

**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

**Clínica e cirurgia de espécies pecuárias**

**Ana Isabel Ferreira Neto**

Orientador(es) | Professora Doutora Sandra Maria da Silva Branco

Dr. António Álvaro dos Santos Dias Lopes

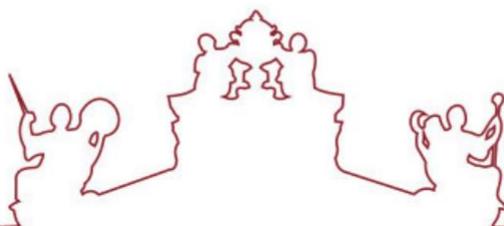
Évora 2019

---

---

---

---



**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

**Clínica e cirurgia de espécies pecuárias**

**Ana Isabel Ferreira Neto**

Orientador(es) | Professora Doutora Sandra Maria da Silva Branco

Dr. António Álvaro dos Santos Dias Lopes

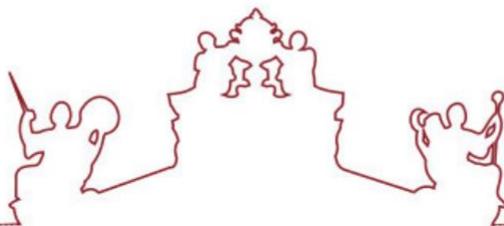
Évora 2019

---

---

---

---



O relatório de estágio foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

- Presidente | Rita Payan Carreira (Universidade de Évora)
- Vogal-arguente | Helder Carola Espiguinha Cortes (Universidade de Évora)
- Vogal-orientador | Sandra Maria da Silva Branco (Universidade de Évora)

## Agradecimentos

À minha orientadora da Universidade de Évora, Professora Doutora Sandra Branco, pela amizade demonstrada, pelo profissionalismo, por todos os conselhos e ensinamentos, pela disponibilidade em esclarecer as dúvidas que iam surgindo e pela ajuda na elaboração do relatório de estágio.

Ao meu orientador externo, Dr. António Álvaro Lopes, pela amizade demonstrada, por toda a paciência, pela confiança depositada, pela disponibilidade, pelos conhecimentos teóricos e práticos transmitidos ao longo do estágio e por todo o contributo para a minha formação como futura médica veterinária.

À exploração pecuária M. Rito, Lda., local onde foi realizada uma parte significativa do estágio, pela simpatia e pelo agradável ambiente, agradeço em especial ao Sr. Rito, ao Enfermeiro Nuno e ao Engenheiro Hugo. Ao colega de estágio, Zé Maria, pela amizade e por ter proporcionado excelentes dias de estágio.

À minha madrinha Daniela, por todo o apoio ao longo deste percurso académico, por ser uma excelente confidente e pelos momentos divertidos.

Ao meu padrinho Sousa, pelos cafés (que raramente eram cafés!) durante a estadia em Castelo Branco, por me ajudar a integrar numa cidade que não conhecia e por todos os conselhos.

À minha afilhada Joana, por toda a confiança depositada, pelas longas conversas e por todas as gargalhadas. À minha pseudo-afilhada Jéssica, pelo companheirismo e pelas grandes histórias eborenses.

Às grandes amigas que se criaram na Mui Nobre e Sempre Leal Cidade de Évora, às minhas “Alfaces”, Cletts, Vali, Gusmão, Mary e Frazão, com quem partilhei grandes momentos de alegria assim como crónicas, irei recordar orgulhosamente todas as boas memórias criadas ao longo destes seis anos.

Aos companheiros não só das longas noites de estudo, mas também das que começavam com um simples “vamos tomar um café” e que acabavam após o nascer do sol, um agradecimento especial a estes amigos “Piranhos” com quem não aprendi nada de bom, nomeadamente a Xana, a Poncha, a Mariana, a Abraúl e o Crispim.

À minha colega de casa, Carina, por toda a paciência do mundo e pela “ajuda divina”.

Aos meus amigos pombalenses e leirienses, em especial à Lisa, Andreia, André, Isa, Liliana, Paulo, Verónica e Telmo, por proporcionarem os melhores churrascos e cafés ao fim-de-semana e pela amizade que tem perdurado ao longo destes anos.

Aos meus irmãos, Tânia e João, por serem os melhores irmãos do mundo, pelas pessoas fantásticas que são, por todo o incentivo e por serem um pilar fundamental na minha vida.

Por último, mas mais importante, aos meus pais, os meus ídolos e exemplos de coragem, pela educação que me deram contribuindo para a minha formação pessoal e por toda a dedicação e compreensão. Não tenho palavras para agradecer todo o esforço para que pudesse concluir o curso de Medicina Veterinária.

## Resumo

O presente relatório de estágio foi elaborado no âmbito do Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora. A primeira parte relata as atividades acompanhadas ao longo do estágio na área da medicina preventiva, controlo reprodutivo, patologia médica e patologia cirúrgica na sociedade veterinária Socivete, Lda. desde 1 de setembro de 2018 a 28 de fevereiro de 2019. A segunda componente do relatório é constituída por uma breve revisão bibliográfica sobre o tema “anaplasose bovina”, seguindo-se a descrição e discussão de um caso clínico acompanhado no decorrer do estágio. A anaplasose bovina é uma doença infecciosa, mas não contagiosa, cujo agente etiológico é o *Anaplasma marginale*, uma bactéria gram-negativa intra-eritrocitária obrigatória. É uma doença que provoca um grande impacto económico, tanto a nível de perdas devido à mortalidade e produtividade, assim como os custos para a aplicação de medidas terapêuticas e preventivas.

**Palavras-chave:** clínica de espécies pecuárias, cirurgia de espécies pecuárias, anaplasose bovina, *Anaplasma marginale*.

## Abstract – Large animal clinic and surgery

This internship report was prepared within the scope of the Curricular Internship of the Integrated Masters in Veterinary Medicine of the University of Évora. The first part describes the activities followed during the training in the area of preventive medicine, reproductive control, medical pathology and surgical pathology in the veterinary clinic Socivete, Lda. from September 1, 2018 to February 28, 2019. The second part of the report consists in a brief bibliographic review of bovine anaplasmosis, and the presentation and discussion of a clinical case assisted during the internship. Bovine anaplasmosis is an infectious but non-contagious disease, the etiological agent of which is *Anaplasma marginale*, an obligatory intra-erythrocyte gram-negative bacterium. It is a disease that causes a great economic impact, both in terms of losses due to mortality and productivity, as well as costs for the application of therapeutic and preventive measures.

**Keywords:** large animal clinic, large animal surgery, bovine anaplasmosis, *Anaplasma marginale*.

# Índice Geral

Agradecimentos.....	i
Resumo .....	iii
Abstract – Large animal clinic and surgery .....	iv
Índice de gráficos .....	viii
Índice de tabelas .....	ix
Índice de figuras .....	xi
Lista de abreviaturas e siglas.....	xiii
1. Introdução.....	1
2. Atividades desenvolvidas .....	2
2.1. Caracterização do distrito de Castelo Branco .....	2
2.1.1 Caracterização da exploração pecuária M. Rito, Lda. ....	2
2.2 Casuística.....	4
2.2.1 Medicina Preventiva .....	6
2.2.1.1 Profilaxia obrigatória.....	7
2.2.1.2 Profilaxia facultativa .....	14
2.2.2 Controlo Reprodutivo .....	18
2.2.3 Patologia Médica.....	23
2.2.3.1 Sistema digestivo .....	24
2.2.3.2 Sistema reprodutor.....	27
2.2.3.3 Sistema respiratório .....	29
2.2.3.4 Pele e anexos.....	31
2.2.3.5 Sistema músculo-esquelético.....	34
2.2.3.6 Doenças metabólicas .....	35
2.2.3.7 Outras doenças .....	37
2.2.4 Necrópsias.....	38
2.2.5 Patologia Cirúrgica .....	40
3. Anaplasmosse bovina: revisão bibliográfica .....	43
3.1 Caracterização do agente etiológico – <i>Anaplasma marginale</i> .....	43

