

NATASHA GONÇALVES CALHEIROS

**QUERATOCONJUNTIVITE INFECCIOSA BOVINA
CAUSADA POR *MORAXELLA BOVIS* – RELATO DE
CASOS CLÍNICOS**

Presidente: Professora Doutora Laurentina Pedroso

Orientador: Professora Doutora Michelle Karen Brasil

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2019

NATASHA GONÇALVES CALHEIROS

**QUERATOCONJUNTIVITE INFECCIOSA BOVINA
CAUSADA POR *MORAXELLA BOVIS*- RELATO DE
CASOS CLÍNICOS**

Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 02 de Maio de 2019, com o Despacho Reitoral nº97/2019 com a seguinte composição de júri:

Presidente: Professora Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Professor Doutor João Cannas da Silva

Orientador: Professora Doutora Michelle Karen

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2019

A presente dissertação foi escrita ao abrigo do antigo acordo ortográfico da língua portuguesa.

Epígrafe

Tenho em mim todos os sonhos do mundo.

Fernando Pessoa

Agradecimentos

À Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, em especial à Dra. Laurentina Pedroso pelos 6 anos de aprendizagem e crescimento profissional.

À minha orientadora, professora Dra. Michelle Karen Brasil, por todo o apoio, profissionalismo e dedicação demonstrada durante a realização da minha dissertação de mestrado.

Ao Dr. Pedro Cabral, por me ter aceite e proporcionado a experiência incrível que foi estagiar na Vetheavy.

À restante equipa da Vetheavy, especialmente à Dra. Clarisse por todas as aventuras.

Ao Dr. José Claudino, por desde o início me apoiar e desafiar. Por toda a partilha de conhecimentos e experiências e, acima de tudo, pela confiança.

À minha Mãe, por ser a super Mãe e ter feito de mim o que sou hoje. Pela educação que me deu e por todo o sacrifício ao longo destes 6 anos que me permitiu chegar onde estou hoje. Obrigada por isto e tantas outras coisas...

À minha irmã, por aturar todos os meus dramas e nunca desistir de mim. Por todo o apoio e palavras certas. Por ser um exemplo para mim!

À minha avó, por acreditar e nunca duvidar que seria capaz. Por toda a preocupação e carinho.

Aos meus tios, por todo o apoio e que, mesmo longe estiveram sempre presentes.

Ao Paulo, que sem ele nada disto seria possível.

Ao Nuno, por estar sempre lá para mim e me apoiar em tudo. Pela compreensão em tantas ausências...

À minha “segunda família” ao longo destes 6 anos, Joana Marques, Joana Trincheiras, Maria e Rodrigo, pelas noitadas de estudo e não estudo, pelo apoio e por tantas aventuras. Obrigada por terem partilhado esta experiência comigo.

À Olesya, minha grande amiga, por tantas, tantas coisas... Obrigada.

À Andreia, pelos longos anos de amizade e por acompanhar todas as fases da minha vida, sempre com as palavras certas.

À Ana, Luís e Inês, por todo o apoio e insistência que não me deixaram desistir. Pela partilha constante de conhecimentos.

A todos os outros que não consigo enumerar mas que fazem parte da minha vida, obrigada.

Resumo

A queratoconjuntivite infecciosa bovina (QIB), causada pela bactéria *Moraxella bovis*, é a doença ocular mais comum em bovinos, que se caracteriza por uma elevada morbidade e baixa mortalidade. É uma doença cosmopolita e multifactorial. A interacção entre hospedeiro, ambiente, vectores, sazonalidade e infecções concomitantes influenciam a prevalência da doença. Os sinais clínicos variam desde lacrimejamento excessivo e conjuntivite ligeira a ulceração severa, perfuração da córnea e cegueira irreversível. O tratamento é influenciado por questões económicas e facilidade de administração. A terapia antimicrobiana é a terapia de eleição, devendo o fármaco atingir uma concentração na lágrima que acompanhe ou exceda a concentração inibitória mínima por um período de tempo mais longo possível. Tratando-se de um organismo ubiqüitário, a prevenção torna-se imprescindível, assentando essencialmente no controlo de vectores.

A partir do estudo dos três casos clínicos provenientes de uma exploração onde ocorreu um surto de QIB, foi possível comprovar o elevado grau de disseminação da doença e a manifestação clínica individual da mesma. Os animais abordados foram objecto de análise microbiológica que confirmou a presença de *Moraxella bovis*. Foi implementado um tratamento e o isolamento de todos os animais afectados.

Palavras-chave: *Moraxella bovis*, queratoconjuntivite infecciosa bovina, doença ocular, úlcera da córnea

Abstract

Infectious bovine keratoconjunctivitis (IBK), caused by *Moraxella bovis*, is the most common ocular disease in cattle, characterized by high morbidity and low mortality. It is a cosmopolitan and multifactorial disease. Interactions among host, environment, vector, season and concurrent infection influence the prevalence of IBK. Clinical signs range from excessive tearing and mild conjunctivitis to severe ulceration, corneal perforation and irreversible blindness. Treatment is dictated by economic considerations and feasibility of administration. Antimicrobial therapy is the therapy of choice, drug concentrations in tears should meet or exceed the minimum inhibitory concentrations for prolonged periods. Being a ubiquitous organism, prevention becomes essential, based essentially on the control of vectors.

From the study of the three clinical cases from a farm where an outbreak of IBK occurred, it was possible to prove the high degree of dissemination of the disease and the individual clinical manifestation of it. The animals studied were the subject of a microbiological analysis that confirmed the presence of *Moraxella bovis*. Treatment and isolation of all affected animals was implemented.

Keywords: *Moraxella bovis*, infectious bovine keratoconjunctivitis, ocular disease, corneal perforation

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

ADS: Agrupamento Defesa Sanitária

AINE: Anti-Inflamatório Não Esteróide

BHV- 1: Herpes Vírus Bovino tipo 1

bpm: batimentos por minuto

BRSV: Vírus Respiratório Sincicial Bovino

BVD: Diarreia Viral Bovina

CBM: Concentração Bactericida mínima

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

DGAV: Direcção Geral de Alimentação e Veterinária

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EUA: Estados Unidos da América

IBR: Rinotraqueíte Infecciosa Bovina

IM: IntraMuscular

kg: quilogramas

LPS: Lipopolissacarídeo Somático

MAb: Anticorpo monoclonal

mg: miligramas

MgCl₂: Cloreto de Magnésio

ml: mililitros

M. bovis: *Moraxella bovis*

M. bovoculi: *Moraxella bovoculi*

OIE: Organização Mundial da Saúde Animal

OPP: Organização dos Produtores Pecuários

PCR: Reacção em Cadeia Polimerase

PI: Persistentemente infectados

PIO: Pressão IntraOcular

PI3: Vírus Parainfluenza

PNSA: Plano Nacional Saúde Animal

QIB: Queratoconjuntivite Infecciosa Bovina

rpm: respirações por minuto

RTX: Repeats-in-Toxin

SC: Subcutâneo

TPM: Testes Pré-Movimentação

UV: Ultravioleta

Índice Geral

PARTE I: Relatório de estágio e actividades desenvolvidas	16
1. Introdução	16
2. Actividades desenvolvidas	16
2.1 Profilaxia médica.....	18
2.1.1 Vacinação	19
2.1.2 Desparasitação.....	20
2.1.3 Rastreio Anual.....	21
2.2 Saneamento oficial obrigatório	22
2.3 Testes pré-movimentação.....	23
2.4 Reprodução Animal.....	23
2.5 Clínica Médica de Ambulatório	25
PARTE II: Fundamentação Teórica	28
Revisão Bibliográfica	28
2.1 Introdução	28
2.2 Anatomia do olho.....	29
2.3 Etiologia.....	32
2.4 Epidemiologia	33
2.5 Patogenia.....	34
2.5.1 Fímbrias.....	35
2.5.2 Citotoxina.....	36
2.5.3 Fosfolipase B.....	37
2.5.4 Sistema de captação de ferro	37
2.6 Sinais clínicos	37
2.7 Diagnóstico	39
2.8 Tratamento	41

2.8.1 Tratamento tóxico	43
2.8.2 Tratamento subconjuntival	43
2.8.3 Tratamento sistêmico	44
2.9 Profilaxia e controle.....	45
PARTE III: Relato de casos.....	47
3.1 Caso clínico 1	47
3.1.1 Sinais clínicos.....	47
3.1.2 Diagnósticos diferenciais	48
3.1.3 Exames complementares de diagnóstico.....	48
3.1.4 Resultado.....	48
3.1.5 Tratamento	49
3.2 Caso clínico 2.....	50
3.2.1 Sinais clínicos.....	50
3.2.2 Diagnósticos diferenciais	51
3.2.3 Resultado.....	51
3.2.4 Tratamento	52
3.3 Caso clínico 3.....	53
3.3.1 Sinais clínicos.....	53
3.3.2 Diagnósticos diferenciais	53
3.3.3 Resultado.....	54
3.3.4 Tratamento	54
3.4 Caso clínico 4.....	55
3.4.1 Sinais clínicos.....	55
3.4.2 Diagnósticos diferenciais	55
3.4.3 Resultado.....	56
3.4.4 Tratamento	56
PARTE IV: Discussão	57

PARTE V: Conclusão.....	59
Referências bibliográficas.....	60

Índice de Gráficos

Gráfico 1 Distribuição dos casos acompanhados por espécie	17
Gráfico 2 Distribuição dos casos acompanhados por área clínica.....	18
Gráfico 3 Distribuição casos acompanhados de rastreio anual	21
Gráfico 4 Distribuição dos casos acompanhados na clínica médica	25

Índice de Ilustrações

Ilustração 1 Corte sagital do globo ocular. (<i>Adaptado de Evans, 1993</i>).....	30
Ilustração 2 Evolução de uma úlcera perfurada num vitelo com QIB. As fotografias mostram um período de tempo de 77dias, desde o primeiro dia em que a úlcera foi detectada. Fonte: Angelos, 2015	39
Ilustração 3 Opacidade central da córnea (edema). Fonte: Autor	48
Ilustração 4 Resultado obtido a partir das zaragatoas oculares. Fonte: Laboratório Medinfar-Sorológico	49
Ilustração 5 Lesão de QIB com presença de epífora e edema da córnea com vascularização que atingiu o centro da lesão. Fonte: Autor	50
Ilustração 6 Lesão central correspondente a edema da córnea. Fonte: Autor.....	53
Ilustração 7 Queratocone com marcada neovascularização. Fonte: Autor	55

Índice de Tabelas

Tabela 1 Número de animais observados por espécie	17
Tabela 2 Número de animais distribuídos pelas diferentes áreas de intervenção.....	18
Tabela 3 Distribuição dos casos relativamente a planos profiláticos	19
Tabela 4 Distribuição dos casos acompanhados na vacinação.....	19
Tabela 5 Distribuição dos casos acompanhados na desparasitação.....	21
Tabela 6 Distribuição dos casos acompanhados em TPM.....	23
Tabela 7 Distribuição dos casos acompanhados na reprodução	24
Tabela 8 Sistema Digestivo	26
Tabela 9 Sistema Respiratório	26
Tabela 10 Sistema Musculoesquelético.....	26
Tabela 11 Sistema Oftalmológico	26
Tabela 12 Parasitologia	27
Tabela 13 Pele e Anexos	27
Tabela 14 Cirurgia.....	27
Tabela 15 Necrópsias.....	27

PARTE I: Relatório de estágio e actividades desenvolvidas

1. Introdução

O presente relatório refere-se ao estágio de natureza curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias e tem como objectivo descrever as actividades desenvolvidas durante o estágio na área de clínica de espécies pecuárias.

O estágio curricular foi realizado na clínica de espécies pecuárias Vetheavy, Serviços de Sanidade e Reprodução animal, em Évora, sob orientação dos seis médicos veterinários que integram a equipa e o restante corpo clínico, no período compreendido entre 1 de Novembro e 1 de Março.

A realização deste estágio curricular teve como principal objectivo consolidar os conhecimentos teóricos adquiridos no percurso académico e correlacioná-los com a prática clínica exercida, permitindo desta forma estender e diversificar as competências nesta área.

O relatório será constituído, numa primeira parte, pela descrição das actividades acompanhadas no decorrer do estágio, no âmbito da profilaxia médica e sanitária, reprodução animal, clínica médica de ambulatório, clínica cirúrgica e necrópsias. Numa segunda parte, será elaborada uma revisão bibliográfica que assenta sobre o tema “Queratoconjuntivite infecciosa bovina”. Por último, serão apresentados e relatados quatro casos clínicos sobre o tema da monografia e respectiva discussão.

A escolha do tema Queratoconjuntivite infecciosa bovina deveu-se essencialmente ao facto de ter ocorrido, durante o período de estágio, um surto desta doença numa exploração e apenas se ter recorrido ao uso de exames complementares a estes animais, como forma de confirmar o diagnóstico. Trata-se ainda de uma patologia com bastante incidência na clínica de espécies pecuárias, facto esse que aumentou o interesse em aprofundar este tema.

2. Actividades desenvolvidas

Neste ponto será apresentada a distribuição casuística das diferentes actividades acompanhadas e/ou realizadas sob a supervisão de um médico veterinário, distribuída por espécie e por sistema orgânico afectado. Será também feita a descrição de alguns procedimentos realizados, que de alguma forma se destacaram, fundamentalmente pelo número de animais intervencionados.

Relativamente ao nível da distribuição dos casos observados por espécie, foi possível verificar que houve predominância da espécie bovina (63%), seguida da espécie ovina (36%). As restantes espécies (caprinos e equinos) representam 1% dos animais intervencionados (gráfico 1). O número total de animais foi aproximadamente 14 453 (tabela 1), no entanto torna-se necessário ressaltar que este número não representa o número integral de animais individualmente, uma vez que, um único animal pode ter sido submetido a mais do que um procedimento em simultâneo.

