

RAFAELA ROTILIO BALISA MONTEIRO

**INSPEÇÃO SANITÁRIA DE PEQUENOS
RUMINANTES: REPROVAÇÃO POR
LINFADENITE CASEOSA - *Corynebacterium
pseudotuberculosis***

**Orientador: Professor Doutor Jacinto Gomes
Professora Doutora Sónia Ramos**

Coorientador: Professora Doutora Sónia Saraiva

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa

2021

RAFAELA ROTILIO BALISA MONTEIRO

**INSPEÇÃO SANITÁRIA DE PEQUENOS
RUMINANTES: REPROVAÇÃO POR
LINFADENITE CASEOSA - *Corynebacterium
pseudotuberculosis***

Dissertação defendida em provas públicas 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, perante o Despacho de Nomeação, n.º 346/2021 no dia 17 de Dezembro, com a seguinte composição de júri:

Presidente: Professora Doutora Sofia Van Harten

Arguente: Professora Doutora Antonieta Alvarado Muñoz

Orientador: Professora Doutora Sónia Ramos

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa

2021

Agradecimentos

À Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias e à Faculdade de Medicina Veterinária pelo excelente ensino ao longo destes anos de aprendizagem.

À Direção Geral de Alimentação e Veterinária, pela possibilidade de realização do estágio curricular.

Ao Matadouro e Salsicharia Petiz, LDA, por permitir a execução da componente prática deste trabalho nas suas instalações.

Ao Professor Doutor Jacinto Gomes por ter aceite ser meu orientador, pela disponibilidade, conselhos e por todo o apoio prestado ao longo da realização deste trabalho.

À Professora Doutora Sónia Ramos por ter aceite ser minha orientadora, ser uma excelente docente e ter despertado o meu interesse pela área de inspeção sanitária.

À Professora Doutora Sónia Saraiva por todo o apoio incondicional, aprendizagem, paciência e pelo tempo disponibilizado para me ajudar e ensinar, pela amizade e força.

A toda a equipa da Divisão de Alimentação e Veterinária do Porto, por terem-me recebido tão bem e estarem sempre disponíveis para ajudar e ensinar.

À Doutora Madalena Matos por toda aprendizagem, paciência, dedicação e amizade.

Às minhas colegas de casa e amigos Ana Luís, Bélia Muchanga, Cláudia Velho, Felícia Vieira, Hugo Baptista e João Vieira.

Aos meus colegas de faculdade Margarida Martins, Sandy Alegria, Marta, Ana Pestana, Patrícia Roças, Laura Melo, Fátima Ramos, Manuel Salavessa, Jéssica Rodrigues, Joana Pacheco, Ana Rita, Ana Margarida e Joana Santos.

Aos meus Pais que fizeram um esforço e sempre me deram todo o apoio e estrutura para que isto fosse possível.

À minha família por toda a força e apoio.

Ao Pedro por todo o apoio, carinho e amor.

A todos, o meu sincero Obrigado!

Resumo

A inspeção sanitária é das funções mais importantes exercidas pelo Médico Veterinário Oficial para garantir a segurança alimentar, a proteção da saúde Humana e animal, contribuindo assim para uma melhor saúde pública.

A linfadenite caseosa é uma doença zoonótica, causada pelo agente *Corynebacterium pseudotuberculosis*, com uma distribuição mundial, é responsável por grandes perdas económicas na produção de pequenos ruminantes.

Com a realização deste trabalho pretendeu-se determinar a importância dos atos de inspeção *post mortem* na deteção de linfadenite caseosa em pequenos ruminantes, em matadouro. Para tal, foram acompanhados os controlos de inspeção sanitária realizados pelos Médicos Veterinários Oficiais no desempenho das suas funções, no período compreendido entre 06 de outubro de 2020 e 31 de janeiro de 2021.

Durante os controlos de inspeção sanitária *post mortem*, foram detetados dois ovinos, provenientes da mesma exploração, com lesões compatíveis com linfadenite caseosa, identificadas nos linfonodos pré-escapular e ilíaco médio. Estes foram colhidos para análise histopatológica, que identificou que as amostras foram compatíveis com linfadenite necrosante e linfadenite caseosa, respetivamente.

Adicionalmente, através da análise do histórico de abate de animais provenientes da mesma exploração, procurámos determinar se este seria um novo foco, dos 98 animais, provenientes desta exploração abatidos entre 2016 e 2019, nenhum havia sido reprovado por linfadenite caseosa, anteriormente.

Este estudo permitiu reconhecer a importância dos controlos de inspeção sanitária *post mortem* na deteção de focos de linfadenite caseosa, avaliar a sua importância na deteção precoce da doença e na identificação de novos focos de modo a mitigar o impacto da doença na produção nacional. De forma a avaliar a importância desta doença em Portugal, estudos para determinar o impacto económico, a incidência e a prevalência da doença deverão ser conduzidos posteriormente.

Palavras-chave: Inspeção sanitária, Linfadenite caseosa, Matadouro, Médico Veterinário Oficial.

Abstract

Meat inspection is one of the most important functions carried out by the Official Veterinarian in order to control food safety, human and animal health protection, thus contributing to improve public health.

Caseous lymphadenitis is a zoonotic disease caused by the agent *Corynebacterium pseudotuberculosis*, which is a Gram-positive bacterium. With a worldwide distribution, it is responsible for large economic losses in the of small ruminant production.

This study aimed to determine the importance of *post mortem* inspections in the detection of caseous lymphadenitis in small ruminants in a slaughterhouse. To this end, Official Veterinarian were accompanied in their duties, in the period between October 6, 2020 and January 31, 2021.

During the *post mortem* sanitary inspection controls, two sheep were detected, from the same holding, with lesions compatible of caeous lymphadenitis, identified in the pre-scapular and middle iliac lymph nodes. These were collected for histopathological analysis, which identified that the samples were compatible with necrotizing lymphadenitis and caseous lymphadenitis, respectively. Additionally, by analyzing the slaughter history of animals from the same farm, we sought to determine whether this would be a new focus of the 98 animals from this farm slaughtered between 2016 and 2019, none had been rejected due to caseous lymphadenitis.

This study allowed us to recognize the importance of *post mortem* sanitary inspection controls in the detection of caseous lymphadenitis outbreaks, to assess their importance in the early detection of the disease and the identification of new outbreaks in order to mitigate the impact of the disease in national production. In order to assess the importance of this disease in Portugal, studies to determine the economic impact, incidence and prevalence of the disease should be carried out later.

Keywords: Meat inspection, Caseous lymphadenitis, Slaughterhouse, Official Veterinarian.

Résumé

L'inspection sanitaire est l'une des fonctions les plus importantes exercées par le médecin vétérinaire officiel afin de contrôler la sécurité alimentaire, la protection des consommateurs et la protection des animaux, contribuant ainsi à une meilleure santé publique.

La lymphadénite caséuse est une zoonose causée par l'agent *Corynebacterium pseudotuberculosis*, qui est une bactérie à Gram positif. Avec une distribution mondiale, il est responsable d'importantes pertes économiques dans l'industrie des petits ruminants. Cette étude visait à déterminer l'importance des inspections *post mortem* dans la détection des lymphadénites caséuses chez les petits ruminants en abattoir. A cet effet, les contrôles sanitaires effectués par les Médecins Vétérinaires Officiels dans l'exercice de leurs fonctions, dans la période comprise entre le 6 octobre 2020 et le 31 janvier 2021.

Lors des contrôles d'inspection sanitaire *post mortem*, deux moutons ont été détectés, provenant de la même exploitation, avec des lésions compatibles avec une lymphadénite caséuse, identifiées dans les ganglions lymphatiques pré-scapulaires et iliaques moyens. Ceux-ci ont été collectés pour une analyse histopathologique, qui a permis d'identifier que les échantillons étaient compatibles avec une lymphadénite nécrosante et une lymphadénite caséuse, respectivement. De plus, en analysant l'historique d'abattage des animaux d'une même ferme, nous avons cherché à déterminer s'il s'agirait d'un nouvel objectif. Après analyse de l'historique d'abattage des animaux de l'élevage focus, sur les 98 animaux de cet élevage abattus entre 2016 et 2019, aucun n'avait échoué pour lymphadénite caséuse.

Cette étude nous a permis de reconnaître l'importance des contrôles d'inspection sanitaire post-mortem dans la détection des foyers de lymphadénite caséuse, d'évaluer leur importance dans la détection précoce de la lymphadénite caséuse et dans l'identification de nouveaux foyers afin d'atténuer l'impact de la maladie sur la production nationale. Afin d'évaluer l'importance de cette maladie au Portugal, des études visant à déterminer l'impact économique, l'incidence et la prévalence de la maladie devraient être menées ultérieurement.

Mots-clés: Inspection sanitaire, Lymphadénite caséuse, Abattoir, Vétérinaire officiel.

Lista de abreviaturas

BEA: Bem-estar Animal

CAMP: Christie-Atkins-Munch-Peterson

Cº: Graus Celsius

DAV: Divisão de Alimentação e Veterinária

DGAV: Direção Geral de Alimentação e Veterinária

DSAVRN: Direção de Serviços de Alimentação e Veterinária da Região Norte

EET: Encefalia Espongiforme Transmissível

EFSA: Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar

ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay

E.U.A.: Estados Unidos da América

HACCP: Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos, do inglês “*Hazard Analysis and Critical Control Points*”

IRCA: Informação Relativa à Cadeia Alimentar

IS: Inspeção Sanitária

ISAM: Inspeção Sanitária *ante mortem*

ISPM: Inspeção Sanitária *post mortem*

LC: Linfadenite Caseosa

MVO: Médico Veterinário Oficial

OIE: Organização Mundial de Saúde Animal, do inglês “*World Organisation for Animal Health*”

PACE: Plano de Aprovação e Controlo de Estabelecimentos

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês “*Polimerase Chain Reaction*”

PIGA: Plano de Inspeção de Géneros Alimentícios

PNCUM: Plano Nacional de Controlo de Utilização de Medicamentos

PNPR: Plano Nacional de Pesquisa de Resíduos

PR: Pequenos Ruminantes

PT: Portugal

PVGA: Plano de Vigilância de Gripe Aviária

SIPACE: Sistema de Informação do Plano de Aprovação e Controlo de Estabelecimentos

SNIRA: Sistema Nacional de Informação e Registo Animal

UE: União Europeia

Índice Geral

Índice de tabelas	8
Índice de figuras	9
Índice de gráficos.....	10
Descrição das atividades de estágio.....	11
1. Introdução	16
1.1. Controlos oficiais.....	17
1.2. O papel do MVO na identificação de patologias em matadouro.....	18
2. Linfadenite Caseosa.....	19
2.1. Breve história.....	19
2.2. Etiologia.....	20
2.3. Epidemiologia.....	21
2.4. Patogenia	22
2.5. Quadro clínico e lesional	23
2.6. Diagnóstico	24
2.7. Tratamento	25
2.8. Controlo e prevenção	26
2.9. Infecção por <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> em Pequenos Ruminantes....	27
2.10. Infecção por <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> noutras espécies	29
2.11. Implicações em saúde pública	31
2.12. Linfadenite Caseosa em Portugal	32
3. Materiais e Métodos	33
3.1. Amostragem.....	33
3.2. Colheita de amostras.....	34
3.3. Análise Histopatológica.....	35
4. Resultados.....	36
4.1. Casos de Linfadenite Caseosa identificados no matadouro.....	36
4.2. Resultados de Análise anatomopatológica	37
5. Discussão	40
6. Conclusão	46
ANEXOS	I
I – Fluxograma de abate de pequenos ruminantes.....	I
II – Linha de Bovinos	II
III – Relatórios de Histopatologia	VII

Índice de tabelas

Tabela 1. Número total de animais abatidos e inspecionados durante o período de estágio. Representação da frequência relativa (%) de abates por espécie.....	12
Tabela 2. Causas de rejeição totais por espécie	13
Tabela 3. Número e percentagem de animais reprovados na totalidade, por causa de reprovação e por categoria de suínos, leitões e animais adultos.....	15

Índice de figuras

Figura 1. Suíno, Artrite purulenta.....	14
Figura 2. Leitão, Pele aspeto repugnante.....	14
Figura 3. Suíno, Osteomielite.....	14
Figura 4 Mapa de Portugal com a localização da exploração em estudo (Tondela).....	34
Figura 5. Amostra PR1 - lesão caseosa no linfonodo pré-escapular de ovino.....	35
Figura 6. Amostra PR2 - lesão caseocalcária no linfonodo ilíaco médio de ovino.....	35
Figura 7. Corte histológico de um linfonodo pré-escapular (Amostra PR1) onde se observa linfadenite caseosa em ovino (100x ampliação).....	39
Figura 8. Corte histológico de um linfonodo ilíaco médio (Amostra PR2) onde se observa linfadenite caseosa em ovino (100x ampliação).....	39

Índice de gráficos

Gráfico 1. Frequência relativa (%) das causas de rejeição no total de 33 suínos reprovados.....	14
Gráfico 2. Histórico de rejeições totais da espécie ovina no mês de Novembro de 2020 no matadouro Uniagri II.....	36
Gráfico 3. Histórico de rejeições totais da exploração identificada entre os anos de 2016 e 2019.....	37

Descrição das atividades de estágio

As atividades práticas que serviram de base à realização da presente dissertação de mestrado, decorreram de 6 de Outubro de 2020 a 31 de Janeiro de 2021, em matadouros localizados na área da Divisão de Alimentação e Veterinária (DAV) do Porto, da Direção de Serviços de Alimentação e Veterinária da Região do Norte (DSAVRN). Foram acompanhados os controlos oficiais realizados pelos Médicos Veterinários Oficiais (MVO) em dois matadouros de ungulados domésticos, designadamente o Matadouro e Salsicharia Petiz, e o Matadouro Uniagri II e num matadouro de aves da região de Vale de Cambra - Matadouro Soares e Santos, Lda. Durante o período de estágio na DAV do Porto foi possível acompanhar as tarefas técnicas diárias e participar nos procedimentos administrativos que o MVO tem a seu cargo nomeadamente, a recolha e o registo de dados no Sistema de Informação do Plano de Aprovação e Controlo de Estabelecimentos (SIPACE), que reúne, entre outras, as informações referentes aos animais abatidos em Portugal.

Foi ainda possível acompanhar a execução dos planos nacionais de controlo oficiais, entre eles a colheita de amostras no âmbito do Plano de Vigilância de Gripe Aviária (PVGA), do Plano Nacional de Pesquisa de Resíduos (PNPR) e do Plano de Inspeção de Géneros Alimentícios (PIGA), assim como, o acompanhamento dos MVO na execução do Plano Nacional de Controlo de Utilização de Medicamentos (PNCUM) e do Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos (PACE).

O estágio consistiu no acompanhamento das tarefas de inspeção sanitária (IS) maioritariamente em matadouros de ungulados domésticos (ovinos, caprinos, bovinos e suínos), mas também, num matadouro de aves da área geográfica da DAV do Porto. Nestes foi possível acompanhar, exercer e cooperar em várias funções do MVO, tais como, na verificação da informação relativa à cadeia alimentar (IRCA), na inspeção sanitária *ante mortem* (ISAM), no controlo do bem-estar animal (BEA), na inspeção sanitária *post mortem* (ISPM), no controlo das matérias de risco especificadas (MRE) e de outros subprodutos animais e no controlo dos testes laboratoriais para detetar doenças animais e de agentes zoonótico. Acompanhou-se também o MVO nas tarefas de verificação dos procedimentos de segurança de géneros alimentícios baseados nos princípios do sistema de Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos (HACCP), sobretudo na aplicação das boas práticas em matéria de segurança e higiene alimentar.

Este estágio teve como objetivos a aplicação e a consolidação dos conhecimentos já adquiridos no Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, nomeadamente na unidade curricular de IS, a aquisição de novos conhecimentos nesta área e o acompanhamento nas diversas vertentes das tarefas do MVO. Pretendeu-se ainda desenvolver um estudo em pequenos ruminantes (PR) sobre a linfadenite caseosa (LC) de forma a determinar a importância da deteção de lesões de linfadenite por *C. pseudotuberculosis* em PR, para tal, foram colhidas amostras compatíveis com LC em matadouro, através do acompanhamento das causas de reprovação total e parcial em matadouro, acompanhando assim todas as fases do processo de abate dos pequenos ruminantes (Anexo I). Foi também possível acompanhar as principais fases da cadeia de abate de bovinos do matadouro Petiz (Anexo II). Esta linha de abate encontra-se separada fisicamente da linha de abate de suínos.

Durante o período de estágio foram acompanhadas todas as atividades do MVO que tem as suas funções definidas em diversos normativos legais, nacionais e comunitários tal como estipulado no Regulamento (UE) n.º 2017/625, do Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia, da Comissão de 15 de março de 2017, relativo aos controlos oficiais onde constam as disposições práticas e uniformes para a realização dos controlos oficiais. Tarefas de inspeção propriamente ditas, boas práticas de higiene e segurança sanitária dos géneros alimentícios, tarefas de auditoria e controlos de bem-estar animal são algumas das tarefas em que o MVO participa e é responsável, tendo como objetivo garantir a proteção do consumidor, garantir a produção higiénica de géneros alimentícios de origem animal e proteger a saúde humana e animal.