3.2 Transmissão.....	45
3.2.1 Ixodídeos.....	46
3.2.2 Tabanídeos.....	49
3.3 Epidemiologia.....	50
3.4 Ciclo de vida.....	52
3.5 Patogenia.....	55
3.6 Sinais clínicos.....	56
3.7 Diagnóstico.....	59
3.7.1 Esfregaço sanguíneo.....	59
3.7.2 Hemograma e bioquímicas.....	60
3.7.3 PCR.....	61
3.7.4 ELISA.....	62
3.7.5 Prova da fixação do complemento.....	63
3.7.6 Teste de aglutinação em cartão.....	63
3.7.7 Imunofluorescência indireta.....	64
3.8 Diagnósticos diferenciais.....	64
3.9 Aspetos anatomopatológicos.....	65
3.10 Tratamento.....	66
3.11 Controlo e profilaxia.....	68
4. Caso clínico.....	71
4.1 Identificação do animal.....	71
4.2 Anamnese e exame clínico.....	71
4.3 Diagnóstico.....	72
4.4 Exames complementares.....	73
4.5 Plano terapêutico.....	73
4.6 Evolução do caso clínico.....	73
4.7 Discussão.....	74
5. Considerações finais.....	76
Referências bibliográficas.....	77

Anexo I – Resultados laboratoriais da amostra de sangue em EDTA colhida ao animal do caso clínico apresentado .....	85
---	----

## Índice de gráficos

**Gráfico 1** - Distribuição das atividades desenvolvidas ao longo do estágio em função da espécie animal, frequência relativa (n=24582)..... 6

**Gráfico 2** – Distribuição das atividades desenvolvidas na área do Controlo Reprodutivo, frequência relativa (n=4918) ..... 19

**Gráfico 3** – Distribuição das atividades desenvolvidas na área da Patologia Médica, de acordo com o sistema orgânico (n=477)..... 24

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1</b> - Dados referentes aos concelhos de Castelo Branco, Idanha-a-Nova e Vila Velha de Ródão (Adaptado de Instituto Nacional de Estatística, 2013) .....	2
<b>Tabela 2</b> – Atividades desenvolvidas durante o estágio curricular consoante a área de intervenção e espécie animal, frequência absoluta e relativa (n=24582) .....	5
<b>Tabela 3</b> - Distribuição das atividades desenvolvidas na área da Medicina Preventiva consoante a espécie, frequência absoluta e relativa (n=19160) .....	7
<b>Tabela 4</b> - Exames iniciais efetuados em montarias e respetivas rejeições, por espécie animal (n=78) .....	14
<b>Tabela 5</b> - Vacinas administradas a bovinos e pequenos ruminantes: nome comercial, substâncias ativas, dose e via de administração .....	15
<b>Tabela 6</b> - Desparasitantes administrados a bovinos, pequenos ruminantes e suínos: nome comercial, substâncias ativas, dose e via de administração .....	17
<b>Tabela 7</b> – Distribuição das atividades desenvolvidas na área do Controlo Reprodutivo, frequência absoluta e relativa (n=4918) .....	18
<b>Tabela 8</b> – Distribuição das atividades desenvolvidas na área da Patologia Médica consoante a espécie animal e sistema orgânico, frequência absoluta e relativa (n=477) .....	23
<b>Tabela 9</b> – Casos clínicos acompanhados referentes ao sistema digestivo, frequência absoluta e relativa (n=170) .....	25
<b>Tabela 10</b> - Avaliação do grau de desidratação em vitelos neonatais (adaptado de Izzo <i>et al.</i> , 2015) .....	26
<b>Tabela 11</b> – Casos clínicos acompanhados referentes ao sistema reprodutor, frequência absoluta e relativa (n=156) .....	28
<b>Tabela 12</b> - Causas de distócia em bovinos acompanhadas ao longo do estágio, frequência absoluta e relativa (n=8) .....	28
<b>Tabela 13</b> - Intervenções realizadas referentes ao sistema respiratório, frequência absoluta e relativa (n=35) .....	29

<b>Tabela 14</b> - Agentes etiológicos mais frequentes no SRB (adaptado de Woolums, 2015 & Constable <i>et al.</i> , 2017) .....	30
<b>Tabela 15</b> - Casos clínicos acompanhados referentes à pele e anexos, frequência absoluta e relativa (n=33) .....	31
<b>Tabela 16</b> - Relação entre o resultado do TCM e o valor aproximado de CCS (adaptado de Peek & Divers, 2018).....	32
<b>Tabela 17</b> - Casos clínicos acompanhados referentes ao sistema músculo-esquelético, frequência absoluta e relativa (n=16).....	34
<b>Tabela 18</b> - Casos clínicos acompanhados referentes à patologia metabólica, frequência absoluta e relativa (n=11).....	35
<b>Tabela 19</b> - Casos clínicos acompanhados referentes a outras doenças, frequência absoluta e relativa (n=6) .....	37
<b>Tabela 20</b> - Necrópsias realizadas durante o período de estágio de acordo com a espécie animal e etiologia, frequência absoluta e relativa (n=15) .....	39
<b>Tabela 21</b> - Distribuição das atividades desenvolvidas na área da Patologia Cirúrgica consoante a espécie, frequência absoluta e relativa (n=11) .....	41

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> – Viteleiro da exploração M. Rito, Lda. (fotografia da autora) .....	3
<b>Figura 2</b> - Protocolo de sincronização de estros em novilhas: <i>5dCIDR® – COSYNCH</i> 72 (adaptado de ABSGlobal, 2013) .....	20
<b>Figura 3</b> - Protocolo de sincronização de estros em vacas: <i>PRE-SYNCH 14 – OVSYNCH 56 + CIDR®</i> (adaptado de ABSGlobal, 2013).....	20
<b>Figura 4</b> - Protocolo de sincronização de estros em ovinos .....	21
<b>Figura 5</b> - Técnica de inseminação artificial em bovinos (fotografia da autora).....	22
<b>Figura 6</b> – Tratamento de secagem com administração intramamária de cloxacilina (fotografia da autora) .....	33
<b>Figura 7</b> - Ovino com toxémia da gestação apresentando hipersalivação (fotografia da autora) .....	37
<b>Figura 8</b> - Necrópsia a ovelha com toxémia da gestação que apresentava fígado friável e pálido, excesso de gordura subcutânea e intra-abdominal e gestação gemelar (fotografia da autora) 40	
<b>Figura 9</b> - Vista dorsal de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> : (A) Fêmea, (B) Macho (Nicholson <i>et al.</i> , 2019) .....	47
<b>Figura 10</b> - Vista dorsal de <i>Dermacentor variabilis</i> : (A) Fêmea, (B) Macho (Nicholson <i>et al.</i> , 2019) .....	48
<b>Figura 11</b> - Vista dorsal de <i>Dermacentor andersoni</i> : (A) Fêmea, (B) Macho (Nicholson <i>et al.</i> , 2019) .....	48
<b>Figura 12</b> - Ciclo de vida de um ixodídeo (adaptado de Taylor <i>et al.</i> , 2016) .....	52
<b>Figura 13</b> - Ciclo de vida de <i>Anaplasma marginale</i> (adaptado de Kocan <i>et al.</i> , 2003).....	54
<b>Figura 14</b> - Terceira pálpebra e mucosa conjuntiva pálida e subictérica de um bovino (adaptado de Peek & Divers, 2018) .....	57
<b>Figura 15</b> - Mucosa vulvar de um bovino demonstrando palidez e icterícia (Peek & Divers, 2018) .....	58

<b>Figura 16</b> - Esfregaço sanguíneo apresentando eritrócitos infetados com <i>Anaplasma marginale</i> (1000x) (Kumar <i>et al.</i> , 2019) .....	60
<b>Figura 17</b> - Mucosa vulvar apresentando icterícia (fotografia da autora) .....	72

