beatriz e Ender eu devo toda a gratidão do mundo. Mais do que orientadoras, vocês foram amigas, me orientando não só profissionalmente, mas contribuindo muito para o meu crescimento como pessoa. Obrigada por todas as oportunidades a mim cedidas, por todo o conhecimento transmitido, por todas as brigas, por todas as “gaitadas”, por todos os mates divididos, por todas as conversas sobre os

mais diversos assuntos, por todos os estágios, por todos os livros emprestados, por todas as viagens e por confiarem em mim e no meu trabalho. O RuminAção vai estar sempre presente na minha vida e no meu dia a dia, espero poder sempre retornar à essa casa que eu ajudei a construir na veterinária. Que a gente possa seguir “fomentando” a ovinocultura e formando cada vez mais profissionais capacitados e humanos. Obrigada.

Por fim, agradeço à Universidade Federal do Rio Grande do Sul por me proporcionar a melhor formação em medicina veterinária através dos maravilhosos professores que tive a oportunidade de conhecer nesses seis anos de faculdade. Obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para a minha formação pessoal e profissional.

RESUMO

O confinamento de cordeiros é uma alternativa para a padronização e escala de venda dos produtos da ovinocultura. Entretanto alguns problemas sanitários ocorrem com maior frequência nesse sistema, sendo um deles a ceratoconjuntivite. Essa enfermidade é conhecida há bastante tempo, principalmente em bovinos, embora estudos relacionados a ela no Rio Grande do Sul sejam escassos. Sendo assim, o presente estudo objetivou identificar os agentes etiológicos e os fatores epidemiológicos envolvidos em um surto de ceratoconjuntivite em um confinamento de ovinos e avaliar o uso da profilaxia antimicrobiana como medida sanitária de prevenção de novos casos. O estudo foi conduzido em um confinamento de cordeiros em São Lourenço do Sul – RS, onde foi diagnosticado o surto. Em um primeiro momento, os animais foram distribuídos em três grupos de acordo com a gravidade da lesão ocular e foram coletadas 23 amostras de secreções oculares para identificação de bactérias aeróbias e da ordem *Mollicutes*. Além disso, foram avaliados os fatores epidemiológicos envolvidos no surto como: a cama de casca de arroz utilizada nas baias, presença de insetos voadores, alimentação dos animais, destino de dejetos, manejos e instalações. Foram identificadas nas amostras bactérias do gênero *Moraxella sp.* e *Mycoplasma sp.*. No segundo momento, um lote recém chegado no confinamento foi distribuído em três grupos nos quais um grupo não recebeu tratamento, um grupo recebeu tratamento com Oxitetraciclina e o outro grupo recebeu tratamento com Tilmicosina. Esses animais foram avaliados por cinco semanas e, conforme o aparecimento de lesões de ceratoconjuntivite, foram coletadas amostras de secreções oculares. Todos os animais apresentaram sinais clínicos de ceratoconjuntivite ao longo das cinco semanas, e os mesmos gêneros bacterianos foram encontrados. Como conclusão, os agentes etiológicos que podem estar presentes no surto de ceratoconjuntivite foram: *Moraxella sp.*, *Mycoplasma conjunctivae* e *Mycoplasma agalactiae*. Os fatores epidemiológicos estavam diretamente relacionados com o desencadeamento do surto e a terapia profilática antimicrobiana não foi eficaz na prevenção de novos casos.

Palavras-chave: Confinamento. Cordeiros. Ceratoconjuntivite. *Moraxella sp.*
Mycoplasma sp. Profilaxia.

ABSTRACT

Lamb feedlot is an alternative for the standardization and sales scale of sheep products; However, some health problems occur more frequently in this system, as keratoconjunctivitis. This disease has been known for a long time, especially in cattle, although studies in Rio Grande do Sul are scarce. Thus, the present study aimed to identify the etiological agents and epidemiological factors involved in an outbreak of keratoconjunctivitis in a lamb feedlot and to evaluate the use of antimicrobial prophylaxis as a sanitary measure to prevent new cases. The study was conducted in a lamb feedlot in São Lourenço do Sul - RS, where the outbreak was diagnosed. At first, the animals were allocated into three groups according to the severity of the eye injury and 23 samples of eye secretions were collected for identification of aerobic and Mollicutes bacteria. In addition, the epidemiological factors involved in the outbreak were evaluated, such as the rice husk bed used in the stalls, the presence of flying insects, animal feed, waste disposal, management and facilities. Bacteria of the genus Moraxella sp. and Mycoplasma sp. were identified in the samples. At the second moment, a newly arrived batch in the confinement was allocated into three groups receiving no treatment, Oxitetracycline or Tilmicosin. These animals were evaluated for five weeks and, according to the appearance of keratoconjunctivitis lesions, samples of ocular secretions were collected. All animals showed clinical signs of keratoconjunctivitis over the five weeks, and the same bacterial genera were found. In conclusion, the etiological agents that may be present in the keratoconjunctivitis outbreak were: Moraxella sp., Mycoplasma conjunctivae and Mycoplasma agalactiae. Epidemiological factors were directly related to outbreak triggering and prophylactic antimicrobial therapy was not effective in preventing new cases.

Keywords: Lambs feedlot. Keratoconjunctivitis. Moraxella sp.. Mycoplasma sp.. Prophylaxis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** — Classificação das lesões oculares dos cordeiros confinados de acordo com o exame oftalmológico por inspeção ocular, conforme Gregory *et al.* (2015). São Lourenço do Sul, 2019..... 20
- Figura 2**— *Primers* específicos para detecção de integrantes da Classe *Mollicutes*, sequências e tamanho do produto amplificado..... 23
- Figura 3**— *Primers* específicos para detecção das espécies alvo de *Micoplasmas*, sequências e tamanho do produto amplificado..... 24
Identificação de cordeiro com colar numerado e identificação de cor
- Figura 4**— na cabeça de acordo com o grupo de tratamento para avaliação da eficácia do uso da profilaxia antimicrobiana como medida de prevenção para a ceratoconjuntivite no confinamento. São Lourenço do Sul, 2019..... 25
- Figura 5**— Lesão em decorrência de miíases na proximidade da região ocular como consequência da ceratoconjuntivite em um ovino confinado. São Lourenço do Sul, 2019..... 27
- Figura 6**— Inseto voador do gênero *Musca sp.* pousado no olho de um cordeiro durante surto de ceratoconjuntivite em um confinamento localizado em São Lourenço do Sul..... 28
- Figura 7**— Larva de mosca na cama úmida de casca de arroz utilizada no confinamento de cordeiros. São Lourenço do Sul, 2019..... 29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 — Agentes etiológicos identificados em cordeiros confinados durante surto de ceratoconjuntivite.....	29
Tabela 2 — Número de cordeiros com sinais clínicos de ceratoconjuntivite avaliados ao longo de cinco semanas de confinamento. São Lourenço do Sul, 2019.....	32
Tabela 3 — Agentes etiológicos identificados nos três grupos durante o teste da terapia profilática antimicrobiana realizada no confinamento de cordeiros em São Lourenço do Sul.....	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1	Ovinocultura.....	14
2.2	Ceratoconjuntivite.....	15
2.3	Utilização de antimicrobianos na pecuária.....	17
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1	Análises estatísticas.....	26
4	RESULTADOS.....	27
4.1	Estudo 1.....	27
4.1.1	Observações clínicas e epidemiológicas.....	27
4.1.2	Identificação dos agentes etiológicos e antibiograma.....	29
4.2	Estudo 2.....	30
4.2.1	Observações clínicas e epidemiológicas.....	31
4.2.2	Identificação dos agentes etiológicos e antibiograma.....	31
5	DISCUSSÃO.....	33
6	CONCLUSÃO.....	37
	REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

Os produtos da ovinocultura estão ocupando cada vez mais espaço no mercado. Nos últimos anos, surgiram novas perspectivas a respeito dessa área, e, em função da gourmetização de carnes nobres e sustentabilidade do uso da lã, os produtos atendem a mercados exigentes em grandes centros consumidores. O consumo de carne ovina atualmente é de 0,7 kg/ano por brasileiro, sendo a quinta carne mais consumida no país (SANTOS *et al.*, 2015), com perspectiva de crescimento. O preço dos produtos desse nicho é superior; enquanto o preço do quilograma do cordeiro varia em torno de R\$ 7,00, o do novilho varia em torno de R\$ 5,00 (EMATER – RS, 2019). Devido a essa valorização, associada à estabilização no preço da lã, a ovinocultura demonstra ser uma excelente fonte de investimento aos pequenos produtores rurais, e mais uma fonte de renda para os produtores familiares (SANTOS *et al.*, 2015).