Durante o período de estágio, foram inspecionados no total 13380 animais de diferentes espécies, contabilizando 611 bovinos, 123 ovinos/caprinos e 12646 suínos (Tabela 1).

Tabela 1. Número total de animais abatidos e inspecionados durante o período de estágio. Representação da frequência relativa (%) de abates por espécie.

Espécie	Nº de animais abatidos	Frequência relavita de abates
Ovinos/caprinos	123	0,92%
Bovinos	611	4,57%
Suínos	12646	94,51%
Total	13380	100%

Na realização da inspeção *ante mortem* o MVO deverá efetuar primeiramente todo o controlo documental dos animais destinados ao abate, seguindo-se o controlo de identidade, a avaliação do BEA no transporte e o exame em vida realizado na abegoaria.

Ao executar o exame em vida deverá ser verificado se a saúde do animal não estará comprometida, atendendo à deteção ou suspeita de qualquer doença constante da lista da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, do inglês, “World Organisation for Animal Health”) que possam afetar a saúde animal ou a saúde humana, ao respeito pelas normas de BEA, ou de suspeitas de utilização incorreta de medicamentos veterinários ou de substâncias não autorizadas ou proibidas que possam conduzir à rejeição da carne para consumo humano (Regulamento de Execução (UE) n.º 2019/627, Artigo 11.º).

Dos 13380 animais abatidos e inspecionados durante o período de estágio, resultaram um total de 33 reprovações totais (0,26%), Todos os animais reprovados para consumo Humano pertenciam à espécie suína (Tabela 2).

Tabela 2. Percentagem de rejeições totais por espécie animal abatida.

Espécie	Nº de animais abatidos	Carcças rejeitadas	% Rejeições por espécie abatida
Ovinos/caprinos	123	0	0,00%
Bovinos	611	0	0,00%
Suínos	12646	33	0,26%
Total	13380	33	0,26%

Como se pode observar por análise do gráfico 1, a peritonite fibrinopurulenta foi a causa de reprovação mais frequente, contabilizando um total de 31% (n=10), seguindo-se a osteíte purulenta com 15% (n=5), os animais mortos no transporte e mortos na abegoaria com 12% (n=4), a artrite purulenta (Figura 1) com 9% (n=3) e a rejeição por carnes repugnantes (Figura 2) com 6% (n=2) das rejeições. Foram observadas taxas de reprovação total mais baixas com 3% (n=1), para osteomielite (Figura 3), peritonite difusa aguda ou extensiva, abscessos múltiplos, poliartrite e as alterações gerais – caquexia e hidroémia (Gráfico 1).

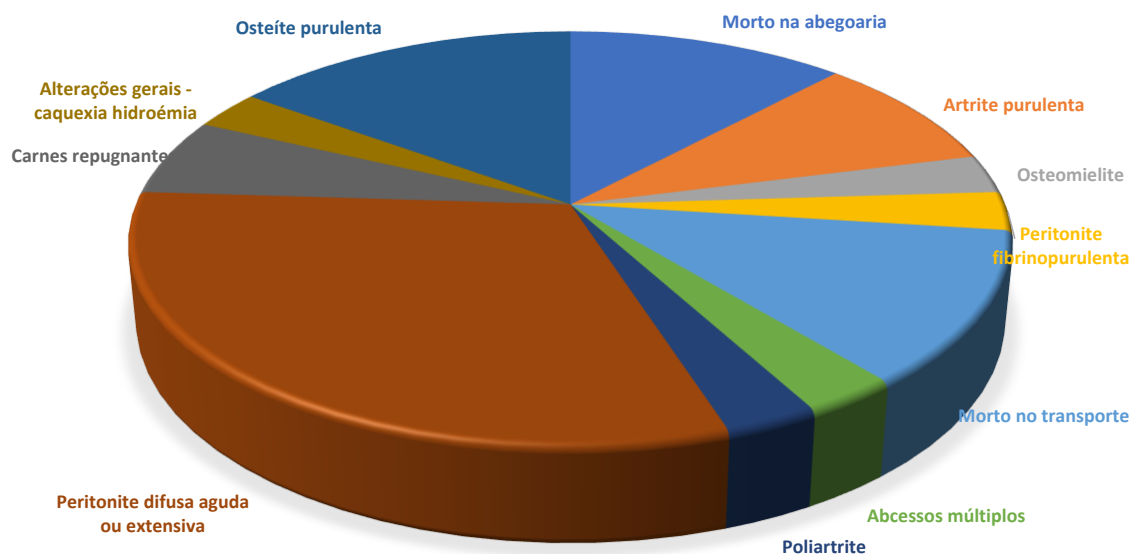


Gráfico 1. Frequência relativa (%) das causas de rejeição no total de 33 suínos reprovados.



Figura 1. Suíno, Artrite purulenta.
Fonte: original da autora.



Figura 2. Leitão, Pele aspeto repugnante.
Fonte: original da autora.



Figura 3. Suíno, Osteomielite.
Fonte: original da autora.

Dos 33 suínos reprovados, 17 eram classificados como leitões (animais até aos 2 meses) e 16 eram classificados como suínos adultos, que inclui animais entre os 2 e os 6 meses e as porcas reprodutoras.

Na tabela 3 encontra-se representado o número e percentagem de animais reprovados na totalidade, por causa de reprovação e por categoria de suínos adultos e leitões. Sendo que nos animais mais jovens a causa de reprovação mais observada foi a peritonite purulenta (47,06%, n=8), enquanto nos animais adultos foi a osteíte purulenta (31,25%, n=5)

Tabela 3. Número e percentagem de animais reprovados na totalidade, por causa de reprovação e por categoria de suínos adultos e leitões.

Rejeições totais	Leitões	Suínos	Total (causa)
Peritonite Fibrinopurulenta	8 (47,06%)	2 (12,50%)	10 (30,30%)
Osteíte Purulenta	0	5 (31,25%)	5 (15,15%)
Morto na Abegoaria	4 (23,53%)	0	4 (12,12%)
Morto no Transporte	1 (5,88%)	3 (18,75%)	4 (12,12%)
Artrite Purulenta	1 (5,88%)	2 (12,50%)	3 (9,09%)
Carnes Repugnantes	1 (5,88%)	1 (6,25%)	2 (6,06%)
Alterações Gerais - Caquexia, Hidroémia	1 (5,88%)	0	1 (3,03%)
Osteomielite	0	1 (6,25%)	1 (3,03%)
Peritonite Difusa Aguda ou Extensiva	1 (5,88%)	0	1 (3,03%)
Abcessos Múltiplos	0	1 (6,25%)	1 (3,03%)
Poliartrite	0	1	1 (3,03%)
Total	17	16	33 (100%)

Com este estágio foi-me possível aplicar, desenvolver e consolidar os conhecimentos teóricos e práticos adquiridos ao longo de todo o percurso académico.

1. Introdução

O controlo oficial de carnes é uma das funções do MVO, que está integrada num conjunto de tarefas e procedimentos por forma a garantir a segurança e a qualidade da produção de alimentos. As Unidades de Abate são um dos locais críticos onde a IS assume um papel fundamental, e em que o controlo documental, a ISAM e a ISPM, são os diferentes tipos de controlos que os MVO executam no local. Os MVO contribuem para a execução dos planos plurianuais estabelecidos pela Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) entre eles, a colheita de amostras no âmbito do PVGA, do PNPR e do PIGA, assim como, o acompanhamento dos MVO na execução do PNCUM e do PACE.

A inspeção sanitária em matadouro é de grande importância pois permite, identificar e prevenir eventuais perigos para a saúde pública. As lesões identificadas podem ser causadas por agentes zoonóticos que podem ser transmitidos pela carne. Mais, com inspeção sanitária em matadouro podem ainda ser detetadas novas doenças animais (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar [EFSA], 2013).

Disseminada pelo mundo, a LC causada pelo agente *C. pseudotuberculosis* é uma doença crónica contagiosa maioritariamente associada aos PR (ovinos, caprinos e camelídeos). Com uma elevada importância económica na maioria dos países com explorações de pequenos ruminantes (Al-Gaabary *et al.*, 2010), esta é uma doença com elevado impacto na produção de PR, está associada a diminuição na produção de leite e carne, a redução da qualidade da lã e da pele, enquanto nos equinos está associada a diminuição da capacidade de treino, performance ou exercício, podendo levar à morte de animais após disseminação sistémica do microrganismo (Motta *et al.*, 2010). Caracterizando-se pelo desenvolvimento de lesões piogranulomatosas que têm como apresentação característica a sua deposição em camadas, em forma de anel de cebola (Osman *et al.*, 2018), facilmente identificáveis em matadouro.

A doença clínica encontra-se bem documentada em ovinos e caprinos (Vathsala, 2006) e, ocasionalmente em equinos, no entanto são raros os casos em bovinos (Steerforth & Marutsov, 2017). Mais recentemente foi descrita em suínos, em Portugal (Oliveira *et al.*, 2014). A infeção por *C. pseudotuberculosis* é rara em humanos, sendo que os casos relatados referem uma exposição ocupacional (Ribeiro *et al.*, 2001). Foi ainda relatado

um caso em humano, diagnosticado em 1988, que envolveu a injeção de carne crua de caprino e leite de bovino (Peel *et al.*, 1997).

A realização deste trabalho teve como principal objetivo a aplicação e a consolidação dos conhecimentos já adquiridos no Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, nomeadamente na unidade curricular de IS e o acompanhamento nas diversas vertentes das tarefas do MVO.

Conhecendo o impacto que poderá ter a LC na produção de PR em Portugal, foi ainda objetivo deste trabalho efetuar uma extensa pesquisa bibliográfica sobre o tema e aferir como os procedimentos de ISPM poderão ser relevantes na deteção precoce em matadouro desta patologia.

1.1. Controlos oficiais

A proteção da saúde e a defesa dos interesses dos consumidores têm de ser asseguradas através de meios eficazes, devendo os controlos oficiais obedecer a um conjunto de regras específicas. O MVO tem um papel preponderante na execução dos controlos oficiais, desenvolvendo tarefas de inspeção, auditoria e também de supervisão na marcação de salubridade e das marcas utilizadas (Regulamento de Execução (UE) n.º 2019/627, Artigo 1.º). Dentro das tarefas de inspeção fazem parte a verificação da IRCA e do controlo documental, a inspeção *ante mortem*, controlo do BEA, a inspeção *post mortem*, o controlo das matérias de risco especificadas e outros subprodutos animais e os testes laboratoriais. O MVO deve comunicar ao operador da empresa do setor alimentar sempre que detete que houve comprometimento do BEA, ou detete qualquer doença ou fator que possa afetar a saúde animal e saúde Humana. Os resultados dos testes e das inspeções devem ser comunicados à autoridade competente pelo MVO e registados nas respetivas bases de dados, SIPACE.

Estando envolvidos em tarefas de auditoria e na verificação das boas práticas de higiene nos estabelecimentos, o MVO, relativamente às tarefas de inspeção, quando necessário deve orientar as inspeções em conformidade e fundamentar-se nos resultados das auditorias efetuadas (Regulamento de Execução (UE) n.º 2019/627, Artigo 8.º). O risco estimado em cada estabelecimento vai determinar a natureza e a frequência das tarefas de auditoria. A autoridade competente, ao efetuar as auditorias no sentido de

garantir a segurança dos géneros alimentícios, pode ter em conta medidas adicionais adotadas pelo operador através da implementação de certificação por terceiros, sistemas integrados, sistemas de controlo, assim como, baseados no sistema HACCP (Regulamento de Execução (UE) n.º 2019/627, Artigo 4.º).

O MVO deverá ainda comunicar os resultados dos controlos efetuados. Deve comunicar ao operador da empresa do setor alimentar responsável pela exploração e ao veterinário da exploração sempre que seja identificado no matadouro algum problema que tenha origem ou impacto na produção primária, e se necessário deverá ser comunicado à autoridade competente responsável pela supervisão da exploração de origem dos animais (Regulamento de Execução (UE) n.º 2019/627, Artigo 39.º).

1.2. O papel do MVO na identificação de patologias em matadouro

O MVO tem um papel chave na identificação de lesões em matadouro, sendo que frequentemente os produtores têm conhecimento de processos infecciosos, de comprometimento do BEA, entre outros, através da comunicação dos resultados da IS (Regulamento de Execução (UE) n.º 2019/627, Artigo 39.º).

A IRCA é o documento que contem as informações dos animais que estão destinados ao abate, e que constam nos registos das explorações de proveniência bem como quaisquer declarações feitas pelos veterinários assistentes da exploração. O MVO deve após verificação da documentação de acompanhamento dos animais realizar a sua inspeção *ante mortem* (Regulamento de Execução (UE) n.º 2019/627, Artigo 3.º). Os animais somente podem ser abatidos no matadouro após a receção e análise da IRCA, no entanto o abate dos animais poderá ser autorizado na ausência da IRCA, desde que esta esteja disponível antes das carcaças serem aprovadas para o consumo. Estas carcaças devem ser armazenadas separadamente das outras carnes, e se, dentro de 24 h desde a receção dos animais no matadouro, a IRCA não estiver disponível, toda a carne será declarada imprópria para o consumo humano. De acordo com a Autoridade Europeia para a segurança Alimentar (EFSA, do inglês “*European Food Safety Authority*”) a IRCA pode ser usada para a categorização de risco de explorações ou lotes de animais e servir como uma ferramenta valiosa para decisões de gestão de risco. Os dados constantes na IRCA não abordam riscos específicos de importância para a saúde pública, apresentando

dados muito gerais para fins de segurança alimentar, sendo o seu uso limitado para pequenos ruminantes (EFSA, 2013). A classificação da exploração de PR com base no risco representado pelos principais perigos identificados, é considerada um elemento chave de qualquer sistema integrado de garantia de segurança da carne, baseando-se para isso no uso de registos da exploração, do seu histórico e nas informações específicas do lote (EFSA, 2013).

A deteção de lesões observáveis através da ISAM e ISPM, podem fornecer uma avaliação geral da saúde dos animais e do rebanho (EFSA, 2013). Na ISPM, realizada imediatamente após o abate, deve ser feita uma inspeção visual da carcaça e das respetivas vísceras com fim a detetar lesões de natureza inflamatória, tumoral ou parasitária, edemas, anomalias de desenvolvimento muscular ou de textura, cor ou cheiros anormais, hemorragias, ectasia de vasos sanguíneos, cicatrizes e eficiência da sangria, e sempre que for necessário deverá realizar-se palpação e incisão de partes da carcaça ou exames e testes suplementares (Regulamento de Execução (UE) n.º 2019/627, Artigo 14.º). A inspeção da carne é de extrema importância na verificação de lesões, por vezes com implicações em saúde pública, pois tais lesões podem ser causadas por agentes zoonóticos que podem ser transmitidos pela carne (Didkowska *et al.*, 2020).

O exame de linfonodos também desempenha um papel importante, no caso da linfadenite de PR, causada principalmente por bactérias piogénicas, pode refletir uma infeção mais disseminada (Baird & Fontaine, 2007). No entanto, como os procedimentos da ISPM incluem a palpação e a incisão de alguns órgãos, pode existir o risco de contaminação cruzada entre carcaças (EFSA, 2013).

2. Linfadenite Caseosa

2.1. Breve história

Em 1888, foi isolado um organismo até então desconhecido a partir de uma linfadenite num bovino, pelo bacteriologista Edward Nocard (Nocard, 1896). Após 3 anos, um agente semelhante foi detetado em culturas de um abscesso renal de uma ovelha (Preisz & Guinard, 1891). Devido a estas descobertas o bacilo, então isolado, ficou

conhecido durante décadas como “Preisz-Nocard”. No entanto, devido à suposta semelhança clínica das lesões causadas por este agente, com os nódulos caseosos provocados pelas micobactérias da tuberculose foi renomeado no final do século XIX por Lehmann & Neumann (1896) de *Bacillus pseudotuberculosis* em derivação do grego “*pseudes tuberculose*” ou de “falsa tuberculose” passando a referir-se aos nódulos caseosos como de *Mycobacterium tuberculosis* (Umer *et al.*, 2017).

A 1.^a edição do Manual de Bacteriologia Determinativa de Bergey, publicado em 1923, refere estudos que demonstram que o agente infeccioso *Bacillus pseudotuberculosis* era semelhante ao *Corynebacterium diphtheriae*, a nível da composição da sua parede celular e morfologia, conduzindo assim a uma nova alteração de nome para *Corynebacterium ovis*. Em 1948, a designação voltou a ser alterada de *ovis* para *pseudotuberculosis*, não obstante o facto de vários autores continuarem a referir-se aos organismos de *C. ovis* até à década de 1980 (Euzeby, 2005).

Corynebacterium pseudotuberculosis, foi um tópico importante de investigação dado o seu potencial zoonótico, com alguns biovars toxigénicos produzindo toxinas potencialmente letais em seres humanos (Lopez *et al.*, 1966; Peel, 1997).

