

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA

MENINGOENCEFALITE POR *Listeria monocytogenes* EM UM CERVO-DAMA
(*Dama dama*) DE CATIVEIRO

Felipe Soares de Souza

Porto Alegre

Janeiro / 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE VETERINÁRIA

**MENINGOENCEFALITE POR *Listeria monocytogenes* EM UM CERVO DAMA
(*Dama dama*) DE CATIVEIRO**

Discente: Felipe Soares de Souza

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário

Orientador: Cláudio Estêvão Farias da Cruz.

Co-orientador: Fabiana Marques Boabaid.

Porto Alegre

Janeiro / 2013

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo dama. Recinto em que o cervo era mantido em cativeiro com outros cervos e outras espécies de mamíferos e aves silvestres..... **10**
- Figura 2:** Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo dama. Note que a leptomeninge apresenta congestão acentuada. **11**
- Figura 3:** Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo dama. Ponte com área focal extensa de malácia. Há ainda infiltrado acentuado de células Gitter circundando o foco de necrose. HE. Obj. 10. **12**
- Figura 4:** Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo dama. Múltiplos focos de infiltrado purulento (microabscessos) na região do hipotálamo. HE. Obj. 20. **13**
- Figura 5:** Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo dama. Bastonetes Gram-positivos na região do hipotálamo, evidenciados pela coloração de Brow-Hopps (setas) Obj. 40. **14**
- Figura 6:** Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo dama. Marcação positiva de bactérias no citoplasma de células inflamatórias. Imuno-histoquímica anti-*Listeria monocytogenes* pelo método biotina-estreptavidina ligada a peroxidase. Cromógeno DAB. Obj. 40. **15**

SUMÁRIO

Resumo	5
Abstract	6
Introdução	7
Material e métodos	9
Resultados	10
Discussão	16
Conclusões	18
Referências bibliográficas	Erro! Indicador não definido.

RESUMO

Listeriose é uma doença causada por *Listeria* spp. e manifestada na forma de abortos, septicemia, ou encefalite. Meningoencefalite com microabscessos é observada, sobretudo no tronco encefálico. Um caso de doença neurológica, ocasionada por *Listeria monocytogenes* é descrito em um cervo dama (*Dama dama*) mantido em cativeiro no estado do Rio Grande do Sul. Foram observados sinais clínicos de depressão, andar em círculos, incoordenação motora, decúbito e morte. A necropsia revelou congestão das leptomeninges. Os achados histológicos mais importantes foram meningoencefalite mononuclear a supurativa, multifocal acentuada, associada com infiltrado de células Gitter e formação de microabscessos. Bactérias Gram positivas foram observadas pela coloração de Brow-Hopps, enquanto o exame imuno-histoquímico anti-*Listeria monocytogenes* revelou intensa marcação positiva. O diagnóstico foi estabelecido por meio da observação de sinais clínicos e achados patológicos e confirmado pelo teste de imuno-histoquímica. Portanto, a listeriose deve ser considerada no diagnóstico de enfermidades que causam sinais clínicos neurológicos em ruminantes silvestres.

PALAVRAS-CHAVE: listeriose, animais silvestres, neuropatologia, imuno-histoquímica.

ABSTRACT

Listeriosis is a disease caused by Listeria spp that is characterized by abortion, septicaemia or encephalitis. Meningoencephalitis with micro-abscesses is observed mainly in the brainstem. A neurological disease, caused by Listeria monocytogenes, is described in a captive Fallow Deer (Dama dama) in Rio Grande do Sul state, southern Brazil. Clinical signs, such as, depression, walk in circles, incoordination, recumbency and death were shown. Necropsy revealed leptomeningeal congestion. The main histological findings were marked multifocal meningoencephalitis mononuclear to suppurative, infiltration by Gitter cells and micro-abscesses formation. Gram-positive bacteria were observed by Brow-Hopps special stain and anti-Listeria monocytogenes immunohistochemistry (IHC) has evidenced a strong positive marking. The diagnosis was based on clinical signs and pathological findings but confirmed by IHC. Therefore, this disease is an important differential diagnosis in neurological conditions of wild ruminants.

KEYWORDS: *listeriosis, wild animals, neuropathology, immunohistochemistry.*

INTRODUÇÃO

Listeriose é uma enfermidade ocasionada por bactérias Gram-positivas do gênero *Listeria* que pode apresentar três síndromes clínicas: abortamento, quadros de septicemia com formação de abscessos em diversos órgãos, ou doença neurológica (MAXIE & YOUSSEF, 2007). O gênero inclui *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* e *L. ivanovii* (ssp. *ivanovii* e *londoniensis*) (VÁZQUEZ-BOLAND et al., 2001). São bactérias móveis, intracelulares, anaeróbias facultativas, com faixa de temperatura de crescimento ótima entre 30 a 37°C. Entretanto, pode reproduzir-se a temperaturas entre - 0,4 e 45 °C e em pH 4,5 a 9,6 (COOPER E WALKER, 1998; WINTER et al., 2004; RADOSTITS et al. 2006).