## Lista de abreviaturas e siglas

**ADN** – Ácido desoxirribonucleico

**AINE** – Anti-inflamatório não esteróide

**BRSV** – Bovine respiratory syncytial virus  
(vírus respiratório sincicial bovino)

**BVD** – Bovine viral diarrhea (diarreia viral bovina)

**CAT** – Card agglutination test (teste de aglutinação em cartão)

**CCS** – Contagem de células somáticas

**cELISA** – Competitive enzyme-linked immunosorbent assay (prova de imunoabsorção enzimática competitiva)

**Cl<sup>-</sup>** – cloro

**DAD** – Deslocamento de abomaso à direita

**DAE** – Deslocamento de abomaso à esquerda

**DAV** – Divisão de Alimentação e Veterinária

**DG** – Diagnóstico de gestação

**DGAV** – Direção Geral de Alimentação e Veterinária

**EDTA** – Ethylenediamine tetraacetic acid (ácido etilendiamino tetra-acético)

**ELISA** – Enzyme-linked immunosorbent assay (prova de imunoabsorção enzimática)

**ETEC** – Enterotoxigenic *Escherichia coli* (*Escherichia coli* enterotoxígena)

**FC** – Fixação do complemento

**f<sub>i</sub>** – Frequência relativa

**GnRH** – Gonadotropin-releasing hormone (hormona libertadora de gonadotrofina)

**HCO<sup>3-</sup>** – bicarbonato

**IA** – Inseminação artificial

**IBR** – Infectious Bovine Rhinotracheitis (rinotraqueíte infecciosa bovina)

**IDTC** – Intradermotuberculização comparada

**iELISA** – Indirect enzyme-linked immunosorbent assay (prova de imunoabsorção enzimática indireta)

**IFI** – Imunofluorescência indireta

**IgG** – Imunoglobulina G

**IgM** – Imunoglobulina M

**IM** – Intramuscular

**K<sup>+</sup>** – potássio

**mRNA** – Messenger ribonucleic acid (ácido ribonucleico mensageiro)

**MSP** – Major surface protein (proteína de superfície maior)

**Na<sup>2+</sup>** – sódio

**n<sub>i</sub>** – Frequência absoluta

**PCR** – Polymerase chain reaction (reação em cadeia de polimerase)

**PgF2 $\alpha$**  – Prostaglandina F2 $\alpha$

**PI3** – Parainfluenza-3

**PO** – *Per os*

**RMF** – Retenção de membranas fetais

**RT-PCR** – Real-time polymerase chain reaction (reação em cadeia de polimerase em tempo real)

**SC** – Subcutâneo

**SFI** – Síndrome febril indeterminada

**TCM** – Teste californiano de mastites

**TPM** – Teste de pré-movimentação

**TRPC** – Tempo de repleção da prega cutânea

**VA** – Via de administração

**VLB** – Vírus da leucemia bovina

# 1. Introdução

O presente relatório de estágio surge com o objetivo de descrever as atividades realizadas no âmbito da unidade curricular denominada de Estágio Curricular, inserida no Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora.

O estágio decorreu no período entre 1 de setembro de 2018 a 28 de fevereiro de 2019, no distrito de Castelo Branco, na sociedade veterinária Socivete, Lda. com a orientação do Dr. António Álvaro dos Santos Dias Lopes. O referido estágio foi realizado, maioritariamente, em regime ambulatorio, embora uma parte significativa tenha sido efetuada na exploração pecuária M. Rito, Lda., uma exploração de grande dimensão de bovinos de aptidão leiteira.

Este estágio curricular possibilitou a aplicação prática dos conhecimentos teóricos que foram adquiridos ao longo do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, sendo possível o acompanhamento de diversas áreas nomeadamente atividades oficiais de sanidade, clínica médica, cirurgia e controlo reprodutivo.

O presente relatório de estágio encontra-se dividido em dois capítulos: o primeiro capítulo relata as atividades desenvolvidas ao longo do período de estágio, sendo caracterizado o local de realização do mesmo e apresentando a casuística, de acordo com as espécies e as áreas de intervenção; o segundo capítulo é constituído por uma revisão bibliográfica sobre anaplasmosose bovina, seguido da apresentação de um caso clínico desta afeção e respetiva discussão.

## 2. Atividades desenvolvidas

### 2.1. Caracterização do distrito de Castelo Branco

O estágio realizou-se no distrito de Castelo Branco, pertencente à sub-região da Beira Baixa, destacando-se os concelhos de Castelo Branco, Idanha-a-Nova e Vila Velha de Ródão, onde se efetuaram grande parte dos procedimentos.

Na tabela 1 são apresentados alguns dados referentes aos três concelhos mencionados anteriormente, segundo o Instituto Nacional de Estatística (2013), relativamente ao número de freguesias, área (km<sup>2</sup>), população média anual residente e densidade populacional (habitantes/km<sup>2</sup>).

**Tabela 1** - Dados referentes aos concelhos de Castelo Branco, Idanha-a-Nova e Vila Velha de Ródão  
(Adaptado de Instituto Nacional de Estatística, 2013)

	Castelo Branco	Idanha-a-Nova	Vila Velha de Ródão
Número de freguesias	19	13	4
Área (km <sup>2</sup> )	1 438,19	1 416,34	329,91
População média anual residente	54 707,8	9 223,5	3 407,0
Densidade populacional (habitantes/ km <sup>2</sup> )	37,8	6,4	10,3

#### 2.1.1 Caracterização da exploração pecuária M. Rito, Lda.

Apesar de grande parte do estágio ser realizado em regime ambulatorio, a exploração pecuária M. Rito, Lda. assume uma grande importância visto que foi a exploração em que se realizou o maior número de visitas ao longo destes seis meses. De seguida, será feita uma breve descrição desta exploração de forma a permitir um melhor entendimento do seu funcionamento.

A exploração pecuária M. Rito, Lda. é uma exploração de bovinos de aptidão leiteira com sede no Couto dos Carris, concelho de Idanha-a-Nova. É considerada uma exploração de grande

dimensão, apresentando um efetivo de cerca de 1200 bovinos da raça *Holstein Frísia*, dos quais aproximadamente 500 vacas se encontram em lactação apresentando uma média de 35 litros de produção diária por animal. O seu negócio principal é a produção de leite embora também exista em regime extensivo a recria e engorda. A organização da vacaria é feita por lotes de acordo com o período reprodutivo, fase da lactação e número de lactações, verificando-se também a existência de lotes de refugio, enfermaria e um lote para animais com afeções crónicas, resultando num total de 15 lotes.

Para além dos lotes, a exploração é constituída ainda por duas salas de ordenha mecanizadas, uma divisão com três tanques de leite, uma sala equipada com material necessário para a realização de inseminação artificial (IA), um balneário masculino e outro feminino, uma cozinha, um gabinete técnico e um escritório.

A exploração dispõe também de um viteleiro com capacidade para alojar individualmente 170 vitelos (figura 1) e três parques de 20 animais para 60 vitelos desmamados. Ao atingirem os três/quatro meses, os vitelos são reencaminhados para uma exploração extensiva onde se procede à recria de fêmeas que serão utilizadas para a renovação do efetivo leiteiro ou a engorda de machos, que serão vendidos para outras explorações de engorda ou para abate.



**Figura 1** – Viteleiro da exploração M. Rito, Lda. (fotografia da autora)

A ordenha dos animais em período de lactação é efetuada duas vezes ao dia, iniciando-se a primeira ordenha às 4h30 e a segunda às 16h30.

Relativamente ao manejo reprodutivo, este é feito através da deteção de cios por um sistema computadorizado associado a podómetros que estão presentes nas coleiras das vacas medindo a sua atividade individual, ajudando na determinação do momento ideal para proceder à inseminação artificial. Quando se verifica um aumento da atividade é enviada uma notificação para o computador e, caso a vaca tenha mais de 45 dias pós-parto e não apresente nenhum sinal de afeção a nível reprodutivo, poderá realizar-se a IA. Nos lotes que correspondem à produção média-baixa, ou seja, cuja produção média diária é inferior a 25 litros, também é utilizada a monta natural, em que cada lote possui um touro cuja função é cobrir as vacas em que o sistema de deteção de cios não esteja a funcionar corretamente ou as que não tenham ficado gestantes. Os protocolos de sincronização de estros são utilizados em todas as novilhas nulíparas ou a vacas que se encontrem em anestro.

A alimentação do efetivo é realizada de acordo com a fase de produção de cada lote, evitando assim a existência de situações provocadas por carências ou excessos de algum constituinte alimentar. Os animais são alimentados duas vezes por dia, sendo o corte, a mistura e distribuição feita por uma máquina de *unifeed*.

## 2.2 Casuística

A casuística que será apresentada neste capítulo corresponde a todas as atividades desenvolvidas ao longo do estágio curricular, existindo uma permanente recolha dos dados.