Tabela 1 Número de animais observados por espécie

Espécies observadas	Nº Animais intervencionados
Bovinos	9096
Ovinos	5246
Restantes espécies	111
Total	14453

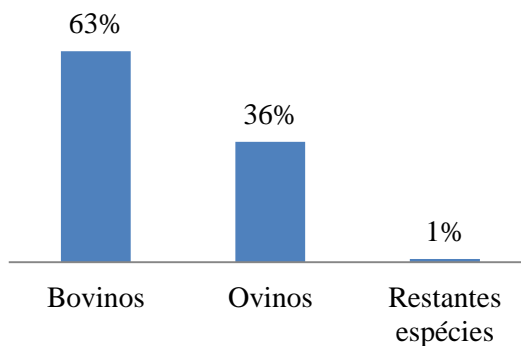


Gráfico 1 Distribuição dos casos acompanhados por espécie

As actividades acompanhadas foram distribuídas por diferentes áreas, de acordo com o observado no gráfico 2.

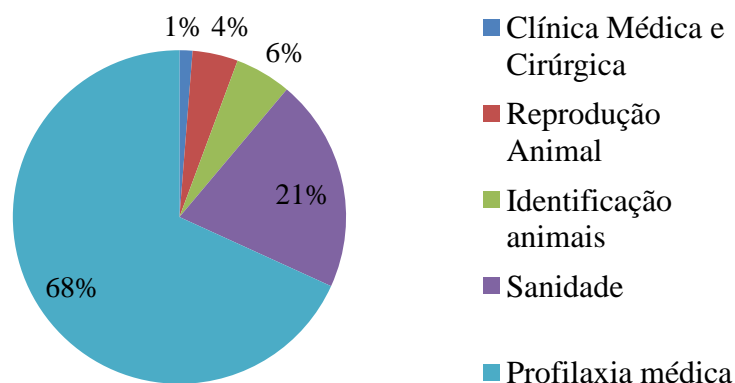


Gráfico 2 Distribuição dos casos acompanhados por área clínica

Como se pode verificar, pela análise do gráfico e tabela 2, a profilaxia médica foi a área com maior número de animais intervencionados, correspondendo a 68% (14 637 animais), seguindo-se a sanidade com 21% (4 438), identificação de animais com 6% (1 173), reprodução animal com 4% (946) e por último a clínica médica e cirúrgica com 1% (271).

Tabela 2 Número de animais distribuídos pelas diferentes áreas de intervenção

Áreas de intervenção	Nº Animais observados
Clínica Médica e Cirúrgica	271
Reprodução animal	946
Identificação animal	1173
Sanidade	4438
Profílaxia médica	14637
Total	21465

2.1 Profilaxia médica

Esta actividade foi a que se realizou com maior frequência e que abrangeu um maior número de animais.

Um dos principais objectivos para a manutenção das melhores condições de produção é a prevenção de doenças infecciosas e parasitárias. Neste âmbito executaram-se programas sanitários obrigatórios de erradicação de doenças, programa Bovicare, testes de

pré-movimentação e planos profiláticos adequados a cada exploração (vacinação e desparasitação).

Tabela 3 Distribuição dos casos relativamente a planos profiláticos

	Desparasitação	Vacinação	Fi	Fr (%)
Bovinos	1999	3655	5654	40,9%
Ovinos	4040	4232	8272	59,9%
Restantes espécies	5	97	102	0,7%
Total	5994	7817	13811	100,0%
Fr (%)	43%	57%	100%	

Legenda: Fi - Frequência absoluta; Fr - Frequência relativa

Segundo a tabela 3, pode-se verificar que, de uma forma geral, houve predominância da espécie ovina relativamente a intervenções no âmbito de planos profiláticos com 59,9% (8 272). Comparativamente entre acções de vacinação e desparasitação, verifica-se uma maior percentagem na vacinação, com 57% (7 817).

2.1.1 Vacinação

Como verificado anteriormente, em termos de planos profiláticos, o número de animais vacinados foi significativamente superior ao número de animais desparasitados.

Tabela 4 Distribuição dos casos acompanhados na vacinação

	Vacinação		Fi	Fr (%)
	Bovinos	Ovinos		
Bovilis®	255		255	2,4%
Bravoxin 10®	1070		1070	10,2%
Bluevac®	261		261	2,5%
Covexin 8®	1128		1128	10,8%
Covexin 10®	337	278	615	5,9%
Heptavac P Plus®	164	3500	3664	35,0%
IBR marcada®	22		22	0,2%
Rispoval 3®	22		22	0,2%
Rispoval 4®	1370		1370	13,1%
Rispoval Pasteurella®	419		419	4,0%
Rotavec Corona®	53		53	0,5%
Spirovac® L5	337		337	3,2%
Syvazul® 1	713	454	1167	11,1%
Autovacinas	96		96	0,9%
Fi	6247	4232	10479	100%
Fr (%)	60%	40%	100%	

Legenda: Fi - Frequência absoluta; Fr - Frequência relativa

Na tabela 4 estão indicadas todas as vacinas utilizadas ao longo do estágio. Sendo que as vacinas mais utilizadas foram:

→ Heptavac P Plus ® em ovinos, representando 35%, que garante a imunização activa de ovelhas contra clostridioses;

→ Rispoval 4 ® em bovinos, com 13,1%, que protege os animais contra o vírus da diarreia bovina (BVD), vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), vírus respiratório sincicial bovino (BRSV) e vírus parainfluenza (PI3);

→ Syvazul ® 1 em bovinos, correspondendo a 11,1%, que garante a imunização activa de ovinos e bovinos contra o serotipo 1 do vírus da língua azul;

→ Covexin 8 ® em bovinos, com 10,8%, que garante imunização activa em ovinos e bovinos contra 8 estirpes de clostridioses;

→ Bravoxin 10 ® em bovinos, com 10,2%, que protege ovinos e bovinos de 10 estirpes de clostridioses.

Também se utilizaram outras vacinas de acordo com a profilaxia específica ou pretendida, como Spirovac ® L5 (3,2%), utilizada em bovinos que previne contra 5 estirpes de Leptospirose, Rotavec Corona ® (0,5%), utilizada de forma a diminuir a intensidade de diarreias neonatais causadas por *E. coli*, rotavírus e coronavírus e Rispoval Pasteurella ® (4,0%) para imunização activa de bovinos a fim de reduzir as lesões consequentes à patologia respiratória causada pela infecção por *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* biótipo A, serotipo 1.

2.1.2 Desparasitação

No decorrer do período de estágio, foram realizadas 5 994 desparasitações, utilizando desparasitantes de administração tópica (*pour-on*) e injectável.

Como se pode verificar através da tabela 5, durante o estágio o desparasitante mais utilizado em ovinos foi o Sponver plus - suspensão oral, com 29%, com a associação dos princípios activos: Closantel 50mg e Mebendazol 75mg, é utilizado no tratamento e controlo de nemátodes e tremátodes gastrointestinais e pulmonares, assim como no tratamento de

céstodes e alguns artrópodes. Em bovinos, o desparasitante mais utilizado foi o Virbamec, representando 20% dos casos, utilizado no tratamento de nemátodes gastrointestinais, filárias cutâneas, parasitas pulmonares e ectoparasitas como larvas de moscas, piolhos, ácaros e carraças dos bovinos tropicais.

Tabela 5 Distribuição dos casos acompanhados na desparasitação

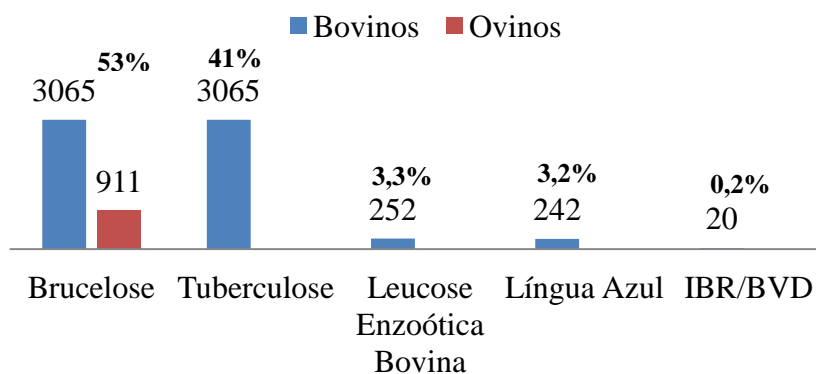
	Desparasitação			
	Bovinos	Ovinos	Fi	Fr (%)
Ivomec		1388	1388	23%
Virbamec®	968	278	1246	20%
Virbamec F	934		934	15%
Virbamec Pour on	97		97	2%
Sponver plus		1762	1762	29%
Dectomax		612	612	10%
Animec	119		119	2%
Total	2118	4040	6158	100%
Fr (%)	34%	66%	100%	

Legenda: Fi - Frequência absoluta; Fr - Frequência relativa

2.1.3 Rastreio Anual

A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), é uma organização intergovernamental, tendo como principal objectivo coordenar e incentivar, a nível mundial, a informação, investigação e elaboração de normas sanitárias para o controlo de epizootias. A OIE mantém actualizada uma lista de doenças, de grande importância económica e/ou zoonoses perigosas, que devem ser obrigatoriamente comunicadas em caso de ocorrência. Algumas destas doenças estão apresentadas no gráfico 3, onde se pode observar que existe predominância do rastreio anual de brucelose em ovinos e bovinos, com 53%, seguindo-se o rastreio anual para tuberculose em bovinos com 41%, rastreio para a Leucose Enzoótica Bovina (LEB) representando 3,3%, rastreio para Língua Azul com 3,2% e por último o rastreio anual de IBR e BVD com 0,2%.

Gráfico 3 Distribuição casos acompanhados de rastreio anual



2.2 Saneamento oficial obrigatório

O saneamento animal oficial consiste em programas de erradicação da tuberculose bovina e brucelose de bovinos e pequenos ruminantes, sob a responsabilidade dos Médicos Veterinários inscritos nos serviços oficiais, no sector dos animais de produção pecuária.

Os procedimentos técnicos de execução dos programas assim como as regras relativas à classificação sanitária de cada exploração, estão definidos no Decreto-Lei nº 272/2000 para a tuberculose bovina e no Decreto-Lei nº244/2000 para a brucelose bovina e de pequenos ruminantes.

Estas acções estão incluídas no Plano Nacional de Saúde Animal (PNSA) da Direcção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), segundo as diretrizes da União Europeia. Cada produtor está inscrito num Agrupamento de Defesa Sanitária (ADS) / Organização dos Produtores Pecuários (OPP) da região, entidades que fazem cumprir as normas do PNSA.

Em relação aos bovinos, o saneamento é anual e consiste na recolha de uma amostra de sangue da veia coccígea mediana para rastreio de brucelose, a todos os animais do efectivo com idade superior a 24 meses, e posterior envio para um laboratório oficial credenciado onde se executa o teste serológico *Rosa Bengala*. Para despiste de tuberculose bovina, realiza-se a prova oficial de intradermotuberculização comparada (IDC) a todo o efectivo com mais de 6 semanas e consiste na inoculação de 0,1ml de tuberculina aviária e mamífera, por via intradérmica na pele da região cervical (tábua do pescoço). A interpretação das reacções de tuberculina é realizada a partir da observação clínica e na comparação entre espessuras da prega de pele nos pontos de inoculação às 72h após prova, medidas com recurso a um cutímetro.

Relativamente aos pequenos ruminantes, o saneamento também é anual e consiste na recolha de uma amostra de sangue da veia jugular externa para rastreio de brucelose, e posterior envio para Laboratório Oficial Credenciado onde se realiza o teste de fixação do complemento. É realizado a todo o efectivo nos casos em que possuam um número inferior a 50 animais, caso contrário é recolhido sangue a 25% das fêmeas em idade reprodutiva, a todos os machos reprodutores com mais de 6 meses e nos animais introduzidos desde o controlo anterior.

Simultaneamente a todas as actividades de saneamento obrigatório foram realizadas acções de profilaxia médica que incluíram vacinação e desparasitação de cada animal.

A identificação animal também é confirmada aquando da realização destas actividades. Nos bovinos, são anotados os números de identificação de cada animal (Nº de SIA), inscritos nos dois brincos oficiais em cada pavilhão auricular. Nos ovinos e caprinos, confirma-se se o número de identificação que se encontra inscrito no brinco na orelha esquerda, juntamente com o número de chip (identificação electrónica), existente no bolo reticular, coincidem.

2.3 Testes pré-movimentação

Os testes de pré-movimentação (TPM) animal são testes obrigatórios para brucelose e tuberculose. São efectuados a bovinos machos e fêmeas, com mais de 12 meses de idade (com mais de 6 semanas para tuberculose em movimentações intracomunitárias) e nos 30 dias anteriores à sua movimentação. Os animais só poderão sair da exploração após a obtenção de resultado negativo nos testes de diagnóstico e o averbamento desta informação nos respectivos passaportes. Durante o estágio acompanhei TPM de 1 222 bovinos (tabela 6).

Tabela 6 Distribuição dos casos acompanhados em TPM

Teste Pré-Movimentação (TPM)	
Bovinos	1222
Total	1222

2.4 Reprodução Animal

Durante o estágio foram desenvolvidas várias acções de reprodução animal que envolveram um total de 946 animais, nomeadamente 700 bovinos e 246 ovinos.

Estas acções permitem um auxílio importante para os produtores, com o objectivo de aumentar a fertilidade dos efectivos, despistar problemas reprodutivos, melhorar o manejo reprodutivo e incremento do valor genético, contribuindo desta forma para aumentar a produtividade e rentabilidade das explorações.

As principais actividades que foram acompanhadas durante o período de estágio, incluíram essencialmente o controlo reprodutivo em fêmeas, exames andrológicos a touros e carneiros e inseminação artificial em vacas.

No controlo reprodutivo são criados planos de gestão e manejo reprodutivo. Neste processo foram efectuadas deslocações periódicas às explorações em causa, onde se realizaram diagnósticos de gestação a cada fêmea reprodutora, através de ecografia transrectal em vacas e transparietal em ovelhas. Foram realizadas sincronizações deaios em que, após a detecção de vacas não gestantes, é administrada uma hormona estimuladora do estro e ovulação, análoga da Hormona Libertadora de Gonadotrofinas – GnRh, sendo estas vacas introduzidas a posteriori com os touros para cobrição por monta natural. Em relação ao manejo reprodutivo faz ainda parte a detecção de “vacas problema”, seja porque não ficaram gestantes nas duas últimas ou mais cobrições, seja porque têm intervalos entre partos demasiado prolongados.