A listeriose afeta, principalmente, ruminantes e, particularmente, ovelhas. A maior parte dos surtos é causada por *L. monocytogenes*, seguida por *L. innocua* e *L. ivanovii* (RADOSTITS et al. 2006, SCHILD, 2007; BRUGÈRE-PICOUX, 2008). O desenvolvimento de sinais clínicos, frequentemente, está associado com períodos de estresse e imunodepressão (COOPER E WALKER, 1998).

Listeria monocytogenes é encontrada em diversos ambientes, como solo, água, pastagem, silagem e matéria orgânica (HASSAN et al., 2001). O alimento mal conservado, principalmente, silagem é a principal fonte de infecção para ruminantes (BAIXO E DONACHIE, 1997; VAZQUEZ-BOLAND et al., 2001; WIEDMANN, 2003). Água contaminada por fezes de aves portadoras da bactéria, insetos vetores, além de outras fontes também devem ser consideradas (COOPER E WALKER, 1998).

Acredita-se que a doença encefálica decorra da penetração do agente através de erosões na mucosa oral, ou por infecção das cavidades dentárias, chegando ao tronco encefálico por via neurógena, pelos nervos trigêmeo e facial (BARROS, 2006). Experimentos recentes evidenciam o transporte bacteriano por via nervosa, após inoculação periférica de *L. monocytogenes* e confirmam a hipótese da propagação bacteriana transneuronal (ANTAL, 2005).

L. monocytogenes afeta várias espécies de animais e, geralmente, em forma de surtos. Ruminantes, suínos, coelhos, aves e animais recém-nascidos são afetados, na maioria das vezes pela forma septicêmica. A bactéria é causa de aborto, principalmente, em ovinos e bovinos e de doença neurológica em ovinos, caprinos e bovinos (SCHNEIDER, 1994, SUMMERS, 1995).

Em ruminantes, a forma neurológica pode ocorrer tanto em surtos como de forma esporádica, com morbidade baixa e letalidade alta (RISSI, 2006). A doença encefálica, geralmente, é subaguda em bovinos e aguda em ovinos e caprinos e se manifesta como perturbações de consciência e respiração, graus variados de deficiência motora e sensorial, desvio da cabeça, andar em círculos, decúbito, cegueira, febre e sialorreia (SCHNEIDER, 1994, ANTAL, 2005, RISSI, 2010).

As lesões macroscópicas não são comuns, mas podem se manifestar como hiperemia das leptomeninges e turvamento do líquido cefalorraquidiano. Ocasionalmente, em cortes transversais do tronco encefálico, observam-se focos castanho-amarelados de malácia (SUMMERS, 1995). As alterações microscópicas consistem em microabscessos, manguitos mononucleares, degeneração axonal e presença de células de Gitter. Essas lesões distribuem-se de forma assimétrica, principalmente, no bulbo e na ponte, mas podem ocorrer em qualquer porção do tronco encefálico, desde o tálamo até a medula espinhal (RISSI, 2006).

Este trabalho relata os achados clínico-patológicos e imuno-histoquímicos de um caso de listeriose neurológica em cervo-dama (*Dama dama*) cativo.

MATERIAL E MÉTODOS

O histórico clínico foi informado pelo veterinário responsável pelo zoológico e o cervo foi necropsiado pela equipe do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande Sul (SPV-UFRGS), no mês de outubro de 2009. Fragmentos de diversos órgãos foram coletados em solução de formalina a 10%. Após a fixação, foram selecionados os cortes do encéfalo: bulbo na região do óbex, cerebelo, ponte na altura dos pedúnculos cerebelares, mesencéfalo na altura dos colículos rostrais, lobo telencefálico occipital, córtex parietal com o hipocampo e tálamo subjacentes e lobo telencefálico frontal. Posteriormente, as amostras foram processadas por técnicas histológicas rotineiras e coradas por hematoxilina e eosina (HE). Secções de encéfalo foram submetidas à coloração especial de Brown-Hopps (PROPHET, 1992).

Para realização da técnica de imuno-histoquímica, cortes de tecidos encefálicos foram preparados em lâminas de Poli-L-lisina 10%. As lâminas foram submetidas à inibição da peroxidase endógena com metanol e peróxido de hidrogênio a 10%, em seguida foram imersas em leite desnatado, por 30 minutos e incubadas com anticorpo primário policlonal anti-antígeno celular de *Listeria monocytogenes* (BD[®]), na diluição de 1:1000 a temperatura de 4°C *overnight*. A imuno-histoquímica foi realizada pela técnica de estreptavidina-biotina ligada a peroxidase (Kit LSAB HRP, Dako[®]) e, na revelação, utilizou-se como cromógeno o DAB (Dako[®]).

RESULTADOS

Um cervídeo (*Dama dama*), macho, de dois anos de idade, mantido em cativeiro, em um amplo recinto, no zoológico do município de Gravataí, Rio Grande do Sul. O cervo tinha acesso a pastagem nativa e recebia cana-de-açúcar triturada fresca. No mesmo recinto dos cervos-dama, havia outras espécies de mamíferos e aves silvestres, entre os quais, cervos-nobres (*Cervus elaphus*), camelos (*Camelus bactrianus*), zebras (*Equus burchelli*), capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), emas (*Rhea americana*), cisnes-negros (*Cygnus atratus*), etc. (Figura 1).



Figura 1: Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo-dama. Recinto em que os cervos-dama são mantidos, juntamente, com outras espécies de mamíferos e aves silvestres.