2.2. Etiologia

O género *Corynebacterium* pertence à família das bactérias *Actinomycetaceae* (Clarridge & Spiegel, 1995) e inclui outros agentes patogénicos dos animais tais como *Mycobacterium* spp., *Nocardia* spp., *Arcanobacterium pyogenes* e *Rhodococcus equi* (Quinn *et al.*, 1994).

C. pseudotuberculosis possui muitas características clássicas do seu género (Collins & Cummins, 1986) e apresenta várias semelhanças com estes agentes, tal como, a composição da parede celular: espessura e a presença de ácidos micólicos, de ácidos gordos saturados e insaturados (Belchior *et al.*, 2006; Motta *et al.*, 2010). Estas, são bactérias com formas pleomórficas desde cocos a bacilos filamentosos, não produzem esporos, são imóveis, intracelulares facultativas e Gram-positivas (Paton *et al.*, 2003). Têm dimensões entre 0,5-0,6 µm por 1,0-3,0 µm, e encontram-se isolados ou irregularmente agrupados, devido à grande quantidade de lípidos na sua parede celular, particularmente o ácido corinomicólico (Costa, 2002).

São microrganismos catalase e urease positivos, com capacidade de fermentar carboidratos (maltose, manose, glicose), não fermentam a lactose e não produzem gás (Costa, 2002). São bactérias microaerófilas (5% de CO₂), mas toleram condições de aerofilia em cultura, crescendo bem a 37 C° e pH de 7-7,2 (McKean *et al.*, 2007; Selim, 2001). Em esfregaços, as bactérias frequentemente agrupam-se de forma característica descrita como “letras chinesas” (Biard & Fontaine, 2007).

C. pseudotuberculosis mantém-se viável 55 dias em objetos inanimados contaminados por pús, ou até 8 meses numa ampla variação das condições de temperatura e humidade (Costa, 2002). Existem poucos dados publicados sobre a resistência de *C. pseudotuberculosis* a desinfetantes químicos, no entanto os desinfetantes mais comuns, incluindo o hipoclorito de cálcio, a solução de formalina e o cresol, parecem ser eficazes na eliminação do microrganismo do meio ambiente, porém, na presença de material orgânico exige um tempo de exposição superior (Ismail & Hamid, 1972). O efeito destes desinfetantes é claramente importante para combater o agente patogénico encontrado dentro de uma matriz espessa de detritos purulentos. Contudo, o microrganismo é capaz de sobreviver por mais de 24 h em soluções comerciais de imersão usadas em PR (Nairn & Robertson, 1974).

2.3. Epidemiologia

O agente causador da LC, *C. pseudotuberculosis*, encontra-se com maior frequência na pele e mucosas de animais e no solo. Com uma distribuição mundial, consegue manter-se viável em secreções purulentas entre 6 a 12 meses e durante longos períodos no ambiente (Motta *et al.*, 2010).

Os animais podem ficar infetados através da contaminação a partir de material cirúrgico usado pelo médico veterinário, alimentos, alfaías agrícolas, feridas, água e utensílios, sendo mais frequente a contaminação a partir de lesões supuradas (Radostits *et al.*, 2007). Também são considerados como fator de risco de contaminação, o uso de banhos de imersão (Radostits *et al.*, 2007) ou durante o manejo de rotina através de feridas provocadas pela tosquia e castração (Riet-Corrêa *et al.*, 2004).

A transmissão pode ocorrer através da penetração da bactéria na pele íntegra ou através de feridas, ocorrendo por contato direto com as secreções infetantes ou mediadas

por fômites (Radostits *et al.*, 2007). Os insetos *Culicoides* e a mosca doméstica, *Stomoxys calcitrans*, exibem pouca importância epidemiológica na disseminação do agente em PR (Motta *et al.*, 2010).

As vias de infecção são diferentes para caprinos e ovinos, o que justifica a diferente localização anatômica dos abscessos. Nos caprinos, porque a sua alimentação é à base de forragens grosseiras, observa-se uma predominância de linfadenomegália na região do pescoço e da cabeça (Costa, 2002; Motta *et al.*, 2010). Nos ovinos, é mais frequente a presença de abscessos na pele em diferentes regiões do corpo, pois o principal fator de risco é a transmissão do agente por contaminação da pele em banhos de imersão e após a tosquia (Costa, 2002; Motta *et al.*, 2010).

2.4. Patogenia

A infecção ocorre por contaminação de feridas, por via respiratória ou oral; após a entrada da bactéria, esta é capturada por neutrófilos e fagocitada por macrófagos (Batey, 1986). A morte das células do sistema imunológico, resulta na libertação da bactéria e na formação de uma lesão necrótica (Jones *et al.*, 2000). Com a libertação das bactérias dá-se início de um novo ciclo, ocorrendo a produção da enzima fosfolipase D, que é caracterizada por pertencer a um grupo de enzimas capazes de hidrolisar uma ou mais ligações éster em glicerofosfolípidos (Ansell & Hawthorne, 1964), e vai atuar nas células endoteliais dos capilares linfáticos aumentando a permeabilidade vascular, favorecendo assim a disseminação bacteriana para diversas células e órgãos (Songer, 1997; McKean *et al.*, 2007).

As bactérias mantêm-se viáveis nos macrófagos, e posteriormente são isoladas nos linfonodos regionais, pré-escapulares, sub-mandibulares ou pré-crurais, onde induzem a formação de piogranulomas múltiplos que podem coalescer e formar abscessos (Paton *et al.*, 2003; Pugh, 2004; Motta *et al.*, 2010). O estado imunológico do animal e a virulência da bactéria são factores que contribuem para a disseminação do agente dos linfonodos para outros tecidos. A disseminação para outros órgãos como os rins, o pulmão, o encéfalo e o fígado também poderá ocorrer por via linfática (Coelho & Quintas, 2012). No organismo, ao tentar eliminar ou conter o microrganismo, ocorre a formação de piogranulomas, e à medida que a lesão aumenta há a formação de uma lesão caseosa

com aspeto de uma massa esférica laminada como as camadas de uma cebola, que se descreve como sendo, o aspeto macroscópico patognomónico desta patologia, normalmente associada a LC crónica (Jones *et al.*, 2000).

A apresentação característica em anel de cebola deve-se ao facto de ocorrer um processo repetitivo de necrose, da lesão encapsulada causada pela proliferação do agente patogénico seguido, do rearranjo da cápsula, como estratégia protetora do organismo para delimitar a infeção (Osman *et al.*, 2018).

2.5. Quadro clínico e lesional

Uma vez introduzida a infeção num rebanho torna-se difícil a sua erradicação. Como o período de incubação da doença poder variar entre 2 e 6 semanas, existe dificuldade em identificar e separar os animais infetados dos não infetados (Zarraga *et al.*, 2006). Mais, os abscessos podem levar dois a três anos a aparecer noutros animais, após a introdução de um animal infetado num rebanho (Costa, 2002).

Os abscessos externos são visíveis nos linfonodos pré-femorais, mandibulares, pré-escapulares ou parotídeos (Radostits *et al.*, 2007), mas também podem ocorrer abscessos nos linfonodos mesentéricos ou em vísceras torácicas ou abdominais, e raramente são encontrados no coração, rins, testículos, articulações ou útero (Zarraga *et al.*, 2006).

A sintomatologia apresentada pelos animais é inespecífica, variando entre dispneia crónica, na presença de abscessos nos pulmões, e com abscessos internos os sinais clínicos mais frequentes são a diminuição da qualidade e quantidade da lã, diminuição da fertilidade e do número de crias, perda de peso crónica, diminuição da produção de leite e baixo peso dos borregos ao desmame (Belchior *et al.*, 2006). A presença de lesões internas pode mesmo levar à morte do animal (Williamson, 2001; Costa, 2002; Belchior *et al.*, 2006; Radostits *et al.*, 2007).

2.6. Diagnóstico

Após suspeita num rebanho, o diagnóstico pode ser realizado das seguintes formas: clínico, isolamento do agente ou histopatológico, podem também ser usados métodos imunológicos associados à imunidade humoral e à imunidade celular.

Quando se realiza o diagnóstico clínico, deve-se proceder à palpação dos linfonodos superficiais que se encontram aumentados, e verificar a presença de febre e de emaciação (Quinn *et al.*, 1994; Belchior *et al.*, 2006).

Nas análises clínicas pode observar-se uma leucocitose por neutrofilia e monocitose, anemia hemolítica do tipo macrocítica normocrômica (Riet-Corrêa *et al.*, 2004; Radostits *et al.*, 2007), em animais com abscessos crónicos os parâmetros hematológicos podem encontrar-se normais e os níveis de fibrinogénio podem estar aumentados (Smith, 2003).

O diagnóstico definitivo é feito por cultura microbiológica do agente a partir do conteúdo dos abscessos obtido por punção, biópsia ou *post mortem* (Nozaki *et al.*, 2000). Técnicas de diagnóstico como a citologia aspirativa por agulha fina é considerado um método prático em caprinos e ovinos, apresenta como vantagens a simplicidade de execução e o baixo custo (Ribeiro *et al.*, 2001). No isolamento, as colónias de *C. pseudotuberculosis* são observadas ao fim de 48 h de incubação em meio de agar sangue, sendo usado sangue desfibrinado de ovino ou bovino (5%) (Costa, 2002; Baird & Fontaine, 2007). As colónias são caracterizadas por apresentarem cor branca, aspeto seco, serem de pequenas dimensões e encontrarem-se rodeadas por um fino halo de beta-hemólise, e posteriormente, o teste de Christie-Atkins-Munch-Peterson (CAMP) é realizado para confirmação (Costa, 2002; Baird & Fontaine, 2007). Isolados de *C. pseudotuberculosis*, de culturas primárias, são identificados com base na coloração de Gram e ainda por quatro testes bioquímicos preliminares (nitrato, urease, catalase, pirazinamidase) que permitem a identificação presuntiva de potenciais estirpes toxigénicas (Steeff & Marutsov, 2017). Na microscopia direta com o método de coloração Gram ou Giemsa é possível a visualização do agente onde se observam bactérias Gram-positivas, pleomórficas que se assemelham a “letras chinesas”, a prova de redução de nitratos a nitritos permite diferenciar os biótipos, *ovis* ou *equi*, que apresentam, respetivamente reações nitrato-negativas e nitrato-positivas (Cetinkaya *et al.*, 2002; Zarraga *et al.*, 2006). Outra pequena diferença entre certos agentes isolados reside

na sua sensibilidade aos antibióticos. Numa comparação de suscetibilidade a sete agentes antimicrobianos diferentes a concentração inibitória mínima de amicacina foi maior para agentes isolados de ovelhas e cabras nitrato negativos do que para isolados de equinos e bovinos nitrato positivos (Baird & Fontaine, 2007).

Com o objetivo de descobrir novos alvos para o desenvolvimento de antígenos mais eficientes têm sido desenvolvidos estudos moleculares e de bioinformática (Hassan *et al.*, 2014, Radusky *et al.*, 2015). Após a sequenciação do genoma de diversas estirpes de *C. pseudotuberculosis* estes estudos moleculares sofreram um grande progresso, tanto que, os modelos vacinais baseados em bactérias recombinantes têm apresentado resultados promissores (Ribeiro *et al.*, 2014, Silva *et al.*, 2014).

Métodos serológicos como a imunodifusão em gel de agar, a imunofluorescência indireta, a fixação de complemento, a hemaglutinação indireta e a técnica de Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) têm sido utilizados como diagnóstico (Belchior *et al.*, 2006; Baird & Fontaine, 2007). No entanto, os testes ELISA apresentam uma sensibilidade e especificidade de 85% e detetam animais infetados apenas entre os 30 a 60 dias pós infecção (Valli & Parry, 2007). A principal desvantagem que apresentam estes métodos serológicos deve-se à semelhança antigénica entre as corinebactérias, o que, em animais vacinados leva a resultados falso-positivos (Cetinkaya *et al.*, 2002; Zarraga *et al.*, 2006). Com resultados bastante positivos, a análise proteómica, de proteínas reconhecidas por soros de PR naturalmente infetados pela bactéria, tem detetado novos alvos para o desenvolvimento de vacinas (Seyffert *et al.*, 2014).

2.7. Tratamento

Relativamente ao tratamento da LC, o agente *C. pseudotuberculosis* não apresenta sensibilidade *in vivo*, mas apresenta sensibilidade *in vitro* a antibióticos dos grupos aminoglicosídeos, macrolidos, beta-lactâmicos, tetraciclina, rifampicina e fluoroquinolonas (Costa, 2002; Senturk *et al.*, 2006). Assim, estas classes de antibióticos têm demonstrado prevenir o crescimento e multiplicação bacteriana (Muckle & Gyles, 1982; Judson & Songer, 1991).

De acordo com Baird e Fontaine (2007) a dificuldade do fármaco em atravessar a cápsula espessa, constituída por tecido conjuntivo, que reveste os abscessos e o conteúdo

denso caseoso presente no interior dos piogranulomas, encontra-se relacionado com a falha no sucesso terapêutico *in vivo*. Assim o uso de antibióticos não é uma estratégia muito viável pelo custo elevado e pela incapacidade de penetração na cápsula dos abscessos (Stanford *et al.*, 1998; Olson *et al.*, 2002; Radostits *et al.*, 2002). No entanto, num outro estudo verificou-se o tratamento bem-sucedido em ovelhas infetadas com *C. pseudotuberculosis* através da combinação dos antibióticos rifamicina e oxitetraciclina (Senturk & Temizel, 2006).

A drenagem dos linfonodos superficiais, não é uma técnica que elimine totalmente as bactérias, tornando-se inviável quando linfonodos e órgãos internos estão envolvidos (Alves *et al.*, 1997; Williamson, 2001). Contudo, no tratamento de animais de grande valor comercial pode-se recorrer à remoção cirúrgica dos abscessos e/ou linfonodos externos, ou ainda lancetar os nódulos com higiene e desinfeção diária e limpeza com iodopovidona (2% a 5%) em conjunto com antibioterapia durante oito semanas ou até ocorrer cicatrização (Baird, 2006). O mau manuseio durante a drenagem pode causar contaminação ambiental com o agente patogénico, pois a quantidade de bactérias libertadas por um abscesso é capaz de infetar todo o rebanho devido à capacidade que esta bactéria possui de permanecer e sobreviver no solo (Alves *et al.*, 1997).

Apesar de existirem opções de tratamento, a prevenção e o controlo são as estratégias mais eficazes para evitar o contágio da doença (Alves *et al.*, 1997).

2.8. Controlo e prevenção

Para controlar a doença num efetivo o método mais eficiente é a identificação dos animais infetados e a sua remoção rápida do rebanho, até que haja um diagnóstico definitivo, todos os animais deverão ser isolados se apresentarem abscessos (Smith, 2003; Zarraga *et al.*, 2006).

As agulhas, material cirúrgico e alicates de tatuagem devem ser desinfetados, assim como, se deve proceder à desinfeção dos equipamentos contaminados e das instalações, nestes é recomendada a desinfeção com o hipoclorito, o amónio quaternário ou o iodo (Baird & Fontaine, 2007). Manter o material de corte de cascos e de tosquia limpos, livres de contaminações por material infetante é bastante importante, recomenda-se ainda a higiene e desinfeção dos locais usados nos banhos (Baird & Fontaine, 2007).

A maioria das vacinas comerciais atualmente disponíveis para a LC são combinadas com vacinas contra outros agentes patogénicos que incluem, *Clostridium tetani*, *Cl. perfringens*, *Cl. septicum*, *Cl. novyi* e *Cl. chauvoei* (Paton *et al.*, 2003). Estas vacinas são baseadas na fosfolipase D inativada (PLD) e são chamadas de vacinas toxóides (Paton *et al.*, 2003). Paton *et al.* (1995), numa análise da eficácia de uma vacina combinada de toxóide contra o *C. pseudotuberculosis*, relataram uma redução no número e tamanho dos abscessos pulmonares provocados pelo *C. pseudotuberculosis* e uma diminuição na disseminação desta doença dentro do rebanho. Num outro estudo, foi descrito que embora 43% dos produtores administrassem vacinas comerciais para o *C. pseudotuberculosis*, apenas 12% as utilizavam corretamente (Paton *et al.*, 2003), o que pode explicar a sua baixa eficácia.

Está descrito que a vacinação contra o *C. pseudotuberculosis* pode ter uma eficácia entre 60 e 95% (Eggleton *et al.*, 1991; Paton *et al.*, 1995). Quando não existe vacina disponível no mercado, alguns autores defendem a administração de autovacinas por demonstrarem igualmente resultados satisfatórios (Winter & Clarkson, 2012). Foram desenvolvidas diversas vacinas para prevenir a linfadenite caseosa em PR, no entanto não existe uma vacina eficaz contra esta doença no mercado. Desde 1983 que uma vacina comercial para a linfadenite caseosa em pequenos ruminantes tem sido usada na Austrália, e de acordo com um relatório, em 2002 a prevalência da doença permaneceu em aproximadamente 20% (Join-Lambert *et al.*, 2006). Os testes serológicos oferecem um poderoso meio de controlo da doença, permitindo o abate ou a segregação dos animais infetados, e têm sido utilizados como uma forma alternativa à vacinação, sendo uma abordagem dispendiosa, mas é um meio pelo qual a linfadenite caseosa pode ser completamente erradicada das explorações (Osman *et al.*, 2018).