Relativamente aos exames andrológicos são geralmente realizados anualmente, antes de colocarem os touros ou carneiros junto das fêmeas à cobrição ou anterior à venda de machos reprodutores, como exame de acto de compra. Permitem identificar machos inférteis ou sub-férteis que põem em risco a eficiência e rentabilidade reprodutiva das explorações.

No âmbito da reprodução animal foi também possível acompanhar todo o processo inerente à técnica de inseminação artificial. As vacas previamente seleccionadas são submetidas a ecografia transrectal a fim de verificar a ausência de qualquer anomalia no tracto reprodutor e confirmar se não se encontram gestantes. Posteriormente realiza-se um protocolo hormonal de sincronização de cio com aplicação simultânea de um adesivo para auxílio na detecção de cio na base da cauda. Em todas as vacas que estão em cio o adesivo terá uma cor diferente, consequência de montas repetitivas por parte de outras vacas. Por último, realiza-se inseminação artificial no dia previsto de ovulação e a todas as vacas que tenham alterado a cor do adesivo.

Na tabela 7 estão representadas as intervenções desenvolvidas no âmbito da reprodução em ovinos e bovinos.

Tabela 7 Distribuição dos casos acompanhados na reprodução

	Reprodução			
	Bovinos	Ovinos	Fi	Fr (%)
Diagnóstico Gestação	593	190	783	82,8%
Sincronização cio	65		65	6,9%
Inseminação Artificial	13		13	1,4%
Exames Andrológicos	29	56	85	9,0%
Total	700	246	946	100,0%

Fr (%)	74%	26%	100%
---------------	------------	------------	-------------

Legenda: Fi - Frequência absoluta; Fr - Frequência relativa

O diagnóstico de gestação foi o procedimento mais realizado (82,8%), tanto em bovinos como em ovinos, envolvendo um total de 783 animais. Seguem-se os exames andrológicos (9,0%) com um total de 85 animais. A sincronização deaios representa 6,9% de frequência, abrangendo 65 bovinos no total, e por último a inseminação artificial (1,4%) que apesar de ser uma técnica cada vez mais solicitada pelos produtores ainda está em crescimento comparativamente às restantes.

2.5 Clínica Médica de Ambulatório

A clínica médica de ambulatório consistiu em consultas nas explorações, solicitadas por chamada telefónica. De uma forma geral, consistiam na recolha de dados pela anamnese, transmitidos pelo produtor ou tratador, exame físico, tratamento no local e, conforme os casos, aconselhamento para futura prevenção. As recomendações podem abranger apenas o animal doente ou os vários animais, revendo aspectos alimentares, de manejo, doenças emergentes e aspectos epidemiológicos da região.

O gráfico 4 resume, por repartição em diferentes áreas, os vários casos que tive oportunidade de acompanhar.

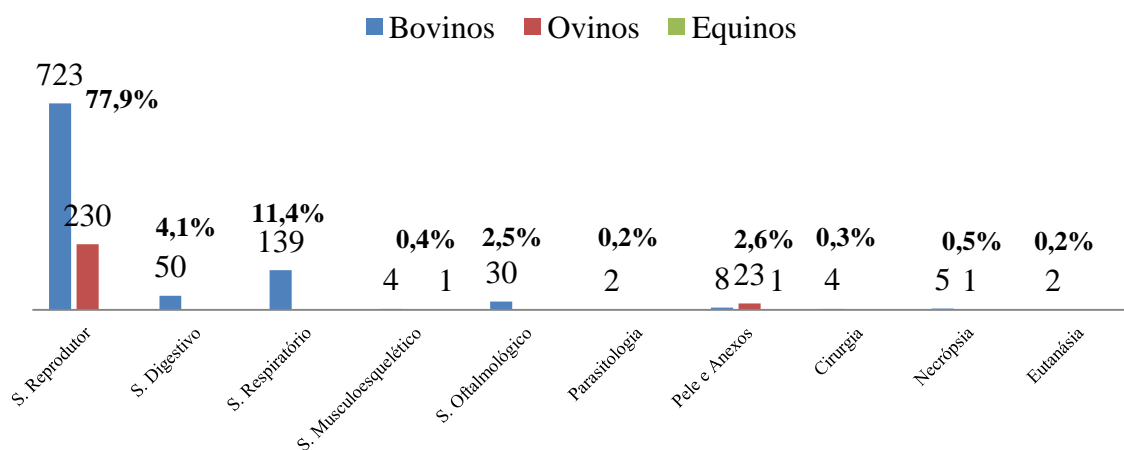


Gráfico 4 Distribuição dos casos acompanhados na clínica médica

Conforme observado no gráfico 4, o sistema mais intervencionado foi o reprodutor, com uma frequência relativa de 77,9%, num total de 953 animais. Os procedimentos

realizados que apresentam menor percentagem correspondem aos procedimentos de eutanásia e à área da parasitologia, ambas com uma frequência relativa de 0,2%.

As tabelas seguintes (Tabela 8 à 15) representam os casos clínicos acompanhados durante o período de estágio, separados em diferentes sistemas orgânicos/ áreas clínicas, com os respectivos diagnósticos ou sintomas apurados e número e espécie animal.

Tabela 8 Sistema Digestivo

Sistema Digestivo				
Diagnóstico/Sintoma	Bovinos	Equinos	Fi	Fr (%)
Diarreia Neonatal	37		37	73%
Diarreia em animal adulto	9		9	18%
Intoxicação por bolota	3		3	6%
Timpanismo Gasoso	1		1	2%
Cólica		1	1	2%
Total	50	1	51	100%

Legenda: Fi - Frequência absoluta; Fr - Frequência relativa

Tabela 9 Sistema Respiratório

Sistema Respiratório		
Diagnóstico/Sintoma	Bovinos	Total
Pneumonia/Broncopneumonia	139	139
Total	139	139

Tabela 10 Sistema Musculoesquelético

Sistema Musculoesquelético				
Diagnóstico/Sintoma	Bovinos	Equinos	Fi	Fr (%)
Claudicação	1	1	2	40%
Síndrome vaca caída	2		2	40%
Fractura óssea	1		1	20%
Total	4	1	5	100%

Legenda: Fi - Frequência absoluta; Fr - Frequência relativa

Tabela 11 Sistema Oftalmológico

Sistema Oftalmológico			
Diagnóstico/Sintoma	Bovinos	Fi	Fr (%)
Queratoconjuntivite infecciosa	27	27	90%
Besnoitiose Bovina	3	3	10%
Total	30	30	100%

Legenda: Fi - Frequência absoluta; Fr - Frequência relativa

Tabela 12 Parasitologia

Parasitologia		
Diagnóstico/Sintoma	Bovinos	Total
Piroplasmose	2	2
Total	2	2

Tabela 13 Pele e Anexos

Pele e Anexos					
Diagnóstico/Sintoma	Bovinos	Ovinos	Equinos	Fi	Fr (%)
Abcesso	7			7	22%
Feridas			2	2	6%
Ectima contagioso		23		23	72%
Total	7	23	2	32	100%

Legenda: Fi - Frequência absoluta; Fr - Frequência relativa

Tabela 14 Cirurgia

Cirurgia			
Cirurgia	Bovinos	Fi	Fr (%)
Cesariana	1	1	25%
Descorna	3	3	75%
Total	4	4	1

Legenda: Fi - Frequência absoluta; Fr - Frequência relativa

Tabela 15 Necrópsias

Necrópsia				
Causa Etiológica	Bovinos	Ovinos	Fi	Fr (%)
Enterotoxemia	1	1	2	33%
Obstrução urinária	1		1	17%
Pneumonia	2		2	33%
Inconclusiva	1		1	17%
Total	5	1	6	100%

Legenda: Fi - Frequência absoluta; Fr - Frequência relativa

PARTE II: Fundamentação Teórica

Revisão Bibliográfica

2.1 Introdução

A Queratoconjuntivite infecciosa bovina (QIB ou “pink eye”) foi pela primeira vez identificada nos Estados Unidos da América (EUA) em 1889 (Brown *et al.*, 1998), sendo actualmente descrita como uma doença cosmopolita com maior incidência na Austrália e em diversos países da América do Sul incluindo Argentina, Uruguai e Brasil (Conceição *et al.*, 2004).

A QIB é considerada a doença ocular mais comum em bovinos e ovinos em todo o mundo, sendo caracterizada por uma alta taxa de morbilidade, podendo afectar até 80% do rebanho (Postma *et al.*, 2008), causando enormes perdas económicas (Conceição *et al.*, 2004). Estas são resultantes da redução de peso, perda de condição corporal, diminuição na produção de leite, custos de tratamento, análises laboratoriais e cuidados médico-veterinários (Constable *et al.*, 2017).

O agente etiológico primário da QIB é a bactéria *Moraxella bovis* (*M. bovis*), estabelecida de acordo com os postulados de *Koch* como o único agente causador da doença, no entanto, sendo a QIB considerada uma doença multifactorial, outros organismos podem estar implicados nesta patologia, nomeadamente *Moraxella ovis*, *Moraxella bovoculi* (*M. bovoculi*), *Neisseria spp.*, *Mycoplasma spp.* e *Chlamydia spp.* (Angelos, 2015; Constable *et al.*, 2017).

De uma forma geral, todos os bovinos podem ser afectados por esta doença. No entanto, foi descrita uma maior incidência em animais sem pigmentação periocular (Angelos, 2010a), em animais mais novos (Constable *et al.*, 2017) e uma maior susceptibilidade em determinadas raças, nomeadamente a raça Hereford, segundo um estudo realizado por Snowden *et al.*, (2005).

M. bovis possui diversos factores de virulência mas dois são determinantes para a ocorrência da doença clínica, são eles a presença de fímbrias e a expressão de uma citotoxina (hemolisina). As fímbrias constituem os factores primários de patogenicidade, uma vez que são responsáveis pela aderência às células epiteliais do hospedeiro (Postma *et al.*, 2008).

Apenas as estirpes hemolíticas e com presença de fímbrias são patogénicas e capazes de causar doença clínica, demonstrando um papel fundamental destas características na patogénese da doença (Billson *et al.*, 2000).

Os animais acometidos apresentam manifestações clínicas que se iniciam com lacrimejamento intenso, fotofobia e blefaroespasmos, seguindo-se opacidade da córnea que pode evoluir para úlcera, ocasionando cegueira temporária ou irreversível e ruptura da córnea. Pode manifestar-se de forma aguda, sub-aguda ou crónica, afectando apenas um ou ambos os olhos (Conceição & Turnes, 2003).

A conduta terapêutica e profilática inclui essencialmente o uso de antimicrobianos e vacinas, respectivamente. No entanto, a profilaxia é, em geral, prejudicada por situações de inexistência ou ineficácia de vacinas comercialmente disponíveis. Desta forma, os antimicrobianos são amplamente utilizados, o que pode favorecer a selecção de estirpes resistentes aos principais fármacos usados (O'Connor *et al.*, 2011). Aliando a esta situação o facto de existirem diferenças nos padrões de susceptibilidade entre estirpes isoladas em locais distintos, de um mesmo rebanho ao longo de um surto ou de um mesmo animal, torna-se imprescindível a determinação da sensibilidade *in vitro* antes de iniciar o tratamento (Conceição & Turnes, 2003).

2.2 Anatomia do olho

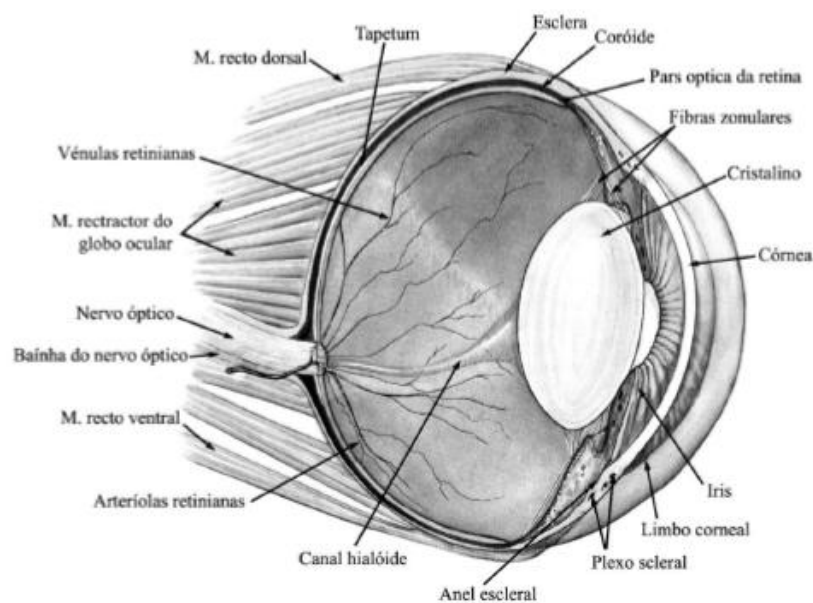
O órgão visual dos bovinos é formado pelo globo ocular e respectivas estruturas acessórias: pálpebras, conjuntiva, aparelho lacrimal e muscular, periórbita e fáschia bulbar. O olho está alojado na órbita que é formada pelos ossos frontal, lacrimal, zigomático, esfenóide e temporal (Gloobe, 1989). Como é característico de espécies presa, os olhos dos bovinos situam-se numa posição lateral e destacam-se além da margem da órbita. Com a ajuda dos movimentos oculares, estes têm um campo de visão de aproximadamente 360 graus (Getty, 1986; König & Liebich, 2011).

Na prática médico-veterinária, a inspecção da conjuntiva tem uma especial importância, uma vez que é muito sensível e reage a influências externas ou internas com variações na sua coloração (Gloobe, 1989).