Segundo o veterinário, em outubro de 2009, o cervo iniciara um quadro de depressão, mantendo-se afastado dos demais cervídeos do grupo. Subsequentemente, apresentou andar em círculos, incoordenação, dificuldades de manter-se em estação e úlcera de córnea esquerda, na qual em que se realizou procedimento de recobrimento por flap de terceira pálpebra. Após cinco dias, os sinais progrediram para decúbito lateral e morte.

Durante a necropsia, observou-se palidez das mucosas conjuntivais e oral e opacidade e ulceração da córnea esquerda, após remoção da sutura. A única alteração observada no encéfalo foi congestão difusa dos vasos sanguíneos das leptomeninges (**Figura 2**). O jejuno apresentava mucosa, difusamente, avermelhada com conteúdo liquefeito, avermelhado e coágulos sanguíneos, enquanto o intestino grosso continha fezes enegrecidas. No abomaso, a mucosa demonstrava petéquias, equimoses e ulcerações multifocais de, aproximadamente, 2 cm de diâmetro.

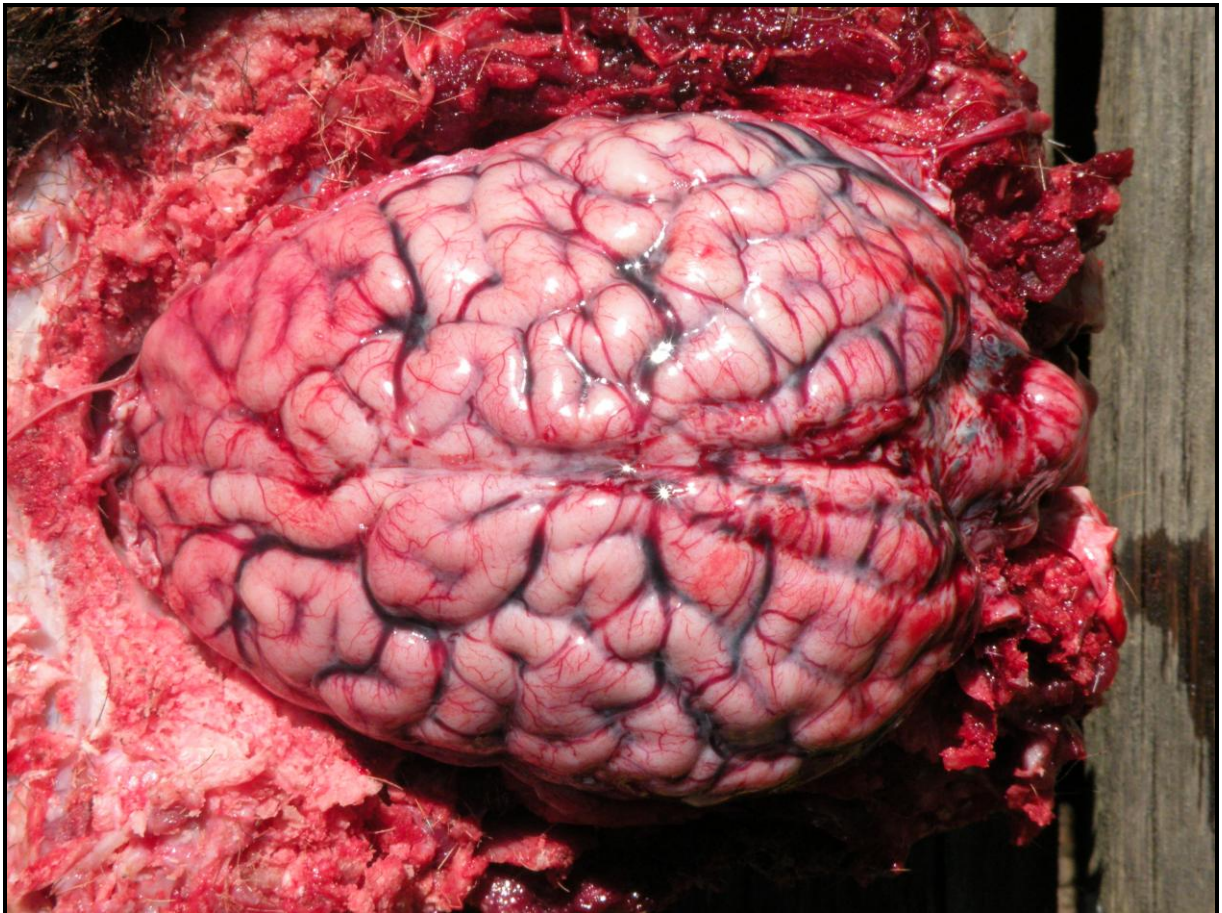


Figura 2: Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo-dama. Note que a leptomeninge apresenta congestão acentuada.