Os dados serão apresentados neste capítulo divididos em cinco áreas distintas: a Medicina Preventiva, na qual encontramos as intervenções profiláticas; o Controlo Reprodutivo; que abrange as ações relacionada com a reprodução; a Patologia Médica, que engloba as ações clínicas; as Necrópsias; e a Patologia Cirúrgica, que aborda os atos cirúrgicos. Estão expostos todos os casos clínicos e procedimentos realizados em cada uma das áreas abordadas, no entanto apenas serão desenvolvidos os que apresentaram maior frequência.

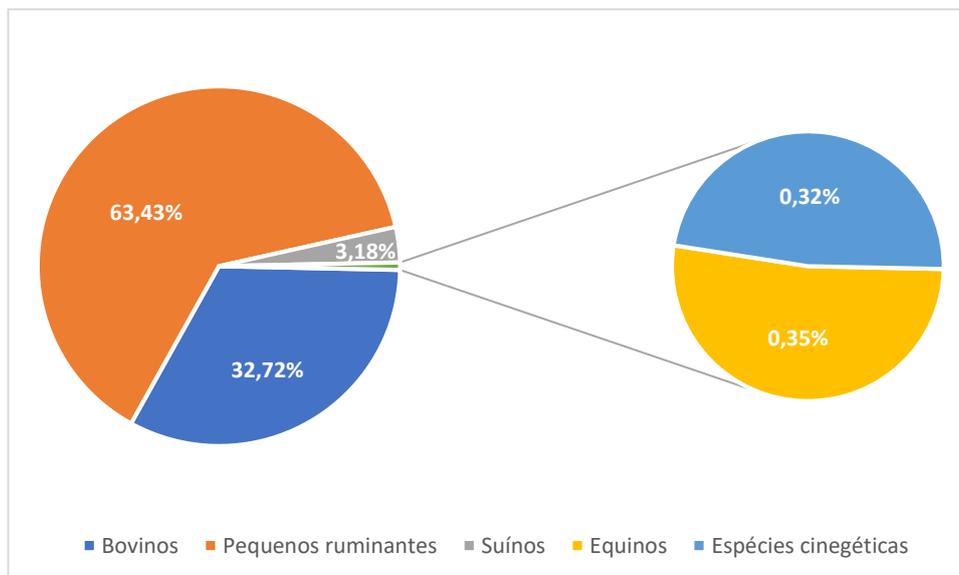
Os dados estão exibidos de uma forma simplificada através de tabelas e gráficos, onde serão apresentados os valores de frequência absoluta ( $n_i$ ), que correspondem ao número exato de procedimentos que foram efetuados e de casos clínicos; e de frequência relativa ( $f_i$ ), que equivalem aos respetivos valores percentuais. A divisão dos dados é feita de acordo com as diferentes espécies: bovinos, pequenos ruminantes (que englobam os ovinos e caprinos, visto

que esta última espécie exibe uma frequência reduzida e muitas explorações possuem ambas), suínos, equinos e espécies cinegéticas (que abrangem os cervídeos e os javalis).

A tabela 2 e o gráfico 1 expõem a distribuição de todas as atividades que foram desenvolvidas ao longo do estágio curricular de acordo com a área médico-veterinária e a espécie animal. Podemos verificar que a área da Medicina Preventiva foi a que se destacou com 19160 intervenções que correspondem a 77,94% da casuística total, 4918 animais foram sujeitos a Controlo Reprodutivo perfazendo 20,01% das intervenções, 477 animais foram acompanhados no domínio da Patologia Médica resultando em 1,94% dos casos, realizaram-se Necrópsias em 16 animais (0,07%) e no âmbito da Patologia Cirúrgica apenas 11 animais foram intervencionados o que representou 0,04% do total das atividades. Em relação à espécie animal, foram acompanhados 8038 bovinos (32,72%), 15593 pequenos ruminantes (63,43%), 782 suínos (3,18%), 85 equinos (0,35%) e somente 78 espécies cinegéticas (0,32%).

**Tabela 2** – Atividades desenvolvidas durante o estágio curricular consoante a área de intervenção e espécie animal, frequência absoluta e relativa (n=24582)

	Medicina Preventiva	Controlo Reprodutivo	Patologia Médica	Necrópsias	Patologia Cirúrgica	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
<b>Bovinos</b>	6302	1319	412	6	5	8038	32,72%
<b>Pequenos ruminantes</b>	11934	3590	60	9	-	15593	63,43%
<b>Suínos</b>	782	-	-	-	-	782	3,18%
<b>Equinos</b>	64	9	5	1	6	85	0,35%
<b>Espécies cinegéticas</b>	78	-	-	-	-	78	0,32%
<b>N<sub>i</sub></b>	19160	4918	477	16	11	24582	100,00%
<b>F<sub>i</sub></b>	77,94%	20,01%	1,94%	0,07%	0,04%	100,00%	



**Gráfico 1** - Distribuição das atividades desenvolvidas ao longo do estágio em função da espécie animal, frequência relativa (n=24582)

### 2.2.1 Medicina Preventiva

Nesta componente, o médico veterinário assume um papel de grande importância visto que esta área está diretamente relacionada com a saúde pública, uma vez que os produtos têm como destino o consumo humano.

Como foi exposto na tabela 2, a área da Medicina Preventiva foi a que obteve o maior número de animais intervencionados durante o estágio curricular. Podemos distinguir dois tipos de profilaxia: a profilaxia obrigatória, tutelada pela Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), que é relativa aos planos sanitários de erradicação de doenças; e a profilaxia facultativa, que inclui as vacinações e desparasitações.

A tabela 3 apresenta o número de animais intervencionados no âmbito da Medicina Preventiva de acordo com a espécie animal. Podemos verificar que os pequenos ruminantes foram a espécie que teve maior frequência com 62,29% das ações de profilaxia, relativamente aos bovinos, os que foram submetidos a saneamento correspondem a 30,41% e os que realizaram teste de pré-movimentação (TPM) representam 2,48% das intervenções, 4,08% das ações de saneamento foram dedicadas aos suínos, sendo que 0,33% e 0,41% dos animais intervencionados nesta área eram equinos e espécies cinegéticas, respetivamente.

**Tabela 3** - Distribuição das atividades desenvolvidas na área da Medicina Preventiva consoante a espécie, frequência absoluta e relativa (n=19160)

		Nº de animais intervencionados	F <sub>i</sub>
Bovinos	Saneamento	5827	30,41%
	TPM	475	2,48%
Pequenos ruminantes		11934	62,29%
Suínos		782	4,08%
Equinos		64	0,33%
Espécies cinegéticas		78	0,41%
N <sub>i</sub>		19160	100,00%

### 2.2.1.1 Profilaxia obrigatória

#### Plano de erradicação da tuberculose bovina

A tuberculose bovina tem como agentes etiológicos o *Mycobacterium bovis* e, menos frequentemente, o *M. caprae*. Várias espécies, incluindo os humanos, são suscetíveis à infeção por este agente, sendo considerada uma zoonose. No entanto, em certas regiões, apenas os bovinos e algumas espécies selvagens são os hospedeiros principais. Os modos de transmissão são, na maioria dos casos, por inalação (aerossóis), podendo também existir infeção através de ingestão ou de feridas na pele (Constable *et al.*, 2017). Geralmente os animais não apresentam sinais clínicos, porém quando os sinais estão presentes estes não são específicos como, por exemplo, perda de peso ou inapetência. Em estados avançados, pode ser observada dispneia, tosse e emaciação (Waters, 2015). É uma das doenças mais preocupantes, tanto a nível económico como de saúde pública.

O programa de erradicação da tuberculose bovina foi implementado em Portugal em 1991, pela aplicação da prova da intradermotuberculização comparada (IDTC), sendo estabelecidas normas técnicas e condutas para a atribuição dos estatutos sanitários no Decreto-Lei 272/2000, de 8 de novembro. Atualmente, apenas a região do Algarve é considerada como oficialmente indemne, mantendo este estatuto desde 2012. Segundo o programa, todos os animais, machos e fêmeas, com idade superior a seis semanas são sujeitos à IDTC (DGAV, 2018a).