A conjuntiva é a membrana mucosa mais exposta a agressões e tem como principais funções prevenir a dessecação da córnea, aumentar a mobilidade das pálpebras e globo ocular e proporcionar uma barreira física e fisiológica contra microorganismos e corpos estranhos. Anatomicamente está dividida em duas partes: palpebral e bulbar. A conjuntiva palpebral é a membrana mucosa que reveste a porção posterior das pálpebras, enquanto a porção bulbar reveste o globo ocular e é contígua com o epitélio corneal. Ventralmente, uma prega adicional é formada pela reflexão da conjuntiva sobre a membrana nictitante, o saco conjuntival (Gelatt *et al.*, 2013; Slatter, 2005). A conjuntiva é uma estrutura anatômica muito importante na QIB, uma vez que é nela que o processo patológico de inicia e é normalmente a principal afectada (Gelatt *et al.*, 2013)

A córnea é a túnica fibrosa e transparente mais anterior do globo ocular. As suas funções são o suporte dos conteúdos intraoculares, refacção e transmissão da luz. Esta estrutura depende do humor aquoso e das lágrimas para a sua nutrição e limpeza, e das pálpebras e membrana nictitante para a protecção das agressões ambientais (Gelatt *et al.*, 2013). Tem uma forma elíptica, com um diâmetro horizontal maior do que o vertical. Na maioria dos ungulados, esta diferença é muito mais pronunciada, o que permite que tenham um notável campo visual horizontal. A combinação das dimensões exageradas da córnea e a posição lateral do globo ocular é uma característica que lhes garante protecção contra os predadores (Gelatt *et al.*, 2013; König & Liebich, 2011).

Ilustração 1 Corte sagital do globo ocular. (Adaptado de Evans, 1993)



Histologicamente, a córnea é composta por quatro camadas (da mais anterior para a mais posterior): epitélio anterior, estroma, membrana de Descemet e endotélio (Junqueira & Carneiro, 2004; Gelatt *et al.*, 2013).

O epitélio da córnea é a camada mais superficial e é bastante mais espessa nos ungulados domésticos do que nos carnívoros (Gelatt *et al.*, 2013).

O estroma corneal compreende cerca de 90% da espessura da córnea e é constituído por lâminas transparentes de tecido fibroso sem estrutura. Entre essas lâminas existem células fixas e raras que são os fibrócitos, que contribuem para a formação e manutenção das lâminas do estroma. Estas células podem voltar à actividade como fibroblastos quando existe uma lesão profunda da córnea e formar tecido cicatricial (Junqueira & Carneiro, 2004; Gelatt *et al.*, 2013).

A membrana de Descemet é uma membrana homogénea e acelular que forma uma camada interior protectora da córnea e tem capacidade de regeneração após agressão. É produzida pelo endotélio posterior durante a vida de um animal (Slatter, 2005).

O endotélio é uma camada única de células achatadas que delineiam o interior da córnea. Existe alguma controvérsia em relação à capacidade de regeneração desta estrutura e sabe-se que pode variar com a espécie e idade. O endotélio tem um papel de extrema importância, uma vez que mantém a transparência e a organização das camadas da córnea, evitando o edema corneal (Dyce *et al.*, 1997).

Relativamente à regeneração da córnea estão envolvidos dois processos: a migração de células para ocupar a área lesionada e a mitose para reconstituir o número normal de células epiteliais. Quando as lesões são mais pequenas estas podem ser reparadas apenas pela migração celular, enquanto em lesões mais extensas é necessária a divisão celular (Gelatt *et al.*, 2013).

A observação de vasos sanguíneos no centro da córnea em vez de perifericamente é sinónima de doença. É o que se verifica no caso da QIB, onde no processo de cicatrização ocorre neovascularização da córnea lesada (Gelatt *et al.*, 2013).

2.3 Etiologia

M. bovis pertence à família *Moraxellaceae* (Conceição & Turnes, 2003), sendo considerado o agente etiológico mais comumente isolado de lesões clínicas de QIB (Brown *et al.*, 1998; McConnel *et al.*, 2007a). É uma bactéria gram-negativa, imóvel, aeróbia, oxidase positiva, variável para catalase e colagenase, sem capacidade de esporular, não fermenta carboidratos nem reduz nitratos (Conceição & Turnes, 2003; Brown *et al.*, 1998; Gokce *et al.*, 2002; Chaves *et al.*, 2008).

O pleomorfismo é característico da espécie, apresentando-se aos pares ou em cadeias curtas, variando de cocos, diplococos, cocobacilus e bacilus (Conceição & Turnes, 2003; O'Connor *et al.*, 2011). Em ágar de sangue forma colónias lisas ou rugosas, com 1 a 3 milímetros de diâmetro, circulares, levemente esbranquiçadas e com um estreito halo de β hemólise. Auto aglutina em água destilada e aglutina hemácias de várias espécies, características associadas à presença de fímbrias. As colónias rugosas (fimbriadas), ao serem removidas do ágar, deixam pequenas concavidades no meio de cultura, fenómeno conhecido por corrosão do ágar. Também apresentam uma forma de translocação superficial conhecida por “twitching motility”. A associação destas duas características, corrosão do ágar e “twitching motility”, é característico de bactérias que expressam fímbrias tipo 4 (Mattick & Whitchurch, 1996; Conceição & Turnes, 2003).

Apesar de *M. bovis* ser considerado o único agente causador da doença de acordo com os postulados de Koch, a QIB é considerada uma doença multifactorial, podendo outros organismos como *Moraxella ovis*, *Moraxella bovoculi* (*M. bovoculi*), *Neisseria spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Chlamydia spp.* e o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) estar envolvidos na doença (Constable *et al.*, 2017). *M. bovoculi* foi o agente mais recentemente identificado, tendo sido caracterizado pela primeira vez em 2007 (Angelos *et al.*, 2011), no entanto, pensa-se que, provavelmente, sempre circulou nas populações de bovinos e seria identificado como *Neisseria spp.* (Angelos, 2010a). Até à data é desconhecido algum estudo experimental bem-sucedido ao tentar demonstrar o seu papel no desenvolvimento de úlceras da córnea associadas a QIB e por conseguinte provar uma causa directa entre *M. bovoculi* e o desenvolvimento da doença (Angelos, 2015).

2.4 Epidemiologia

A QIB é uma doença altamente contagiosa e de distribuição mundial. Apesar de poder ocorrer em qualquer altura do ano, apresenta uma maior incidência nos meses mais quentes, associado a uma maior exposição do olho à radiação ultravioleta (UV) (aumento do fotoperíodo) e a um aumento da população de moscas (vectores mecânicos) (Constable *et al.*, 2017; Conceição & Turnes, 2003).

Para além da exposição à radiação UV, que aumenta a susceptibilidade para o desenvolvimento da doença e o grau de severidade dos sinais clínicos (Constable *et al.*, 2017), existem outros factores predisponentes que condicionam a ocorrência e severidade da doença. Destacam-se a presença de doenças concomitantes (Senturk *et al.*, 2007), a virulência da estirpe de *M. bovis* em causa, a resposta imunitária do hospedeiro, o aumento da poeira, forragem seca e vento, que podem causar lesões superficiais no olho e predispor para o início do processo infeccioso (Chaves *et al.*, 2008) e a deficiência em vitamina A que causa lesões no epitélio da córnea (Snowder *et al.*, 2005; Pugh & McDonald, 1986).

Em um estudo realizado por Snowder *et al.*, (2005) onde foram avaliados factores genéticos e ambientais na incidência de QIB durante um período de vinte anos, os autores concluíram que a raça Hereford é a mais afectada, com uma média superior em mais de três vezes em relação à média de todas as raças estudadas. Este facto foi justificado com a ausência ou diminuição na pigmentação periocular e uma acção bactericida ineficiente na solução lacrimal. As raças com maior incidência a seguir à Hereford foram a Simmental e a Charolesa. Foi ainda demonstrado que existem diferenças de susceptibilidade entre raças e entre indivíduos da mesma raça. Existe uma elevada prevalência da doença em *Bos tauros* (raça britânica) comparativamente a *Bos indicus* (raça índica).

Os bovinos são o único reservatório conhecido do agente, permanecendo este agente na conjuntiva e, por vezes nas narinas e vagina (Constable *et al.*, 2017). A permanência do agente no ambiente é de poucas horas, no entanto, nas moscas (vectores mecânicos) pode chegar a sobreviver até quatro dias (Radostits, 2007; Constable *et al.*, 2017; Bowman, 2010).

A persistência da doença ao longo dos anos num rebanho é possivelmente causada pela infecção em animais assintomáticos, que podem ser portadores por períodos superiores a um ano. A razão pela qual se originam os animais portadores é desconhecida, no entanto, este fenómeno pode ser causado pela incapacidade de alguns animais responderem adequadamente

ao estímulo antigénico. Determinou-se ainda que os animais portadores possuem em maior proporção bactérias sem fímbrias e não hemolíticas (Constable *et al.*, 2017).

A infecção prévia parece conferir uma imunidade significativa na época seguinte. As secreções lacrimais contêm anticorpos que vão agir directamente contra as fímbrias do agente, impedindo a sua fixação ao epitélio da córnea. Em infecções experimentais é conseguida uma protecção significativa, utilizando vacinas contendo antigénios de fímbrias de estirpes homólogas. Contudo, existe diversidade antigénica nas fímbrias de diferentes estirpes de *M. bovis*, fazendo com que as vacinas compostas unicamente por fímbrias de uma estirpe apenas confirmem protecção contra organismos do mesmo serogrupo (Constable *et al.*, 2017).

A transmissão ocorre através de contacto directo através de descargas nasais e oculares, fómites e, principalmente através de vectores mecânicos (Chaves *et al.*, 2008; Conceição & Turnes, 2003). A *Musca autumnalis* (mosca da face), é considerada o vector mais importante desta doença. No entanto, a *Musca domestica* (mosca doméstica) e a *Stomoxys calcitrans* (mosca dos estábulos) também podem agir como vectores (Brown *et al.*, 1998).

Num estudo realizado por Gerhardt *et al.*, (1982), verificou-se uma correlação entre o isolamento do agente etiológico e o número de moscas presentes, estabelecendo que a disseminação de *M. bovis* nos rebanhos começa quando a população de moscas excede as 10 moscas por animal durante 1 mês.

2.5 Patogenia

Têm sido identificados múltiplos factores de virulência para o agente primário da QIB, *M. bovis*. Os dois mecanismos patogénicos que são pré-requisitos para a associação do agente à QIB são, a adesão ao epitélio corneal e a citotoxicidade (McConnel & House, 2005). As proteínas de adesão que melhor estão caracterizadas são as fímbrias, presentes na superfície da bactéria. Os danos que posteriormente são causados são atribuídos à acção de uma citotoxina β -hemolítica, corneotóxica e leucotóxica (Angelos *et al.*, 2001; Sosa *et al.*, 2015). Já foi provado que estes dois factores de virulência têm um papel na patogénese, no entanto esta bactéria produz várias enzimas que, apesar de não ter sido directamente provado que estão envolvidas na sua patogénese, podem ter alguma influência no desenvolvimento da doença (Angelos, 2010b).

Outros factores de virulência incluem fosfolipases, sistema de aquisição de ferro e lipopolissacarídeo somático (LPS ou endotoxina) (McConnel & House, 2005). Diferentes estirpes de *M. bovis*, assim como diferentes isolados da mesma estirpe podem variar quanto à sua virulência (Postma *et al.*, 2008).

Os factores extrínsecos são igualmente importantes no que respeita ao desenvolvimento da doença e agravamento dos sinais clínicos. São eles a radiação ultravioleta (UV), factores stressantes decorrentes do transporte prolongado, infecções concomitantes, variações quanto à virulência das estirpes e condição imunológica dos animais afectados (Brown *et al.*, 1998).

2.5.1 Fímbrias

As proteínas de adesão, designadas fímbrias, são projecções na superfície da célula compostas por subunidades individuais de pilina (Angelos, 2010b) e têm como função a fixação do agente a receptores específicos das células epiteliais da córnea e conjuntiva (Postma *et al.*, 2008). A adesão de *M. bovis* ao epitélio da córnea impede a sua remoção através da acção mecânica das pálpebras e da secreção lacrimal e ocorre quinze minutos após estabelecido o contacto (Jayappa & Lehr, 1986; Postma *et al.*, 2008).

Segundo Turnes (1983), estirpes de *M. bovis* cujas fímbrias foram desnaturadas por tratamento químico (MgCl₂ a 10%), perderam a sua patogenicidade, a capacidade de autoaglutinação e a propriedade de aglutinar hemácias. A importância das fímbrias na patogénese de *M. bovis* também já foi demonstrada *in vivo* por Jayappa & Lehr (1986) quando inocularam a mesma estirpe da bactéria que diferia entre culturas com e sem fímbrias. Os autores concluíram que as culturas que apresentavam fímbrias induziam queratoconjuntivite clínica, enquanto as culturas sem fímbrias não induziram qualquer tipo de doença. Neste estudo também foi avaliada a eficácia de vacinas contra as diferentes culturas, concluindo que os animais imunizados com a vacina preparada a partir de culturas com fímbrias mostraram lesões com gravidade significativamente menor, comparativamente aos animais do grupo de controlo ou imunizados com vacina preparada a partir de culturas sem fímbrias.

Apenas estirpes que possuam fímbrias são capazes de provocar doença com sinais clínicos de QIB (Conceição *et al.*, 2004; Postma *et al.*, 2008; Sosa *et al.*, 2015).

Moore & Lepper (1991) desenvolveram um estudo que permitiu estabelecer uma nova classificação para as fímbrias segundo as suas propriedades antigénicas, dividindo-as em sete serogrupo diferentes (denominados de A a G), através do método ELISA (do inglês Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ou ensaio de imunoabsorção enzimática). Para além desta classificação, também os tipos de fímbrias podem ser diferentes, tendo sido caracterizados em I e Q (anteriormente designadas α e β , respectivamente) (Marrs *et al.*, 1985; Ruehl *et al.*, 1993a). As fímbrias tipo Q, consideradas as mais patogénicas, são responsáveis pela fixação inicial, enquanto as do tipo I estão envolvidas na manutenção da infecção já estabelecida (Ruehl *et al.*, 1988; Ruehl *et al.*, 1993b; Angelos, 2010b).

A capacidade de variação antigénica, de produzir diferentes tipos de fímbrias e de alteração entre estirpes com ou sem fímbrias pode justificar as diferentes eficácias observadas na vacinação contra *M. bovis*, uma vez que a estirpe presente na vacina pode não ser idêntica àquela que afecta os animais. Este facto torna imprescindível utilizar estirpes vacinais que possuam variantes antigénicos (Moore & Lepper, 1991; Angelos 2010b).