Na histologia do encéfalo, observaram-se, na região do óbex e da ponte, focos extensos de malácia (**Figura 3**) assimétrica com infiltrado de células Gitter, formação de esferoides axonais, trombose e manguitos perivasculares, predominantemente, linfoplasmocitários. Nas regiões do hipotálamo e mesencéfalo, havia extensas áreas de malácia com abundante infiltrado inflamatório purulento, por vezes, formando microabscessos (**Figura 4**), além de gliose e vasos com endotélio reativo e trombose,

circundados por espessos manguitos perivasculares mistos, com exsudação de fibrina. Em todos os cortes encefálicos, foi observada congestão difusa com trombos ocasionais e corpúsculos de choque. No gânglio trigeminal, havia ganglioneurite não supurativa multifocal moderada e trombose difusa acentuada na *rete mirabile*. No olho esquerdo, havia necrose da camada superficial da córnea com infiltrado inflamatório supurativo discreto. No intestino delgado, foi observada hemorragia multifocal moderada e congestão difusa com exsudação de fibrina e trombos em vasos da submucosa, enquanto que, no intestino grosso, havia sangue digerido na luz e sobre a mucosa. O abomaso apresentava áreas de necrose da lâmina própria com focos de hemorragia e degeneração fibrinoide da parede de vasos da submucosa adjacente. Observou-se ainda hemossiderose difusa acentuada no baço e nos linfonodos mesentéricos.

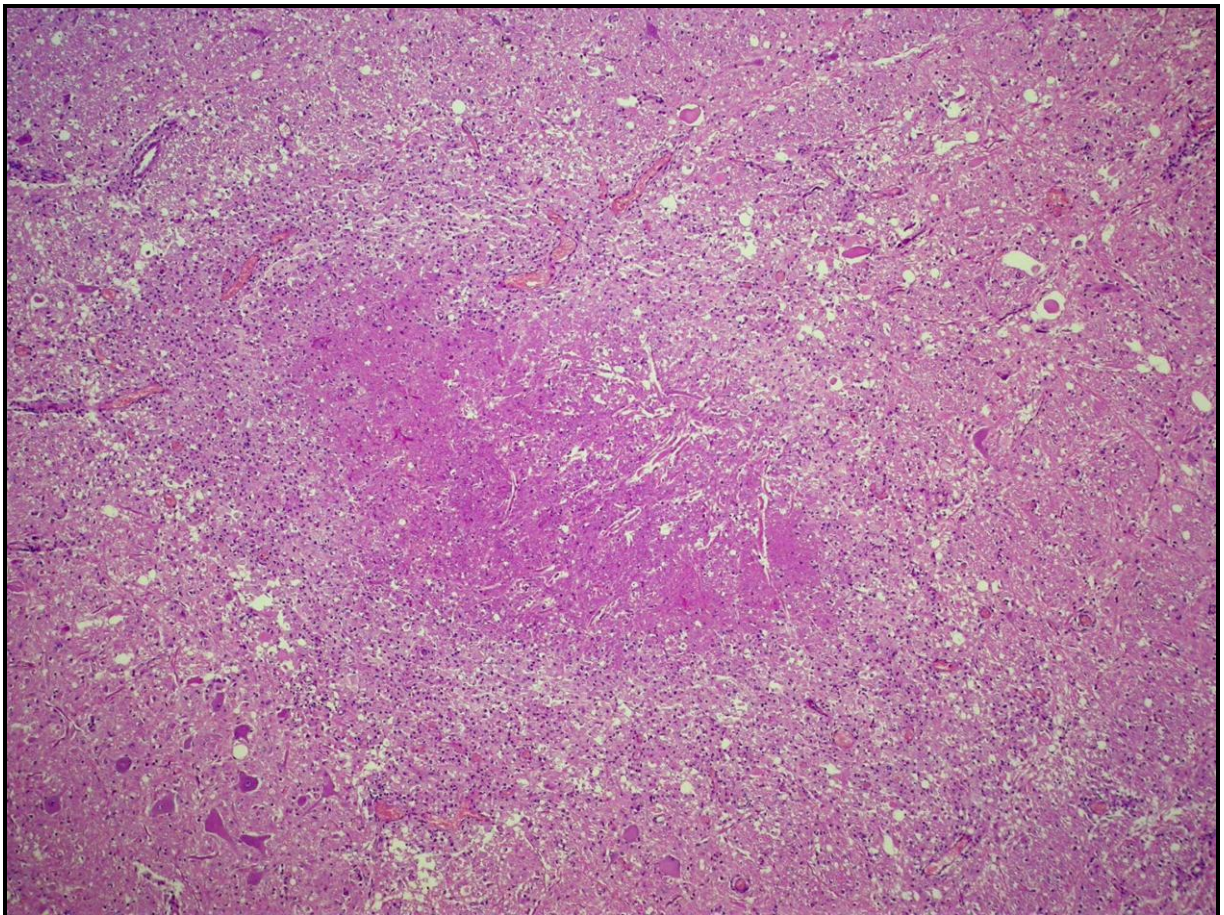


Figura 3: Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo dama. Ponte com área focal extensa de malácia. Há infiltrado acentuado de células Gitter circundando o foco de necrose. HE. Obj. 10.