Embora a IDTC seja considerada a prova oficial para este programa de erradicação, a prova do interferão-gama pode ser utilizada como prova complementar por decisão dos serviços

veterinários oficiais. Como procedimento de rotina, existe a inspeção *post-mortem* nos matadouros e a pesquisa de lesões, através de histopatologia e bacteriologia (DGAV, 2018a).

As normas para a realização da IDTC encontram-se descritas, no anexo B, do Decreto-Lei 157/98, de 9 de junho. Esta prova consiste na administração intradérmica de 0,1mL de tuberculina bovina e aviária, entre os terços anterior e médio da região cervical, sendo que a inoculação da tuberculina aviária deve realizar-se aproximadamente a 10 centímetros da linha superior do pescoço e o local de injeção da tuberculina bovina 12,5 centímetros abaixo, mais ou menos paralelamente à linha da espádua. Antes da administração da tuberculina, deve ser feita a tricotomia e a medição da prega de pele, sendo esta registada. A interpretação das reações deverá ser efetuada 72 horas após a injeção da tuberculina, tendo como base a observação clínica e a existência de reação nos locais de inoculação. Considera-se reação negativa se existir reação bovina negativa ou reação positiva ou duvidosa mas igual ou inferior a uma reação aviária positiva ou duvidosa, com ausência de sinais clínicos nos dois casos; reação duvidosa se houver reação positiva ou duvidosa e se for superior em 1 milímetro a 4 milímetros comparativamente à reação aviária, com ausência de sinais clínicos; reação positiva se a reação bovina for superior em mais de 4 milímetros à reação aviária ou pela presença de sinais clínicos.

Os serviços veterinários oficiais atribuem os estatutos sanitários às explorações com as seguintes classificações:

- T3 – efetivo oficialmente indemne
- T3S – efetivo oficialmente indemne suspenso
- T2 – efetivo não indemne, com a aplicação de medidas sanitárias
- T2.1 – efetivo infetado, com isolamento de *M. bovis* (DGAV, 2018b).

Algumas regiões do país, como o Centro e o Alentejo, apresentam um maior número de casos positivos, uma vez que a presença de espécies selvagens infetadas, como os javalis e os veados, contribuem para a transmissão de *M. bovis* aos bovinos que se encontram em regime extensivo (DGAV, 2018a).

### **Plano de erradicação da brucelose bovina**

O agente etiológico da brucelose bovina é a *Brucella abortus*, no entanto também pode ocorrer infeção por *B. melitensis*. É uma doença contagiosa que se transmite facilmente entre os animais, podendo infetar também os humanos, principalmente os que contactam diariamente com os animais, tendo a designação de zoonose. A infeção pode ocorrer pela ingestão do agente que possui grande capacidade de resistência no meio ambiente. Os sinais clínicos que podem

ser observados são a existência de abortos a partir do quinto mês de gestação com presença de corrimento vaginal fétido de coloração amarela-acastanhada e necrose da placenta, mortalidade neonatal elevada ou vitelos muito fracos à nascença, os touros podem apresentar orquite (Christensen *et al.*, 2015; Peek & Divers, 2018). Tal como a tuberculose, representa uma elevada preocupação em saúde pública.

Em Portugal, a região do Algarve e seis ilhas da região Autónoma dos Açores (Graciosa, Pico, Flores, Corvo, Santa Maria e Faial) encontram-se classificadas como oficialmente indemnes de brucelose (DGAV, 2018c).

As provas oficiais de diagnóstico para o programa de erradicação são a prova serológica Rosa Bengala, como prova de rastreio, e a prova de fixação do complemento (FC), para confirmação. Nas explorações leiteiras o teste de imunoabsorção enzimática (ELISA) poderá ser aplicado sob condições definidas pelo programa (DGAV, 2018c). Para a realização da prova de Rosa Bengala é necessário que seja efetuada uma colheita de sangue para um tubo seco, da veia coccígea mediana.

Em saneamento, o rastreio da brucelose deverá ser realizado a todos os bovinos com idade superior a 12 meses, exceto em certas Divisões de Alimentação e Veterinária (DAV), neste caso a de Castelo Branco, que poderá efetuar a colheita de sangue aos animais com mais de 24 meses. Aquando do TPM, o rastreio tem de ser feito aos animais com idade superior a 12 meses (DGAV, 2018c).

A atribuição de classificações sanitárias para as explorações está descrita no anexo I do Decreto-Lei 244/2000, de 27 de setembro, que estabelece as normas técnicas e os procedimentos a efetuar. Podendo ser atribuídas ou alteradas pelos serviços veterinários oficiais:

- B4 – efetivo oficialmente indemne
- B4S – efetivo oficialmente indemne suspenso
- B3 – efetivo indemne
- B3S – efetivo indemne suspenso
- B2 – efetivo não indemne, com a aplicação de medidas sanitárias
- B2.1 – efetivo infetado, com isolamento de *B. abortus* ou *B. melitensis* (DGAV, 2018b).

## **Plano de erradicação da leucose enzoótica bovina**

A leucose enzoótica bovina tem como agente etiológico o vírus da leucemia bovina (VLB), um oncovírus tipo-C exógeno da família *Retroviridae*. Não é considerada uma zoonose, no entanto provoca grandes perdas económicas nas explorações devido a diminuição da produção, abate prematuro, rejeição de carcaças no matadouro e restrições nas trocas comerciais. Grande parte das infeções permanece na forma subclínica, sendo que 30% dos animais infetados podem apresentar uma linfocitose persistente e menos de 5% desenvolvem linfoma, a única forma clínica da leucose enzoótica bovina (Constable *et al.*, 2017; Peek & Divers, 2018).

Portugal foi reconhecido como oficialmente indemne de leucose enzoótica bovina, exceto a região autónoma da Madeira e a área correspondente à DAV do Porto, tendo sido criados dois programas distintos, um de vigilância para a manutenção da indemnidade em todo o território continental e outro para a erradicação da doença na DAV do Porto (DGAV, 2018b).

A prova oficial de diagnóstico é o teste de ELISA (DGAV, 2018b). Para tal, é necessário efetuar a colheita de uma amostra de sangue da veia coccígea mediana, para um tubo seco.

O anexo I do Decreto-Lei 114/99, de 14 de abril, estabelece as normas para a classificação sanitária de efetivos. As classificações sanitárias atribuídas no âmbito deste plano de erradicação e vigilância são as seguintes:

- L4 – efetivo oficialmente indemne
- L4S – efetivo oficialmente indemne suspenso
- L3 – efetivo não indemne, com a aplicação de medidas sanitárias
- L2 – efetivo infetado (DGAV, 2018b).

O rastreio será efetuado a todos os bovinos com idade superior a 12 meses, porém os efetivos com o estatuto sanitário L4 apenas terão de proceder à colheita de amostras em animais com mais de 24 meses (DGAV, 2018b). O programa de vigilância da leucose bovina, onde se encontra inserido a DAV de Castelo Branco, desde 2017 que seleciona aleatoriamente 1% dos efetivos para a realização de uma prova (DGAV, 2017).

## **Plano de erradicação da brucelose em pequenos ruminantes**

Nos pequenos ruminantes, o agente etiológico da brucelose é a *Brucella melitensis*. É uma zoonose, sendo que a infeção nos humanos (denominada Febre de Malta) pode ser severa. Os animais podem infetar-se através de ingestão ou contacto com placenta infetada, corrimento

vaginal ou leite. Esta afeção está associada à existência de abortos na última metade da gestação, nados-mortos ou nascimento de borregos ou cabritos muito fracos, os machos podem apresentar orquite (Christensen *et al.*, 2015; Constable *et al.*, 2017). Em Portugal, apenas a região autónoma dos Açores foi considerada oficialmente indemne (DGAV, 2018d).

Este plano de erradicação é bastante semelhante ao plano de erradicação da brucelose bovina, uma vez que as classificações sanitárias são as mesmas (B4, B4S, B3, B3S, B2 e B2.1), também é sustentado pelo Decreto-Lei 244/2000, de 27 de setembro e as provas oficiais de diagnóstico são as provas serológicas do Rosa Bengala e FC. Para além disso, poderá existir a realização de provas bacteriológicas em amostras de abortos ou de materiais recolhidos de animais sujeitos a abate sanitário (DGAV, 2018d). Nos pequenos ruminantes, o rastreio é efetuado através da colheita de uma amostra de sangue da veia jugular externa, para um tubo seco.