2.5.2 Citotoxina

Para além da presença de fímbrias, as estirpes patogénicas de *M. bovis* sintetizam uma β hemolisina (Billson *et al.*, 2000), com importante função na sua patogénese. Esta tem propriedades hemolíticas, corneotóxicas, leucotóxicas (Angelos *et al.*, 2001) e é cálcio-dependente (Beard & Moore, 1994). Num estudo realizado por Beard & Moore (1994) demonstrou-se a importância da hemolisina como factor de virulência ao injectar intracornealmente uma fracção hemolítica de uma estirpe patogénica de *M. bovis*, resultando em lesões da córnea muito semelhantes às que ocorriam em casos não induzidos de QIB. Tal não se verificou nos animais injectados com estirpes não hemolíticas.

Num estudo realizado por Angelos *et al.* (2001), confirmou-se a hipótese de que a citotoxina de *M. bovis* pertence à família RTX (do inglês Repeats-in-Toxin) de exoproteínas bacterianas, caracterizada por produzir poros na membrana citoplasmática das células alvo (epiteliais, leucócitos e hemácias), provocando efluxo de potássio, desequilíbrio osmótico e lise (Angelos *et al.*, 2001; Postma *et al.*, 2008).

A caracterização da hemolisina de *M. bovis*, realizada por Billson *et al.* (2000), permitiu reforçar o papel determinante desta exoproteína na virulência da QIB e ainda concluir que o anticorpo monoclonal G3/D7 (MAb G3/D7), é um anticorpo neutralizante

específico da hemólise para a hemolisina de *M. bovis*, sendo desta forma um candidato a considerar no que respeita à formulação de vacinas.

2.5.3 Fosfolipase B

Farn *et al.* (2001), descreveram uma proteína com actividade de fosfolipase B em *M. bovis*. Esta enzima actua hidrolisando os fosfolípidos de membrana, provocando lise celular e podendo conduzir aos danos na córnea que se observam na QIB.

As fosfolipases são enzimas reconhecidas como o principal factor de virulência de algumas espécies de bactéria, nomeadamente *Listeria spp.* e *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

2.5.4 Sistema de captação de ferro

Nos mamíferos, a maior parte do ferro encontra-se intracelularmente na forma de hemoglobina. As proteínas transportadoras de ferro, transferrina e lactoferrina sequestram as pequenas quantidades de ferro extracelular, diminuindo desta forma a concentração de ferro livre aquoso para níveis abaixo dos necessários para o crescimento bacteriano (Yu & Schryvers, 2002).

M. bovis possui um eficiente sistema de aquisição de ferro que lhe permite ultrapassar as condições de restrição de ferro do hospedeiro. Este mecanismo envolve a síntese e secreção de moléculas quelantes de ferro, os sideróforos, e receptores de superfície específicos que reconhecem a lactoferrina e transferrina. (Yu & Schryvers, 2002; Postma *et al.*, 2008).

2.6 Sinais clínicos

Um período de incubação de dois a três dias é considerado normal, apesar de terem sido observados experimentalmente intervalos maiores, de até três semanas (Constable, 2017).

As lesões iniciais podem ser extremamente reduzidas passando facilmente despercebidas. A presença de epífora, fotofobia e blefaroespasmos, acompanhados por ligeira pirexia, inapetência e prostração podem providenciar uma suspeita quanto à presença da doença (Angelos, 2015). Os sinais clínicos podem manifestar-se em um ou ambos os olhos,

sendo que quando as lesões são bilaterais a intensidade tende a ser assimétrica (Radostitis, 2007; Stokka *et al.*, 2000).

Em um a dois dias surge edema da córnea, resultante da lesão epitelial que leva à entrada de fluido para o estroma, manifestando-se com uma ligeira opacidade no centro da mesma. A resolução espontânea é muito comum nestes estadios (Constable, 2017). Com a progressão da doença desenvolve-se uma conjuntivite que pode ter vários graus de severidade e a opacidade torna-se mais extensa e, no pico do processo inflamatório, aproximadamente 6 dias após o aparecimento dos sinais clínicos, pode cobrir toda a córnea (Brown *et al.*, 1998). Os vasos conjuntivais encontram-se dilatados e desenvolve-se quemose e hiperémia. Normalmente as pálpebras também estão afectadas, apresentando edema generalizado e blefarite. O corrimento ocular que, primariamente era aquoso rapidamente se torna purulento (Crispin, 2005). A opacidade da córnea pode evoluir para úlcera, sendo nesta altura que o olho se torna mais sensível e doloroso (Stokka *et al.*, 2000).

Nos casos mais severos a córnea pode atingir uma forma cónica e com marcada vascularização, podendo rupturar e resultar em cegueira permanente (Constable, 2017; Alexander, 2010). A ruptura da córnea pode ser espontânea ou resultado de um trauma contuso. Se ocorrer perfuração pode desenvolver-se panofalmitite e *phthisis bulbi* (atrofia do globo ocular), no entanto o que acontece mais frequentemente é o prolapso da úvea e a cobertura da lesão com fibrina, mantendo-se a forma do globo ocular. Passados dois dias do aparecimento da úlcera, o processo de cicatrização pode começar com neovascularização da córnea (Brown *et al.*, 1998). A vascularização começa no bordo periférico do olho e rapidamente converge para a lesão primária central (Gelatt *et al.*, 2013). Também pode haver formação de tecido de granulação no local da úlcera, dependendo do grau de envolvimento do estroma (Brown *et al.*, 1998).

Segundo Alexander (2010) podem ocorrer alterações nos valores de pressão intraocular (PIO) em animais com QIB. Reportou um caso de um animal que se encontrava na fase aguda da doença, tendo uma elevação marcada da PIO de 44 mmHg. O olho que não se encontrava afectado apresentava uma PIO de 18 mmHg. Após tratamento e já em processo de resolução o olho afectado já apresentava um valor normal de 17 mmHg. Esta elevação na pressão intraocular é provavelmente causada pela inflamação que se verifica no ângulo iridocorneano que causa uma ruptura no fluxo de humor aquoso.

O tempo de recuperação é variável e depende do grau de extensão das lesões. Em casos de QIB moderada, com apenas envolvimento da córnea superficial, pode resolver-se entre as duas e quatro semanas (Rebhun, 1995). Em casos mais graves, os animais podem não recuperar totalmente, permanecendo uma opacidade na córnea (Crispin, 2005).

Ao contrário de outras espécies, os bovinos podem recuperar total ou parcialmente a visão depois de uma ruptura de córnea (Miller & Fales, 1984).

A medição da PIO pode ser utilizada como um rápido e útil indicador de prognóstico da saúde do olho assim como da sua resposta ao tratamento (Alexander, 2010).

Ilustração 2 Evolução de uma úlcera perforada num vitelo com QIB. As fotografias mostram um período de tempo de 77 dias, desde o primeiro dia em que a úlcera foi detectada. Fonte: Angelos, 2015



2.7 Diagnóstico

O diagnóstico definitivo é realizado com base nos sinais clínicos e na confirmação em laboratório. A QIB pode ser facilmente confundida com outras doenças que, normalmente, são processos traumáticos ou infecciosos (Turquieto *et al.*, 2008). Torna-se imprescindível a realização de um bom exame físico e contenção adequada.

É importante excluir a presença de corpo estranho uma vez que produzem sinais clínicos semelhantes à QIB. Quando através do exame físico não se verifica a presença de nenhum corpo estranho, é fundamental realizar o teste de fluoresceína uma vez que o padrão

corante é característico (área de fluoresceína no olho é contínua com outra área corada na junção esclero-corneana) (Angelos, 2015). Uma agressão traumática também pode ser diagnosticada uma vez que existe evidência de uma lesão física. Normalmente, em ambos os processos acima mencionados apenas um dos olhos do animal está afectado, enquanto na QIB é usual ambos os olhos estarem afectados e abranger vários animais do mesmo rebanho em simultâneo (Constable, 2017).

Relativamente a doenças infecciosas, também outros agentes são capazes de produzir lesões semelhantes à QIB.

A rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), causada pelo herpes vírus bovino tipo 1 (BHV-1), também se manifesta com descargas oculares mucopurulentas e conjuntivite, no entanto apresenta outros sinais clínicos não observados na QIB, nomeadamente descarga nasal e lesões erosivas na mucosa nasal e bucal. Também pode produzir sinais sistémicos e não há ulceração da córnea (Turquieto *et al.*, 2008). A confirmação do diagnóstico é obtida através de serologia (Alexander, 2010).

A febre catarral maligna, causada por um herpesvírus, caracteriza-se por descargas mucopurulentas, conjuntivite e opacidade da córnea. Os sinais clínicos que permitem distingui-la da QIB são a necrose difusa nasal e bucal e linfadenite (Alexander, 2010; Turquieto *et al.*, 2008).

Na diarreia viral bovina (BVD) os sinais oculares apresentados, nomeadamente opacidade da córnea, conjuntivite e descarga ocular mucopurulenta, são transitórios e geralmente presentes apenas em animais persistentemente infectados (PI). O quadro diarreico e as alterações no aparelho digestivo permitem diferenciá-la da QIB (Alexander, 2010; Turquieto *et al.*, 2008).

Outros agentes infecciosos bacterianos, já isolados de animais com conjuntivite, podem estar presentes e originar quadros clínicos semelhantes à QIB. São eles a *Listeria monocytogenes*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma bovis* e *Chlamydia spp.* (Alexander, 2010; Turquieto *et al.*, 2008; Constable, 2017).

O diagnóstico laboratorial da QIB é de extrema importância do ponto de vista epidemiológico, uma vez que permite conhecer a estirpe em causa e a sua sensibilidade aos antibióticos (Rebhun, 1995).

A recolha de amostras para cultura microbiológica deve ser realizada antes da implementação de qualquer tratamento tópico no olho afectado (Alexander, 2010). A colheita deve ser realizada obtendo uma amostra proveniente do fundo do saco ventral das secreções lacrimais e utilizando uma zaragatoa estéril. O agente encontra-se em maior concentração nos animais em início de doença que manifestam apenas epífora e lacrimejamento intenso, pelo que se recomenda a recolha de várias amostras principalmente dos que apresentam estes sinais clínicos (Turquieto *et al.*, 2008). Após a recolha e colocação da amostra num meio de transporte adequado, é efectuada cultura para isolamento do microorganismo ou identificação por PCR (reação em cadeia polimerase) (Radostitis, 2007). Segundo Shen *et al.* (2011), este último é extremamente específico e sensível, podendo ser usado directamente nas amostras das secreções lacrimais recolhidas. É ainda considerado uma ferramenta adequada como meio de diagnóstico e estudos epidemiológicos do agente.

Outros meios de diagnóstico incluem o teste de precipitina por difusão em gel que consiste na detecção de anticorpos aglutinantes contra *M. bovis* e ainda o teste de ELISA para a detecção de anticorpos em estudos experimentais. No entanto, nem os títulos de anticorpos aglutinantes nem os de anticorpos detectados por ELISA se correlacionam bem com a resistência individual do animal à infecção. Apesar de termos estes testes disponíveis, na prática clínica existem poucas indicações que justifiquem a utilização dos mesmos (Radostitis, 2007; Constable, 2017).

2.8 Tratamento

A queratoconjuntivite infecciosa bovina é, geralmente, uma doença auto-limitante. A recuperação pode ocorrer sem tratamento, no entanto, quando este é realizado nos estadios iniciais da doença, reduz significativamente a incidência de cicatrizes e perda de visão (Constable, 2017).

A terapia antimicrobiana é a terapia de eleição, no entanto nenhum protocolo assegura o sucesso total. Esta pode não erradicar o estado de portador do animal ou mesmo não melhorar o seu estado clínico (Brown *et al.*, 1998). A via de administração deve ser considerada quando se escolhe o antibiótico para o tratamento de QIB, uma vez que a eficácia da antibioterapia depende das propriedades farmacológicas do fármaco. Quanto maior a lipossolubilidade, melhor será a distribuição pelos tecidos e fluidos corporais (Punch *et al.*,

1985; Conceição & Turnes, 2003; McConnel *et al.*, 2007a). No entanto, na prática clínica a escolha de administração é determinada pela eficácia das opções dos tratamentos disponíveis, facilidade de acesso aos animais e na sua contenção, custo dos fármacos e tempo de recuperação (Constable, 2017). As vias de administração comumente utilizadas para o tratamento de QIB são a via subconjuntival, tópica, subcutânea (SC) e intramuscular (IM) (Angelos, 2015).

Segundo Conceição *et al.* (2004) a maioria das estirpes de *M. bovis* é susceptível aos antibióticos usados no tratamento da QIB e essa susceptibilidade varia consoante a zona geográfica. Este facto reforça a necessidade da realização de antibiogramas para uma escolha criteriosa dos fármacos a serem utilizados (Costa *et al.*, 2008; McConnel *et al.*, 2007b).

Como já referido, esta bactéria é sensível à maioria dos antibióticos e sulfonamidas, no entanto, mostra resistência à eritromicina, lincomicina e tilosina (McConnel *et al.*, 2007b; Conceição *et al.*, 2004; Constable, 2017). Num estudo realizado por Maboni *et al.* (2015) conclui-se que 20% das estirpes analisadas apresentaram resistência à oxitetraciclina. Sendo esta usualmente o antimicrobiano de primeira escolha para o tratamento de QIB e terapia de eleição para outras patologias pode justificar o alto índice de resistência encontrado para *M. bovis* (Alexander, 2010). Concluíram ainda que a ampicilina, ceftiofur, florfenicol, enrofloxacina e gentamicina foram os fármacos para os quais as estirpes de *M. bovis* apresentaram melhor perfil de sensibilidade.