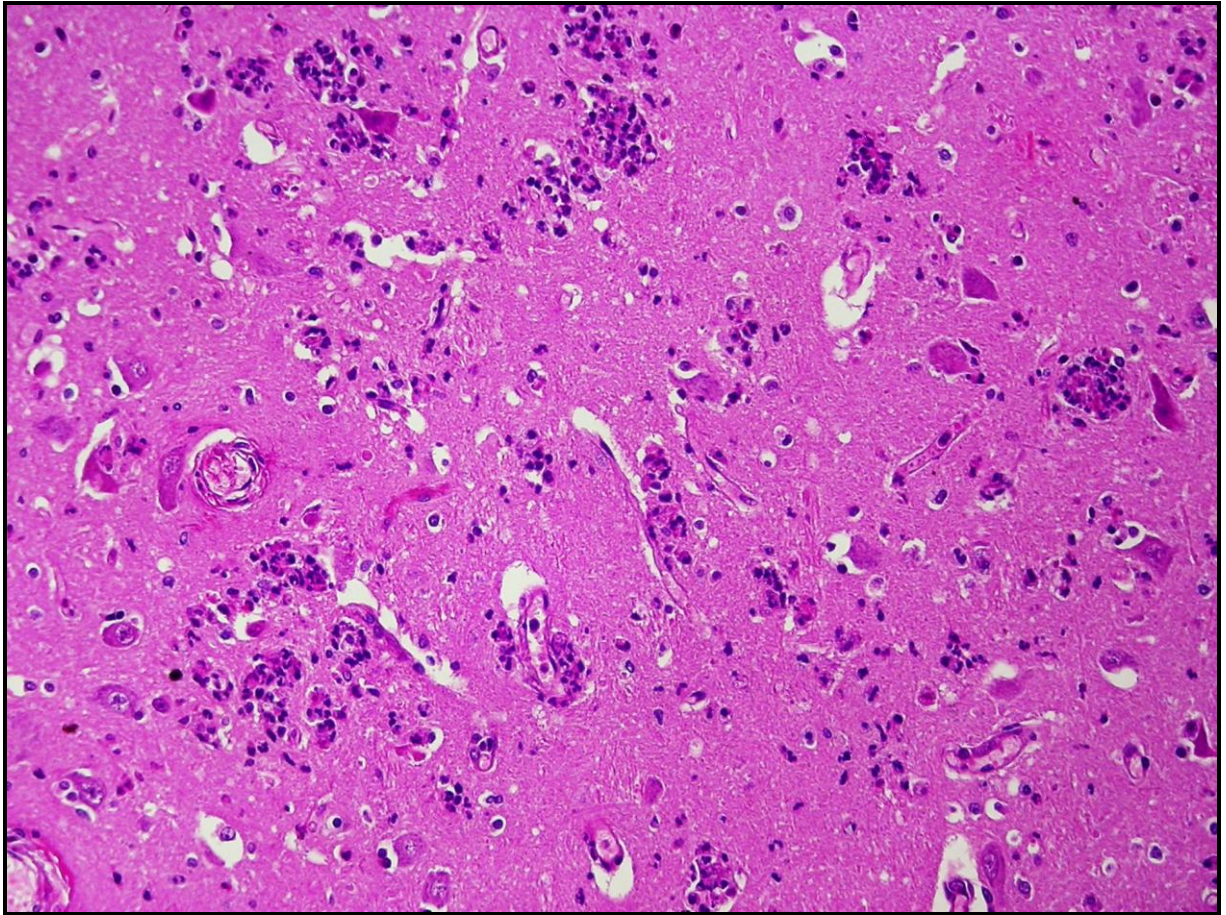


Figura 4: Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo-dama. Múltiplos focos de infiltrado purulento (microabscessos) na região do hipotálamo. HE. Obj. 20.

Na coloração de Brow-Hopps, evidenciou-se bactérias Gram-positivas (**Figura 5**), com forma de bastonetes foram evidenciadas nas áreas de lesão encefélica. Quando submetidas ao teste de imuno-histoquímica anti-*Listeria monocytogenes*, essas áreas apresentaram marcação positiva (**Figura 6**), principalmente, nos focos de encefalite purulenta.