Existem programas específicos em que foi aplicada, em algumas zonas do país com maior dificuldade na erradicação, a vacinação do efetivo jovem, com idade entre os três e os seis meses, por via intraconjuntival, de uma vacina Rev1 (DGAV, 2017).

O rastreio é obrigatório para todos os ovinos e caprinos com idade superior a seis meses ou 18 meses após a vacinação com Rev1. No caso de explorações com o estatuto sanitário B4 ou B3, o controlo serológico pode ser efetuado do seguinte modo:

- 25% das fêmeas que se encontrem em idade reprodutiva, exceto se o efetivo possuir menos de 50 fêmeas. Caso o efetivo possua menos de 50 fêmeas, o rastreio é efetuado a todas;
- Todos os machos não castrados, com idade superior a seis meses;
- Todos os animais introduzidos no efetivo desde o controlo anterior, estão incluídas as fêmeas com mais de seis meses, que no rastreio anterior não estavam presentes na exploração ou não possuíam idade para a realização do mesmo (DGAV, 2018d).

### **Plano de erradicação da língua azul**

A língua azul ou febre catarral ovina tem como agente etiológico um orbivírus que possui 26 serótipos diferentes. É uma doença infecciosa, mas não é contagiosa e é transmitida exclusivamente através de vetores biológicos do género *Culicoides*. Pode atingir ruminantes domésticos e selvagens, no entanto os ovinos são a espécie mais afetada. Os sinais clínicos mais frequentes são febre, apatia, secreção nasal serosa ou sanguinolenta, dificuldades respiratórias e úlceras na mucosa oral com hipersalivação (Constable *et al.*, 2017).

Segundo o edital em vigor (Edital nº50, de 26 de abril de 2019), apenas as regiões autónomas dos Açores e Madeira são consideradas como zonas livres de língua azul. No território continental, as medidas de controlo baseiam-se na delimitação das zonas de restrição, na imposição de condições relativas à movimentação animal, na implementação de programas de vacinação e na vigilância clínica, serológica e entomológica.

As provas de diagnóstico oficiais são o teste ELISA, reação em cadeia de polimerase em tempo real (RT-PCR) e seroneutralização (DGAV, 2017).

A vacinação dos ovinos reprodutores e dos jovens destinados à reprodução é obrigatória nas áreas que, segundo o edital em vigor, são consideradas áreas de risco, como é o caso dos concelhos de Castelo Branco, Idanha-a-Nova e Vila Velha de Ródão, onde é efetuada a vacinação contra o serótipo 1. No restante território continental, a vacinação de ovinos e bovinos é de carácter voluntário (DGAV, 2017).

### **Plano de erradicação da doença de Aujeszky**

A doença de Aujeszky ou pseudo-raiva é causada por um herpesvírus suíno do tipo-1. É uma doença com grande impacto económico, pelas elevadas perdas nas explorações e restrições nas trocas comerciais. Este vírus pode afetar o sistema nervoso central e outros órgãos, como os do trato respiratório de todos os mamíferos, exceto os humanos. Os suínos domésticos e selvagens são considerados os reservatórios naturais, sendo transmitida facilmente por via respiratória ou oral, uma vez que o vírus se encontra presente nas secreções nasais ou na saliva. O período de incubação pode durar até oito dias, os leitões podem apresentar febre, incoordenação motora, convulsões e pode ocorrer morte imediata, enquanto os porcos adultos apresentam tosse, secreção nasal e dispneia (Berthelin-Baker & George, 2015; Constable *et al.*, 2017).

As provas de diagnóstico oficiais são a serologia por ELISA gE e gB. O plano de erradicação consiste na avaliação serológica de efetivos e na obrigatoriedade dos planos de vacinação com vacinas deletadas. No matadouro são realizadas análises para confirmar o cumprimento dos planos de vacinação (DGAV, 2017).

A classificação sanitária dos efetivos encontra-se descrita no artigo 12º do Decreto-Lei 85/2012, de 5 de abril, tendo sido posteriormente alterado pelo Decreto-Lei nº 222/2012, de 15 de outubro:

- A5 – efetivo oficialmente indemne

- A5S – efetivo oficialmente indemne suspenso
- A4 – efetivo indemne
- A4S – efetivo indemne suspenso
- A3 – efetivo com aplicação de medidas sanitárias
- A2A – efetivo positivo ativo à doença de Aujeszky
- A2NA – efetivo positivo não ativo à doença de Aujeszky
- A2 – efetivo positivo à doença de Aujeszky
- A1 – efetivo de estatuto sanitário desconhecido.

### **Plano de erradicação de tuberculose bovina em caça maior**

O agente causal da tuberculose em caça maior é o *Mycobacterium bovis*, tal como nos bovinos. A presença deste agente em espécies de caça maior, nomeadamente nos cervídeos e nos javalis, em território nacional tem levado a uma crescente preocupação em saúde pública. (DGAV, 2011).

Com base na avaliação epidemiológica e nos indicadores de prevalência e incidência da tuberculose bovina, foi possível identificar uma área epidemiológica de risco para esta afeção. A aplicação do plano de erradicação tem como objetivos promover a salubridade das carnes de caça maior para consumo e proteger a saúde das pessoas que manipulam as carnes que possam estar infetadas, controlar a disseminação da tuberculose e recolha de dados para conhecimento da realidade do problema (DGAV, 2011).

Os médicos veterinários designados têm como função monitorizar as operações de evisceração dos animais abatidos aconselhando os intervenientes sobre a importância da utilização de proteção, realização do exame inicial de todos os exemplares de caça abatidos, controlar o encaminhamento de subprodutos e operações de lavagem e desinfeção do local onde se procedeu à evisceração e manter informada a direção de serviços veterinários da região através do preenchimento de documentos relativos ao exame inicial (DGAV, 2011).

Durante o exame inicial das peças de caça se for detetada alguma lesão suspeita de tuberculose, esta deve ser enviada para a realização de provas histopatológica e bacteriológica (DGAV, 2017).

Os concelhos de Castelo Branco, Idanha-a-Nova e Vila Velha de Ródão encontram-se na área epidemiológica de risco, sendo importante a realização de exames iniciais a veados e javalis em várias montarias que ocorreram nestes três concelhos. A tabela 4 apresenta o número de animais em que foram efetuados exames iniciais, 43 veados e 35 javalis, num total de 78

animais. Foram rejeitados oito animais, cinco veados e três javalis, por apresentarem lesões suspeitas de tuberculose.

**Tabela 4** - Exames iniciais efetuados em montarias e respectivas rejeições, por espécie animal (n=78)

Espécies	Nº de animais inspecionados	Nº de animais rejeitados	Taxa de rejeição
Veado	43	5	11,63%
Javali	35	3	8,57%
N <sub>i</sub>	78	8	10,26%

### 2.2.1.2 Profilaxia facultativa

As ações profiláticas facultativas consistem na vacinação e desparasitação. A data para a realização destas ações profiláticas é de acordo com a preferência do produtor, mas geralmente são efetuadas no dia do saneamento. Os planos de vacinação e desparasitação são realizados de forma a serem os mais adequados para a exploração, de acordo com as suas características como o ambiente, as doenças que têm surgido e o manejo.

De acordo com a tabela 3, foram realizadas ações de vacinação e desparasitação a 5827 bovinos e a 11934 pequenos ruminantes. Em relação aos suínos, 782 foram vacinados dos quais 14 foram também desparasitados. Nos equinos, somente cinco realizaram a vacinação e desparasitação e nos restantes apenas se realizou a desparasitação.

Todos os bovinos e pequenos ruminantes foram vacinados para a prevenção de clostridioses. Uma vez que o local de estágio se encontrava numa área considerada de risco para a existência de língua azul, realizou-se também a vacinação de todo o efetivo ovino. Além desta profilaxia vacinal, muitas explorações preferiram vacinar para a prevenção de outros agentes.

A tabela 5 apresenta as vacinas que foram administradas a bovinos e pequenos ruminantes durante o período de estágio, mencionando os nomes comerciais, substâncias ativas, doses e vias de administração (VA).