A sensibilidade aos antimicrobianos pode ser avaliada por dois testes comumente utilizados, o método de disco difusão em ágar e o método de microdiluição em caldo, ambos regulamentados pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). O primeiro é muito utilizado na prática veterinária devido à sua praticidade, porém, os resultados obtidos são apenas qualitativos. Já o segundo teste, é o método de referência definido pelo CLSI e fornece a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) dos antimicrobianos, sendo estes dados quantitativos. Testes de susceptibilidade para *Moraxella* spp. são determinados na rotina laboratorial pelo método de disco difusão e, de forma geral, emprega-se o método de microdiluição em caldo para caracterizar isolados de um surto ou de uma região específica, com fins epidemiológicos (Webber *et al.*, 1982; Shryock *et al.*, 1998; Zielinski *et al.*, 2000; McConnel *et al.*, 2007b; Angelos *et al.*, 2011).

2.8.1 Tratamento tópico

O tratamento tópico, quando administrado nos estádios iniciais da doença apresenta elevada percentagem de sucesso (Alexander, 2010). No entanto, exige aplicações constantes uma vez que através do lacrimejamento intenso o fármaco é rapidamente eliminado, apresentado um tempo de semi-vida reduzido (McConnel *et al.*, 2007b; Costa *et al.*, 2008). Dentro das vantagens que oferece esta via de administração, pode-se mencionar a utilização de doses reduzidas, custo por tratamento reduzido, um alcance rápido da concentração de fármaco na lágrima e ausência de intervalo de segurança (McConnel *et al.*, 2007b; Angelos, 2015).

Alguns dos antibióticos mais utilizados topicamente são a penicilina, cloxacilina e oxitetraciclina (McConnel *et al.*, 2007b; Alexander, 2010; Angelos, 2015).

Segundo Angelos (2015), o tratamento tópico com Cloxacilina mostrou ser eficaz no tratamento de QIB quando induzida experimentalmente ou ocorrida de forma natural, especialmente quando administrada no curso inicial da doença em duas doses com 72 horas de intervalo (250mg e 375mg por olho). Ambos os olhos devem ser tratados mesmo que apenas um esteja afectado.

Atropina tópica (1%) é muito útil para induzir midríase, assim como para aliviar alguma dor ao contrariar o espasmo do corpo ciliar. No entanto, este efeito midriático pode conduzir a danos oculares se os animais não tiverem protecção contra a radiação solar. Para ser dada de forma segura é necessária uma boa contenção física e, por vezes sedação química ou bloqueio do nervo aurículo palpebral (Alexander, 2010).

2.8.2 Tratamento subconjuntival

A administração de fármacos por via subconjuntival permite atingir uma concentração maior a nível ocular e por períodos de tempo prolongados (Senturk *et al.*, 2007) e o custo do tratamento é mais reduzido (McConnel *et al.*, 2007b; Constable, 2017). No entanto existem potenciais riscos na execução da administração e é mais doloroso para o animal. Deve ser utilizada uma dose de fármaco reduzida (1 a 2ml), injectado na junção entre a conjuntiva e a esclera, por baixo da conjuntiva bulbar, formando um depósito a partir do qual o fármaco se difunde para os tecidos e secreções oculares (Alexander, 2010).

Segundo Angelos (2015), o tratamento subconjuntival com penicilina é o mais utilizado. Os autores sugerem que um intervalo de 48 horas é o indicado para tratamentos com este fármaco. A prevalência de QIB mostrou-se significativamente menor em bovinos tratados com penicilina comparado com o grupo de controle. A oxitetraciclina é a segunda escolha para o tratamento de QIB. No entanto, esta parece ter propriedades irritantes para os tecidos e o aumento do lacrimejamento é uma consequência (Alexander, 2010).

Os antibióticos mais utilizados por esta via são os dois acima mencionados. No entanto, outros estudos mostraram que também a clindamicina (Senturk *et al.*, 2007) e a marbofloxacina (Alexander, 2010 Tese) são eficazes no tratamento da QIB.

2.8.3 Tratamento sistêmico

O tratamento sistêmico pode ser uma boa alternativa em relação às outras vias de administração. É mais dispendioso, dada a quantidade de fármaco necessária, no entanto a rapidez e segurança de administração, associado à longevidade/duração da terapia são superiores quando comparado com a terapia tópica ou subconjuntival (Alexander, 2010).

Alguns antibióticos administrados parenteralmente podem não atingir os valores de CIM nas glândulas lacrimais ou na lágrima (Senturk *et al.*, 2007). Punch *et al.* (1985) reportaram que fármacos lipofílicos, como o cloranfenicol, eritromicina e oxitetraciclina, têm uma distribuição na lágrima em maiores concentrações do que fármacos não lipofílicos, como a gentamicina.

Diversos antibióticos podem ser utilizados nesta via de administração, nomeadamente a oxitetraciclina, tilmicosina, ceftiofur, tulatromicina e penicilina (George *et al.*, (1988); Dueger *et al.*, 2004; Angelos *et al.*, 2000; Alexander, 2010; Angelos, 2015).

Segundo McConnel *et al.* (2007b), a oxitetraciclina, quando administrada na dose de 20mg/Kg, duas doses com 72 horas de intervalo, amenizou os sinais clínicos, reduziu o tempo de recuperação da úlcera da córnea e diminuiu a incidência de recorrências da doença.

Gokce *et al.* (2002) concluíram que os animais tratados com florfenicol (20mg/Kg às 0h e 48 horas) recuperaram mais rapidamente e não tiveram recidivas comparativamente aos animais tratados com oxitetraciclina. Concluíram ainda que o florfenicol era mais eficaz quando dado intramuscular (IM) do que subcutâneo (SC) e que era o antibiótico mais efectivo após realização de testes de sensibilidade. No entanto, num estudo realizado por Angelos *et*

al. (2000), ambas as administrações de florfenicol, IM ou SC, se mostraram igualmente eficazes no tratamento de QIB.

Quando comparados directamente, por Gokce *et al.* (2002), em que um grupo de animais foi tratado com oxitetraciclina e outro com florfenicol, ambos na dose de 20mg/Kg IM com intervalo de 48 horas entre as duas doses, a fotofobia e o lacrimejamento diminuíram após 48 horas no grupo tratado com oxitetraciclina e estes sinais desaparecem por completo após 24 horas nos animais tratados com florfenicol. Foi ainda observada uma recorrência de QIB nos animais tratados com oxitetraciclina, não se tendo verificado recorrência no outro grupo. Concluíram desta forma que o florfenicol se mostrou mais efectivo quando comparado com a oxitetraciclina.

Num estudo realizado por Lane *et al.* (2006), uma única administração de tulatromicina (Draxxin) SC (2,5mg/Kg) mostrou ser eficaz no tratamento de QIB, ao reduzir o risco de reinfecção, o tempo de recuperação e o tamanho das úlceras de córnea desenvolvidas. Verificou-se ainda uma diminuição significativa no isolamento de *M. bovis* a partir de swabs oculares.

2.9 Profilaxia e controlo

M. bovis é um microorganismo ubiqüitário e como tal a sua eliminação torna-se praticamente impossível (Radostitis, 2007).

O controlo desta patologia passa essencialmente por reduzir os potenciais factores de risco nomeadamente, a radiação UV, vectores mecânicos e infecções concomitantes (Angelos, 2015). As moscas, que actuam como vectores mecânicos, são a principal fonte de contaminação e o seu controlo reduz de forma significativa o rácio de infecção. O uso de insecticidas deve começar nas estações de tempo mais quente e prolongar-se durante as mesmas (Constable, 2017; Turquieto *et al.*, 2008).

A vigilância cuidada dos animais é também de extrema importância pois permite a identificação dos primeiros sinais clínicos e conseqüente tratamento. Os animais afectados devem ser imediatamente isolados do restante rebanho e ficarem sob vigilância (Constable, 2017). As práticas de manejo também deve ser tidas em conta, como evitar que os animais

pastem em locais com vegetações que possam provocar lesões oculares e disporem de sombras para diminuir o tempo de exposição à radiação UV (Turquieto *et al.*, 2008).

Cada vez mais a utilização de vacinas como medida profilática tem vindo a ser utilizada e novos esforços têm vindo a ser feitos para o desenvolvimento deste método de imunoprofilaxia, no entanto os resultados obtidos com várias vacinas têm sido inconstantes. A elevada diversidade das estirpes de *M. bovis* e a presença de outros microorganismos envolvidos na patologia parecem ser o grande obstáculo (Brown *et al.*, 1998; Conceição & Turnes, 2003). O estudo da diversidade antigénica das estirpes de *M. bovis* é um pré-requisito para o sucesso de um programa imunoprofilático, uma vez que os serogrupos prevalentes variam durante o decorrer de um surto e entre regiões, exigindo a caracterização antigénica periódica das estirpes prevalentes na região visando à produção de vacinas eficientes (Conceição & Turnes, 2003; McConnel & House, 2005). Sendo assim, a utilização de vacinas autógenas seria uma opção a considerar na prevenção desta doença.

Uma vacina autógena é definida como um produto imunológico inactivado ou não-inactivado que é produzida a partir de agentes patogénicos e antigénicos obtidos de um animal ou animais doentes ou portadores e utilizada para a imunização activa de outros animais da mesma exploração (Attia *et al.*, 2013).

Quando se consideram as vacinas autógenas de uso veterinário podemos dividi-las em dois grupos: as autovacinas e as vacinas de rebanho. As primeiras são preparadas a partir de microorganismos patogénicos isolados de um animal e aplicados nesse mesmo animal, sendo mais utilizadas nos animais de companhia. As vacinas de rebanho são produzidas a partir de agentes patogénicos isolados de animais doentes pertencentes a um efectivo, sendo posteriormente utilizadas na mesma exploração para a protecção do restante rebanho (Carvalho, 2007).

De uma forma muito sucinta a produção de uma vacina de rebanho pode ser resumida nos passos seguintes. Em primeiro lugar, é feita a recolha de amostras por parte do médico veterinário, constituindo um passo crucial. As amostras são enviadas para laboratório e é feita uma análise microbiológica com identificação dos agentes e estirpes em causa. Procede-se ao crescimento do agente isolado que posteriormente é inactivado. Em seguida, é formulada a vacina resultante e é feito o controlo de qualidade do produto final. Finalmente a vacina é embalada e disponibilizado o lote correspondente (Paoli, 2005).

PARTE III: Relato de casos

Os casos clínicos que se seguem são provenientes da mesma exploração, localizada no Alentejo, mais concretamente no distrito de Évora, na qual ocorreu um surto de queratoconjuntivite infecciosa bovina, confirmada posteriormente através de análise laboratorial. Esta exploração apresenta um efectivo total de 193 animais, tendo sido recolhidas amostras de 6 animais, todas com resultado positivo para QIB.

As amostras foram recolhidas a partir das secreções lacrimais de animais com sinais clínicos compatíveis de QIB, utilizando uma zaragatoa estéril e posteriormente enviadas para laboratório onde se realizou cultura do agente. O resultado confirmou a suspeita, identificando como organismos presentes nas amostras *Moraxella bovis* e *Moraxella sp.*, tratando-se de uma cultura microbiológica mista.

O envio das amostras para análise tinha como objectivo não só a identificação do agente, como também posterior formulação de vacina de rebanho, o que acabou por não se suceder por vontade do proprietário.

De seguida serão descritos pormenorizadamente os casos clínicos representativos da amostra de animais comprovadamente positivos para QIB.

3.1 Caso clínico 1

Em Fevereiro de 2018, foi atendido um bovino macho com 5 anos de idade, cruzado de Limousine. A principal queixa reportada pelo proprietário foi a exibição de opacidade central da córnea e prostração, tendo detectado a presença dos sinais clínicos há cerca de uma semana.

3.1.1 Sinais clínicos

Ao exame físico a frequência cardíaca (72bpm), respiratória (30rpm) e a temperatura (38,4°C) encontravam-se dentro dos parâmetros normais. Foi descartada a possibilidade de presença de corpo estranho através de exame detalhado ao olho. Não foi realizado teste de fluoresceína de forma a confirmar a presença de úlcera da córnea ou medição da PIO.

Apresentava como sinais clínicos prostração, fotofobia, blefaroespasma e edema da córnea (**Ilustração 3**).

3.1.2 Diagnósticos diferenciais

- Corpo estranho;
- Febre catarral maligna;
- Diarreia viral bovina (BVD);
- Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR);
- *Pasteurella multocida*;
- *Mycoplasma bovis*;
- *Chlamydia spp.*

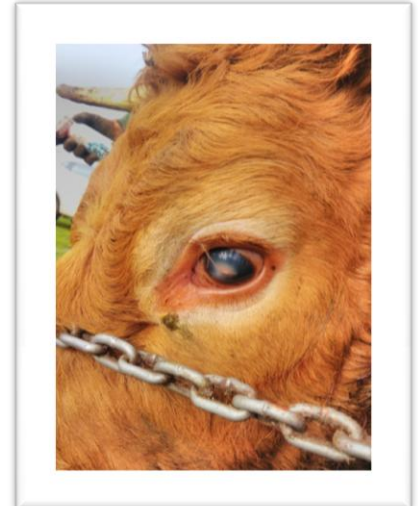


Ilustração 3 Opacidade central da córnea (edema). Fonte: Autor

3.1.3 Exames complementares de diagnóstico

De forma a descartar as doenças acima citadas recolheu-se uma amostra das secreções lacrimais para análise microbiológica. Para tal utilizou-se uma zaragatoa estéril da conjuntiva ocular sendo posteriormente enviada para o laboratório Medinfar- Sorológico onde foi realizada cultura do agente.

3.1.4 Resultado

O resultado obtido através da análise microbiológica foi positiva. Após cultura do agente, os microorganismos identificados foram *Moraxella bovis* e *Moraxella sp.*, tratando-se desta forma de uma cultura microbiológica mista (**Ilustração 4**). Perante este resultado confirma-se a suspeita inicial de *Moraxella bovis*, descartando-se assim todos os outros diagnósticos diferenciais acima citados.

MEDINFAR
SOROLÓGICO

BOLETIM DE ANÁLISE

An. 81/18

Identificação do material

Material analisado:	Zaragatoas oculares
Produtor:	[REDAZIDO]
Veterinário:	[REDAZIDO]
Animal:	Bovinos

Testes efetuados

Análise Microbiológica

Resultado

Moraxella bovis; Moraxella sp.;

Ilustração 4 Resultado obtido a partir das zaragatoas oculares. Fonte: Laboratório Medinfar-Sorológico

3.1.5 Tratamento

Até ao momento diversos estudos têm vindo a ser realizados com o intuito de determinar o tratamento mais eficaz para esta doença. Não foi estabelecido um tratamento de eleição, existindo diversos fármacos capazes de resolver os sinais clínicos de QIB, no entanto, nenhum protocolo assegura o sucesso total.