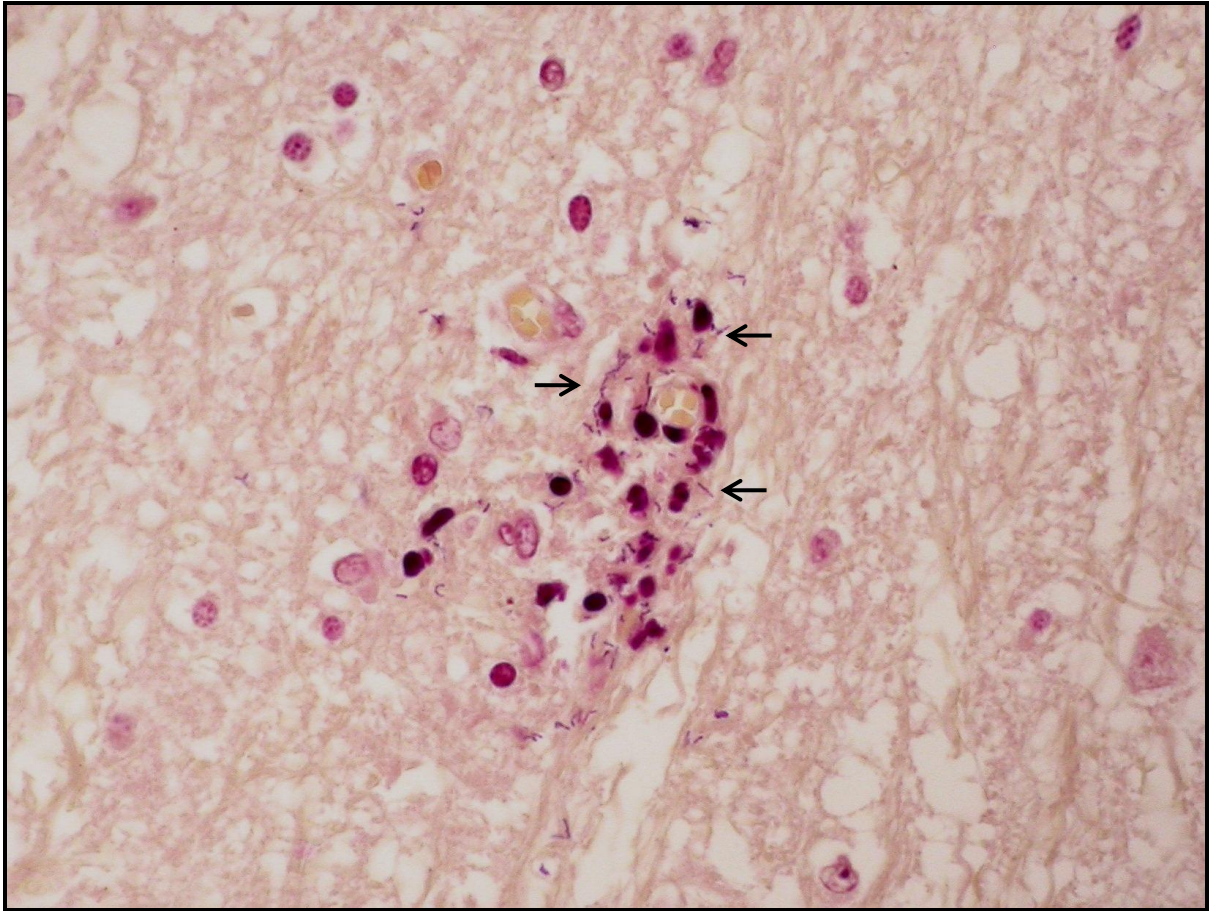


Figura 5: Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo-dama. Bastonetes Gram-positivos na região do hipotálamo, evidenciados pela coloração de Brow-Hopps (setas) Obj. 40.