No entanto, no ano de 2006 até 2017 nos deparamos com uma queda do número efetivo de ovinos no Brasil. Na região Sul, onde essa atividade sempre foi tradicional, esse número cai significativamente a cada ano (EMBRAPA, 2018). Em 2017 o efetivo de ovinos era em torno de 13 milhões de cabeças e, ainda assim, não conseguimos suprir a demanda por carne ovina no Brasil (MACEDO *et al.*, 2018). Isso acontece porque a cadeia produtiva da ovinocultura de corte ainda está em fase inicial da sua estruturação como atividade econômica, necessitando investimentos, padronização de produtos, escala de produção, melhorias no manejo e barreiras sanitárias. Para contornar esse problema, alguns produtores buscam a solução no cooperativismo, verticalizando a cadeia. Isso vem ocorrendo em alguns estados como São Paulo e Paraná (MACEDO *et al.*, 2018). Assim, o confinamento de cordeiros se encaixa como uma alternativa de terminação desses animais, a fim de padronizar o produto e obter escala de venda para o frigorífico.

Juntamente com esse sistema, alguns problemas sanitários ocorrem com maior frequência, dentre eles podemos citar a ceratoconjuntivite. As lesões são observadas independentemente da época do ano ou categoria animal. Os produtores realizam o tratamento das lesões oculares normalmente com antibióticos tópicos a base de tetraciclina e o diagnóstico etiológico e o antibiograma não são realizados. Além disso, existem relatos que em alguns casos não há melhoria do quadro clínico após tratamento.

Os estudos que avaliam a ceratoconjuntivite em ovinos são escassos, sendo que no Brasil foram publicados relatos de dois surtos em ovinos. Um deles relatou pela

primeira vez a ocorrência de *Mycoplasma conjunctivae*, em ovinos sadios e com ceratoconjuntivite infecciosa, na microrregião de Garanhuns, Estado de Pernambuco (NETO *et al.*, 2004) e o outro descreve um surto de ceratoconjuntivite causado por *Moraxella* sp. em Goiás (CHAVES; LIMA; AMARAL, 2008).

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi determinar os agentes etiológicos e os fatores epidemiológicos envolvidos em um surto de ceratoconjuntivite em um confinamento de ovinos, e testar o uso da profilaxia antimicrobiana como medida sanitária de prevenção da ceratoconjuntivite no confinamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Abaixo será apresentada a revisão de literatura que foi dividida em três tópicos para melhor organização do conteúdo.

2.1 Ovinocultura

O Rio Grande do Sul é um Estado com tradição na produção de ovinos e o principal produto explorado por muitos anos foi a lã. Com a crise no setor laneiro, na década de 90, a ovinocultura gaúcha passou por uma reestruturação e, assim, foram introduzidos os animais com finalidade de produção de carne ou de dupla aptidão. Hoje, o foco dessa atividade se encontra na produção de cordeiros para o abate (PIRES *et al.*, 2017).

Embora a ovinocultura da carne ocorra há alguns anos, a cadeia produtiva ainda é desestruturada e isso se agrava no Rio Grande do Sul, devido ao clima desfavorável, solo e sistemas predominantemente extensivos de produção. Um dos principais entraves da cadeia de produção ovina é a falta de escala e de padronização dos produtos (PIRES *et al.*, 2017), o que impossibilita suprir a demanda no país, alcançando apenas 60% dessa (MACEDO *et al.*, 2018). Além disso, no cenário brasileiro o número do efetivo de ovinos vem diminuindo, com uma queda de 2,80% (2006-2017), ressaltando uma queda significativa de 20,99% nos últimos anos no RS (EMBRAPA, 2018).

A maior parte dos rebanhos brasileiros está concentrada em pequenas extensões de terra (propriedades entre 5 e 50 hectares), o que indica que a ovinocultura é uma atividade realizada, principalmente, por pequenos produtores (EMBRAPA, 2018). Guimarães e Souza (2017) afirmam que a cadeia produtiva da ovinocultura pode ser uma estratégia de desenvolvimento rural para algumas regiões, tendo em vista seu potencial de renda não só para o produtor rural como para os demais setores da cadeia produtiva. Portanto, se realizada com eficiência, a ovinocultura pode ser uma atividade lucrativa e que entra na pequena propriedade como uma boa fonte de renda.

Em função disso, sistemas de cooperativismo surgem para juntar os elos da cadeia de produção (MACEDO *et al.*, 2018). Um exemplo de cooperativismo é a venda de cordeiros para um terminador, o que possibilita que pequenos produtores possam vender seus produtos juntos para serem padronizados e colocados em escala suficiente para a venda ao frigorífico. Esse sistema, apesar do alto custo com instalações e dieta dos animais, pode ser bastante

lucrativo tanto para os produtores quanto para o terminador (POLI; MONTEIRO; SILVEIRA, 2017).

2.2 Ceratoconjuntivite

A ceratoconjuntivite é uma enfermidade infecciosa, endêmica, que acomete tanto ruminantes domésticos como ruminantes selvagens, e é a principal doença ocular de ovinos, caracterizada por inflamação da conjuntiva e córnea (RIET CORREA *et al.*, 1998). Os sinais clínicos iniciam por conjuntivite com congestão da conjuntiva e esclera, corrimento ocular, blefaroespasma, epífora e fotofobia. Posteriormente, pode haver ceratite com vascularização, opacidade e, ocasionalmente, ulceração da córnea e cegueira (RIET CORREA *et al.*, 1998). As perdas econômicas causadas pela doença podem ser diretas devido à perda ou menor ganho de peso e diminuição da produção, assim como, indiretas devido a gastos com medicamentos e manejo do rebanho. Estima-se um custo em torno de cinco reais por ovino envolvendo medicação e mão de obra para realizar o tratamento (PINHEIRO; ALVES; ANDRIOLI, 2002). A ceratoconjuntivite infecciosa em cabras e ovelhas também foi associada a outros tipos de perdas na produção como diminuição na taxa de gestação gemelar, aumento de toxemia da prenhez, perda de peso e pisoteamento de cordeiros em função da falta de visão da mãe (CAMERON; GELATT; WILKIE, 2003).

Além da questão econômica, as doenças em sistemas de produção são consideradas marcadores de bem-estar animal (BROOM; MOLENTO, 2004). Sendo assim, os animais devem estar clinicamente sadios quando são produzidos. Dessa forma, a manifestação da ceratoconjuntivite no sistema de produção pode ser interpretada como dano ao bem-estar dos animais.

Diversos microrganismos têm sido responsabilizados como agentes etiológicos da doença. *Mycoplasma conjunctivae* tem sido associado à maioria dos surtos de ceratoconjuntivite relatados em pequenos ruminantes domésticos e selvagens (FERNÁNDEZ-AGUILAR *et al.*, 2013). Outros agentes infecciosos como *Moraxella (Branhamella) ovis*, *Chlamydophila spp* e *Listeria monocytogenes* foram isolados dos olhos de ovelhas clinicamente afetadas e podem agir oportunisticamente como invasores secundários e contribuir para o surgimento da ceratoconjuntivite (AKERSTEDT; HOFSHAGEN, 2004). O papel potencial da *Chlamydophila spp* como patógeno primário para ceratoconjuntivite tem sido discutido. Em investigação de microbiota

conjuntival bacteriana de ovinos sadios na microrregião de Garanhuns em Pernambuco, foi observada a presença de *Staphylococcus* sp., *Moraxella* sp. e *Mycoplasma conjunctivae* que devem ser levados em consideração no que se refere à epidemiologia, diagnóstico, tratamento e controle da ceratoconjuntivite infecciosa ovina (ALMEIDA NETO *et al.*, 2006).

Moraxella spp. são cocobacilos aeróbicos, Gram negativos. O grau de patogenicidade está relacionado com a capacidade da bactéria de produzir hemolisina e fímbrias (*Pili*) que permitem a sua ligação ao epitélio conjuntival (HIRSH; BIBERSTEIN, 2003). *Moraxella* sp. consegue lesionar o epitélio, digerindo as substâncias córneas. Há diferenciação de colônias lisas e rugosas, sendo essas últimas as mais patogênicas. A *Moraxella ovis* é comumente isolada da microbiota conjuntival de pequenos ruminantes. Essa espécie, apesar de ser muito semelhante à espécie *Moraxella bovis*, ainda requer estudos mais aprofundados a respeito de sua patogenicidade (POST; SONGER, 2005a).

As bactérias da classe *Mollicutes*, por sua vez, são os menores procariontes de vida livre e não possuem parede celular. Produzem substâncias de potencial patogenicidade: o peróxido e o superóxido, com capacidade de deterioração da integridade celular do hospedeiro (WALKER, 2003). *Mycoplasma* sp., pertencente à classe *Mollicutes*, apresenta dificuldade para sintetizar alguns nutrientes essenciais, competindo com a célula do hospedeiro e alterando ainda mais a integridade e função celular (POST; SONGER, 2005b). Essas bactérias possuem a capacidade de se manter latente no hospedeiro através de mecanismos que anulam o sistema imune como variabilidade antigênica e mimetismo biológico. Assim continuam viáveis silenciosamente nas estruturas mucosas dos animais como: mucosa nasal, conjuntival e oral, e, em momentos oportunos, são transmitidas. Dessa forma, diferentes tipos de secreções são capazes de veicular esse agente (WALKER, 2003). A primeira etapa do processo patogênico do *Mycoplasma sp.* é a fixação às células do hospedeiro; isso ocorre através da camada superficial aniônica, e, no hospedeiro, receptores glicoconjugados permitem essa fixação. O organismo hospedeiro forma então uma resposta inflamatória frente a esses agentes. Entretanto a persistência da bactéria resulta na cronicidade das lesões, sugerindo que uma vez estabelecida a infecção, a resposta imune não é eficiente (WALKER, 2003).