2.9. Infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em Pequenos Ruminantes

Os ovinos e os caprinos são as espécies mais frequentemente afetadas por *C. pseudotuberculosis* sendo que, nestas espécies a doença é denominada de LC (Osman *et al.*, 2018). Em ovinos a LC é causada por *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis*, e tem uma elevada prevalência e importância económica na maioria dos países com explorações de ovinos (Pépin & Paton, 2010).

Dependendo da localização dos piogranulomas, a doença apresenta-se sob duas formas distintas: cutânea ou visceral (Al-Gaabary *et al.*, 2009; Oreiby & Hegazy, 2016). Na forma cutânea ou superficial, há desenvolvimento de piogranulomas localizados nos linfonodos superficiais, tais como: retrofaríngeos, parotídeos, submandibulares, pré-escapulares, pré-crurais, testiculares ou mamários, e ainda no tecido subcutâneo (Fontaine & Baird, 2008; Osman *et al.*, 2018). Na forma visceral os piogranulomas são frequentemente encontrados nos linfonodos internos, tais como: mediastínico e mesentéricos; ou mesmo nos órgãos, tais com: pulmões, fígado, rins, cérebro e testículos (Osman *et al.*, 2018; Fontaine & Baird, 2008). Alguns animais infetados apresentam abscessos internos, que repetidamente se desenvolvem nos pulmões ou linfonodos mediastínicos sem quaisquer sinais clínicos de contágio (Binns *et al.*, 2007). A forma cutânea afeta normalmente animais jovens, enquanto que, a forma visceral afeta maioritariamente animais adultos. Ambas as formas podem aparecer concomitantemente no mesmo animal, desenvolvendo uma apresentação clínica combinada (Oreiby, 2015; Guimarães *et al.*, 2011). Apesar de ser uma doença frequente em explorações de ovinos, normalmente não é detetada em animais adultos, devido ausência de sinais clínicos, no entanto, a LC crónica pode provocar uma síndrome de perda de peso que vários autores designam de “*thin ewe syndrome*” (Baird & Fontaine, 2007), sendo incluída como diagnóstico diferencial quando os animais apresentam emaciação e caquexia (Ruiz *et al.*, 2020). Animais infetados com LC crónica superficial podem disseminar o microrganismo para o ambiente com a fistulação ou rotura do abscesso, sendo que o microrganismo pode sobreviver durante semanas ou mesmo meses no ambiente. Os animais expostos a este agente patogénico, presente no meio ambiente, podem ser contaminados pela sua entrada através de feridas da pele, mucosas, sendo a tosquia um principal fator de risco a ser controlado (Fontaine & Baird, 2008; Zavoshti *et al.*, 2012).

Outros estudos sugerem que as lesões internas se desenvolvem como parte da infeção iniciada noutra região do organismo, esta hipótese foi corroborada por outros estudos em que a disseminação por via subcutânea ou intravenosa levou ao desenvolvimento de lesões piogranulomatosas em locais distintos de inoculação, nomeadamente pulmões ou linfonodos mediastínicos (Fontaine & Baird, 2006).

Apesar de existirem vários estudos sobre LC em explorações de ovinos em todo o mundo, a sua prevalência continua subestimada, dado que apenas alguns países ou mesmo regiões efetuaram estudos epidemiológicos para estabelecer taxas de prevalência

da doença (Pépin & Paton, 2010; Osman *et al.*, 2018). Num estudo realizado na Austrália, a prevalência média de LC em ovelhas adultas foi de 58% em 1973 e 53% em 1984 (Batey, 1986). Num matadouro, o resultado da inspeção de carnes mostrou taxas de infecção por LC de 54% em ovelhas adultas e de 3,4% em cordeiros, no entanto, noutros estudos realizados nas zonas ocidentais da Austrália, mostraram que os níveis de prevalência na população adulta chegavam aos 61% (Al-Gaabary *et al.*, 2009). Recentemente, outros estudos relataram uma taxa de prevalência em declínio constante que poderá estar relacionada com a introdução da vacina para a LC em 1983 (Osman *et al.*, 2018). Estudos realizados na província canadense de Quebec, mostraram que a prevalência de LC variou de 21 a 36% em ovelhas adultas sacrificadas (Seyffert *et al.*, 2010). Na Nova Zelândia, num estudo que decorreu entre 1986 e 1987, num matadouro foram identificadas lesões de LC em 7,1% dos ovinos adultos abatidos e 0,64% dos cordeiros, enquanto, nos Estados Unidos da América (E.U.A.), especialmente nas zonas ocidentais, sugeriram que a prevalência média da doença entre ovelhas adultas era de 42,5% (Stoops *et al.*, 1984).

2.10. Infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* noutras espécies

C. pseudotuberculosis é a causa de três síndromes de doenças conhecidas em equinos, designadamente a linfadenite ulcerativa, a foliculite contagiosa e furunculose, e o abscesso subcutâneo profundo (Miers & Ley, 1980). As três principais síndromes tendem a ter uma distribuição geográfica distinta, sugerindo a importância de fatores secundários no desenvolvimento da doença. Spier *et al.* (2004) identificaram a mosca doméstica (*Musca domestica*) como potencial vetor para a transmissão de *C. pseudotuberculosis*.

Nos E.U.A. *C. pseudotuberculosis* também foi registada como uma causa rara de aborto (Poonacha & Donahue, 1995), de mastite em éguas (Addo *et al.*, 1974) e de abscesso visceral generalizado (Paton *et al.*, 2005).

Na linfadenite ulcerativa, a porta de entrada da bactéria é por feridas, usualmente nos membros inferiores, seguindo-se a sua progressão para os vasos linfáticos aferentes e a formação de abscessos ao longo do seu curso. Esses abscessos surgem como lesões

nodulares subcutâneas que se abrem com libertação de pús e a formação de úlceras necróticas (Radostits *et al.*, 2000).

A foliculite e furunculose equina (também conhecida como acne contagiosa equina, varíola canadiana ou dermatite pustulosa contagiosa equina) é uma forma menos importante da doença estando associada a uma infeção secundária a uma seborreia ou dermatite pré-existente por *C. pseudotuberculosis*. As lesões tendem a desenvolver-se em pontos de contato com os arreios e a sua disseminação pode ocorrer pelo uso de equipamento de limpeza contaminado. A lesão característica é um pequeno nódulo que se desenvolve numa pústula antes de fistular para libertar material purulento. Estas lesões usualmente resolvem-se espontaneamente, mas podem resultar numa úlcera no local da infeção (Baird & Fontaine, 2007).

Abcessos profundos (também conhecida como febre do pombo), é causada por *C. pseudotuberculosis*, e é a manifestação mais grave da infeção em equinos. Geralmente são observados abcessos na musculatura do tórax e do ombro. A sua incidência é mais elevada nos meses de setembro a novembro o que, provavelmente, reflete a sua incidência sazonal associada a várias espécies de artrópodes picadores que atuam como vetores mecânicos (Doherr *et al.*, 1999).

Dado o elevado número de infeções reportadas por *C. pseudotuberculosis* biovar *equi* nos últimos anos, a análise do genoma e sequenciação deste biovar é uma etapa essencial para perceber a interação entre o agente patogénico e o hospedeiro, o que facilitará o desenvolvimento de vacinas para erradicação da doença (Baraúna *et al.*, 2017).

Em bovinos *C. pseudotuberculosis* pode resultar na formação de abcessos subcutâneos ou apresentar-se na forma de mastite (Yeruham *et al.*, 2003; Steerforth & Marutsov, 2017). Infeções em bovinos leiteiros foram registadas em Israel, usualmente na forma de abcessos subcutâneos profundos que se transformam em úlceras de granulação e secreção que respondem mal ao tratamento sistémico com antibióticos (Yeruham *et al.*, 2003). Num estudo mais recente, desenvolvido por Steerforth & Marutsov (2017), na Bulgária, em vacas leiteiras Holstein os animais afetados e que apresentavam linfadenite ulcerativa, abcessos e lesões piogranulomatosas na parte dorsal dos membros posteriores, estavam também associados a mastite. Ocasionalmente, as lesões foram observadas nos membros anteriores. Nos animais afetados mais recentemente observaram-se abcessos múltiplos, com líquido no interior e dor à palpação.

Posteriormente, estes abscessos atingem um diâmetro de 10-15 cm e desenvolvem tecido fibroso capsulado e de consistência firme. Assim que ocorre a ulceração, é drenada uma secreção purulenta de cor amarela (Steerforth & Marutsov, 2017). Uma forma de mastite menos comum também é conhecida, em que o único sinal é o aparecimento de coágulos no leite, ou uma glândula mamária muito aumentada e sensível, com fim da produção de leite, o que muitas vezes requer o abate prematuro, pois a resposta à antibioterapia é muito baixa. Numa forma rara da doença visceral, há formação generalizada de abscessos nos linfonodos associados ao trato respiratório superior e inferior, o que em casos graves, pode causar tumefação e obstrução das vias aéreas (Shpigel *et al.*, 1993).

Após a recolha de moscas domésticas sobre a lesão mamária de um bovino, foi possível isolar o agente *C. pseudotuberculosis* (Yeruham *et al.*, 1996), concluindo-se que essa espécie de mosca tinha preferência por se alimentar de resíduos de leite de vacas infetadas e, portanto, desempenhava um papel importante na disseminação de infeções por *C. pseudotuberculosis* em rebanhos leiteiros (Braverman *et al.*, 1999). Mais, *C. pseudotuberculosis* é normalmente identificado como a causa de uma linfadenopatia purulenta que afeta um grande número de lamas e alpacas do Chile e noutros países da América do Sul (Braga *et al.*, 2006). É também esporadicamente causa de abscessos em camelídeos domésticos na América do Norte (Anderson *et al.*, 2004). Enquanto, no Médio Oriente em algumas zonas o agente foi isolado de abscessos de linfonodos de búfalo (Ali & Zaitoun, 1999) e de lesões semelhantes em camelídeos (Abubakr *et al.*, 1999).

De referir que foram também observadas e relatadas infeções naturais esporádicas em cervos (Hammersland & Joneschild, 1937; Eghetti & McKenney, 1941), suínos (Zhao *et al.*, 1993), porco preto alentejano (Oliveira *et al.*, 2014), ratão-do-banhado, primatas, patos (Benham *et al.*, 1962) e num ouriço (McAllister & Keahey, 1971).

2.11. Implicações em saúde pública

O exame microbiológico de lesões encontradas em animais abatidos durante a inspeção da carne é uma parte importante da proteção da saúde pública, pois tais lesões podem ser causadas por agentes zoonóticos que podem ser transmitidos pela carne (Dikowka *et al.*, 2020).

Lopez (1966) descreveu o primeiro caso de LC em humanos em 1966. De acordo com os dados da bibliografia, foram publicados 13 casos em humanos, 8 deles observados na Austrália (Richards & Hulse, 1985), 2 nos E. U. A. (Goldberger *et al.*, 1981), 1 no Panamá (Lopez *et al.*, 1966), 1 em França (Peloux *et al.*, 1980) e 1 na Nova Zelândia (House *et al.*, 1986). Oito dos casos ocorreram através de contatos próximos com ovelhas ou eram relativos a funcionários de matadouros (Belchior, 2016). Apesar da infecção humana por *C. pseudotuberculosis* ser rara, existem relatos de alguns casos principalmente em indivíduos imunodeprimidos (House *et al.*, 1986; Belchior *et al.*, 2006).

No homem, a principal fonte de infecção por *C. pseudotuberculosis* é o contato direto com o material purulento proveniente de abscessos caseosos e apresenta um quadro clínico semelhante ao encontrado em caprinos (Mills *et al.*, 1997; Belchior *et al.*, 2006). Clinicamente a doença em humanos manifesta-se principalmente por uma linfadenite generalizada (Abreu *et al.*, 2008). Os casos de LC diagnosticados em humanos foram sujeitos a intervenções para drenagem ou remoção cirúrgica dos abscessos (Heper *et al.*, 1997). Quer estirpes toxigênicas, quer estirpes não toxigênicas, causam infecção no ser humano (Steerford & Marutsov, 2017).

2.12. Linfadenite Caseosa em Portugal

A nível nacional, não foram efetuados em PR, estudos recentes de prevalência de infecção por *C. pseudotuberculosis*. A doença na sua forma clínica é, no entanto, reconhecida na maioria dos efetivos, quer pelos produtores quer pelos médicos veterinários, apresentando-se sob a forma de abscessos subcutâneos. Boinas *et al.* (2000), desenvolveu um estudo preliminar em Portugal, em 4 explorações de ovelhas e cabras, onde foi possível identificar *C. pseudotuberculosis* em 5 amostras de ovelhas e 2 amostras de cabras, através da análise do pús colhido em 18 abscessos, estimando uma prevalência de 45,5% em ovinos e 66,7% em caprinos.

Noutro estudo desenvolvido em Portugal, sobre a mortalidade perinatal em PR na região de Trás-os-Montes, verificou-se que *Corynebacterium* spp. faz parte dos agentes isolados em lesões pulmonares de recém-nascidos (Mendonça, 2012). Embora a espécie de *Corynebacterium*, não tenha sido identificada neste estudo, os autores mencionam

ainda que na maioria das lesões pulmonares identificadas *post mortem* também não houve o isolamento de agentes bacterianos. O género *Corynebacterium* spp. também foi isolado em nados mortos e abortos, no mesmo trabalho (Mendonça, 2012).

Apesar da presença da doença nos efetivos nacionais de PR ser somente reconhecida por médicos veterinários e produtores, desconhece-se a sua importância económica e a prevalência real de casos clínicos e subclínicos. Outras espécies pertencentes ao *Corynebacterium* foram também relatadas como agente causal de LC, por exemplo, *C. ulcerans* foi isolado de um abscesso de um linfonodo num javali selvagem. Contudo, existe apenas um registo sobre *C. pseudotuberculosis* isolado de um suíno assintomático. De referir, que o primeiro caso de *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis* de lesões de LC em porco preto alentejano foi observado em duas explorações em Portugal (Oliveira *et al.*, 2014). Novos estudos em isolados devem ser conduzidos para caracterizar os agentes e identificar possíveis vias de transmissão.

3. Materiais e Métodos

3.1. Amostragem

Os ovinos em estudo, eram provenientes de uma exploração com estatuto oficialmente indemne à brucelose (B4), tendo sido abatidos no Matadouro Uniagri II, no dia 3 de novembro de 2020, 12 animais (11 ovinos, dos quais 8 fêmeas, 2 machos, um borrego e um caprino).

A exploração em causa situa-se na região de Tondela, distrito de Viseu, sendo que a cidade conta com uma área geográfica de 371,22 km², situada na província da Beira Alta, região do Centro (Região das Beiras) e sub-região Viseu Dão-Lafões (Figura 4)

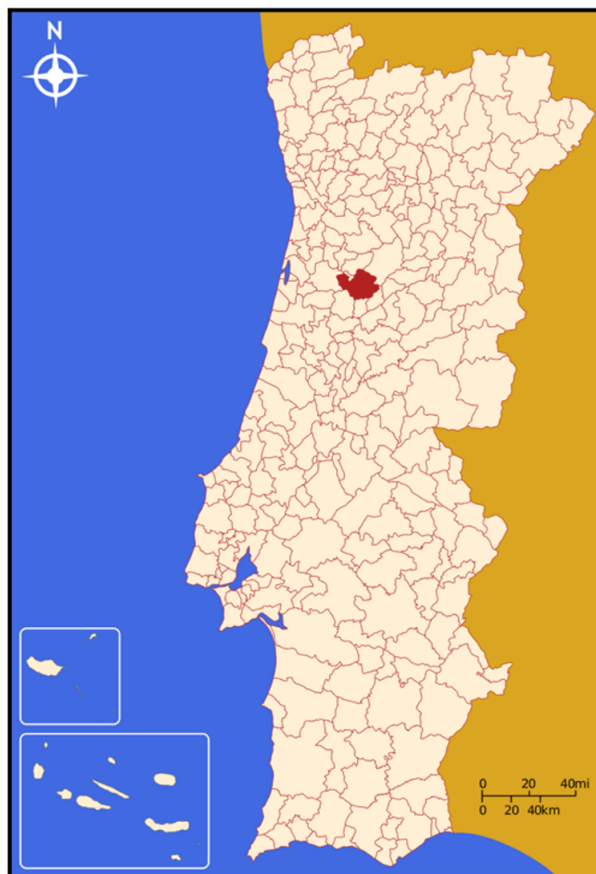


Figura 4. Mapa de Portugal com a localização da exploração em estudo (Tondela).

Disponível em: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Tondela>

3.2. Colheita de amostras

Durante a realização dos procedimentos de inspeção *post mortem* dos 12 animais abatidos, foram identificadas duas lesões piogranulomatosas, em ovinos diferentes, que no exame visual, palpação e incisão eram compatíveis com processos piogénicos de linfadenite caseosa.