Neste caso, o animal foi isolado da manada de forma a minimizar o risco de disseminação pelo efectivo e colocado num local protegido da luz. Após contenção adequada, foi administrada uma injeção subconjuntival de penicilina (1ml), que se repetiu com um intervalo de 48h.

A escolha do tratamento não foi determinada por um teste de sensibilidade aos antimicrobianos mas sim com o intuito de reduzir a quantidade de fármaco utilizado e o número de doses administradas, bem como atingir uma concentração maior localmente e por um período de tempo prolongado.

3.2 Caso clínico 2

Em Fevereiro de 2018, foi atendido um bovino fêmea com 3 anos de idade, cruzado de Limousine, apresentando prostração, opacidade central da córnea e lacrimejamento intenso. O proprietário detectou a presença de sinais clínicos há cerca de uma semana.

Ao exame físico, os sinais clínicos evidenciaram diagnóstico compatível com *Moraxella bovis* (**Ilustração 5**). Os sinais vitais encontravam-se dentro dos parâmetros normais (frequência cardíaca 74bpm/ frequência respiratória 32rpm) à exceção da temperatura, que estava ligeiramente aumentada (39,5°C).

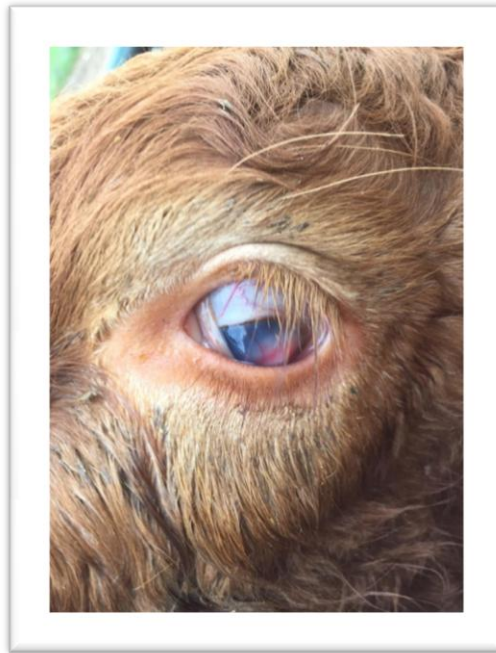


Ilustração 5 Lesão de QIB com presença de epífora e edema da córnea com vascularização que atingiu o centro da lesão. Fonte: Autor

3.2.1 Sinais clínicos

- Prostração;
- Fotofobia;
- Blefaroespasmos;
- Ligeira pirexia;

- Epífora;
- Edema da córnea;
- Blefarite;
- Neovascularização da córnea.

3.2.2 Diagnósticos diferenciais

- Corpo estranho;
- Febre catarral maligna;
- Diarreia viral bovina (BVD);
- Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR);
- *Pasteurella multocida*;
- *Mycoplasma bovis*;
- *Chlamydia spp.*.

De forma a descartar as doenças supracitadas, à semelhança do caso clínico anterior, recolheu-se uma amostra das secreções lacrimais para análise microbiológica. Para tal utilizou-se uma zaragatoa estéril da conjuntiva ocular sendo posteriormente enviada para o laboratório Medinfar-Sorológico onde foi realizada cultura do agente.

Não foi realizado teste de fluoresceína, que permitia confirmar a presença de úlcera da córnea e avaliar a sua integridade.

3.2.3 Resultado

Após recepção dos resultados por parte do laboratório Medinfar-Sorológico, verificou-se que se revelou positivo para a presença de *Moraxella bovis*, detectando-se ainda a presença de outra estirpe de *Moraxella sp.* não identificada.

3.2.4 Tratamento

À semelhança do caso clínico anterior, o animal foi separado do restante efectivo e colocado num local ao abrigo das radiações UV. Foi também administrada de forma subconjuntival uma injeção de penicilina (1ml), tendo sido repetido o tratamento após 48h. Neste caso, associou-se ainda um anti-inflamatório não-esteróide (AINE), de forma a diminuir a temperatura corporal e proporcionar um maior conforto ao animal. Este foi administrado de forma subcutânea, na dose de 2,2mg/kg de peso corporal.

3.3 Caso clínico 3

Em Fevereiro de 2018, foi atendido um bovino macho com 8 anos de idade, cruzado de Limousine, apresentando prostração, epífora, blefarite, fotofobia, blefaroespasmo e opacidade central da córnea. O proprietário detectou a presença de sinais clínicos há cerca de uma semana.

No exame físico realizou-se inspeção do olho, confirmando-se a ausência de corpo estranho, e ainda avaliação dos sinais vitais, os quais se encontravam dentro dos parâmetros normais (frequência cardíaca 70bpm/ frequência respiratória 28rpm/ temperatura 39°C).

3.3.1 Sinais clínicos

- Prostração;
- Epífora;
- Blefarite;
- Fotofobia;
- Blefaroespasmo;
- Edema da córnea.



Ilustração 6 Lesão central correspondente a edema da córnea. Fonte: Autor

3.3.2 Diagnósticos diferenciais

- Corpo estranho;
- Febre catarral maligna;
- Diarreia viral bovina (BVD);
- Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR);
- *Pasteurella multocida*;

→ *Mycoplasma bovis*;

→ *Chlamydia spp.*

De forma a confirmar a suspeita inicial e obter um diagnóstico definitivo, procedeu-se à recolha de uma amostra de secreções lacrimais para análise microbiológica. Esta foi realizada com recurso a uma zaragatoa estéril e posteriormente enviada para cultura e isolamento do microorganismo pelo laboratório Medinfar- Sorológico.

3.3.3 Resultado

O resultado obtido confirmou a suspeita inicial, tendo mostrado resultado positivo para o crescimento de *Moraxella bovis* e *Moraxella sp.*

3.3.4 Tratamento

Inicialmente o animal foi isolado do restante efectivo e colocado num local protegido da luz. O tratamento implementado consistiu na administração de duas doses subconjuntival de penicilina (1ml) com um intervalo de 48h entre cada injeção.

3.4 Caso clínico 4

Em Fevereiro de 2018, foi atendido um bovino macho com 4 anos de idade, cruzado de Limousine. A principal queixa reportada foi a forma cônica evidenciada pela córnea. O proprietário detectou a presença de sinais clínicos há cerca de uma semana.

No exame físico descartou-se a possibilidade de corpo estranho e avaliaram-se os sinais vitais, os quais se encontravam ligeiramente acima dos valores de referência (frequência cardíaca 75bpm/ frequência respiratória 34rpm/ temperatura 39,8°C).

3.4.1 Sinais clínicos

- Prostração;
- Epífora;
- Blefarite;
- Fotofobia;
- Blefaroespasmo;
- Edema da córnea;
- Neovascularização da córnea;
- Queratocone.

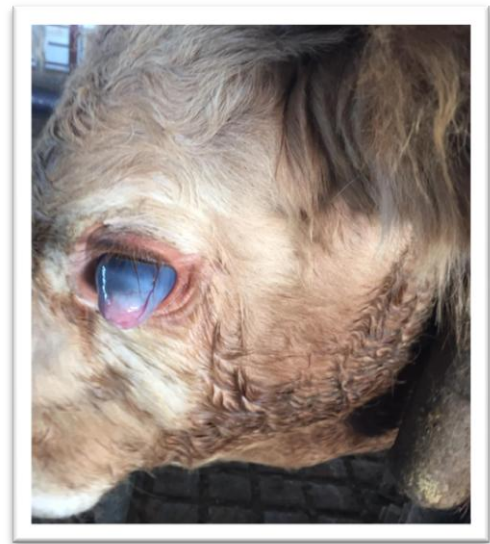


Ilustração 7 Queratocone com marcada neovascularização. Fonte: Autor

3.4.2 Diagnósticos diferenciais

- Corpo estranho;
- Febre catarral maligna;
- Diarreia viral bovina (BVD);
- Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR);

→ *Pasteurella multocida*;

→ *Mycoplasma bovis*;

→ *Chlamydia spp.*.

De forma a descartar os diagnósticos diferenciais acima referidos, procedeu-se à recolha de uma amostra de secreções lacrimais para análise microbiológica, com recurso a uma zaragatoa estéril, tendo sido posteriormente enviada para o laboratório Medinfar-Sorológico para cultura, isolamento e identificação do microorganismo.

3.4.3 Resultado

Após recepção do resultado confirmou-se a suspeita inicial, tendo este revelado um resultado positivo para o crescimento de cultura de *Moraxella bovis* e *Moraxella sp.*.

3.4.4 Tratamento

O tratamento implementado consistiu no isolamento do animal do restante efectivo, tendo ainda sido colocado num local ao abrigo da luz.

À semelhança dos restantes casos clínicos abordados, foram administradas duas doses subconjuntivais de penicilina (1ml) com um intervalo de 48h entre cada injeção e ainda a administração subcutânea de um anti-inflamatório não esteróide na dose de 2,2mg/kg de peso corporal, de forma a diminuir a temperatura corporal e proporcionar um maior conforto ao animal.

PARTE IV: Discussão

Dados epidemiológicos como sazonalidade, sexo, idade e factores predisponentes enquadram-se perfeitamente nos descritos na literatura. Angelos (2010a) refere que, de uma forma geral todos os bovinos podem ser afectados pela doença. Os animais neste estudo apresentam idade, sexo e raça diferentes. Postma *et al.* (2008), que refere esta doença como altamente contagiosa podendo afectar até 80% do rebanho, facto que também se verificou no efectivo em estudo.

Não foi possível identificar nenhum animal num estadio inicial da doença uma vez que, como já descrito por Angelos (2015), as lesões iniciais passam facilmente despercebidas. Posto isto, todos os animais já se encontravam em fases mais avançadas com lesões significativas. Apesar de todos os animais apresentarem lesões muito idênticas, existem ligeiras diferenças nos sinais clínicos manifestados, são elas a presença de pirexia, neovascularização da córnea e queratocone. Esta última, segundo Constable (2017) e Alexander (2010), ocorre em casos mais severos podendo rupturar e resultar em cegueira permanente.

Após análise microbiológica, a cultura foi caracterizada como mista, tendo sido identificada a presença de outras estirpes de *Moraxella sp.*, facto esse que vai de acordo com o descrito pelos autores Constable *et al.* (2017) e Angelos (2005), uma vez que caracterizam a QIB como uma doença multifactorial, podendo estar outros agentes implicados nesta patologia.

Um dos principais problemas encontrados no controlo da QIB deve-se ao facto de os produtores não concordarem com a realização de exames complementares, por representarem um custo acrescido à exploração. A realização de um correcto exame oftalmológico seria importante para uma melhor caracterização das lesões. O teste de fluoresceína teria permitido classificar o grau da lesão e comprovar a presença de úlceras da córnea. Por outro lado, teria sido conveniente a realização de testes de sensibilidade aos antibióticos, de forma a implementar o tratamento mais adequado, uma vez que a susceptibilidade pode variar consoante a zona geográfica ou até dentro de um mesmo surto (Costa *et al.*, 2008).

O tratamento implementado foi consistente com o descrito na literatura por Angelos (2015), considerando a penicilina o fármaco de eleição quando administrado por via

subconjuntival. A escolha desta via de administração teve em conta não só a capacidade de se atingir uma maior concentração a nível ocular e por períodos de tempo prolongados, mas também uma relação custo-efeito para o produtor, factor essencial quando falamos em clínica de espécies pecuárias. No entanto, esta via apresenta riscos associados à segurança do operador causando também mais dor ao animal. Não foi possível acompanhar pormenorizadamente a fase de recuperação dos animais em estudo, como tal não é possível confirmar o sucesso da terapêutica ou compará-lo com outros estudos já realizados.

Inicialmente, a recolha de amostras para posterior análise microbiológica tinha como finalidade não só a identificação do agente em causa, como também a formulação de uma vacina de rebanho. Esta iria actuar como uma medida de metafilaxia, ou seja, seria o tratamento a ser implementado para os animais já afectados e uma medida de profilaxia para os restantes. Este procedimento acabou por não se realizar devido aos custos inerentes. É importante referir que desta forma, não foi implementado nenhum método de profilaxia na exploração, para além do isolamento dos animais já afectados. Tratando-se de uma doença de carácter altamente contagioso e de um organismo ubiqüitário, as medidas profiláticas têm uma relevância redobrada.

PARTE V: Conclusão

A queratoconjuntivite infecciosa bovina é a doença ocular primária mais comum em bovinos apresentando altas taxas de morbidade, o que leva a enormes perdas económicas. O seu carácter multifactorial aliado à capacidade de rápida disseminação por todo o efectivo faz desta doença um desafio na prática clínica. É importante alertar os produtores para esta doença, sinais clínicos, formas de transmissão e implicações na produtividade do efectivo.

A complexidade inerente à patogenia desta doença é notória. Diversos estudos têm vindo a ser desenvolvidos ao longo dos anos com o objectivo de realizar novas descobertas que irão permitir compreender melhor os factores patogénicos envolvidos na QIB. Uma melhor caracterização dos factores de virulência possibilita o desenvolvimento de vacinas eficazes na prevenção desta patologia.

Sendo *M. bovis* um organismo ubiqüitário, a sua erradicação torna-se impossível, sendo fundamental implementar métodos de prevenção. Esta passa essencialmente pelo controlo de vectores, as moscas, uma vez que são a principal via de transmissão. De forma a limitar a exposição à doença, é importante manter os animais sob vigilância e isolar todos os animais que apresentem sinais compatíveis com QIB.

A confirmação do diagnóstico e identificação das estirpes em causa, através de análise microbiológica, torna-se imprescindível para implementação de um tratamento eficaz. É ainda de considerar a realização de testes de sensibilidade a antibióticos, uma vez que a sensibilidade varia consoante as estirpes envolvidas e a zona onde ocorre o surto. A caracterização do(s) agente(s) envolvido(s) possibilita também a formulação de vacinas de rebanho que funcionam como uma ferramenta de metafilaxia.