Na epidemiologia da ceratoconjuntivite alguns fatores são de suma importância para o aparecimento dos casos. Os vetores voadores, como moscas, exercem um papel

importante na transmissão (FERNÁNDEZ-AGUILAR *et al.*, 2019). No Rio Grande do Sul, o aparecimento dos surtos está relacionado com o final do verão e início de outono, quando a população de vetores aumenta (RIET-CORREA *et al.*, 2007). Pode afetar animais de todas as categorias e a presença de poeira, pólen, pastagens muito secas e carência de vitamina A predispõem o aparecimento das lesões (ALVES; RIBEIRO; PINHEIRO, 2017). A ceratoconjuntivite é, então, uma doença de alta morbidade e baixa mortalidade.

As ceratoconjuntivites de origem infecciosas normalmente têm curso autolimitante, havendo o desaparecimento espontâneo das lesões em torno de três semanas. Os tratamentos são realizados com antibióticos tópicos em forma de pomadas e sprays ou por injeções subconjuntivais de compostos com liberação lenta (GREGORY *et al.*, 2015). O antibiótico comumente utilizado para o tratamento é a Oxitetraciclina.

Em bovinos, cepas específicas da *Moraxella bovis* são utilizadas para composição de vacinas a fim de prevenir o aparecimento da ceratoconjuntivite (RIET-CORREA *et al.*, 2007). Kowalski *et al.*, (2017) sugerem que alguns antígenos de superfície são compartilhados entre as espécies de *Moraxella sp.*. Porém, algumas de suas particularidades dentro da mesma espécie desempenham funções específicas para a resposta individual do hospedeiro. Sendo assim, a vacina pode, muitas vezes, não ser eficaz.

Em casos epizooticos suspeitos de ceratoconjuntivite bacteriana as medidas de controle (sugeridas por Waldrige e Colitz (2004)) são: isolar os animais infectados, evitar a exposição desses animais a ambientes que contenham moscas, pó, pólen e muito vento. Deve-se fazer também a limpeza e desinfecção de instalações como camas, bebedouros e comedouros.

2.3 Utilização de antimicrobianos na pecuária

O uso de antibióticos como forma preventiva de enfermidades nos animais de produção e como promotores de crescimento é corriqueiro e esse assunto tem sido amplamente debatido em todos os países, principalmente no que se relaciona à resistência bacteriana aos antimicrobianos na população humana (GUARDABASSI; KRUSE, 2008). O debate visa responder alguns questionamentos como: se existe ou não a correlação entre o uso dos antimicrobianos nos animais e a resistência das bactérias frente aos antimicrobianos de uso humano, visto que esse é um problema de saúde

pública em nível global e muitos princípios ativos são compartilhados entre as diferentes espécies.

Existem quatro tipos de usos que se pode fazer dos antimicrobianos em animais de produção: o uso terapêutico, que visa tratar apenas animais enfermos; o uso profilático que trata animais sadios; o uso metafilático que trata animais sadios em contato com animais acometidos e os animais acometidos; e o uso como aditivo zootécnico, que trata apenas animais sadios visando um melhor desempenho na sua produção (SPINOSA; TÁRRAGA, 2017).

O principal problema é o uso indiscriminado desses princípios ativos na pecuária, sem controle de doses e duração do tratamento, visto que esse comportamento acaba por acelerar o processo de resistência bacteriana. Um dos entraves para o melhor controle de venda e administração de antibióticos em diversos países está na falta de dados a respeito do uso desses medicamentos. Sabe-se que ao, longo dos anos, o uso dessas substâncias aumentou; entretanto, ainda não é possível quantificar e expor em números esse crescimento no Brasil.

Guardabassi e Kruse (2008) sugerem que alguns manejos básicos como higiene, controle adequado de doenças, gerenciamento, biosseguridade e vacinação são capazes de substituir o uso de antimicrobianos. Além disso, justifica que o uso dos antimicrobianos é válido quando se visa tratar um animal enfermo, preferencialmente de forma individual; terapias profiláticas e metafiláticas devem ser utilizadas o mínimo possível.

Entretanto, ao introduzir animais em um ambiente com alta pressão de infecção (alta morbidade) e alta chance de contágio de uma doença, uma alternativa é utilizar a terapia metafilática. A metafilaxia é compreendida por realizar o tratamento tanto de animais doentes quanto os animais sadios que estão em constante exposição a possíveis enfermidades contagiosas (SPINOSA *et al.*, 2017).

As bactérias desenvolvem conforme expostas a princípios ativos mecanismos de eliminação desses, aos quais se tornam resistentes (BOERLIN; WHITE, 2010). Além disso, essa característica adquirida pode ser transmitida de uma célula bacteriana para a outra através de mecanismos horizontais como plasmídeos. Sendo assim, as bactérias resistentes não respeitam barreiras e se propagam afetando de uma forma geral humanos, animais, alimentos, água e ambiente (BOERLIN; WHITE, 2010).




3 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos envolvendo os animais deste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) no projeto 36616.

Os estudos foram conduzidos em um confinamento de terminação de cordeiros com capacidade para 1200 animais localizado em São Lourenço do Sul – RS, onde foi diagnosticado o surto de ceratoconjuntivite. Os animais eram comprados de diversas propriedades do Rio Grande do Sul e transportados até o confinamento. Sendo assim, as raças, pesos e escores de condição corporal de entrada eram variados. Entretanto, todos os animais eram comprados com dentição entre dente de leite e rompimento das pinças, o que corresponde a uma idade em torno dos cinco meses. Ao chegarem, permaneciam em baias de adaptação com alimentação à base de feno e pequena quantidade de concentrado, e eram vacinados para clostridioses e vermifugados com o princípio ativo Monepantel (2,5 mg por Kg). Após quinze dias, passavam para as baias de confinamento com piso de concreto e cama de casca de arroz. A cama era trocada semanalmente e os dejetos da cama usada eram armazenados ao lado do galpão a céu aberto. No confinamento, recebiam alimentação de dieta total, sendo ofertada uma quantidade de 4% do peso vivo dos cordeiros por dia. A dieta era composta por 95% de concentrado (70% de milho, 30% farelo de soja; com adição de bicarbonato e cloreto de amônia) e 5% de feno de Tifton. Permaneciam nessas baias até alcançarem escore de condição corporal entre 3 e 4 (numa escala de 1 a 5, em que 1 é um animal muito magro e 5 um animal muito gordo) e peso em torno de 40 Kg para o abate. Normalmente, esse escore era atingido em duas semanas de confinamento propriamente dito, totalizando em torno de um mês de permanência na propriedade. Através de uma anamnese detalhada com o produtor e observações durante as visitas ao confinamento foram identificados os fatores epidemiológicos envolvidos no surto, como: presença de moscas, alimentação dos animais, destino dos dejetos, manejos e instalações.

No estudo 1, para identificação dos agentes etiológicos envolvidos no surto de ceratoconjuntivite, os cordeiros confinados foram submetidos a exame oftalmológico através da inspeção ocular desses animais, conforme Gregory *et al.* (2015), e classificados em três grupos de acordo com a severidade da lesão, como mostra a Figura 1.

Figura 1 — Classificação das lesões oculares dos cordeiros confinados de acordo com o exame oftalmológico por inspeção ocular, conforme Gregory *et al.* (2015). São Lourenço do Sul, 2019.

Grupo	Inspeção ocular	Sinais clínicos
Grupo I (n=6)		Ovinos clinicamente saudáveis.
Grupo II (n=8)		Ovinos que apresentaram sinais clínicos de doença suave, caracterizada por lacrimejamento profuso, hiperemia da conjuntiva e/ou descarga ocular catarral, mucopurulenta ou purulenta.
Grupo III (n=9)		Ovinos que apresentavam as manifestações do GII associados a sinais graves de ceratoconjuntivite, evidenciada por ceratite ulcerativa superficial ou profunda.

Fonte: a autora.

Após exame oftalmológico e classificação das lesões, foram coletadas amostras de secreção ocular de 23 cordeiros escolhidos aleatoriamente sendo seis do grupo I; oito do grupo II e nove do grupo III, para pesquisa microbiológica de bactérias aeróbias e da classe *Mollicutes*. Os animais eram contidos por um auxiliar e o suabe estéril era friccionado na córnea de um dos olhos acometidos, evitando o contato com as pálpebras. Ao todo foram colhidas duas amostras de cada cordeiro, um suabe acondicionado em recipiente seco estéril para a pesquisa de *Mollicutes* através da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) e o outro acondicionado em meio de transporte Stuart para a pesquisa microbiológica de bactérias aeróbicas. Após a coleta, as amostras foram mantidas sob refrigeração. A seguir, para avaliar a integridade da córnea foi utilizado o teste de diagnóstico por meio da fluoresceína. Instilavam-se duas gotas de

fluoresceína na superfície ocular, após se lavava a região com solução fisiológica e, então, era feita a avaliação da integridade da córnea dos cordeiros.