- Amostra PR1: corresponde a um linfonodo pré-escapular de aspeto macroscópico caseoso, coloração amarela-esverdeada, textura mole, com dimensões de 3cm x 2cm (Figura 5).

- Amostra PR2: corresponde a um linfonodo ilíaco médio, que macroscopicamente apresenta um aspeto caseocalcário, coloração amarelo-esverdeado e com dimensões de 1,5cm x 1,5cm (Figura 6).



Figura 5. Amostra PR1 - lesão caseosa no linfonodo pré-escapular de ovino.

Fonte: original da autora.

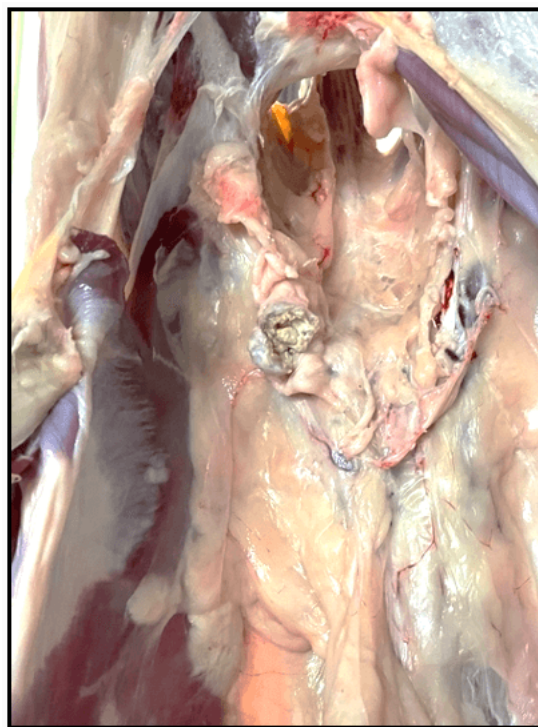


Figura 6. Amostra PR2 - lesão caseocalcária no linfonodo ilíaco médio de ovino.

Fonte: original da autora.

3.3. Análise Histopatológica

As amostras PR1e PR2 foram colhidas para frascos de plástico, de boca larga, com tampa estanque, e conservadas formol a 10% tamponado, depois de devidamente identificadas com os dados do animal, exploração de proveniência e data de colheita, foram enviadas para análise histopatológica de rotina no laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária-Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, e a coloração empregada no estudo foi de Hematoxilina-Eosina.

4. Resultados

4.1. Casos de Linfadenite Caseosa identificados no matadouro

As amostras colhidas para análise anatomopatológica foram identificadas em dois ovinos adultos provenientes da mesma exploração. A amostra PR1, foi colhida de um animal que no exame de ISPM apresentava a lesão apenas no linfonodo pré-escapular, e dada a sua localização o MVO decidiu fazer reprovação parcial do membro torácico esquerdo, local onde se encontrava a lesão. Enquanto a amostra PR2, foi colhida de um animal que no exame de ISPM apresentava uma lesão no linfonodo ilíaco-médio, dada a localização da lesão o MVO decidiu fazer a reprovação total do animal para consumo humano.

Dos dados recolhidos no matadouro Uniagri II foram abatidos e inspecionados, no mês de novembro de 2020, um total de 1086 ovinos, dos quais 9 ovinos (0,82%) foram rejeitados para consumo humano. As causas de reprovação registadas no SIPACE foram: pleuropneumonia fibrinopurulenta (n=4), pneumonia purulenta (n=3), linfadenite generalizada (n=1), e por peritonite fibrinopurulenta (n=1) (Gráfico 2). Estes animais foram provenientes de 6 explorações diferentes.

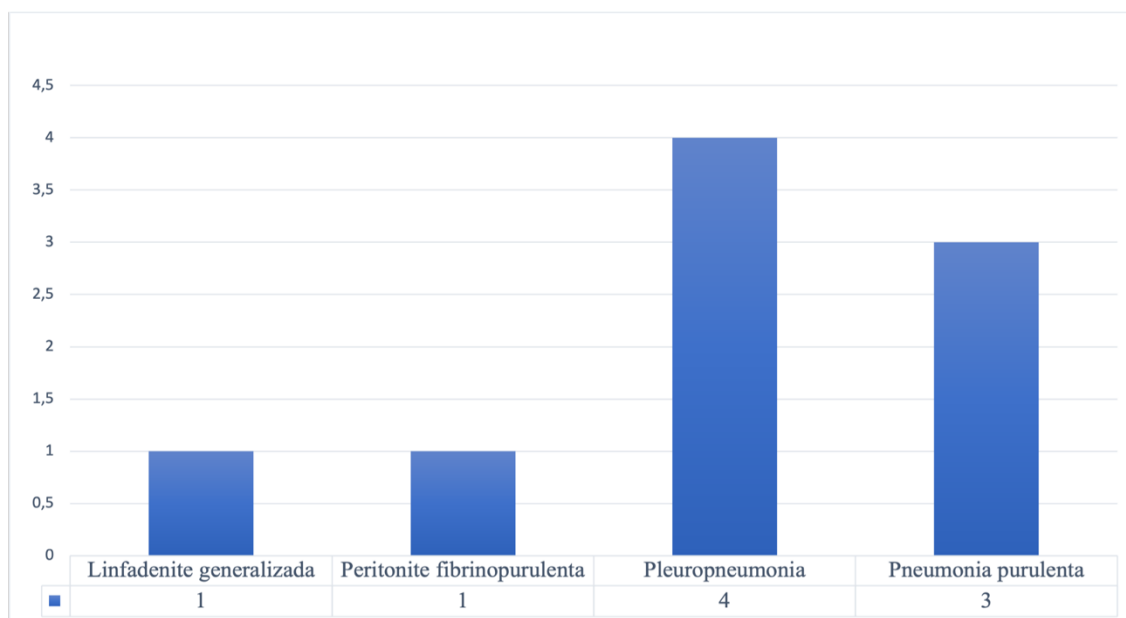


Gráfico 2. Histórico de rejeições totais da espécie ovina no mês de novembro de 2020 no matadouro Uniagri II.

Após consulta do SIPACE, foram colhidos os dados relativamente às causas de reprovação de ovinos abatidos e provenientes da mesma exploração que as amostras PR1 e PR2. Para a exploração estudada o histórico de abates, neste matadouro, entre 2016 e 2019, indicava que haviam sido abatidos um total de 98 animais, em 15 abates diferentes e faseados ao longo dos 3 anos. Dos 98 animais abatidos foram rejeitados para consumo humano 8 ovinos, tendo sido reportadas as seguintes causas de reprovação: pneumonia purulenta (n=3), caquexia (n=2), peritonite fibrinopurulenta (n=2) e pielonefrite (n=1) (Gráfico 3).

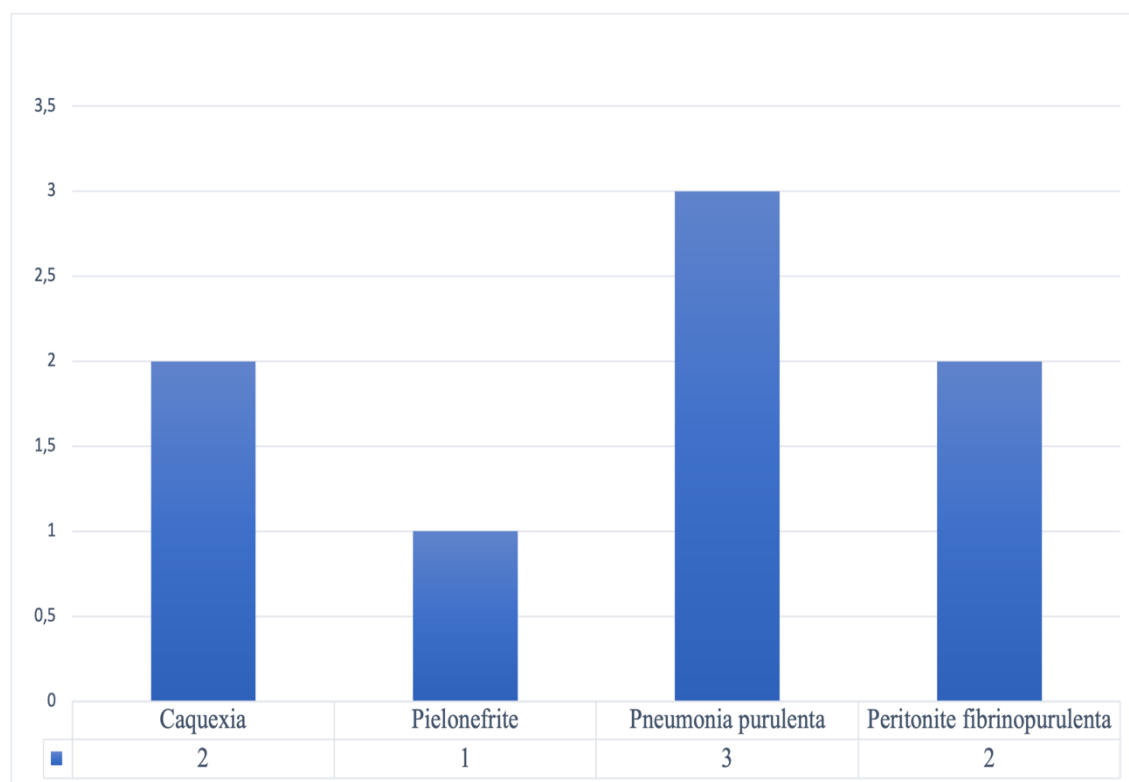


Gráfico 3. Histórico de rejeições totais da exploração estudada entre os anos de 2016 e 2019.

4.2. Resultados de Análise anatomopatológica

As duas amostras de linfonodos (Amostra PR1 e Amostra PR2) enviadas para processamento histopatológico, tinham dimensões de 3cm x 2cm (amostra PR1) e de 1,5cm x 1,5cm (amostra PR2) após secção as suas superfícies apresentavam-se brancas, brilhantes e homogêneas. No anexo IV constam os respetivos relatórios emitidos após o processamento histopatológico.

Na sua descrição microscópica os linfonodos apresentavam a sua arquitetura alterada devido à presença de lamelas concêntricas de necrose de caseificação delimitados por cápsula fibrosa. Na amostra PR1 (Figura 7), a lesão foi caracterizada por um infiltrado inflamatório rico em células mononucleares (linfócitos, plasmócitos e macrófagos) e células gigantes multinucleadas que rodeiam focos de necrose e calcificação distrófica. Na amostra PR2 (Figura 8), a lesão foi caracterizada por extensos focos de necrose de caseificação com extensos focos de calcificação distrófica.

No relatório de anatomopatologia conclui-se que as amostras são de LC, compatível com pseudotuberculose.

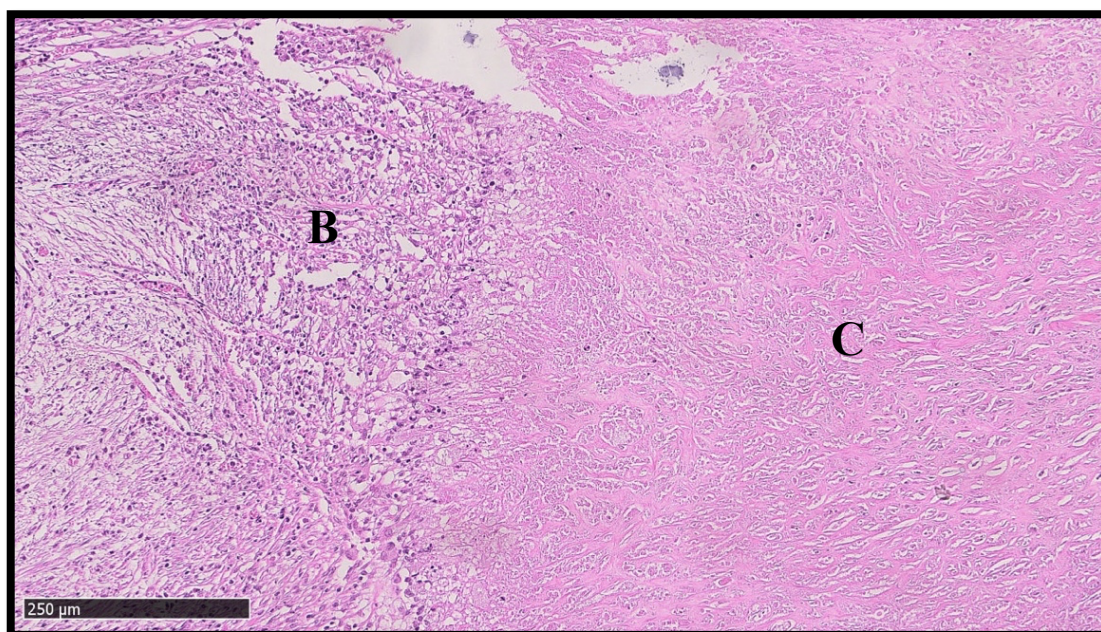


Figura 7. Corte histológico de um linfonodo pré-escapular (Amostra PR1) onde se observa linfadenite caseosa em ovino (100x ampliação). **B:** Células inflamatórias a rodear o foco de necrose. **C:** Foco eosinofílico, amorfo, com perda de arquitetura tecidular, correspondente com zona de necrose.

Fonte: original da autora.

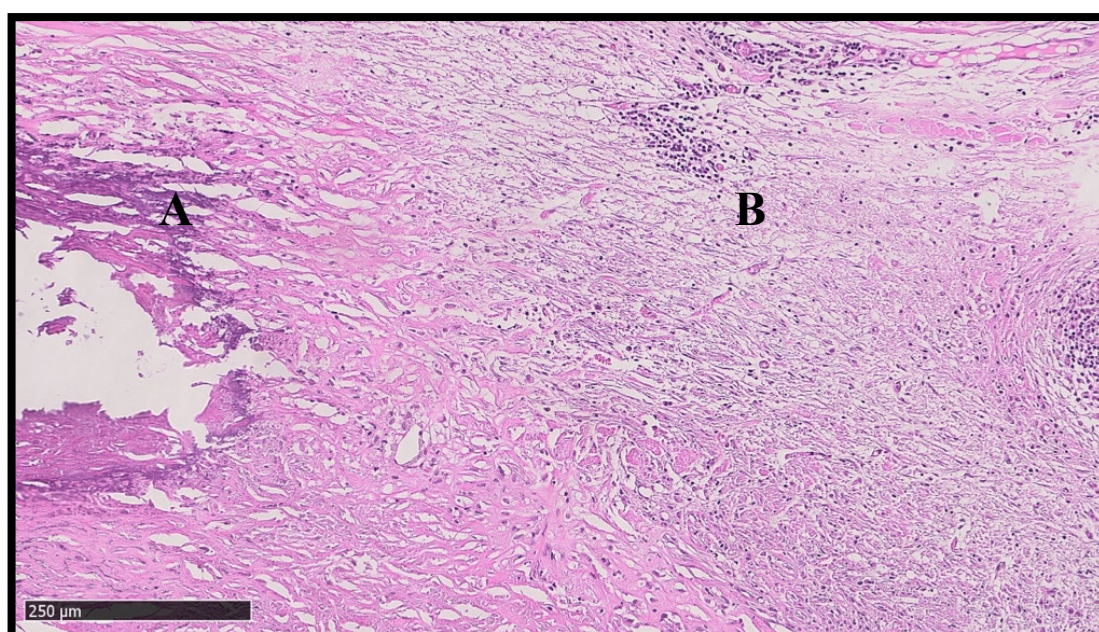


Figura 8. Corte histológico de um linfonodo ilíaco médio (Amostra PR2) onde se observa linfadenite caseosa em ovino (100x ampliação). **A:** Zona basofílica, granular, amorfa, correspondente com foco de calcificação distrófica. **B:** Células inflamatórias a rodear o foco de necrose. **Fonte:** original da autora.

5. Discussão

Na ISAM não se verificaram alterações clínicas nem alterações a nível do BEA. Abebe & Tessema (2015) referem que durante a ISAM mesmo que existam lesões causadas por LC, as mesmas são difíceis de observar devido à sua dimensão e ausência de abcesso a drenar. Por outro lado, Guimarães *et al.* (2011), compararam a percentagem de ovinos seropositivos e as lesões macroscópicas encontradas nos gânglios, observando que apenas 15,3% dos animais apresentavam nódulos caseosos apesar de 43,7% serem seropositivos ao agente. Tal facto sugere que a maioria dos animais infetados não apresenta sinais clínicos. No entanto, se muitos animais do grupo estiverem afetados de forma similar com a presença de abscessos nos linfonodos superficiais o diagnóstico é altamente sugestivo de LC num rebanho (Al-Gaabary *et al.*, 2010).