**Tabela 5** - Vacinas administradas a bovinos e pequenos ruminantes: nome comercial, substâncias ativas, dose e via de administração

Nome comercial	Substâncias ativas	Bovinos Dose e VA	Pequenos ruminantes Dose e VA
Syvazul 1®	Vírus da língua azul inativado, serótipo 1	4mL IM	2mL SC
Biovina S®	Anacultura de <i>Mannheimia haemolytica</i> (serovariante 1)  Toxóide de: <i>Clostridium perfringens</i> tipo D; <i>C. sordelli</i>	-	2mL SC
Footvax®	Estirpes inativadas de <i>Dichelobacter nodosus</i>	-	1mL SC
Multivac 9®	Toxóide de: <i>Clostridium perfringens</i> tipo A, B, C e D; <i>C. novyi</i> ; <i>C. septicum</i> ; <i>C. tetani</i> ; <i>C. sordelli</i>  Anacultura de <i>C. chauvoei</i>	4mL SC	2mL SC
Bravoxin 10®	Cultura completa de <i>Clostridium chauvoei</i>  Toxóide de: <i>C. perfringens</i> tipo A, B, C e D; <i>C. novyi</i> ; <i>C. septicum</i> ; <i>C. tetani</i> ; <i>C. sordelli</i> ; <i>C. haemolyticum</i>	2mL SC	1mL SC
Covexin 8®	Cultura completa de <i>Clostridium chauvoei</i>  Células de <i>C. haemolyticum</i>  Toxóide de: <i>C. perfringens</i> tipo B, C e D; <i>C. novyi</i> ; <i>C. septicum</i> ; <i>C. tetani</i>	5mL SC	2mL SC
Covexin 10®	Cultura completa de <i>Clostridium chauvoei</i>  Toxóide de: <i>C. perfringens</i> tipo A, B, C e D; <i>C. novyi</i> ; <i>C. septicum</i> ; <i>C. tetani</i> ; <i>C. sordelli</i> ; <i>C. haemolyticum</i>	2mL SC	1mL SC
Clostrivax®	Cultura inativada de <i>Clostridium chauvoei</i> ; <i>C. novyi</i> tipo B e D	5mL SC	2mL SC

	Toxóide de: <i>C. novyi</i> tipo B e D; <i>C. perfringens</i> tipo B, C e D; <i>C. septicum</i> ; <i>C. tetani</i>		
<b>Hiprabovis 4®</b>	Vírus inativado de: rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR); parainfluenza-3 (PI3); diarreia viral bovina (BVD)  Vírus vivo de respiratório sincicial bovino (BRSV)	3mL IM	-
<b>Rispoval 3®</b>	Vírus vivo de: PI3; BRSV  Vírus inativado de BVD	4mL IM	-
<b>Rispoval IBR – viva marcada®</b>	Herpesvírus bovino tipo 1	2mL IM	-
<b>Gudair®</b>	Estirpe inativada de <i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i>	-	1mL SC

A vacinação de suínos foi realizada em explorações extensivas e teve como base a vacinação para a prevenção da doença de Aujeszky com a vacina Auskipra-GN®, sendo aplicada uma dose de 2mL intramuscular profunda no pescoço.

Relativamente aos equinos, foi administrada a vacina ProteqFlu-Te®, para a prevenção da gripe equina e do tétano, cujos agentes etiológicos são o vírus influenza A e o *Clostridium tetani*, uma dose corresponde a 1mL e é inoculada por via intramuscular no pescoço.

A tabela 6 mostra os desparasitantes que foram utilizados ao longo do período de estágio em bovinos, pequenos ruminantes e suínos, referindo o nome comercial, substâncias ativas, doses por kg de peso vivo (PV) ou por animal e vias de administração.

**Tabela 6** - Desparasitantes administrados a bovinos, pequenos ruminantes e suínos: nome comercial, substâncias ativas, doses e via de administração

Nome comercial	Substâncias ativas	Dose de substância ativa	Bovinos Dose e VA	Pequenos ruminantes Dose e VA	Suínos Dose e VA
<b>Seponver Plus®</b>	Mebendazol	15mg / kg	-	1mL / 5kg PO	-
	Closantel	10mg / kg	-	-	-
<b>Bimectin Plus®</b>	Ivermectina	200µg / kg	1mL / 50kg SC	-	-
	Clorsulon	2mg / kg	-	-	-
<b>Closamectin FF®</b>	Ivermectina	200µg / kg	1mL / 25kg SC	1mL / 25kg SC	-
	Clorsulon	5mg / kg	-	-	-
<b>Dectomax 1%®</b>	Doramectina	200 a 300µg / kg	1mL / 50kg SC	1mL / 33kg IM	1mL / 33kg IM
<b>Vectimax®</b>	Ivermectina	200 a 300µg / kg	1mL / 50kg SC	0,5mL / 25kg SC	1,5mL / 50kg SC
<b>Eprecis 20mg/mL®</b>	Eprinomectina	0,2mg / kg	1mL / 100kg SC	-	-
<b>Noromectin 1%®</b>	Ivermectina	200 a 300µg / kg	1mL / 50kg SC	-	1mL / 33kg SC
<b>Noromectin 0,5%®</b>	Ivermectina	500µg / kg	1mL / 10kg Tópico	-	-
<b>Spotinor®</b>	Deltametrina	50 a 100mg / animal	10mL/animal Tópico	5mL/animal Tópico	-
<b>Cydectin Triclamox 1+50mg/mL®</b>	Moxidectina	0,2 mg / kg	-	1mL / 5kg PO	-
	Triclabendazol	10mg / kg	-	-	-

Nos equinos o desparasitante utilizado foi o Equimax®, cujas substâncias ativas são a ivermectina e o praziquantel e é administrado por via oral ajustando a seringa, onde se encontra a pasta oral, de acordo com o peso aproximado do animal, administrando-se 200µg de ivermectina e 1,5mg de praziquantel por kg de peso vivo.

A ação profilática da desparasitação tem como função tratar e prevenir infeções provocadas por nematodes (gastrointestinais e pulmonares), cestodes, trematodes e artrópodes (ácaros, piolhos e larvas de moscas). O modo de ação de cada desparasitante varia de acordo com a substância ativa.

Ao administrar os desparasitantes deve-se ter em atenção se o animal irá ser abatido em breve ou se o leite será utilizado para consumo humano, optando pela utilização de um desparasitante cujo intervalo de segurança seja muito reduzido ou nulo. Nos casos em que a dose a aplicar é de acordo com o peso do animal, é importante determinar o seu peso com maior exatidão visto que uma sobredosagem pode ter efeitos secundários nefastos e uma subdosagem pode levar ao desenvolvimento de resistência aos desparasitantes.

## 2.2.2 Controlo Reprodutivo

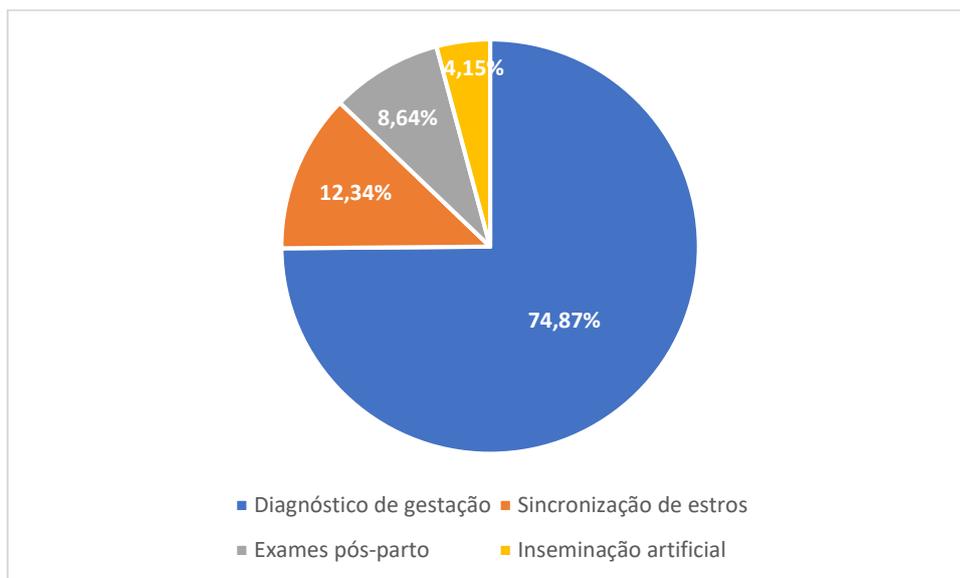
A área do Controlo Reprodutivo foi a segunda com maior frequência (20,01%). Considera-se uma área de grande importância pois permite melhorar a rentabilidade de uma exploração através de um bom manejo reprodutivo, aumentando a fertilidade do efetivo e contribuindo para uma melhoria da genética da exploração.