No mesmo dia, as amostras acondicionadas em meio de transporte Stuart eram encaminhadas para o Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Faculdade de Veterinária (LaBacVet –UFRGS) para pesquisa de bactérias aeróbicas. As amostras colhidas em suabes secos eram devidamente identificadas e congeladas em microtubos para serem encaminhadas posteriormente para o Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Clínica Médica da FMVZ – USP, em São Paulo, onde foi realizado o exame de PCR, a fim de identificar a presença e as espécies de *Mycoplasma sp.* envolvidas.

Para o isolamento microbiológico as amostras do suabe seco foram inoculadas em ágar sangue ovino 5% e incubadas a 37°C em condições de aerobiose, sendo realizadas leituras após 24 e 48 horas. Quando apresentavam crescimento bacteriano, essas colônias eram classificadas de acordo com a morfologia e formação de hemólise; passavam por coloração de Gram e eram realizados testes bioquímicos de Catalase e Oxidase. Após, os isolados eram inoculadas no meio de cultivo SIM (Sulfato/ Indol / Motilidade), e incubadas a 37°C por 24 horas.

O perfil de susceptibilidade a antimicrobianos foi determinado para cinco isolados (quatro do primeiro estudo e uma do segundo, provenientes de animais apresentando sinais clínicos) utilizando-se a técnica de difusão em disco de Kirby-Bauer de acordo com as recomendações do *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2018).

As colônias eram replicadas em ágar sangue ovino 5% e cultivadas na estufa a 37°C por 24 horas a fim de garantir massa bacteriana para a realização do teste. Então com uma alça essas colônias eram coletadas, diluídas em solução salina e homogeneizadas por 10-15 segundos até chegar ao padrão de turbidez adequado. Após, mergulhou-se um suabe estéril no inóculo e foi feita a semeadura em meio ágar Mueller-Hinton, passando o suabe por toda a superfície, assegurando uma distribuição homogênea do inóculo. A placa era colocada na estufa a 37 graus, por cinco minutos, para secar. Depois, com uma pinça estéril eram uniformemente colocados os discos dos antibióticos escolhidos para o teste: Gentamicina, Doxiciclina, Tetraciclina, Eritromicina, Sulfa e Trimetoprima e Estreptomicina.

As placas com os discos de antibióticos eram encaminhadas para a estufa onde permaneciam em torno de 18 horas. Após, era feita a leitura do diâmetro dos halos de inibição formados, medindo-se com uma régua em milímetros. Essas medidas eram comparadas com os guias publicados pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards*. Dessa forma, se classificava a amostra como suscetível, intermediária ou resistente frente a determinado antimicrobiano (MAZA; PEZZLO; BARON, 1999).

Para a PCR aos swabs foi adicionado 1 mL de PBS 1x (pH 7.4). As amostras foram vortexadas por 20 minutos. Em seguida, foram centrifugadas a 14 000 rpm por 30 min. Os pellets foram ressuspensos em 700 µL de PBS 1x (pH 7.4). As amostras foram submetidas à extração de DNA pelo método de sílica (BOOM *et al.*, 1990). A 500 µL de tampão de lise (Tris-HCl 0,1 M, pH 6,4; EDTA 0,5M, pH 7,0; isotiocianato de guanidina 4 mM) e 40 µL de suspensão de sílica foram adicionados a 700 µL da amostra. A suspensão foi homogeneizada e mantida em repouso por 10 minutos. A mistura foi centrifugada a 20.000 x g por 4 minutos, removendo-se o sobrenadante. O sedimento foi homogeneizado com 500 µL de tampão de lavagem (Tris-HCl 0,1 M, pH 6,4; isotiocianato de guanidina 4 mM) por 30 segundos e centrifugado a 20.000 x g por 4 minutos (sendo esta etapa repetida duas vezes). O sobrenadante foi removido e o sedimento homogeneizado com 500 µL de tampão de lavagem (Tris-HCl 0,1 M, pH 6,4; isotiocianato de guanidina 4 mM) por 30 segundos e centrifugado a 20.000 x g por 4 minutos (sendo esta etapa repetida duas vezes). O sobrenadante foi removido e o sedimento homogeneizado com 500 µL de etanol 70% gelado e centrifugado a 20.000 x g por 4 minutos. O sedimento foi novamente homogeneizado com 500 µL de acetona gelada e centrifugado a 20.000 x g por 4 minutos. O sobrenadante foi removido e após total desidratação do sedimento adicionou-se 120 µL de água Milli – Q e homogeneizado. A solução foi incubada por 10 minutos a 56 °C e centrifugada a 20.000 x g por 10 minutos. Por fim o sobrenadante foi recolhido (80 µL) e armazenado a -20 °C até a realização da PCR.

As amostras foram submetidas à detecção de micro-organismos pertencentes à classe *Mollicutes* por PCR utilizando *primers* complementares à sequência de oligonucleotídeos de gene 16S RNA ribossômico dos gêneros pertencentes à Classe *Mollicutes*, descrito por Van Kuppeveld *et al.* (1992), de modo a utilizá-lo como método de triagem.

Figura 2 — *Primers* específicos para detecção de integrantes do Classe *Mollicutes*, sequências e tamanho do produto amplificado.

Espécie	<i>Primers</i>	Sequências	Produto	Referência
Classe <i>Mollicutes</i>	GPO3	5'- GGGAGCAAACAGGATTAGA TACCCT-3'	270pb	Kuppevel d <i>et al.</i> 1992.
	MGSO	5'- TGCACCATCTGTCACCTCTGTT AACCTC-3'		

Fonte: Natália Gaeta, Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Clínica Medica da FMVZ - USP.

Para o volume final de reação de 25 μ L, utilizou-se: 2,5 μ L de tampão para PCR (KCl 500 mM, Tris 200 mM em pH 8,4); 1,0 μ L MgCl₂ (50 mM); 4 μ L de solução de desoxiribonucleotídeos (1,0 mM); 0,4 μ L de cada *primer* (50 pmol), 1,0 U Taq DNA Polimerase (Invitrogen™) e 1 μ L de DNA extraído. Para amplificação utilizou-se de 1 ciclo à 94°C por 5 minutos, 34 ciclos à 94°C por 30 segundos, 57,7°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos e 1 ciclo final à 72°C por 10 minutos seguido de eletroforese com a aplicação de 10 μ L do amplificado em gel de agarose à 1%.

Para o micro-organismo *M. agalactiae* utilizou os oligonucleotídeos iniciadores descrito por Chavez-González et al. (1995). Para o volume final de reação de 25 μ L, utilizou-se: 2,5 μ L de tampão para PCR (KCl 500 mM, Tris 200 mM em pH 8,4); 0,7 μ L MgCl₂ (50 mM); 4 μ L de solução de desoxiribonucleotídeos (1,0 mM); 0,5 μ L de cada *primer* (50 pmol), 1,0 U de Taq DNA Polimerase (Invitrogen™) e 1 μ L de DNA extraído. Para amplificação utilizou-se de 1 ciclo à 94°C por 5 minutos, 35 ciclos à 94°C por 45 segundos, 58°C por 60 segundos e 72°C por 120 segundos e 1 ciclo final à 72°C por 10 minutos seguido de eletroforese com a aplicação de 10 μ L do amplificado em gel de agarose à 1%.

Para a detecção de *M. conjunctivae* foram utilizados os *primers* descritos por Giacometti *et al.*; 1999, e para a reação com volume final de 25 μ L utilizou-se: 2,5 μ L de tampão para PCR (KCl 500 mM, Tris 200 mM em pH 8,4); 0,75 μ L MgCl₂ (50 mM); 4 μ L de solução de desoxiribonucleotídeos (1,0 mM); 0,5 μ L de cada *prime* (10 pmol), 2,0 U de Taq DNA Polimerase (Invitrogen™) e 2 μ L de DNA extraído. Para amplificação utilizou-se de 1 ciclo à 95°C por 5 minutos, 35 ciclos à 94°C por 30 segundos, 54°C por 30 segundos e 72°C por 60 segundos e 1 ciclo final à 72°C por 10 minutos seguido de eletroforese com a aplicação de 10 μ L do amplificado em gel de agarose à 1%.