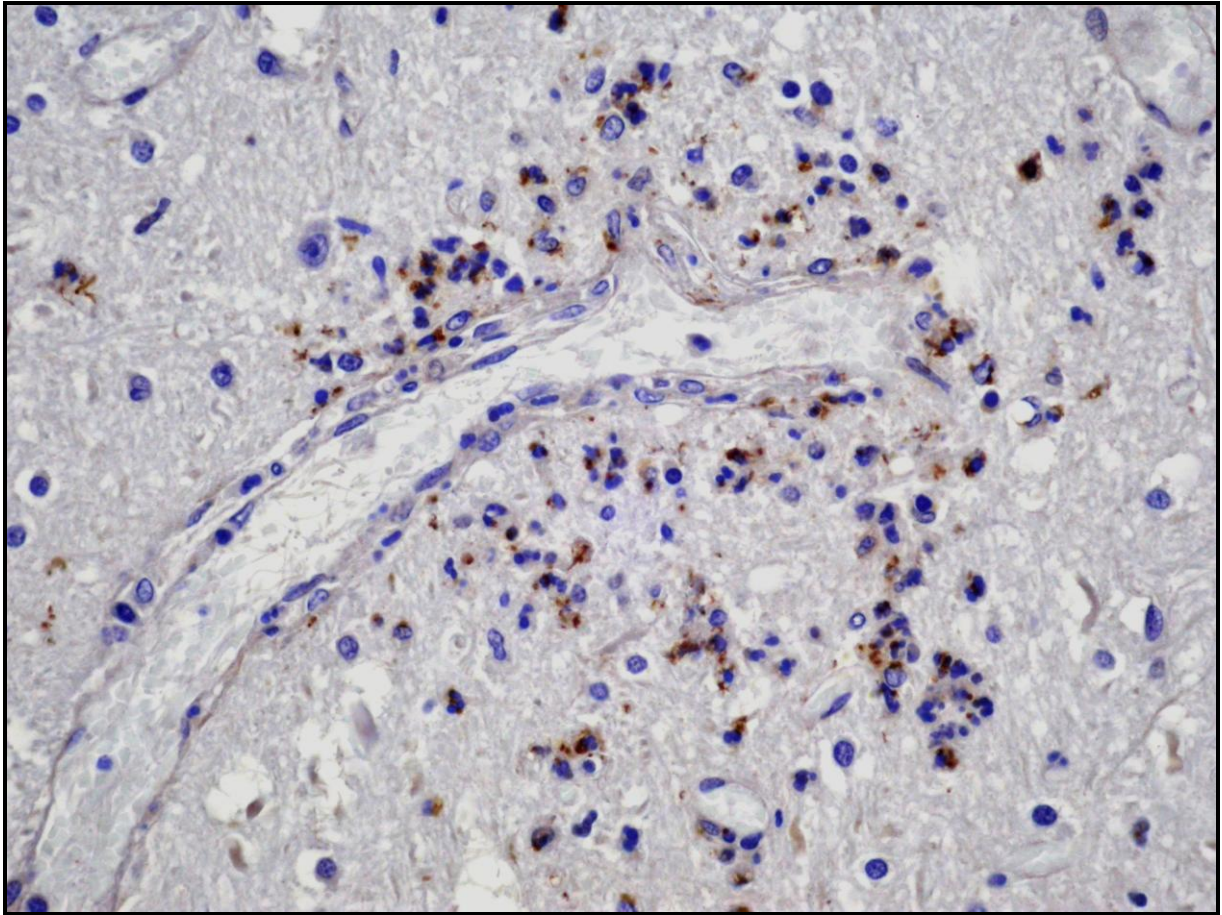


Figura 6: Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em um cervo-dama. Marcação positiva de bactérias no citoplasma de células inflamatórias. Imuno-histoquímica anti-*Listeria monocytogenes* pelo método biotina-estreptavidina ligada à peroxidase. Cromógeno DAB. Obj. 40.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de listeriose foi estabelecido com base nos achados histológicos semelhantes aos descritos em outras espécies de ruminantes (SCHILD, 2007; BRUGÈRE-PICOUX, 2008; RISSI et al. 2006; RISSI et al. 2010) e na marcação positiva para imunohistoquímica anti-*Listeria monocytogenes*. O tronco cerebral é a localização de maior parte das lesões que incluem componentes supurativos e não-supurativos, conforme observado nas lesões histológicas desse caso (SCHLUTER et al, 1996,.. ANTAL et al, 1999).

A abrasão ocasionada pelo alimento fornecido ao cervo pode ter ocasionado lesões na mucosa oral que pudessem servir como porta de entrada para a bactéria, a qual, a partir daí, poderia ser transportada até o cérebro por via nervosa e desencadear reação inflamatória no sistema nervoso central.

Casos de listeriose em ruminantes têm sido descritos em outros países, durante o inverno e associados à contaminação de silagem, já que a bactéria consegue se desenvolver em baixas temperaturas, comparado às exigências de temperatura mais elevadas de outras bactérias (BRUGÈRE-PICOUX, 2008). Esse caso, no entanto, ocorreu durante a primavera e sem fornecimento de silagem, semelhantemente ao ocorrido em outros surtos de listeriose descritos em ruminantes no Brasil (SCHILD, 2007; RISSI et al. 2010).

Em um surto de mortalidade em cervos-dama, *L. monocytogenes* foi isolada do solo e fezes de animais saudáveis, os quais foram considerados possíveis fontes de infecção (ANDRADE NETO, 2007). A manutenção do cervo em um recinto coletivo com outros mamíferos e aves, possíveis portadores assintomáticos, explicaria a contaminação ambiental, enquanto que a concentração de animais de diversas espécies na área contribuiria para aumentar a quantidade de matéria orgânica presente no solo.

Tendo em vista que a enfermidade ocorreu de forma isolada, sugere-se que algum fator imunossupressor tenha possibilitado seu desencadeamento, conforme sugerido, previamente (BARROS, 2006; ANDRADE NETO, 2007). Fatores estressantes como restrição alimentar, altas densidades populacionais e disputas sociais podem ser considerados determinantes da queda da imunidade desses animais. Opacidade e ulceração de córnea contribuem para essa hipótese, pois semelhantes alterações ocorrem, frequentemente, após eventos de imunossupressão prolongada (ANDREWS, 2004).

A técnica de imunohistoquímica tem demonstrado ser efetiva no diagnóstico da infecção por *Listeria monocytogenes*, inclusive com maior sensibilidade que a coloração de

Gram e o isolamento bacteriano (LOEB, 2004, RISSI et al. 2006). Nesse caso, o material não foi remetido para exame bacteriológico e a imuno-histoquímica foi um método efetivo para o diagnóstico em tecidos fixados em parafina.

CONCLUSÕES

A listeriose deve ser considerada no diagnóstico de enfermidades que causam sinais clínicos neurológicos em ruminantes silvestres.

A apresentação clínica, lesões macro e microscópicas são semelhantes às descritas em ruminantes domésticos.

Há fatores epidemiológicos e ambientais pouco esclarecidos na apresentação dessa enfermidade em nosso país e, sobretudo em ruminantes silvestres.

A imuno-histoquímica é uma técnica com sensibilidade e especificidade satisfatórias para o diagnóstico *post mortem* dessa doença.