Na ISPM verificou-se que um dos ovinos adultos apresentava uma tumefação na região pré-escapular esquerda e após incisão dos linfonodos pré-escapulares observou-se a presença de um abcesso de coloração amarelada a esverdeada, com consistência pastosa e sem odor, levando à rejeição parcial do membro torácico esquerdo (Amostra PR1, Figura 5). Um outro ovino adulto, da mesma exploração, apresentava um abcesso de cor amarela-esverdeada, com consistência firme e aparência parcialmente seca e laminada, localizado no linfonodo ilíaco médio resultando na rejeição total da carcaça e vísceras (Amostra PR2, Figura 6).

No exame *post mortem* de animais afetados por LC, pode observar-se um aumento dos linfonodos periféricos (5-15 cm de diâmetro), sendo facilmente identificados os linfonodos submaxilar, parotídeo, pré-escapular, pré-femoral e poplíteo. Os linfonodos infetados podem fistular drenando um pús espesso e não odorífero. Na eliminação ou contenção do microrganismo acontece a formação de granulomas que sofrem necrose à medida que a lesão aumenta, levando à formação de uma lesão caseosa que ao corte apresenta-se com o aspeto de uma massa de coloração branca ou esverdeada, esférica laminada, como as camadas de uma cebola, podendo mesmo apresentar-se calcificada, que se descreve como sendo o aspeto macroscópico característico desta patologia (Jones *et al.*, 2000). Se progredir para uma infeção sistémica, os sinais clínicos vão depender do sistema afetado, podendo ser visíveis lesões viscerais com formação de abscessos renais e nos gânglios linfáticos mediastínicos e brônquicos, que podem levar à formação de abscessos pulmonares, não identificadas nos animais por nós inspecionados.

A LC afeta principalmente os gânglios linfáticos superficiais pelo que geralmente está associada a uma rejeição parcial destes. Caso a lesão ocorra apenas num gânglio pré-escapular sem comprometimento a nível sistémico nem reação ganglionar generalizada procede-se à reprovação parcial da zona afetada. Quando as lesões ocorrem também noutros órgãos ou a carcaça se encontra edemaciada poderá ser enquadrada numa reprovação total com rejeição da carcaça e respetivas vísceras. Não esquecer que a LC dos PR pertence ao grupo das doenças crónicas de evolução progressiva pelo que muitas vezes as carcaças dos animais doentes apresentam sinais de caquexia (Regulamento de Execução (UE) n.º 2019/627, Artigo 12.º). Facto que se encontra em concordância Baird & Fontaine (2007) e Ruiz *et al.* (2020), que descrevem a doença como “*thin ewe syndrome*”.

A lesão da amostra PR1 apresentou conteúdo pastoso e purulento que de acordo com o relatório de histopatologia concluiu ser linfadenite necrosante. Enquanto a lesão apresentada na amostra PR2 de acordo com o relatório de histopatologia é compatível com LC, doença caracterizada, em vários estudos, pela presença de abscessos com consistência inicial pastosa que posteriormente torna-se seca e dura com uma aparência laminada com forma das camadas de cebola, sem odor e com conteúdo de coloração que varia do branco ao amarelado e ou esverdeado (Radostits *et al.*, 2007; Riet-Correa, 2007; Fontaine & Baird, 2008). Esta é uma doença de caráter infetocontagioso com distribuição mundial, responsável por provocar processos piogranulomatosos crónicos em diversas espécies de animais de produção, com particular incidência nos PR (Motta *et al.*, 2010).

De acordo com vários autores, o principal agente etiológico responsável pela formação de abscessos em PR é a bactéria Gram-positiva, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, em derivação do grego *pseudes* tuberculose ou "falsa tuberculose": Tal facto deve-se à presumida semelhança clínica das lesões causadas por este agente com os nódulos caseosos provocados pela tuberculose cujo agente são bactérias do género *Mycobacterium* (Peel *et al.*, 1997; Selim, 2001). Outros agentes bacterianos também responsáveis pelo aparecimento de abscessos em PR são *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Moraxella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium*, *Necrophorum* e *Histophilus somni* (Pugh & Baird, 2012; Matthews, 2016; Silva *et al.*, 2018).

Num estudo realizado em Espanha (De La Fuente *et al.*, 1997) e num outro estudo realizado no Canadá (Arsenault *et al.*, 2003), verificou-se que em abscessos de ovinos, foi

isolado *S. aureus* em, 71% e 24% dos abscessos, respetivamente. Por outro lado, Souza *et al.* (2011), num estudo realizado no Brasil observaram que de 1280 animais inspecionados 4,53% (58/1.280) apresentaram evidências clínicas de LC, sendo que dos agentes isolados 74,5% corresponderam a *C. pseudotuberculosis*, 7,8% a *S. aureus* e 2% a *E. coli*.

Zavoshti *et al.* (2012), utilizou dois métodos para confirmação de diagnóstico de LC designadamente, microbiologia e histopatologia. Com base nos seus resultados, foi isolado *C. pseudotuberculosis* em 12,60% por cultura bacteriológica, enquanto 20,08% das amostras revelaram a presença de sinais patognomónicos de LC (forma de camadas de cebola ou abscesso lamelar). O mecanismo de defesa de *C. pseudotuberculosis* dificulta que o organismo seja isolado em todas as culturas bacteriológicas, portanto, o diagnóstico definitivo deverá ser histopatológico (Fontaine & Baird, 2008; Jubb & Palmer, 2007; Radostits *et al.*, 2007). Outro aspeto que poderá interferir nos resultados obtidos em bacteriologia é a reação a outros agentes presentes na lesão (Ellis *et al.*, 1987; Fulton *et al.*, 2006; Yirrell *et al.*, 1991). No estudo de Zavoshti *et al.* (2012), isolaram também *S. aureus* em 2,56% casos e *Bacillus* em 0,85% das amostras. Verificou-se ainda no mesmo estudo, em 0,64% dos casos, o isolamento simultâneo de *C. pseudotuberculosis* e *S. aureus*, resultados de acordo com estudos anteriores (Hosseinzadeh *et al.*, 1996; Fontaine & Baird 2008; Radostits *et al.*, 2007).

Por outro lado, os investigadores suspeitam que a LC pode ocorrer em conjunto com a tuberculose, porque há semelhanças entre as duas doenças nos resultados macroscópicos *post mortem*, quer na presença de abscessos quer na distribuição de lesões (Baird & Fontaine 2007; Crawshaw *et al.*, 2008). Os pequenos ruminantes geralmente não são submetidos às campanhas oficiais de erradicação da tuberculose, nesta espécie, o controlo da tuberculose é realizado através da inspeção da carne para o consumo humano. O primeiro passo para melhorar a eficácia da deteção da tuberculose em pequenos ruminantes é a sua deteção em animais individuais. Nos últimos anos, a tuberculose foi relatada em pequenos ruminantes em vários países da União Europeia, a maioria das informações são adquiridas através do reconhecimento de lesões de tuberculose no matadouro e dos resultados laboratoriais (EFSA, 2013). Assim, a determinação do agente etiológico em abscessos nos PR é uma medida importante e adequada para uma correta aplicação das medidas sanitárias de controlo e profilaxia (Silva *et al.*, 2018).

Em Portugal, desconhece-se completamente qual a sua importância económica, assim como, a prevalência real de casos clínicos e subclínicos, mesmo sendo muitas vezes descrita no Alentejo como a “doença dos quistos” e ser reconhecida por médicos veterinários e produtores nos efetivos nacionais de PR (Costa, 2016). De acordo com os dados da DGAV em 2019, houve um aumento de reprovações totais por linfadenite generalizada em Portugal, do ano de 2019 para 2020, onde foram reportadas taxas de reprovação por LC em pequenos ruminantes de 0,75% (30 em 4007 animais) e 1,1% (45 em 4143 animais), respetivamente (DGAV, 2020).

No presente trabalho os casos de LC foram observados em animais adultos, fêmeas, com mais de 12 meses de idade. Apesar da baixa casuística, e em concordância com os resultados obtidos no presente estudo, foi descrito por Zavoshti *et al.* (2012), que a prevalência de lesões por LC aumenta com a idade. De acordo com Radostits *et al.* (2006), a frequência de infeção encontrada durante a inspeção em matadouro foi de 3,4% em borregos e 54% em ovinos adultos. Num outro estudo realizado em Modjo, Etiópia, as taxas de prevalência por idade foram de 2,7 e 3,1% em ovinos e caprinos jovens, respetivamente, e 24,4 e 27,5% em ovinos e caprinos adultos, respetivamente (Abebe & Tessema, 2015).

Zavoshti *et al.* (2012), verificaram que animais mais velhos (> 3 anos de idade) apresentaram a maior taxa de infeção com resultados estatisticamente diferentes entre grupos de idades ($P < 0.005$). Com base nestes resultados e não tendo sido administrada a vacina contra LC, os autores deste trabalho sugerem que a educação dos produtores de ovinos, a desinfeção do equipamento de tosquia e o uso de desparasitantes no controlo de ectoparasitas é muito importante na prevenção e controlo de LC.

Cetinkaya *et al.* (2002), com o objetivo de estimarem a prevalência em matadouro de LC em ovinos (2046 animais) e caprinos (2262 animais) colheram para exame bacteriológico 118 abscessos em linfonodos tendo sido isolado *C. pseudotuberculosis* em 81.4% destes abscessos ($n=96$), sendo a prevalência total em matadouro de 2,2% (3,5% em ovinos e 1,1% em caprinos). Foi também efetuada Reação em Cadeia da Polimerase (PCR do inglês “*Polimerase Chain Reaction*”) usando um par de *primers* específicos de *C. pseudotuberculosis* com DNA extraído de 96 abscessos tendo o resultado sido positivo em 93 dos casos. Concluindo que o ensaio de PCR pode ser aplicado com sucesso para o diagnóstico de LC em caprinos e ovinos em alternativa aos métodos convencionais, devido às suas vantagens de especificidade e rapidez (Cetinkaya *et al.*, 2002).

No presente trabalho os linfonodos afetados foram o pré-escapular e o ilíaco médio, no entanto, existem vários estudos que referem o aparecimento de LC em várias localizações, designadamente linfonodos pré-escapulares, pré-femorais, submandibulares, pré-crurais (Neto *et al.*, 2020). A LC caracteriza-se por uma infeção dos linfonodos periféricos, mas que pode progredir e afetar os linfonodos viscerais e os órgãos internos. Andrade *et al.* (2012), sugerem que a frequência de LC ser mais elevada nos linfonodos superficiais poderá estar relacionada com o facto dos animais terem sido sujeitos a traumatismos, como por exemplo, em cercas de arame farpado, ou pela ingestão de alimentos grosseiros, ressecados ou pontiagudos, dado essas regiões do corpo estarem mais frequentemente expostas a lesões e esses linfonodos serem responsáveis pela drenagem linfática dessas regiões. Por outro lado, no estudo de Silva *et al.* (2018), realizado no estado da Bahia, Brasil, numa amostra de 1148 PR abatidos verificou-se a presença de LC maioritariamente nos linfonodos pré-escapulares e retrofaríngeo. No estudo de Sunil *et al.* (2008), o linfonodo pré-escapular apresentou a maior taxa de infeção em comparação com outros linfonodos e este achado foi concordante com outros estudos (Hosseinzadeh *et al.* 1996; O'Reilly *et al.*, 2008). Radostits *et al.* (2006), refere que a predominância da lesão no linfonodo pré-escapular poderá ocorrer por abrasão cutânea o que favorecerá a entrada do agente no organismo. A presença de LC no linfonodo ilíaco não é muito prevalente, conforme verificados nos trabalhos científicos, no entanto a presença de abscessos neste linfonodo pode estar relacionada com o facto de este efetuar a drenagem do membro pélvico, parte da região abdominal podendo a via hematogena ser também fonte de disseminação do agente (Binns *et al.* 2007; Fontaine & Baird 2008).

Mais, num estudo realizado em Portugal na região de Trás-os-Montes sobre a mortalidade perinatal em PR verificou-se que *Corynebacterium* spp. faz parte dos agentes isolados em lesões pulmonares de recém-nascidos, assim como abortos e nados mortos (Mendonça, 2012).

De acordo com um estudo desenvolvido em 4 explorações de PR, no distrito de Lisboa, foi efetuada a análise de pús de 18 abscessos localizados nos linfonodos retrofaríngeo lateral, submaxilar, pré-escapular, poplíteo e supra-mamário, permitindo identificar *C. pseudotuberculosis*, cuja prevalência foi de 45,5% em ovinos e 66,7% em caprinos (Boinas *et al.*, 2000).

De acordo com os dados referentes ao histórico de abate compreendido entre 2016 e 2019 verificou-se que as causas de rejeições da exploração em estudo consistiram em

caquexia, pielonefrite, pneumonia purulenta e peritonite fibrinopurulenta, num total de 98 animais abatidos, não tendo sido registadas reprovações por LC. O facto de não serem detetados casos positivos na exploração estudada entre 2016 e 2019 pode estar relacionado com o momento da infeção da exploração por LC. No entanto, por ser uma patologia que se pode apresentar sob duas formas, cutânea ou visceral, e, portanto, nem sempre ser detetável e, tal como referido anteriormente, a infeção pode surgir na exploração com a introdução de um animal infetado num rebanho são, apenas conduzindo ao aparecimento de abcessos noutros animais após um período de 2 a 3 anos (Costa, 2002).

Num estudo desenvolvido por Ruiz *et al.* (2020), de 498 ovinos recebidos nos serviços clínicos da faculdade de Zaragoza durante os anos de 2017, 2018 e 2019 foram sujeitos a um exame clínico minucioso e, posteriormente sujeitos a abate humanitário, para diagnóstico definitivo, e para avaliar a presença de lesões de LC. Cento e quarenta e sete (29,5%) dos animais apresentaram lesões compatíveis com LC que foi confirmado através do isolamento de *C. pseudotuberculosis*, enquanto 107 (72,8%) de 147 animais com LC apresentavam a forma visceral da doença, e apenas 32 animais encontravam-se afetados sob a forma cutânea. Este estudo revelou uma prevalência de LC de 29,5% sendo a principal causa de morte dos animais do estudo, no entanto esta doença tem sido muitas vezes negligenciada porque a forma visceral que é a apresentação clínica mais frequente, produz sinais clínicos inespecíficos (Ruiz *et al.*, 2020).

Os resultados aqui apresentados revelam-se também importantes pois o MVO, deve, de acordo com o artigo 39.º do Regulamento (EU) n.º 2019/627 comunicar os resultados da sua ISPM. Assim, sempre que sejam detetados possíveis focos de infeção por LC em matadouro tem o dever de comunicar estes resultados para a exploração de origem de modo que possam ser tomadas medidas no local para confirmação e contenção de um possível foco de infeção. De referir que, após a introdução de um animal infetado num rebanho torna-se difícil a sua erradicação, pois o período de incubação da doença é longo, de 2-6 semanas (Zarraga *et al.*, 2006), sendo importante que o operador da exploração detete casos suspeitos o mais cedo possível, de modo a proceder à identificação e separação dos animais suspeitos.

6. Conclusão

Este trabalho permitiu que fosse possível desempenhar todas as tarefas e funções de um MVO em matadouro, incluindo de ISPM com identificação das principais causas de rejeição total, o que permitiu ainda identificar as patologias mais frequentes em ungulados e outros fatores relacionados com o manejo, que afetam a produção animal.

Foi ainda possível, acompanhar e executar as tarefas e funções do MVO em auditorias e controlos oficiais realizados em matéria de segurança alimentar, de prevenção e controlo de doenças transmissíveis em animais e zoonoses, BEA e subprodutos animais.

Neste trabalho, foram descritas as tarefas e funções do MVO enquanto inspetor sanitário num matadouro e foi realizado um estudo que determinou a importância da deteção de lesões de linfadenite por *C. pseudotuberculosis* em PR, para tal, foram colhidas amostras compatíveis com LC em matadouro, o que permitiu adquirir um maior conhecimento sobre esta patologia e a importância da sua deteção em matadouro.

Face à importância da produção nacional de PR e ao possível impacto da LC na mesma, a realização deste estudo veio contribuir e alertar para um maior conhecimento e avaliação de informação recolhida em matadouro.

Este estudo sugere a importância que as ISAM e ISPM têm na deteção de anomalias identificáveis em matadouro, estas, têm um papel fundamental para fornecerem uma avaliação geral da saúde dos animais e do rebanho, que caso se encontre comprometida, pode contribuir para um maior risco para a saúde pública. Assim como a IRCA pode contribuir para a categorização de risco de explorações ou lotes de animais e servir como uma ferramenta valiosa para decisões de gestão de risco. Não foram detetados casos positivos na exploração estudada nos anos anteriores (2016 a 2019) o que pode estar relacionado com o momento da infeção da exploração por LC dado o seu período de incubação ser longo e a patologia apresentar-se sob forma cutânea ou visceral, podendo ser difícil detetar alguma infeção. Atendendo aos dados recolhidos em matadouro, num dos animais infetados conseguiu-se detetar a patologia na sua forma visceral, através da alteração do linfonodo ilíaco médio, enquanto no outro foi identificada a forma cutânea.