Para a detecção de *M. mycoides* subsp. *capri* por PCR convencional foram utilizados os *primers* descritos por Monnerat et al., 1999b. Para a reação de volume final de 25 μ L

utiliza-se: 2,5 µL de tampão para PCR (KCl 500 mM, Tris 200 mM em pH 8,4); 2 µL MgCl₂ (50 mM); 4 µL de solução de desoxiribonucleotídeos (1,0 mM); 0,5 µL de cada *primer* (20 pmol), 1,0 U de *Taq* DNA Polimerase (Invitrogen™) e 2 µL de DNA extraído. Para amplificação utilizou-se de 1 ciclo à 95°C por 5 minutos, 35 ciclos à 94°C por 30 segundos, 49°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos e 1 ciclo final à 72°C por 10 minutos seguido de eletroforese com a aplicação de 10 µL do amplificado em gel de agarose à 1%.

Figura 3— *Primers* específicos para detecção das espécies alvo de Micoplasmas, seqüências e tamanho do produto amplificado.

Espécie	Primers	Seqüências	Produto	Referência
<i>M. agalactiae</i>	MagF	5'- CCTTTTAGATTGGGATAGCGGATG- 3'	270pb	Chavez-González <i>et al.</i> , 1995.
	MagR	5'- CCGTCAAGGTAGCGTCATTTCTAC -3'		
<i>M. conjunctivae</i>	McoF1	5'- GTATCTTTAGAGTCCTCGTCTTTCA C-3'	750pb	Giacometti <i>et al.</i> , 1999.
	McoR1	5'- CAGCGTGCAGGATGAAATCCCTC- 3'		
<i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i>	MMML C2-L	5'- CAATCCAGATCATAAAAAACCT- 3'	1049pb	Monnerat <i>et al.</i> , 1999b.
	MMML C1-R	5'-CTCCTCATATTCCCCTAGAA- 3'		

Fonte: Natália Gaeta, Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP.

No Estudo 2 para avaliar a eficácia do uso da profilaxia antimicrobiana como medida de prevenção para a ceratoconjuntivite no confinamento foi utilizado um lote de 46 cordeiros recém-chegados de uma propriedade em Livramento – RS na qual estavam submetidos à um sistema extensivo de criação. No segundo dia após a chegada na propriedade esses animais passaram pelo mesmo protocolo de entrada já citado e foram divididos aleatoriamente em três grupos: Grupo Controle (n = 15 cordeiros), que não recebeu tratamento; Grupo Tilmicosina (n = 15 cordeiros) que receberam Tilmicosina de longa ação na dose de 0,5 mg por animal por via subcutânea; e Grupo Oxitetraciclina (n = 16 cordeiros) que receberam Oxitetraciclina de longa ação na dose de 20 mg/Kg por via intramuscular. Os animais foram pesados para o cálculo das doses dos antibióticos e foram usados materiais descartáveis individuais para a administração da medicação.

Todos os cordeiros foram identificados com um colar numerado e com uma pintura de determinada cor na cabeça de acordo com o grupo (Figura 4). Assim como os demais animais, o lote permaneceu duas semanas na adaptação e foi encaminhado para o confinamento com as mesmas dietas descritas anteriormente.

Figura 4—Identificação de cordeiro com colar numerado e identificação de cor na cabeça de acordo com o grupo de tratamento para avaliação da eficácia do uso da metafilaxia antimicrobiana como medida de prevenção para a ceratoconjuntivite no confinamento. São Lourenço do Sul, 2019.



Fonte: a autora.

Nas cinco semanas subsequentes à entrada desse lote na propriedade, os cordeiros foram semanalmente pesados e submetidos a exame oftalmológico para a avaliação do desenvolvimento ou não de sinais clínicos. Conforme o aparecimento de lesão ocular eram coletadas duas amostras por grupo semanalmente, totalizando 24 amostras coletadas no final

do experimento (8 de cada grupo). A coleta, o acondicionamento das amostras e o processamento das amostras foram realizados como na primeira parte descrita do estudo. A amostra para a realização do antibiograma foi escolhida aleatoriamente do grupo controle, pois não houve tratamento, e o procedimento para a realização e os antibióticos utilizados foram os mesmos citados na primeira parte do estudo.

3.1 Análises estatísticas

Os dados relativos às observações clínicas semanais dos animais, tratamento, resultado dos cultivos microbiológicos, PCR e fatores epidemiológicos (coletados através de observações nas visitas e anamnese detalhada com o produtor) eram transferidos para planilha Microsoft Excel, sendo atualizados semanalmente. O aparecimento dos diferentes gêneros bacterianos foi apresentado em porcentagem.

4 RESULTADOS

A seguir serão apresentados os resultados de ambas as partes do estudo divididas em tópicos para uma melhor organização dos dados.

4.1 Estudo 1

Apresentação dos dados obtidos na primeira parte do estudo que objetivava identificar os agentes epidemiológicos envolvidos em um surto de ceratoconjuntivite em um confinamento de cordeiros em São Lourenço do Sul. Além de coleta de dados epidemiológicos envolvidos no surto.

4.1.1 Observações clínicas e epidemiológicas

No exame oftalmológico dos ovinos confinados, a maioria dos animais apresentava sinais de ceratoconjuntivite, variando de sinais mais brandos da doença como: lacrimejamento, exsudato mucoso ou purulento, hiperemia da conjuntiva e blefaroespasmos; evoluindo para sinais mais graves como: úlceras de córnea superficiais ou profundas. Além dos sinais clínicos característicos da ceratoconjuntivite, em alguns animais, evidenciaram-se afecções secundárias à doença, como miíases (Figura 5) próximas à região ocular.

Figura 5—Lesão em decorrência de miíases na proximidade da região ocular como consequência da ceratoconjuntivite em um ovino confinado. São Lourenço do Sul, 2019.



Fonte: Beatriz Riet-Correa, 2019.

Durante as visitas e na anamnese com o produtor foram identificados os seguintes fatores epidemiológicos envolvidos na ocorrência e transmissão do surto de ceratoconjuntivite: cama de casca de arroz, presença de insetos voadores, alta lotação nas baias, poeira ambiental, poeira proveniente da alimentação, mistura de origem dos animais, estresse e destino inadequado dos dejetos das camas.

A presença de moscas, principalmente do gênero *Musca sp.* (Figura 6), era constante no confinamento independente da época do ano. Além do inseto adulto, a proliferação das larvas nas camas de casca de arroz (Figura 7) dentro do confinamento e no local de depósito dos dejetos também foi evidenciada e ocorria independente da época do ano.

Figura 6—Inseto voador do gênero *Musca sp.* pousado no olho de um cordeiro durante surto de ceratoconjuntivite em um confinamento localizado em São Lourenço do Sul.



Fonte: a autora.

Figura 7—Larva de mosca na cama úmida de casca de arroz utilizada no confinamento de cordeiros. São Lourenço do Sul, 2019.



Fonte: Beatriz Riet-Correa, 2019.

4.1.2 Identificação dos agentes etiológicos e antibiograma

Todas as amostras de secreção ocular avaliadas no primeiro estudo foram positivas no isolamento bacteriano (Tabela 1). A *Moraxella sp* foi identificada em 67,59% (16/23) das amostras sendo 21,7% (5/23) do grupo I, 26,08% (6/23) do grupo II e 21,7% (5/23) do grupo III. A *Mycoplasma sp* foi identificada em 86,96% (20/23) das amostras, sendo 13,04% (3/23) do grupo I, 34,78% (8/23) do grupo II e 39,13% (9/23) do grupo III.

Tabela 1—Agentes etiológicos identificados em cordeiros confinados durante surto de ceratoconjuntivite.

(continua)

	Moraxella sp.	Mollicutes	Número de amostras
Grupo I	Positiva	Negativa	3
	Negativa	Positiva	1
	Positiva	Positiva	2

(continuação)

	Moraxella sp.	Mollicutes	Número de amostras
Grupo II	Positiva	Negativa	0
	Negativa	Positiva	2
	Positiva	Positiva	6
Grupo III	Positiva	Negativa	0
	Negativa	Positiva	4
	Positiva	Positiva	5

Fonte: a autora.

Das amostras positivas para o gênero *Mycoplasma sp.*, 50% (10/20) eram da espécie *M. conjuntivae* e 10% (2/20) apresentaram infecções mistas das espécies *M. conjuntivae* e *M. agalactiae*. Nenhuma amostra foi positiva para *M. mycoides* subespécie *capri*. As demais amostras não foram conclusivas para as espécies de *Mycoplasma*.

Das amostras inconclusivas quanto à espécie de *Mycoplasma* 12,5% (1/8) eram do grupo I, 37,5% (3/8) do grupo II e 50% (4/8) do grupo III. As amostras positivas para *M. conjuntivae* 20% (2/10) eram do grupo I, 50 % (5/10) do grupo II e 30% (3/10) do grupo III. As amostras positivas para infecção mista de *M. conjuntivae* e *M. agalactiae* eram do grupo III.

Dos quatro isolados de *Moraxella sp.* que foram submetidos aos antibiogramas, apenas um animal apresentou resistência frente ao princípio ativo Eritromicina e resistência intermediária ao princípio ativo Tetraciclina. Os demais isolados foram suscetíveis a todos os antibióticos testados.