A determinação da causa da morte em animais de criação e de cativeiro permite o reconhecimento dos agentes causadores de doença e, conseqüentemente, a tomada de atitude frente ao desafio representado pelas doenças.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE NETO, J. P. Neurologia. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. 1. ed. São Paulo: Rocca, cap. 66, p. 1118. 2007.
- ANDREWS, A.H. et al. **Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle**. 2th Edition. Blackwell Science. Oxford, UK. Vol. 12, p. 1194. 2004.
- ANTALL, A., BRACHT, P.; MELBY K.K.; MAEHLEN, J. Evidence for Intraaxonal spread of *Listeria Monocytogenes* from the Periphery to the Central Nervous System. **Research Article-Brain Pathology**. Oslo. Vol. 11, p. 432-438. 2001.
- ANTALL, A., BRACHT, P. MAEHLEN, J. Neuropathological Findings in 9 Cases of *Listeria Monocytogenes* Brain Stem Encephalitis. **Research Article-Brain Pathology**. Oslo. Vol. 11, p. 432-438. 2001.
- BARROS, C. S. L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I. S.; LEMOS R. A. A. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. São Paulo: Vallée, p.67-70. 2006.
- BARROS, C. S. L. Forma nervosa de listeriose em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.26, n. 1, p. 14-20, 2006.
- BRUGÈRE-PICOUX, J. Ovine listeriosis. **Small Ruminant Research**. v. 76, p. 12-20.
- COOPER J.; WALKER R. D.; Listeriosis. **Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.** Pensilvania Vol. 14, p. 113–125. 1998.
- GARRIDO, V., TORROBA, L., GARCÍA-JALÓN, I, VITAS, A. I. Surveillance of listeriosis in Navarre, Spain, 1995-2005—epidemiological patterns and characterisation of clinical and food isolates. **Surveillance and Outbreaks Reports**. Stockholm, Vol. 13, Issue 49, p. 1-6. Dezembro 2008.
- HASSAN, L.; MOHAMMED, H. O.; McDONOUGH P.L. Farmmanagement and milking practices associated with the presence of *L. monocytogenes* in New York state dairy herds. India. **Prev. Vet.Med.** Vol. 51, p. 63–73. 2001.
- HOFER, E.; REIS, C.M.F.; Espécie de Sorovares de *Listeria* isolados de animais doentes e portadores no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, Vol. 25(2), p. 79-83, Junho 2005.
- KUMAR H., SINGH B.B., BAL M.S., KAUR K. SINGH; SIDHU R. P.K., SANDHU K.S.. Pathological and epidemiological investigations into listerial encephalitis in sheep. **Science Direct- Small Ruminant Research**. India. Vol. 71, p. 293-297, 23/06/2006.

MAXIE, M. G.; YOUSSEF, S. Nervous system. In: MAXIE, M.G. (ed) **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of domestic animals**. 5.ed. Edinburgh: Elsevier,. v. 2, cap. 3, p. 405-408. 2007.

NIGHTINGALE K. K., SCHUKKEN Y. H., NIGHTINGALE C. R., FORTES E. D., HO A. J., HER Z., GROHN Y. T., MCDONOUGH P. L., WIEDMANN M. Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington D. C., Vol. 70, No. 8 , p. 4458–4467. Aug. 2004.

ORNDORFF P.O.; HAMRICK T.S.; SMOAK I. W.; HAVELL E. A. Host and bacterial factors in listeriosis pathogenesis. **Science Direct- Veterinary Microbiology**. Raleigh, Carolina do Norte, USA. Vol. 114(2006), p. 1-15. 01/12/2005.

PROPHET E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON J.B. & SOBIN L.H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. 1st ed. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C. 279p. 1992.

RADOSTITS, O.M.. et al. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horse, sheep, pigs and goats**. 10thed. Philadelphia: Elsevier, 2007.

RISSI, R. D.; RECH, R. R.; BARROS, R. R.; KOMMERS, G. D.; LANGOHR, I. M.; PIEREZAN, F.; BARROS, C. S. L. Forma Nervosa de Listeriose em Cabritos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro. Vol. 26, n. 1, p. 14-20, março 2006.

RISSI, R. D.; KOMMERS, G. D.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SCHILD, A. L.; BARROS, C. S. L. Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.30, n. 1, p. 51-56, 2010.

SCHILD, A.L. Listeriose. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças dos ruminantes e eqüinos**. 3.ed. Santa Maria: Palloti, p.352-357. 2007.

SCHLUTER, D.; DOMMAN E.; Buck, C., HAIN, T.; HOF, H.; CHAKRABATOV, T.; Phosphatidylcholine-specific phospholipase C from *Listeria monocytogenes* is an important virulence factor in murine cerebral listeriosis. Virginia. **Infect. Immun.** Vol 66, p. 5930–5938. 1998.

SUMMERS, B.A.; CUMMINGS, J.F.; LAHUNTA A.; . **Veterinary Neuropathology. Mosby-Year Book**, St. Louis. 1995.

VAZUQUEZ-BOLAND, J. A., DOMINGUEZ L. Epidemiologic investigation of a silage-associated epizootic of ovine listeriosis encephalitis, using a new *Listeria*-selective enumeration medium and phage typing. **Am. J. Vet. Res.** Tenessi. Vol. 53, p. 368–371. 2001.

WINTER P.;SCHILCHER, Z.; SCHODER, D.; EGERBACHER, M.; BAUMGARTNER, W.; WAGNER, W.; Clinical and histopathological aspects of naturally occurring Mastitis

caused by *Listeria monocytogenes* in cattle and ewes. **J. Vet. Med.** Vol. 51, p. 176–179. 2004.

WIEDMANN, M.; CZAJKA, J.; BSAT, N.; BODIS, M.; SMITH, M. C.; DIVERS, T.J.; BATI, C. A. Diagnosis and Epidemiological Association of *Listeria monocytogenes* Strains in Two Outbreaks of Listerial Encephalitis in Small Ruminants. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington D. C. Vol.32, No.4, p 991-996, 1994.