O facto de os animais encontrarem-se normalmente assintomáticos, e considerando que o período de incubação da doença é longo, após a introdução de um animal infetado num rebanho torna-se difícil a identificação e erradicação da doença. Assim, um bom manejo, o conhecimento dos sintomas associados a esta

patologia, e a comunicação dos resultados obtidos na ISPM, poderão contribuir para um melhor controlo e prevenção nas explorações sendo importante que o operador da exploração detete casos suspeitos o mais cedo possível, de modo a proceder à identificação e separação dos animais suspeitos, evitando assim perdas económicas.

De forma a avaliar a importância desta afeção em Portugal, deverão ser realizados outros estudos que esclareçam o real impacto económico e a taxa prevalência da doença nas explorações de ruminantes a nível nacional.

Bibliografia

- Abebe, D. & Tessema, T.S. (2015). Determinação de *Corynebacterium pseudotuberculosis* prevalência e padrão de suscetibilidade antimicrobiana de isolados de nódulos linfáticos de ovelhas e cabras em um matadouro de exportação orgânico, Modjo, Etiópia. *Lett Appl Microbiol*, **61**, 469-476.
- Abreu, S.R.O., Mota, R.A., Forner O., Pinheiro Júnior J.W., Pereira R.R.B., Castro R.S., *et al.* (2008). Comparação genotípica de isolados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* de caprinos e ovinos do sertão de Pernambuco. *Pesq. Vet Bras*, **28**(10), 481-487.
- Abubakr, M.I., Nayel, M.N. & Fadlalla, M.E. (1999). *Corynebacterium* abscesses in camels in Bahrain. *Joof Camel Practice Res*, **6**, 107-109.
- Addo, P.B., Wilcox, G.E. & Taussig, R. (1974). Mastitis in a mare caused by *Corynebacterium ovis*. *Vet Record*, **95**, 193.
- Al-Gaabary, M.H., Osman, S.A. & Oreiby, A.F. (2009). Caseous lymphadenitis in sheep and goats: clinical, epidemiological and preventive studies. *Small Rum Res*, **87**, 116-121.
- Al-Gaabary, M.H., Osman, S.A., Ahmed, M.S. & Oreiby, A.F. (2010). Abattoir survey on caseous lymphadenitis in sheep and goats in Tanta, Egypt. *Small Rum Res*, **94**, 117-124.
- Ali, H.S. & Zaitoun, A.M. (1999). Studies on cutaneous suppurative lymphangitis in bufaloes at Assiut Governorate-Egypt. *Assoc Vet Med J*, **41**, 208-222.
- Alves, F.S.F., Pinheiro, R.R. & Pires, P.C. (1997). Linfadenite caseosa: patogenia-diagnóstico-controlo. Artigo Técnico. Documento nº27, Sobral: CE, Embrapa. Acedido em Março, 7, 2021. Disponível em <https://llibrary.org/article/linfadenite-caseosa-etilogia-e-epidemiologia.q2g5v8jy>.
- Anderson, D.E., Rings, D.M. & Kowalski, J. (2004). Infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* in five alpacas. *J Am Vet Medical Assoc*, **225**, 1743-1747.
- Andrade, J.S.L., Azevedo, S.S., Teles, J.A.A., Higino, S.S.S. & Azevedo, E.O. (2012). Ocorrência e fatores de risco associados à infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos do semiárido paraibano. *Pesq Vet Bras*, **32**(2), 116-120.
- Ansell, G.B. & Hawthorne, J.N. (1964). Catabolism. In Elsevier Publishing, *Phospholipids* (1ªEd., pp 152-174). Amsterdam.
- Arsenault, J., Girard, C., Dubreuil, P., Daignault, D., Galarneau, J.R., Boisclair, J., *et al.* (2003). Prevalence of and carcass condemnation from maedi-visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. *Prev Vet Med*, **59**, 67-81.

- Baird, G.J. (2006). Treatment of ovine caseous lymphadenitis. *Vet Rec.* **159**, 500.
- Baird, G.J. & Fontaine, M.C. (2007). *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. *J Comp Pathol*, **137**, 179-210.
- Baraúna, R.A., Ramos, R.T.J., Veras, A.A.O., Sá, P.H.C.G., Guimarães, L.C., Graças, D.A., *et al.* (2017). Genomic analysis of four strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis* bv. Equi isolated from horses showing distinct signs of infection. *Stand Genomic Sci*, **12**, 16.
- Batey, R.G. (1986). Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. *Aust Vet J*, **63**(9), 269–272.
- Belchior, S.E., Gallardo, A., Abalos, A., Jodor, N. & Jensen, O. (2006). Atualizacao sobre linfadenitis caseosa: el agente etiológico y la enfermedad. *Rev Vet Argent*, **23**, 258-278.
- Benham, C.L., Seaman, A. & Woodbine, M. (1962). *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in diseases of animals. *Vet Bull*, **32**, 645-657.
- Binns S.H., Green L.E. & Bailey M. (2007). Development and validation of an ELISA to detect antibodies to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in ovine sera. *Vet Microbiol*, **123**, 169–79
- Boinas, F., Mendes, S. & Pateira, L. (2000). Linfadenite caseosa em pequenos ruminantes em Portugal. *Vet Técnica*, **10**, 18-23.
- Braga, W.U., Chavera, A. & Gonzalez, A. (2006). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in highland alpacas (*Lama pacos*) in Peru. *Vet Rec*, **159**, 23-24.
- Braverman, Y., Chizov-Ginzburg, A., Saran, A. & Winkler, M. (1999). The role of houseflies (*Musca domestica*) in harbouring *Corynebacterium pseudotuberculosis* in dairy herds in Israel. *Rev Sci Tech Office Int Epizooties*, **18**, 681-690.
- Cetinkaya, B., Karahan, M., Atil, E., Kalin R, De Baere, T. & Veneechoutte, M. (2002). Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. *Vet Microbiol*, **88**, 75-83.
- Clarridge, J.E. & Spiegel, C.A. (1995). *Corynebacterium* and related organisms. In E. J. Barron, Ed., American Society for Microbiology, *Manual of Clinical Microbiology* (6^a Ed., pp 357-370). Washington.
- Collins, M.D. & Cummins, C.S. (1986). Genus *Corynebacterium*. In P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt, Eds, Williams and Wilkins Company, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (1^a Ed., pp 1266-1276). Baltimore.

Costa, L. (2016). Linfadenite caseosa no alto-alentejo, Portugal - *Estudo preliminar de prevalência da doença em rebanhos de pequenos ruminantes e Otimização da prova de PCR Clássico no diagnóstico e identificação de Corynebacterium pseudotuberculosis*, Acedido em Março, 14, 2021. Disponível em <http://id.bnportugal.gov.pt/bib/bibnacional/2024411>.

Costa, L.F. (2002). *Corynebacterium pseudotuberculosis*, o agente etiológico da linfadenite caseosa em caprinos. *Rev Cienc Med Biol*, **1**, 105-115.

Crawshaw, T., Daniel, R., Clifton-Hadley, R., Clark, J., Evans, H., Rolfe, S. *et al.* (2008). TB in goats caused by *Mycobacterium bovis*. *Vet Rec*, **163**, 127.

De La Fuente R., Cid D., Sanz R. & Ruiz-Santa-Quiteria J.A. (1997). An outbreak of abscess disease associated with shearing. *Small Rum Res*, **26**, 283-286.

DGAV (2020). Acedido em Outubro, 10, 2021. Disponível em <http://intranet2.dgav.pt/DSSA/Documentos%20Partilhados/Forms/AllItems.aspx?RootFolder=%2fDSSA%2fDocumentos%20Partilhados%2fSIPACE%20%2d%20Relat%c3%b3rios%2fis%20Ungulados%20e%20Lagomorfos&FolderCTID=0x0120000706DF53D2DE2A46981C49F5E3EF2CC2>).

Didkowska, A., Żmuda, P., Kwiecień E., Rzewuska, M., Klich, D., Krajewska- Wędzina, *et al.* (2020). Avaliação microbiológica de nódulos linfáticos de ovelhas com linfadenite encontrada durante *post-mortem* exame de ovelhas abatidas: implicações para o controle sanitário-veterinário da carne. *Acta Vet Scand*, **62**, 48.

Doherr, M.G., Carpenter, T.E., Wilson, W.D. & Gardner, I.A. (1999). Evaluation of temporal and spatial clustering of horses with *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. *Am J Vet Res*, **60**, 284-291.

Eggleton, D.G., Doidge, C.V., Middleton, H.D. & Minty, D.W. (1991). Immunisation against ovine caseous lymphadenitis: efficacy of the monocomponent *Corynebacterium pseudotuberculosis* toxoid vaccine and combined clostridial-corynebacterial vaccines. *Aust Vet J*, **68**, 320-321.

Eghetti, L. & McKenney, F.D. (1941). Caseous lymphadenitis of deer (*Odocoileus hemionus*) in Washington. *J Am Vet Med Assoc*, **98**, 129-131.

Ellis, T.M., Sutherland, S.S., Wilkinson, F.C., Mercy, A.R. & Paton, M.W. (1987). The role of *Corynebacterium pseudotuberculosis* lung lesions in the transmission of this bacterium to other sheep. *Aust Vet J*, **64**, 261-263.

European Food Safety Authority [EFSA] (2013). Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat from sheep and goats. *EFSA J.*, **11**(6).

Euzeby, J.P. (2005). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature, Society for Systematic and Veterinary Bacteriology. Acedido em Março, 20, 2021. Disponível em <http://www.bacterio.coct.fr>.

Fontaine, M.C. & Baird, G.J. (2008). Caseous lymphadenitis. *Small Rum Res.* **76**, 42-48.

Fontaine, M.C., Baird, G., Connor, K.M., Rudge, K., Sales, J. & Donachie, W. (2006). Vaccination confers significant protection of sheep against infection with a virulent United Kingdom strain of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Vaccine*, **24**, 5986-5996.

Fulton B.E. Jr, Portella M. & Radke, K. (2006). Dissemination of bovine leukemia virus-infected cells from a newly infected sheep lymph node. *J Virol.* **80**(16), 7873-7884.

Goldberger, A.C., Lipsky, B.A. & Plorde, J.J. (1981). Suppurative granulomatous lymphadenitis caused by *Corynebacterium ovis pseudotuberculosis*. *Am J Clin Pathol*, **76**, 486-490.

Guimarães, A.S., Carmo, F.B., Pauletti, R.B., Seyffert, N., Ribeiro D., Lage, A.P., *et al.* (2011). Caseous lymphadenitis: epidemiology, diagnosis, and control. *HIOAB J*, **2**, 33-43.

Hammersland, H. & Joneschild, E.M. (1937). Pseudotuberculosis of deer. *J Am Vet Med Assoc*, **91**, 186-192.

Hassan, S.S., Tiwari S., Guimarães L.C., Jamal S.B., Folador E., Sharma N.B., *et al.* (2014). Proteome scale comparative modeling for conserved drug and vaccine targets identification in *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *BMC Genomics*, **15**(7), 3.

Heper, Y., Mistik, R., Yerci, O., Altintas, F. & Akalin, H. (1997). Primary leptomenigeal lymphoma simulating chronic meningitis. *Clin Microbiol Infect*, **3**, 695-696.

Hosseinzadeh, S., Haghighi, M., Zehtab, K. & Shekarforoush. S.H. (1996). The frequency of caseous lymphadenitis in sheep slaughtered in Shiraz abattoir. *J Fac Vet Med Univ of Tehran*, **51**(1-2), 81-88.

House, R.W., Schousboe, M., Allen, J.P., & Grant, C.C. (1986). *Corynebacterium ovis* (pseudotuberculosis) lymphadenitis in a sheep farmer: a new occupational disease in New Zeland. *N Z Med J*, **99**, 659-662.

Ismail, A.A. & Hamid, Y.M.A. (1972). Studies on the effect of some chemical disinfectants used in veterinary practice in *Corynebacterium ovis*. *J Egypt Vet Med Assoc*, **32**, 195-202.

Join-Lambert, O.F., Ouache, M., Canioni, D., Beretti, J.L., Blanche, S., Berche, P. *et al.* (2006). *Corynebacterium pseudotuberculosis* necrotizing lymphadenitis in a twelve-year-old patient. *Pediatric Infect Dis J*, **25**, 848-851.

- Jones, T.C., Hunt, R.D. & King, N.W. (2000). In Manole, *Patologia Veterinária* (6ª Ed., pp 1415). São Paulo.
- Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. & Palmer, N. (2007). In Grant Maxie M., *Pathology of domestic animals* Elsevier (5ªEd., pp 292–294). Canada.
- Judson, R. & Songer, J.G. (1991). *Corynebacterium pseudotuberculosis*: invitro susceptibility to 39 antimicrobial agents. *Vet Microbiol*, **27**, 145-150.
- Lehmann, K.B. & Neumann, R.O. (1896). In K. B. Lehmann and R. O. Neumann, Eds, J.F. Lehmann, Munchen, *Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der Speciellen Bakteriologischen Diagnostik* (1ªEd., pp 1858-1940). Germany
- Lopez, J.F., Wong, F.M. & Quesada, J. (1966). *Corynebacterium pseudotuberculosis*. First case of human infection. *Am J Clin Pathol* **46**,562-7.
- McAllister, H.A. & Keahey, K.K. (1971). Infection of a hedgehog (*Erinaceus albiventris*) by *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Vet Rec*, **89**, 280.
- Mckean, S.C., Davies, J.K. & Moorem, R.J. (2007). Probing the heat shock response of *Corynebacterium pseudotuberculosis*: The major virulence fator, phospholipases D, is downregulated. *Res Microbiol*, **158**, 279-86.
- Mendonça, A.P., Coelho, A.C., Figueiras, A.P., Lopes, D.D., Silva, F., Quintas, H., *et al.* (2012). Guia Sanitário para Criadores de Pequenos Ruminantes. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, Portugal. ISBN 978-972-745-137-1.
- Miers, K.C. & Ley, W.B. (1980). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in the horse: study of 117 clinical cases and consideration of etiopathogenesis. *J Am Vet Med Assoc*, **177**, 250-253.
- Mills, A.E., Mitchell, R.D. & Lim, E.K. (1997). *Corynebacterium pseudotuberculosis* is a cause of human necrotising granulomatous lymphadenitis. *Pathology*, **29**, 231-233.
- Motta, R.G., Cremasco, A.C.M. & Ribeiro, M.G. (2010). Infecções por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em animais de produção. *Vet Zootec*, **17**, 200-213.
- Muckle, C.A. & Gyles, C.L. (1982). Characterization of strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Can J Comp Med*, **46**, 206-208.
- Nairn, M.E. & Robertson, J.P. (1974). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection of sheep: role of skin lesions and dipping fluids. *Aust Vet J*, **50**, 537-542.

- Neto, J.V.F., Matos, R.A.M., Júnior, F.G., Araujo, J.A.S. & Pereira, K.A. (2020). Prevalência da linfadenite caseosa em ovinos e caprinos de municípios do estado do Amazonas e sensibilidade in vitro de *Corynebacterium pseudotuberculosis* aos antimicrobianos. *Vet Zootec*, **27**, 001-010.
- Nocard, E. (1896). Caseous lymphadenitis in sheep and goats in New Zealand. *Annales de l'Institut Pasteur*, **10**, 609, Surveillance, New Zealand, **15**, 10-12.
- Nozaki, C.N., Faria, M.A.R. & Machado, T.N. (2000). Extirpação cirúrgica dos abscessos da linfadenite caseosa em caprinos. *Arq Inst Biol*, **67**, 187-189.
- O'Reilly, K.M., Green, L.E., Malone, F.E. & Medley, G.F. (2008). Parameter estimation and simulations of a mathematical model of *Corynebacterium pseudotuberculosis* transmission in sheep. *Prev Vet Med*, **83**, 242-259.
- Oliveira, M., Barroco, C., Mottola, C., Santos, R., Lemsaddek, A., Tavares, L. *et al.* (2014). First report of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from caseous lymphadenitis lesions in Black Alentejano pig (*Sus scrofa domesticus*). *BMC Vet Res*, **10**, 218.
- Olson, M.E., Ceri, H., Morck, D.W., Buret, A.G. & Read, R.R. (2002). Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res*, **66**(2), 86-92.
- Oreiby, A.F. (2015). Diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goat. *Small Rumin. Res*, **123**, 160-166.
- Oreiby, A.F. & Hegazy, Y.M. (2016). Diagnosis of ovine caseous lymphadenitis by blood and milk gamma interferon assays. *Small Rumin Res.*, **144**, 109-112.
- Osman, A.Y., Nordin, M.L., Kadir, A.A. & Saharee, A.A. (2018). The Epidemiology and Pathophysiology of Caseous Lymphadenitis: A Review. *J Vet Med Res*, **5**(3) 1129.
- Paton, M.W., Collett, M.G., Pepin, M. e Bath, G.F. (2005). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. J.A.W. Coetzer and R.C. Tustin, Eds, Oxford University Press, *Infectious Diseases of Livestock* (3^a Ed., pp 1917-1930). Southern Africa, Cape Town.
- Paton, M.W., Sutherland, S.S., Rose, I.R., Hart, R.A., Mercy, A.R. & Ellis, T.M. (1995). The spread of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection to unvaccinated and vaccinated sheep. *Aust Vet J*, **72**, 266-269.
- Paton, M.W., Walker, S.B., Rose, I.R. & Watt, G.F. (2003). Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. *Aust Vet J*, **81**, 91-95.