4.2 Estudo 2

Apresentação dos dados obtidos na segunda parte do estudo que objetivava testar a terapia profilática antimicrobiana como medida sanitária para a prevenção de novos casos de ceratoconjuntivite no confinamento em São Lourenço do Sul.

4.2.1 Observações clínicas e epidemiológicas

Ao longo das cinco semanas nas quais os animais foram submetidos a exame oftalmológico foi observado que todos os cordeiros (Tabela 2), independente do grupo, apresentaram sinais clínicos de ceratoconjuntivite havendo variedade na gravidade das lesões. Os sinais clínicos observados foram: hiperemia da conjuntiva, lacrimejamento profuso, blefaroespasmos e descarga catarral purulenta ou mucopurulenta.

No Grupo Controle apenas um animal apresentou melhora espontânea do quadro, não sendo observada manifestação clínica na última semana avaliada, enquanto que três cordeiros apresentavam opacidade de córnea na última semana, o que representa uma evolução para a cronicidade de lesão. No Grupo Oxitetraciclina três animais apresentaram melhora espontânea do quadro na última semana avaliada e nenhum cordeiro apresentou opacidade de córnea ao longo do experimento.

No Grupo Tilmicosina, três animais apresentaram melhora espontânea do quadro, não sendo observado nenhum sinal clínico na última semana avaliada e cinco apresentavam opacidade de córnea na última semana.

Tabela 2— Número de cordeiros com sinais clínicos de ceratoconjuntivite avaliados ao longo de cinco semanas de confinamento. São Lourenço do Sul, 2019.

Semana	Grupo Controle	Grupo Oxitetraciclina	Grupo Tilmicosina
1	0	0	0
2	10	10	7
3	12	15	15
4	14	13	14
5	14	13	12
N total	15	15	16

Fonte: a autora.

4.2.2 Identificação dos agentes etiológicos e antibiograma

Assim como na primeira etapa do estudo, foram identificadas bactérias do gênero *Mycoplasma sp* e do gênero *Moraxella sp* (Tabela 3). Observou-se que das oito amostras coletadas do grupo controle, 25% (2/8) não apresentaram isolamento ou identificação bacteriana. 37,5% (3/8) foram positivas para o gênero *Moraxella sp*. e 75% (6/8) foram positivas para o gênero *Mycoplasma sp*. Das amostras positivas para *Mycoplasma sp*. 50% (3/6) eram da espécie *M. conjunctivae*.

No grupo Oxitetraciclina, 50% (4/8) das amostras não apresentaram isolamento ou identificação bacteriana. 37,5% (3/8) das amostras foram positivas para o gênero *Moraxella sp.* e 37,5% (3/8) foram positivas para o gênero *Mycoplasma sp.* Das amostras positivas para *Mycoplasma sp.* 33,3% (1/3) eram da espécie *M. conjunctivae*.

No grupo Tilmicosina, 50% (4/8) das amostras não apresentaram isolamento ou identificação bacteriana, 12,5% (1/8) foram positivas para o gênero *Moraxella sp.* e 50% (4/8) foram positivas para o gênero *Mycoplasma sp.* Das amostras positivas para *Mycoplasma sp.* 50% (2/4) eram da espécie *M. conjunctivae*.

Tabela 3—Agentes etiológicos identificados nos três grupos durante o teste da terapia profilática antimicrobiana realizada no confinamento de cordeiros em São Lourenço do Sul.

Identificação bacteriana			Amostras por grupo	
<i>Moraxella sp.</i>	<i>Mollicutes</i>	Controle	Oxitetraciclina	Tilmicosina
Negativo	Negativo	2	4	4
Negativo	Positivo	3	1	3
Positivo	Negativo	0	1	0
Positivo	Positivo	3	2	1

Fonte: a autora.

O teste de antibiograma foi realizado em um isolados de um animal do grupo controle. A amostra foi suscetível a todos os antibióticos testados, foram eles: Gentamicina, Doxiciclina, Tetraciclina, Eritromicina, Sulfa e Trimetoprima e Estreptomicina.

5 DISCUSSÃO

A ceratoconjuntivite é uma doença aguda, epizootica e contagiosa que afeta os pequenos ruminantes (RIET-CORREA, 2007; RIBEIRO, 2011). Na microbiota conjuntival de ovinos clinicamente sadios, Waldrige e Colitz, (2004) afirmam que 60% das culturas microbiológicas não apresentam crescimento bacteriano. Por outro lado, agentes como *Moraxella sp.* e *Mycoplasma sp.* foram isolados da flora conjuntival bacteriana de ovinos clinicamente sadios (ALMEIDA NETO *et al.*, 2006), sugerindo que essas bactérias podem não ser a causa primária da manifestação clínica da doença, ou seja, há outros fatores envolvidos no quadro. Como pode-se observar no estudo 1 ovinos do Grupo I (clinicamente sadios) apresentaram no isolamento bacteriano e no PCR a presença de ambos os gêneros bacterianos ou de pelo menos um deles. No estudo de Chaves; Lima; Amaral, (2008), em um surto no estado de Goiás em que apenas um ovino foi examinado e coletado amostras, *Moraxella sp.* foi o gênero bacteriano isolado, considerando que não houve a pesquisa de *Mycoplasma sp.*.

No estudo, observou-se que conforme há a manifestação das lesões ocorre a mudança de população bacteriana. No primeiro grupo, ovinos clinicamente sadios apresentavam tanto *Moraxella sp.* quanto *Mycoplasma sp.*, com uma participação maior da *Moraxella sp.* nas amostras colhidas. No Grupo II, os ovinos com sinais mais brandos da doença (hiperemia da conjuntiva, blefaroespasma, descarga catarral purulenta e/ou mucopurulenta) apresentaram uma população com maior participação do gênero *Mycoplasma sp.* presente em todas as amostras colhidas; e no Grupo III, com sinais graves da doença (opacidade de córnea e ceratite ulcerativa superficial ou profunda), *Mycoplasma sp.* foi o mais detectado havendo uma participação menor do gênero *Moraxella sp.*; considerando que o método de diagnóstico (PCR) é mais sensível que o cultivo microbiológico, podendo ambos os gêneros estarem presentes, entretanto, a *Moraxella sp.* não foi detectada.

As espécies de *Mycoplasma sp.* são patógenos de importância reconhecida na ocorrência de ceratoconjuntivite, ressaltando o *M. conjunctivae* e o *M. agalactiae*, em função da intensa opacidade de córnea que esses agentes podem causar o animal pode desenvolver úlceras resultando em cegueira (WALDRIDGE; COLITZ, 2004). Sugere-se então, que conforme as lesões vão ocorrendo e se agravando em função dos fatores epidemiológicos e dos agentes bacterianos envolvidos há o recrutamento de infiltrados inflamatórios por parte do hospedeiro, e isso pode ser a causa de redução da população de *Moraxella sp.*. Enquanto isso, o *Mycoplasma sp.*, em função da sua variabilidade antigênica e mimetismo biológico, burla o

sistema imune e segue prejudicando o animal.

Além dos agentes bacterianos envolvidos, os fatores ambientais são importantes na transmissão da doença contribuindo para a alta morbidade. No caso do surto em questão, a cama utilizada nas baias para os animais era de casca de arroz, que em conjunto com a umidade das excretas dos ovinos, favorecia a proliferação de insetos voadores do gênero *Musca sp.*. As moscas se alimentam do exsudato conjuntival na região ocular dos animais e assim carregam os agentes infecciosos, fazendo a transmissão mecânica de animal para animal (FERNÁNDEZ-AGUILAR *et al.*, 2019). Além da proliferação dos insetos, a poeira causada pela casca de arroz e a concentração de amônia proveniente da urina dos cordeiros provavelmente desencadeava processos irritativos nos olhos dos animais, dando início a uma conjuntivite de origem química e física (GREGORY *et al.*, 2015) antes mesmo de prejuízos causados pelos agentes bacterianos. A alimentação dos ovinos era baseada em 95% de alimentos concentrados, principalmente grãos farelados, fator esse que da mesma forma que a cama de casca de arroz, e a poeira do ambiente, também favorecia irritações e lesões oculares primárias nos animais.

A alta concentração de animais nas baias favorece a transmissão direta de agentes infecciosos e o desencadeamento de estresse nos animais. No estudo de Benez (2015), foram testadas diferentes lotações de animais a fim de mensurar o nível de estresse em um confinamento de bovinos de corte, exibindo que a alta lotação e condições ambientais ruins favoreciam diferenças no peso das glândulas adrenais, demonstrando que animais sob o estímulo de pouco espaço para se movimentar sofriam de estresse crônico no confinamento. Para cordeiros em terminação, Macedo (2017) recomenda uma lotação de 0,5 m² por cordeiro.