A falta de marcadores de virulência e a grande variedade de estirpes de *M. bovis* com diferenças antigénicas representam o maior obstáculo ao desenvolvimento de medidas profiláticas.

Referências bibliográficas

- Alexander, D. (2010). Infectious Bovine Keratoconjunctivitis: A Review of Cases in Clinical Practice. *Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice*, 26(3):487-503.
- Angelos, J.A., Dueger, E.L., George, L.W., Carrier, T.K., Mihalyi, J.E., Cosgrove, S.B. & Johnson, J.C. (2000). Efficacy of florfenicol for treatment of naturally occurring infectious bovine keratoconjunctivitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216:62-64.
- Angelos, J.A., Hess, E.J. & George L.W. (2001). Cloning and characterization of a *Moraxella bovis* cytotoxin gene. *AJVR* 8(62):1222-1228.
- Angelos, J.A. (2010a). *Moraxella bovoculi* and Infectious Bovine Keratoconjunctivitis: Cause or Coincidence?. *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*, 26(1), 73-78.
- Angelos, J.A. (2010b). *Moraxella*. Em Gyles, C.L., Prescott, J.F., Songer, G. & Thoen, C.O., Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals (4^a Ed., Vol.1, pp. 469-476). Ames, Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Angelos, J.A., Ball, L.M, Byrne, B.A. (2011). Minimum inhibitory concentration of selected antimicrobial agents for *Moraxella bovoculi* associated with infectious bovine keratoconjunctivitis. *J Vet Diagnostic Investigation*, 23(3):552-555.
- Angelos, J.A. (2015). Infectious Bovine Keratoconjunctivitis (Pinkeye). *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*, 31(1), 61-79.
- Attia, Y., Schmerold, I. & Hönel, A. (2013). The legal foundation of the production and use of herd-specific vaccines in Europe. *Vaccine*, 31(36):3651-3655.
- Beard, M.K. & Moore, L.J. (1994). Reproduction of bovine keratoconjunctivitis with a purified haemolytic and cytotoxic fraction of *Moraxella bovis*. *Veterinary Microbiology*, 42(1):15-33.

- Billson, F.M., Harbour, C., Michalski, W.P., Tennent, J.M., Egerton, J.R. & Hodgson, J.L. (2000). Characterization of hemolysin of *Moraxella bovis* using a hemolysis-neutralizing monoclonal antibody. *Infect Immun*, 68(6):3469-3474.
- Bowman, D.D. (2010). *Georgis Parasitologia Veterinária*. Rio de Janeiro, Brasil: Elsevier.
- Brown, M.H., Brightman, A.H., Fenwick, B.W. & Rider, M.A. (1998). Infectious Bovine Keratoconjunctivitis: A Review. *J Vet Intern Med*, 12:259-266.
- Carvalho, R. (2007). Vacinas autógenas. *Enquadramento Regulamentar das Vacinas Autógenas de Uso Veterinário e Caracterização da sua Utilização em Portugal*, 10-13. Lisboa, Portugal
- Chaves, N.S.T., Lima, A.M.V. & Amaral, A.V.C. (2008). Surto de Ceratoconjuntivite Infecciosa em Ovinos causada por *Moraxella* spp. no Estado de Goiás, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 1(9): 256-261.
- Conceição, F.R. & Turnes, C.G. (2003). *Moraxella bovis*: influência das características genotípicas e fenotípicas no controle da Ceratoconjuntivite Infecciosa Bovina. *Ciência Rural, Santa Maria*, 33(4):778-787.
- Conceição, F.R., Dellagostin, O.A., Paolicchi, F., Leturia, A.C. & Turnes, C.T. (2004). Molecular diversity of *Moraxella bovis* isolated from Brazil, Argentina and Uruguay over a period of three decades. *Vet J*, 167(1):53-8.
- Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H. & Grünberg, W. (2017). *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats* (11^a Ed., pp. 1650-1653). St Louis, Missouri: Elsevier.
- Costa, G.M., Martins, N.E., Fernandes, A.A., Silva, N., Salvarani, F.M., Assis, R.A. & Lobato, F.C.F. (2008). Descrição de um surto de ceratoconjuntivite infecciosa bovina em uma propriedade no sul de Minas Gerais, Brasil. *Ciênc Vet Tróp*, 11(1):25-29.
- Crispin, S. (2005). *Notes on Veterinary Ophthalmology* (Vol.1). Bristol, Reino Unido: Blackwell Publishing.
- Dyce, K.M., Sack, W.O. & Wensing, C.J.G. (1997). *Tratado de Anatomia Veterinária* (2^a Ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

- Dueger, E.L., George, L.W., Angelos, J.A., Tankersley, N.S., Luiz, K.M., Meyer, J.A., Portis, E.S. & Lucas, M. (2004). Efficacy of a long-acting formulation of ceftiofur crystalline-free acid for the treatment of naturally occurring infectious bovine keratoconjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research*, 65:1185-1188.
- Evans, H.E. (1993). Miller's anatomy of the dog (3rd Ed.). Philadelphia: Saunders.
- Farn, J.L., Strugnell, R.A., Hoyne, P.A., Michalski, W.P. & Tennent, J.M. (2001). Molecular characterization of a secreted enzyme with phospholipase B activity from *Moraxella bovis*. *Journal of Bacteriology*, 183(22):6717-6720.
- Gelatt, K.N., Gilger, B.C. & Kern, T.J. (2013). *Veterinary Ophthalmology* (5th Ed., Vol.1). Oxford, Reino Unido: Wiley-Blackwell.
- Gelatt, K.N., Gilger, B.C. & Kern, T.J. (2013). *Veterinary Ophthalmology* (5th Ed., Vol.2). Oxford, Reino Unido: Wiley-Blackwell.
- George, I., Mihalyi, J., Edmondson, A., Daigneault, J., Kagonyera, G., Willits, N. & Lucas, M. (1988). Topically applied furazolidone or parenterally administered oxytetracycline for the treatment of infections bovine keratonconjunctivitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 192:1415-1422.
- Gerhardt, R.R., Allen, J.W., Greene, W.H. & Smith, P.C. (1982). The role of face flies in an episode of infectious bovine keratoconjunctivitis. *J Am Vet Med Assoc*, 180(2):156-159.
- Getty, R. (1986). *Sisson/ Grossman Anatomia dos animais domésticos* (5th Ed., Vol.1). Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan.
- Gloobe, H. (1989). *Anatomía aplicada del bovino* (pp. 191-199). San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Gokce, H.I., Cital, M., Genc, O., Erdogan, H.M., Gunes, V. & Kankavi, O. (2002). A Comparison of the efficacy of florfenicol and oxytetracycline in the treatment of naturally occurring infectious bovine Keratoconjunctivitis. *Irish Vet J*, 55(11): 573-576.

- Jayappa, H.G. & Lehr, C. (1986). Pathogenicity and immunogenicity of piliated and nonpiliated phases of *Moraxella bovis* in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 47(10):2217-2221.
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2004). *Citologia Básica* (10ª Ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- König, H.E. & Liebich, H.G. (2011). *Anatomia dos Animais Domésticos, Texto e Atlas Colorido* (4ª Ed., pp. 591-611). Alegre: Artmed.
- Lane, V.M., George, L.W. & Cleaver, D.M. (2006). Efficacy of tulathromycin for treatment of cattle with acute ocular *Moraxella bovis* infections. *J Am Vet Med Assoc*, 229:557-61
- Maboni, G., Gressler, L.T., Espindola, J.P., Schwab, M., Tasca, C., Potter, L. & Vargas, A.C. (2015). Differences in the antimicrobial susceptibility profiles of *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi* and *Moraxella ovis*. *Braz J Microbiol*, 46(2):545-9.
- Marrs, C.F., Schoonilk, G., Koomey, J.M., Hardy, J., Rothbard, J. & Falkow, S. (1985). Cloning and sequencing of a *Moraxella bovis* pilin gene. *J Bacteriol*, 163(1):132-9.
- Mattick, J.S. & Whitchurch, C.B. (1996). The molecular genetics of type 4 fimbriae in *Pseudomonas aeruginosa*- a review. *Gene*, 179:q147-155.
- McConnel, C.S. & House, J.K. (2005). Infectious bovine keratoconjunctivitis vaccine development. *Aust Vet J*, 8(83):506-508.
- McConnel, C.S., Shum, L. & House, J.K. (2007a). Infectious bovine Keratoconjunctivitis antimicrobial therapy. *Aust Vet J*, 85(1-2):65-9.
- McConnel, C.S., Shum, L. & House, J.K. (2007b). Antimicrobial susceptibility of Australian bovine *Moraxella* isolates. *Aust Vet J*, 85(1-2):70-71.
- Miller, R.B. & Fales, W.H. (1984). Infectious bovine keratoconjunctivitis: an update. *The Veterinary clinics of North America. Large animal practice*, 6(3):597-608.
- Moore, L.J. & Lepper, A.W. (1991). A unified serotyping scheme for *Moraxella bovis*. *Veterinary Microbiology*, 29(1):75-83.

- O'Connor, A.M., Brace, S., Gould, S., Dewell, R. & Engelken, T. (2011). A randomized clinical trial evaluating a farm-of-origin autogenous *Moraxella bovis* vaccine to control infectious bovine keratoconjunctivis (pinkeye) in beef cattle. *J Vet Intern Med*, 25(6):1447-53.
- Paoli, P. (2005) Biobanking in microbiology: From sample collection to epidemiology, diagnosis and research. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(5):897-910.
- Postma, G.C., Carfagnini, J.C., & Minatel, L. (2008). *Moraxella bovis* pathogenicity: An update. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 31(6):449-58.
- Pugh, G.W. & McDonald, T.J. (1986). Identification of bovine carriers of *Moraxella bovis* by comparative cultural examinations of ocular and nasal secretions. *American Journal of Veterinary Research*, 47:2343-5.
- Punch, P.I., Costa, N.D., Chambers, E.D., Slatter, D.H. & Wilcox, G.E. (1985). Plasma and tear concentrations of antibiotics administered parenterally to cattle. *Res Vet Sci*, 39(2):179-87.
- Radostitis, O.M. (2007). Infectious Keratitis of Cattle. Em Radostitis, O.M., *Veterinary Medicine- A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats* (Vol.1, pp. 994-996). Philadelphia: Elsevier
- Rebhun, W.C. (1995). *Diseases of Dairy Cattle*. (pp.457-460). Ithaca, New York: A Lea & Febiger Book.
- Ruehl, W.W., Marrs, C., Fernandez, R., Falkow, S. & Schoolnik, G.K. (1988b). Purification, characterization, and pathogenicity of *Moraxella bovis* pili. *J Exp Med*, 168(3):983-1002.
- Ruehl, W.W., Marrs, C., George, L., Banks, S. & Schoolnik, G.K. (1993a). Infection rates, disease frequency, pilin gene rearrangement, and pilin expression in calves inoculated with *Moraxella bovis* pilin-specific isogenic variants. *Am J Vet Res*, 54(2):248-53.
- Ruehl, W.W., Marrs, C., Beard, M.K., Shokooki, V., Hinojoza, J.R., Banks, S. *et al.* (1993b). Q pilin enhance the attachment of *Moraxella bovis* to bovine corneas in vitro. *Mol Microbiol*, 7(2):285-8.

- Senturk, S., Cetin, C., Temizel, M. & Ozel, E. (2007). Evaluation of the clinical efficacy of subconjunctival injection of clindamycin in the treatment of naturally occurring infectious bovine Keratoconjunctivitis. *Veterinary Ophthalmology*, 10(3):186-189.
- Shen, H.G., Gould, S., Kinyon, J., Opriessnig, T. & O'Connor, A.M. (2011). Development and evaluation of a multiplex real-time PCR assay for the detection and differentiation of *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi* and *Moraxella ovis* in pure culture isolates and lacrimal swabs collected from conventionally raised cattle. *Journal of Applied Microbiology*, 111:1037-1043.
- Shryock, T.R., White, D.H. & Werner, C.S. (1998). Antimicrobial susceptibility of *Moraxella bovis*. *Vet Microbiol*, 61(4):305-9.
- Slatter, D.H. (2005). *Fundamentos de Oftalmologia Veterinária* (3ª Ed.). São Paulo: Roca.
- Snowder, G.D., Van Vleck, L.D., Cundiff, L.V. & Bennett, G.L. (2005). Genetic and environmental factors associated with incidence of infectious bovine Keratoconjunctivitis in preweaned beef calves. *J Anim Sci*, 83(3):507-18.
- Sosa, V., Umpiérrez, A., Acquistapace, S. & Zunino, P. (2015). Virulence genes in *Moraxella* spp. Isolates from infectious bovine keratoconjunctivitis cases. *J Infect Dev Ctries*, 9(9):1028-1032.
- Stokka, G.L., Davidson, H.J. & Van Boening, J. (Janeiro 2000). *K- State Research and Extension Bookstore*. Obtido de K-state Research and Extension: <http://www.bookstore.ksre.ksu.edu/pubs/mf2210.pdf>
- Turnes, G.C. (1983). Hemagglutination, autoagglutination and pathogenicity of *Moraxella bovis* strains. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 47:503-504.
- Turquieto, E., Chayer, R., Jorge, M.C. & Passucci, J. (2008). Queratoconjuntivitis bovina actualización y análisis de casos entre 2002 y 2006 en Argentina. Obtido de Albéitar Portal Veterinária: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3633/articulos-ruminantes-archivo/queratoconjuntivitis-bovina-actualizacion-y-analisis-de-casos-entre-2002-y-2006-en-argentina.html>.

- Webber, J.J., Fales, W.H. & Selby, L.A. (1982). Antimicrobial susceptibility of *Moraxella bovis* determined by agar disk diffusion and broth microdilution. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 21(4):554-7.
- Yu, R-H. & Schryvers. A.B. (2002). Bacterial lactoferrina receptors: insights from characterizing the *Moraxella bovis* receptors. *Biochemistry and Cell Biology*, 80(1):81-90.
- Zielinski, G. *et al.* (2000). Antibiotic sensitivity of an Argentine strain collection of *Moraxella bovis*. *Veterinary Therapy*, 1:199-204.