- Peel, M.M., Palmer, G.G., Stacpoole, A.M. & Kerr, T.G. (1997). Human lymphadenitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis*: report of ten cases from Australia and review. *Clin Infect Dis*, **24**(2), 185–191.
- Peloux, Y., Marexca, C. & Oddou, J.H. (1980). Suppurative lymphadenitis caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis*-report of a case observed in an alpine shepherd. *Nouv Presse Med (Paris)*, **42**, 3182-4.
- Pépin, M. & Paton, M. (2010). Caseous lymphadenitis in sheep and goats. Lefevre, P.C., Blancou, J., Chermette, R., Uilenberg, G., Eds, *Infectious and Parasitic Diseases of Livestock* (1ª Ed., pp 1153–1165). Lavoisier: Paris, France.
- Poonacha, K.B. & Donahue, J.M. (1995). Abortion in a mare associated with *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. *J Vet Diagn Investig*, **7**, 563-564.
- Preisz, H. & Guinard, L. (1891). Pseudo-tuberculose chez le mouton. *J Med Vet*, **16**, 563.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. & Carter, G.R. (1994). *Corynebacterium* species and *Rhodococcus equi*. Quinn PJ. *Clinical veterinary microbiology* (1ª Ed., pp 881-884.) London: Wolfe.
- Radostits, O.M., Blood, D.C. & Gay, C.C. (2007). Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses (9ª Ed., pp 830-839). Philadelphia: Bailliere Tindall.
- Radostits, O.M., Gay, C.C. & Blood, D.C. (2002). Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos (9ª Ed., pp 1737) Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. & Hinchcliff, K.W. (2000). Caseous lymphadenitis in sheep and goats. *Veterinary Medicine* (9ª Ed., pp 727-730.) W.B. Saunders, London,
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W. & Constable, P.D. (2006) Caseous lymphadenitis of sheep and goats. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of Cattle, Sheep, Goats, Pigs and Horses* (10ª Ed., pp 795–798). London: W.B. Saunders Company.
- Radusky, L.G., Hassan, S., Lanzarotti, E., Tiwari, S., Jamal S., Ali, J. *et al.* (2015). An integrated structural proteomics approach along the druggable genome of *Corynebacterium pseudotuberculosis* species for putative druggable targets. *BMC Genomics*. **16**(5), 9.
- Regulamento (UE) n.º 2017/625, de 15 de março de 20217, relativo aos controlos oficiais e outras atividades oficiais que visam assegurar a aplicação da legislação em matéria de géneros alimentícios e alimentos para animais e das regras sobre saúde e bem-estar animal, fitossanidade e produtos fitofarmacêuticos. *Jornal Oficial da União Europeia* n.º L303. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. Bruxelas.

Regulamento de Execução (UE) n.º 2019/627 de 15 de Março de 2019, que estabelece disposições práticas uniformes para a realização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano. *Jornal Oficial da União Europeia* n.º L131/51. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. Bruxelas.

Ribeiro, D., Rocha, F.S., Leite, K.M., Soares, S.C., Silva, A., Portela R.W. et al. (2014). An iron acquisition deficient mutant of *Corynebacterium pseudotuberculosis* efficiently protects mice against challenge. *Vet Res*, **45**(1), 28.

Ribeiro, M.G., Dias Junior, J.G., Paes, A.C., Barbosa, P.G., Nardi Junior, G. & Listoni, F.J.P. (2001). Punção aspirativa com agulha fina no diagnóstico do *Corynebacterium pseudotuberculosis* na linfadenite caseosa caprina. *Arq Inst Biol*, **68**, 23-28.

Richards, M. & Hurse, A. (1985). *Corynebacterium pseudotuberculosis* abscesses in a young butcher. *Aust NZ J Med*, **15**, 85-6.

Riet-Correa, F. (2007). Linfadenite caseosa. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R. (Eds.), *Doenças de Ruminantes e Equídeos* (3ªEd., pp.347-352) Pallotti, Santa Maria.

Ruiz, H., Ferrer, L.M., Ramos, J.J., Baselga, C., Alzuguren, O., Tejedor, M.T., et al. (2020). The Relevance of Caseous Lymphadenitis as a Cause of Culling in Adult Sheep, Zaragoza, Spain.

Selim, A.S. (2001). Oedematous skin disease of buffalo in Egypt. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, **48**(4), 241–258.

Senturk, S. & Temizel, M. (2006). Clinical efficacy of rifamycin SV combined with oxytetracycline in the treatment of caseous lymphadenitis in sheep. *Vet Rec*, **159**, 216-217.

Seyffert N., Silva R.F., Jardim J., Silva W.M., Castro T.L., Tartaglia N.R., et al. (2014). Serological proteome analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolated from different hosts reveals novel candidates for prophylactics to control caseous lymphadenitis. *Vet Microbiol* **174**(1-2), 255-260.

Seyffert, N., Guimarães, A.S., Pacheco, L.G., Portela, R.W., Bastos, B.L., Dorella, F.A., et al. (2010). High seroprevalence of caseous lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted proteins-based ELISA. *Res Vet Sci*, **88**, 50-55.

Shpigel, N.Y., Elad, D., Yeruham, I., Winkler, M. & Saran, A. (1993). An outbreak of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in an Israeli dairy herd. *Vet Rec*, **133**, 89-94.

Silva J.W., Droppa-Almeida D., Borsuk S., Azevedo V., Portela R.W., Miyoshi A., et al. (2014). *Corynebacterium pseudotuberculosis* cp09 mutant and cp40 recombinant protein partially protect mice against caseous lymphadenitis. *BMC Vet Res*, **20**(10), 965.

- Silva R.M.M., Cerqueira R.B., Vieira V.P., Ribas J.R.L., Nascimento K.A., Pimentel L.A., *et al.* (2018). Not all abscesses in small ruminants are caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Nem todo abscesso em pequenos ruminantes é causado por *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Pesq Vet Bras*, **38**(10), 1902-1908.
- Smith, P.B. (2003). *Large animal internal medicine*. (4ª Ed., pp 937-998) Mosby, St. Louis.
- Songer, J.G. (1997). Bacterial phospholipases and their role in virulence. *Trends Microbiol.*, **5**(4), 156-160.
- Souza M.F., Carvalho A.Q., Garino Junior F. & Riet-Correa F. (2011). Linfadenite caseosa em ovinos deslanados abatidos em um frigorífico da Paraíba. *Pesq Vet Bras*, **31**(3), 224-230.
- Spier, S.J., Leutenegger, C.M., Carroll, S.P., Loye, J.E., Pusterla, J.B., Carpenter, T. E., *et al.* (2004). Use of a real-time polymerase chain reaction-based fluorogenic 5' nuclease assay to evaluate insect vectors of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in horses. *Am J Vet Res*, **65**, 829-834.
- Stanford, K., Brogden, K. A., McClelland, L. A., Kozub, G. C. & Audibert, F. (1998). The incidence of caseous lymphadenitis in Alberta sheep and assessment of impact by vaccination with commercial and experimental vaccines. *Can J Vet Res*, **62**(1), 38-43.
- Steefforth, D. & Marutsov, P. (2017). Ulcerative lymphangitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Bulgarian Holstein dairy cows.
- Stoops, S.G., Renshaw, H.W. & Thilsted, J.P. (1984). Ovine caseous lymphadenitis: disease prevalence, lesion distribution, and thoracic manifestations in a population of mature culled sheep from western United States. *Am J Vet Res*, **45**, 557-561.
- Sunil, V., Menzies, P.I., Shewen, P.E & Prescott F.F. (2008). Performance of a whole blood interferon-gamma assay for detection and eradication of caseous lymphadenitis in sheep. *Vet Microbiol*, **128**, 288-597
- Umer, M., Abba, Y., Abdullah, F.F.J., Saleh, W.M.M., Haron, A.W., Saharee, A., *et al.* (2017). Caseous lymphadenitis in small ruminants: An overview on reproductive implications. *Int J Vet Sci Anim Husbrandy*, **2**(2), 23-31.
- Valli, V.E. & Parry, B.W. (2007). Caseous lymphadenitis. In Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N (Eds.), *Pathology of domestic animals* (5ªEd., pp 238-240). San Diego: Academic Press
- Vathsala M.M. (2006). Record of caseous lymphadenitis in sheep. *Indian Vet J*, **83**, 1220-1.
- Williamson, L.H. (2001). Caseous lymphadenitis in small ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, **17**(2), 359-371.

Winter, A.C. & Clarkson, M.J. (2012). *A handbook for the sheep clinician* (7^a Ed., pp 116-117). United Kingdom, Cabi.

Yeruham, I., Braverman, Y., Shpigel, N.Y., Chizov-Ginz-Burg, A., Saran, A. & Winkler, M. (1996). Mastitis in dairy cattle caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* and the feasibility of transmission by houseflies. *Vet Q*, **18**, 87-89.

Yeruham, I., Elad, D., Friedman, S. & Perl, S. (2003). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in Israeli dairy cattle. *Epidemiol Infect*, **131**, 947-955.

Yirrell, D.L., Reid, H.W., Norval, M., Entrican, G. & Miller, H.R. (1991). Response of efferent lymph and popliteal lymph node to epidemiological infection of sheep with orf virus. *Vet Immunol Immunopathol*, **28**(3-4), 219-235.

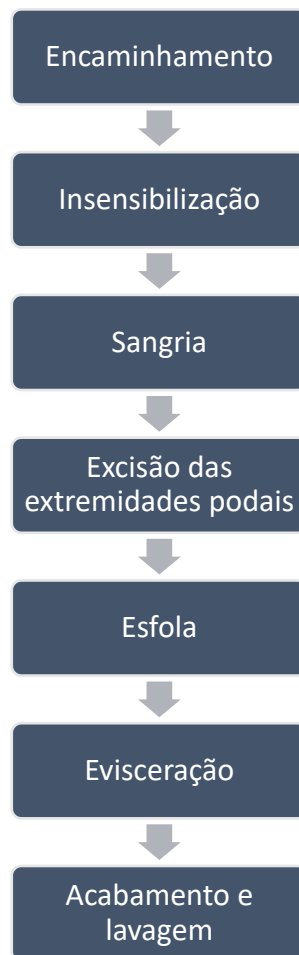
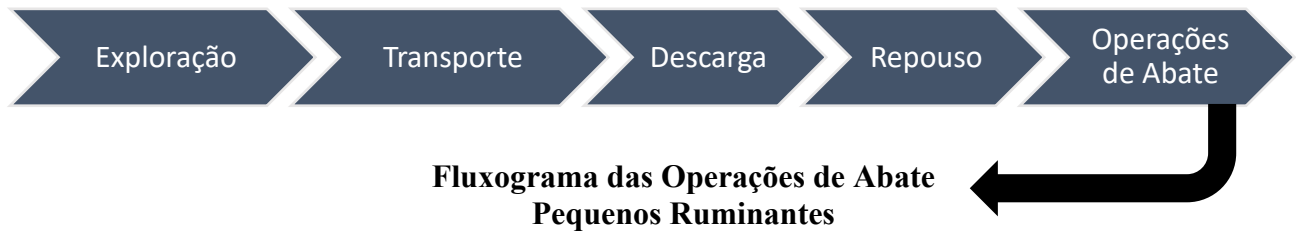
Zarraga, C.C., Scaramelli, A. & Valeiron, C.R. (2006). Bacteriological characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Venezuelan goat flocks. *Small Rumin Res*, **65**, 170-175.

Zavoshti, F.R., Khoojine, A.B.S., Helan, J.A., Hassanzadeh, B. & Heydari, A.A. (2012). Frequência de linfadenite caseosa (CLA) em ovinos abatidos em matadouro de Tabriz: comparação da cultura bacteriana e estudo patológico. *Caminho Comp Clin*, **2**, 667-71.

Zhao, H.K., Yonekawa, K., Takahashi, T., Kikuchi, N., Hiramune, T. & Yanagawa, R. (1993). Isolation of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from the cervical canal of clinically normal sows. *Res Vet Sci*, **55**, 356-35.

ANEXOS

I – Fluxograma de abate de pequenos ruminantes



II – Linha de Bovinos



Figura 1 – Abegoaria.

Fonte: original da autora.



Figura 2 – Corredor de encaminhamento.

Fonte: original da autora.



Figura 3 – Caixa de contenção e insensibilização

Fonte: original da autora.



Figura 4 – Avaliação da eficácia da insensibilização.

Fonte: original da autora.

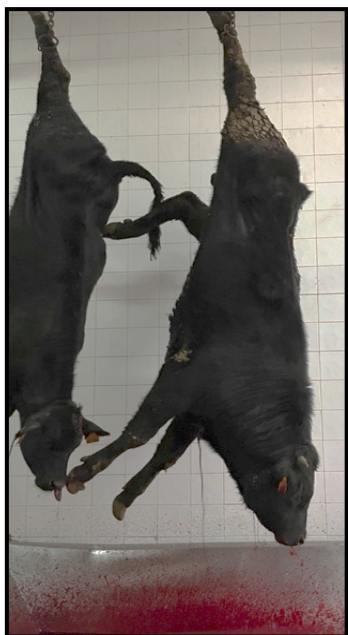


Figura 5 – Sangria.
Fonte: original da autora.



Figura 6 – Zona de Corte das extremidades podais.
Fonte: original da autora.



Figura 7 – Efolia manual.
Fonte: original da autora.



Figura 8 – Corte da cabeça.
Fonte: original da autora.



Figura 9 – Cabeças para consumo.

Fonte: original da autora.



Figura 10 – Corte do externo.

Fonte: original da autora.



Figuras 11 – Remoção das vísceras das cavidades abdominal e pélvica.

Fonte: original da autora.



Figura 12 – Triparia.

Fonte: original da autora.



Figura 13- Remoção das vísceras vermelhas.
Fonte: original da autora.



Figura 14 – Secção longitudinal da carcaça.
Fonte: original da autora.



Figura 15 – Secção longitudinal da carcaça.
Fonte: original da autora.



Figura 16 – Inspeção das vísceras da cavidade torácica.
Fonte: original da autora.



Figura 17 – Inspeção das línguas.

Fonte: original da autora.



Figura 18 – Remoção da medula, pesagem, etiquetagem, classificação e marca de salubridade.

Fonte: original da autora.

III – Relatórios de Histopatologia

Relatório de Histopatologia

Nº interno: UH168/20

Nº Entrada:

Data de Recepção:

Referência do Animal:	PR1
Nome do Proprietário:	Matadouro
Espécie/Raça:	Ovino
Idade:	>18 meses
Sexo:	---

Exame Pretendido:	Histopatologia
Entidade Veterinária:	FMV-ULHT
Médico Veterinário:	Projeto Rafael Rotilio
Número de Telefone:	
Número de Fax:	-

História pregressa:

Reprovação parcial matadouro – linfadenite caseosa.

Amostra: Recebido um contentor com uma amostra conservada em formol.

R1) Peça de linfadenectomia com 3cm x 2cm. Após seção a superfície é branca, brilhante e homogénea.
2C2FCR

Descrição microscópica:

O linfonodo apresenta a sua arquitetura alterada devido à presença de lamelas concêntricas de necrose de caseificação delimitados por cápsula fibrosa

Conclusão:

Linfadenite caseosa compatível com pseudotuberculose

Data da Análise:

O Médico Veterinário:



Pedro Faísca
OMV 2586

Relatório de Histopatologia

Nº interno: UH169/20

Nº Entrada:

Data de Recepção:

Referência do Animal:	PR2
Nome do Proprietário:	Matadouro
Espécie/Raça:	Ovino
Idade:	>18 meses
Sexo:	---

Exame Pretendido:	Histopatologia
Entidade Veterinária:	FMV-ULHT
Médico Veterinário:	Projeto Rafael Rotilio
Número de Telefone:	
Número de Fax:	-

História pregressa:

Reprovação total matadouro – linfadenite caseosa.

Amostra: Recebido um contentor com uma amostra conservada em formol.

R2A) Peça de linfadenectomia com 1,5cm de diâmetro. Após seção, apresenta zonas de consistência pétrea e cor branca. Observa-se centro necrótico. 2C2FCR.

R2B) Na gordura adjacente isolou-se outro linfonodo com 0,5cm de diâmetro. Após seção não apresentava alterações. 1C1FCR

Descrição microscópica:

R2A) Peça de linfadenectomia que apresenta a sua normal arquitetura quase totalmente obliterada. Observam-se extensos focos de necrose de caseificação e extensos focos calcificação distrófica. Não se observam agentes patogénicos com a coloração de rotina

R2B) Peça de linfadenectomia que apresenta a sua normal arquitetura quase totalmente obliterada. Observam-se extensos focos de necrose. Não se observam agentes patogénicos com a coloração de rotina

Conclusão:

Imagem compatível com linfadenite caseosa

Data da Análise:

O Médico Veterinário:



Pedro Faísca
OMV 2586