Em bovinos, o complexo respiratório é um dos principais problemas sanitários que afeta rebanhos confinados. Slompo *et al.* (2017) citam fatores estressantes, ressaltando o transporte, para a ocorrência da queda de imunidade que resulta em proliferação de bactérias comensais do trato respiratório desses animais, favorecendo o aparecimento de doenças respiratórias bacterianas e virais. Em suínos, se reconhece também que o estresse social, estresse nutricional, estresse ambiental e agentes infecciosos imunossupressores estão envolvidos nos casos de queda rápida da imunidade e na capacidade dos animais responderem aos desafios (SEGALES, 2005 *apud* COSTA, 2007).

No nosso estudo, sugere-se que o estresse nos animais do confinamento pode ser decorrente de diversos fatores, dentre eles: desmame, transporte, troca de ambiente, troca de alimentação, mistura de origens e separação do rebanho; todos esses fatores podem influenciar na queda de imunidade destes animais, favorecendo um desequilíbrio da flora

bacteriana ocular e a proliferação de agentes microbiológicos patogênicos, favorecendo o aparecimento não só de lesões características da ceratoconjuntivite como também de outras enfermidades.

Características particulares de cada animal também são envolvidas com a maior predisposição para o aparecimento da ceratoconjuntivite. Sugere-se que mucosas mais claras são mais predispostas a sofrer com raios solares e, conseqüentemente, estão mais expostas à ação de agentes infecciosos. Em bovinos, o aumento da incidência de raios ultravioletas está correlacionado com as lesões na superfície da córnea favorecendo a infecção por bactérias (GELATT, 2003).

Na avaliação da eficácia da profilaxia, os mesmos agentes etiológicos foram identificados no isolamento bacteriano e no PCR, *Moraxella sp.* e *Mycoplasma sp.*. Os antibióticos utilizados no estudo foram eleitos em função de seus mecanismos de ação, praticidade no manejo de aplicação e duração da terapia. A Tilmicosina é um antibiótico da classe dos Macrolídeos, sua ação afeta a porção 50 S do ribossomo, impedindo com que a bactéria realize a sua síntese proteica (SPINOSA *et al.*, 2017). Esse medicamento é indicado para o tratamento de enfermidades por *Mycoplasma sp.* pois estes não possuem parede celular, sítio de ação de beta-lactâmicos. A Oxitetraciclina por sua vez é um antibiótico da classe das Tetraciclina e exerce sua ação sobre a porção 30 S do ribossomo, impedindo também a síntese proteica e, sendo assim, também é indicada para o tratamento de infecções causadas por bactérias que não apresentam parede celular como o *Mycoplasma sp.* (SPINOSA *et al.*, 2017).

Ambos os antibióticos escolhidos eram de longa ação, não havendo a necessidade de uma segunda aplicação, facilitando o manejo com os animais. Além disso, o período de carência de acordo com a bula era de 28 dias. Considerando que os cordeiros permaneciam em torno de 30-40 dias no confinamento, não seria viável uma segunda aplicação, podendo resultar em resíduos de antimicrobianos na carne.

No grupo controle (animais que não receberam tratamento) os cordeiros manifestaram sinais clínicos de ceratoconjuntivite, duas amostras (2/8) não apresentaram crescimento bacteriano, o que difere do primeiro momento do estudo no qual todas as amostras colhidas, incluindo de animais sem sinais clínicos, apresentaram crescimento bacteriano. Quando observamos os grupos tratados com Oxitetraciclina e Tilmicosina, o número de amostras que não apresentaram crescimento bacteriano foi maior (4/8) em ambos os grupos. Assim, sugere-se que houve uma redução da carga bacteriana no lote de cordeiros, considerando que todos os animais dos grupos de tratamento permaneceram na mesma baía durante o período no

confinamento, em função da terapia antimicrobiana, possibilitando que cordeiros do grupo controle também não apresentassem crescimento bacteriano mesmo sem tratamento. Com a redução da carga bacteriana, a transmissão de um animal para o outro também foi reduzida. Entretanto, todos os animais em algum período do estudo apresentaram as manifestações de ceratoconjuntivite, sugerindo que as bactérias podem não ser a causa primária do desencadeamento dos sinais clínicos, como já mencionado anteriormente, evidenciando a importância dos fatores epidemiológicos envolvidos no surto.

Magalhães (2017) testou um protocolo metafilático semelhante em um confinamento de bovinos de corte a fim de reduzir o aparecimento de lesões pulmonares por infecções bacterianas. Com esse protocolo, obtiveram a redução da morbidade da enfermidade, que é em geral o objetivo da metafilaxia.

As bactérias do gênero *Mycoplasma sp.* seguiram protagonizando as infecções, estando presentes sozinhas ou em infecções mistas, na maioria das amostras em todos os grupos. As amostras coletadas foram de animais com sinais clínicos já estabelecidos da doença, que repete o resultado encontrado na primeira parte do estudo na qual animais com sinais clínicos também apresentaram uma prevalência maior do gênero *Mycoplasma sp.* nas suas amostras.

A resposta imune individual influencia na progressão e na gravidade de uma infecção, podendo evoluir para a cura na melhor das hipóteses (TIZARD, 2009). Sendo assim, a evolução positiva para uma melhora clínica dos animais dos grupos de tratamento e do grupo controle provavelmente esteja atribuída à imunidade individual dos animais.

6 CONCLUSÃO

Os agentes etiológicos que foram isolados no surto de ceratoconjuntivite no confinamento foram *Moraxella sp.*, *Mycoplasma conjunctivae* e *M. agalactiae*. O protocolo utilizado de profilaxia antimicrobiana como prevenção de novos casos não foi eficaz; entretanto, reduziu o número de amostras positivas para os gêneros identificados. Além disso, sugere-se que os fatores epidemiológicos são de suma importância no aparecimento de novos casos e, sendo assim, as correções de manejo devem ser o principal foco para medidas de prevenção em surtos de ceratoconjuntivite.

REFERÊNCIAS

- AKERSTEDT, J.; HOFSHAGEN, M. Bacteriological investigation of infectious keratoconjunctivitis in Norwegian sheep. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 45, n. 1–2, p. 19–26, 2004.
- ALVES, F. S. F.; RIBEIRO, L. A. O.; PINHEIRO, R. R. Principais Enfermidades Infecciosas em Rebanhos Ovinos Brasileiros. In: SELAIVE, A. B.; OSÓRIO, J. C. S. **Produção de Ovinos no Brasil**. São Paulo: Roca, 2017. cap. 25, p. 343-354.
- BENEZ, F. M. **Implicações da disponibilidade de espaço no confinamento de bovinos de corte**. 2015. Tese (Doutorado em zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.
- BOERLIN, P.; WHITE, D. G. Resistência Antimicrobiana e sua Epidemiologia. In: GIGUÈRE, S.; PRESCOTT, J. F.; BAGGOT, J. D.; WALKER, R. D.; DOWLING, P. M. (org.). **Terapia antimicrobiana em medicina veterinária**. 4. ed. São Paulo: Roca, 2010. cap. 3, p. 26-42.
- BOOM, R.; SOL, C. J.; SALIMANS, M. M.; JASEN, C. L.; DILLEN, P. M. W.; NOORODA, J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 28, n. 3, p. 495–503, Mar. 1990.
- BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas: revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p. 1–11, 2004.
- CAMERON, J. G. W.; GELATT, K. N.; WILKIE, D.A. Oftalmologia dos Animais de Produção. In: GELATT, K. N. **Manual de oftalmologia veterinária**. São Paulo: Manoele, 2003. cap. 14, p. 377-412.
- CHAVES, N. S. T.; LIMA, A. M. V.; AMARAL, A. V. C. Surto de ceratoconjuntivite infecciosa em ovinos causada por *Moraxella* spp. no estado de Goiás, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 256–261, abr. 2008.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **M100**: performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. Wayne: CLSI, 2018. Disponível em: <http://www.iaclid.org/DL/public/CLSI-2018-M100-S28.pdf>. Acesso em: 25 nov, 2019.
- COSTA, W. M. T. Imunidade de rebanho e controle de doenças. **Anais**. Florianópolis: Embrapa suínos e aves, 2007. In: Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, 13. ABRAVES, v. 2. (2007).
- EMATER. **Cotações agropecuárias**. Porto Alegre: EMATER, 2019. Disponível em: http://www.emater.tche.br/site/info-agro/precos_semanais.php#.XcvzQdVKjIV. Acesso em: 04 de nov de 2019.
- FERNÁNDEZ-AGUILAR, XAVIER; LÓPEZ-OLVERA RAMÓN, JORGE; RIBAS PUIG, MARIA; BEGOVEOVA, MATTIA; VELARDE, ROSER; CARDELLS, JESÚS;

CABEZÓN, O. *Mycoplasma conjunctivae* in insect vectors and anatomic locations related to transmission and persistence. **Veterinary Microbiology**, v. 228, p. 7–11, 2019.

FERNÁNDEZ-AGUILAR, X.; CABEZÓN, O.; MARCO, I.; MANTABERRE, G.; FREY, J.; LAVÍN, S.; LÓPEZ-OLIVEIRA, J. *Mycoplasma conjunctivae* in domestic small ruminants from high mountain habitats in Northern Spain. **BMC Veterinary Research**, v. 9, n. 253, Dec, 2013.

GIACOMETTI, M.; JANOYSKY, M.; JENNY, H.; NICOLET, J.; BELLOY, L.; GOLDSCHMIDT-CLERMONT E.; FREY, J. *Mycoplasma conjunctivae* infection is not maintained in alpine chamois in eastern switzerland. **Journal of Wildlife Diseases**. v.38, n. 2, p. 297–304, Apr. 2002.

GONZÁLEZ, Y. R. C.; ROS BASCUÑANA, C.; BÖLSKE, G.; MATTSSON, J.G.; FERNÁNDEZ MOLINA, C.; JOHANSSON, K. E. In vitro amplification of the 16S rRNA genes from *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* by PCR. **Veterinary Microbiology**, v. 47, n. 1/2 p. 183–190, Nov.1995.

GREGORY, L.; SAFATLE, A. M. V.; ANTÓN, J. J. R.; MAYAYO, L. M. F. **Exame oftalmológico e enfermidades oculares em pequenos ruminantes**. São Paulo: CLR Balieiro, 2015. 106 p.

GUARDABASSI, L.; KRUSE, H. Principles of Prudent and Rational Use of Antimicrobials in Animals. In: GUARDABASSI, L.; JESEN, L. B.; KRUSE, H.(ed.). **Guide to antimicrobial use in animals**. England: Blackwell Publishing, 2008. cap. 1, p. 2-12.

GUIMARÃES, V. P.; SOUZA, J. D. F. Aspectos Gerais da Ovinocultura no Brasil. In: SELAIVE, A. B.; OSÓRIO, J. C. S. **Produção de Ovinos no Brasil**. São Paulo: Roca, 2017. cap. 1, p. 3-11.

HIRSH, D. C.; BIBERSTEIN, E. L. *Moraxella*. In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap. 28, p. 143-145.

KOWALSKI, A. P.; MABONI, G.; GRESSLER, T. L.; ESPÍNDOLA, J. P.; BALZAN, C.; TASCA, C.; GUIZZO, J. A.; CONCEIÇÃO, F. R.; FRANDOLSO, R.; VARGAS, A. C. Antigenic characterization of *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi* and *Moraxella ovis* strains with potential use in vaccines. **Veterinary Microbiology**, v. 210, p.56-63, 2017.

MACEDO, F. A. F. Instalações para Ovinos. In: SELAIVE, A. B.; OSÓRIO, J. C. S. **Produção de Ovinos no Brasil**. São Paulo: Roca, 2017. cap. 9, p. 81-95.

MACEDO, F. A. F.; MORA, N. H. A. P.; SANTELLO, G. A.; MACEDO, T. G.; MACEDO, F.G; MACEDO, V. P.; ORTONCELLI, R. A.; WILL, N. C.; SENEGALE, F. B. In: MACEDO, F. A. F.; MORA, N. H. A. P. **Produção Programada de Carne de Cordeiros**. Curitiba: CRV, 2018. cap. 7, p.133-149.

MAGALHÃES, L. Q. **Eficácia de Protocolos Preventivos para as Doenças Respiratórias dos Bovinos Confinados**. 2017. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

- MAZA, L. M.; PEZZLO, M. T.; BARON, E. J. Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA). *In*: MAZA, L. M.; PEZZLO, M. T.; BARON, E. J. **Atlas de Diagnóstico em Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 1999. cap. 13, p. 107-112.
- MONNERAT, M. P.; THIAUCOURT, F.; POYEDA, J. B.; NICOLET, J.; FREY, J. Genetic and serological analysis of lipoprotein LppA in *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*. **Clinical Diagnostic Laboratory Immunology**, v.6, n. 2, p. 224–230, 1999.
- ALMEIDA NETO, J. B. A.; BEZERRA de SÁ, F.; SILVA, K. P. C.; BUZINHANI, M. Flora conjuntival bacteriana de ovinos sadios da raça Santa Inês e seus mestiços criados na Microrregião de Garanhuns, Pernambuco. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 9, n. 1, p. 17–22, 2006.
- NETO, J.B. A.; SÁ, F.B.; BUZINHANI, M.; TIMENETSKY, J.; MOTA, R. A.; ALMEIDA, M.; Z. Ocorrência De *Mycoplasma Conjunctivae* Em Ovinos Sadios E Com Ceratoconjuntivite Infecciosa, No Estado De Pernambuco. **Arquivo Do Instituto De Biologia**, v. 71, n. 1, p. 79–81, 2004.
- NÓBREGA, Adilson. **Novo Censo Agropecuário mostra crescimento de efetivo de caprinos e ovinos no Nordeste**. Brasília, DF: Embrapa, centro de inteligência e mercado de caprinos e ovinos, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/cim-inteligencia-e-mercado-de-caprinos-e-ovinos/busca-de-noticias/-/noticia/36365362/novo-censo-agropecuário-mostra-crescimento-de-efetivo-de-caprinos-e-ovinos-no-nordeste>. Acesso em: 02 de nov, 2019.
- PINHEIRO, R. R.; ALVES, F. S. F.; ANDRIOLI, A. Diagnóstico precoce de doenças e sua importância na produção de caprinos e ovinos. *In*: Seminário Nordestino de Pecuária, 4. 2002. **Anais**. p. 7-21.
- PIRES, C. C.; CARVALHO, S.; MACARI, S.; WOMMER, T. P. Ovinocultura na Região Sul do Brasil. *In*: SELAIVE, A. B.; OSÓRIO, J. C. S. **Produção de Ovinos no Brasil**. São Paulo: Roca, 2017. cap. 2, p. 12-18.
- POLI, C. H. E. C.; MONTEIRO, A. L. G.; SILVEIRA, V. C. P. Sistemas de Produção de Ovinos na Região Sul do Brasil. *In*: SELAIVE, A. B.; OSÓRIO, J. C. S. **Produção de Ovinos no Brasil**. São Paulo: Roca, 2017. cap. 11, p. 102-116.
- POST, K. W.; SONGER, J. G. The genera *Moraxella* and *Neisseria*. *In*: POST, K. W.; SONGER, J. G. **Veterinary microbiology: bacterial and fungal agents of animal disease**. St. Louis: Elsevier, 2005a. cap. 21, p. 169-173.
- POST, K. W.; SONGER, J. G. The genera *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. *In*: POST, K. W.; SONGER, J. G. **Veterinary microbiology: bacterial and fungal agents of animal disease**. St. Louis: Elsevier, 2005b. cap. 39, p. 305-316.
- RIBEIRO, L. A. O. **Medicina de Ovinos**. Porto Alegre: Pacartes, 2011. 195 p.
- RIET-CORREA, F. Doenças bacterianas. *In*: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J.B. 3. ed. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. São Paulo: Livraria, 2007. v. 1, cap. 3, p. 267-278.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. **Doenças de ruminantes e equinos**. Pelotas: Ed. Universitária/UFPel, 1998. 651 p.

SANTOS, T. C.; RODRIGUES, R. D.; RAO, C.; GRUNDEMANN, J. T.; OAIGEN, R. P.; BASTOS, G. M. **Diagnóstico reprodutivo e sanitário da ovinocultura familiar na localidade Garupá/Uruguaiana-RS: dados preliminares**. *In*: Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão – Universidade Federal do Pampa, 7. **Anais**, 2015, v. 7, n. 3.

SLOMPO, D.; BERTAGNON, H. G.; HORST, E. H.; NEUMANN, M.; MAREZE, J.; SOUZA, A. M.; STADLER JÚNIOR, E. S.; GOLDONI, I.; ASKEL, E. J. Manejo do Complexo Respiratório Bovino em Confinamento: Revisão. **PubVet: medicina veterinária e zootecnia**, v. 11, n. 4, p. 381-392, 2017.

SPINOSA, H. S. Antibióticos bacteriostáticos que interferem na síntese proteica: macrolídeos, lincosamidas, pleuromutilinas, etreptograminas, tetraciclinas e anfenicóis. *In*: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. cap. 39, p. 503-512.

SPINOSA, H. S.; TÁRRAGA, K, M. Considerações gerais sobre os antimicrobianos *In*: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. cap. 33, p. 441-450.

TIZARD, I. R. Imunidade adquirida a bactérias e fungos. *In*: TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária: uma introdução**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. cap. 22, p. 295-305.

Van KUPPEVELD, F.J.; Van der LOGT, J. T.; ANQULO, A. F.; Van ZOEST, M. J.; QUINT, W. G.; NIESTERS, H. G.; GALAMA, J. M.; MELCHERS, W. J. Genus- and species-specific identification of mycoplasmas by 16S rRNA amplification. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 8, p. 2606–2615, 1992.

WALDRIDGE, B. M.; COLITZ, C. M. H. *In*: PUGH, D. G. (ed.). **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2004. cap. 12, p. 353-378.

WALKER, R. L. Mollicutes. *In*: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap. 31, p. 155-162.