A tabela 7 apresenta a distribuição das intervenções realizadas na área do Controlo Reprodutivo por atividade e por espécie animal. Os pequenos ruminantes foram a espécie intervencionada com maior frequência no Controlo Reprodutivo sendo acompanhados 3590 animais, seguem-se os bovinos com 1319 intervenções e, por fim, os equinos com apenas nove animais intervencionados.

**Tabela 7** – Distribuição das atividades desenvolvidas na área do Controlo Reprodutivo, frequência absoluta e relativa (n=4918)

	Bovinos	Pequenos ruminantes	Equinos	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
Diagnóstico de gestação	461	3212	9	3682	74,87%
Sincronização de estros	229	378	-	607	12,34%
Exames pós-parto	425	-	-	425	8,64%
Inseminação artificial	204	-	-	204	4,15%
N <sub>i</sub>	1319	3590	9	4918	100,00%
F <sub>i</sub>	26,82%	73,00%	0,18%	100,00%	

Como a tabela 7 e o gráfico 2 demonstram, a intervenção que teve maior destaque no âmbito do Controlo Reprodutivo foi o diagnóstico de gestação (DG) resultando em 74,87% das atividades desenvolvidas, seguindo-se a sincronização de estros com 12,87% dos casos, depois os exames físicos pós-parto (8,64%) e por último, a inseminação artificial que correspondeu a 4,15% das intervenções.



**Gráfico 2** – Distribuição das atividades desenvolvidas na área do Controlo Reprodutivo, frequência relativa (n=4918)

### **Diagnóstico de gestação**

O DG em bovinos pode ser efetuado por palpação transretal ou, mais precocemente, por ecografia transretal, sendo possível determinar aproximadamente o tempo de gestação. Mesmo que a vaca não se encontre gestante, a realização de ecografia pode ser muito importante para que seja avaliado o trato reprodutivo, averiguando-se a existência de afeções como quistos ováricos, piómetra ou atraso na involução uterina.

Nos ovinos, o DG é feito por ecografia transparietal de modo a identificar a fase da gestação, se em estado avançado ou mais atrasado. No entanto, a maioria dos produtores apenas pretende saber se a ovelha se encontra gestante ou não.

Em relação aos equinos, a ecografia transretal é o método mais utilizado, pois permite que seja avaliado o trato reprodutivo.

## Sincronização de estros

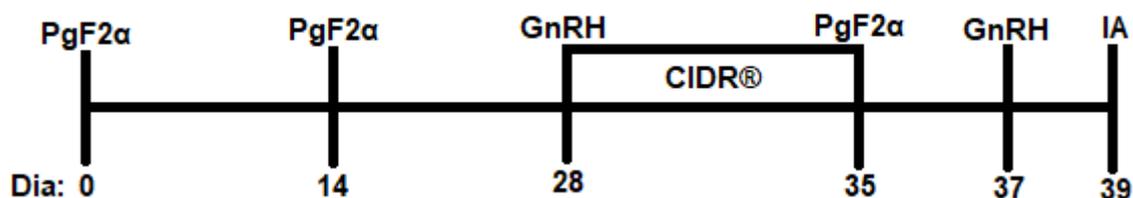
A sincronização de estros consiste na administração combinada de hormonas de forma a controlar o ciclo éstrico e a induzir a ovulação para que seja realizada a IA ou a monta a tempo fixo. É um procedimento utilizado em novilhas para antecipar a fase reprodutiva e em vacas em anestro para que retornem o ciclo éstrico.

Antes de iniciar o protocolo de sincronização, a ecografia deve ser efetuada para garantir que a vaca ou ovelha não se encontra gestante e verificar a existência de alguma lesão ou alteração no trato reprodutivo.

Durante o estágio foram utilizados dois protocolos de sincronização de estros em bovinos, um para as novilhas nulíparas em que foi aplicado o protocolo *5dCIDR – COSYNCH 72* (figura 2) e outro para as vacas, o protocolo *PRE-SYNCH 14 – OVSYNCH 56 + CIDR®* (figura 3).



**Figura 2** - Protocolo de sincronização de estros em novilhas: *5dCIDR® – COSYNCH 72* (adaptado de ABSGlobal, 2013)



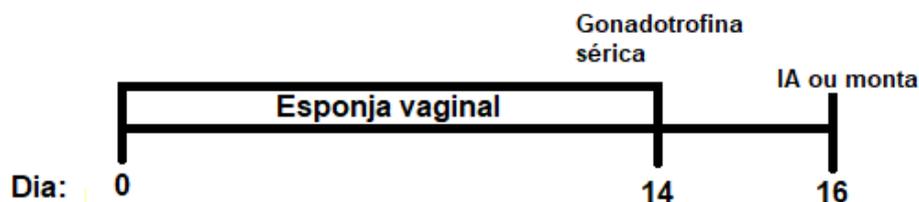
**Figura 3** - Protocolo de sincronização de estros em vacas: *PRE-SYNCH 14 – OVSYNCH 56 + CIDR®* (adaptado de ABSGlobal, 2013)

Nos bovinos, são utilizados os seguintes fármacos durante os protocolos de sincronização de estros:

- CIDR®: um dispositivo de aplicação intravaginal que contém 1,38g de progesterona;
- Veterelin®: constituído por acetato de buserelina, um análogo da hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH), sendo administrado por via intramuscular na dose de 10µg por animal;
- Veteglan®: composto pelo análogo da prostaglandina F2α (PgF2α), o d-Cloprostenol, com administração intramuscular na dose de 155µg por animal.

Os ovinos são espécies poliéstricas sazonais, sendo utilizado o protocolo de sincronização de estros com o objetivo de haver produção durante todo o ano.

O protocolo de sincronização realizado ao longo do estágio consistiu na colocação de esponjas vaginais (Ovigest 60mg®) com um espécule-aplicador, as esponjas contêm acetato de medroxiprogesterona, um análogo sintético da progesterona. Após 14 dias, as esponjas são retiradas e é administrada gonadotrofina sérica equina por via intramuscular (Oviser 5000UI®) na dose de 500UI por animal para induzir a ovulação. Quarenta e oito horas depois da administração da gonadotrofina, as ovelhas seguem para a IA ou monta controlada (figura 4).



**Figura 4** - Protocolo de sincronização de estros em ovinos

### Exames pós-parto

Durante o estágio curricular, na exploração pecuária M. Rito, Lda. foram realizados semanalmente exames pós-parto, a execução destes exames é muito importante uma vez que é dos períodos mais suscetíveis a afeções. O exame inicia-se com a medição da temperatura retal, sendo definido como ponto crítico a temperatura de 39,5°C a partir da qual se considera hipertermia/febre sendo necessário a realização de um exame mais detalhado (Constable *et al.*, 2017). De seguida procede-se ao exame do trato reprodutivo onde é observada a vulva verificando a existência de algum corrimento ou cheiro e, se necessário, exploração vaginal para

a pesquisa de lacerações vaginais, endometrites ou retenção de membranas fetais (RMF). Depois efetua-se o exame do úbere e tetos através de palpação do úbere e avaliação do leite para diagnóstico de mastite clínica.

A auscultação e percussão simultânea da zona da fossa paralombar esquerda até aos três últimos espaços intercostais é efetuada para avaliar a presença de deslocamento de abomaso à esquerda (DAE) através da pesquisa de *pings*. No entanto, se a vaca se encontrar muito magra e sem *pings* à esquerda, efetua-se o mesmo procedimento à direita para a deteção de possível deslocamento de abomaso à direita (DAD). A auscultação pulmonar deve ser realizada para a pesquisa de sinais de pneumonia. Se, até ao momento, não for encontrada uma causa que fundamente a hipertermia/febre, considera-se síndrome febril indeterminada (SFI).

### **Inseminação artificial**

Conforme ilustra a figura 5, a IA nos bovinos é retovaginal, ou seja, o *pistolet* é guiado por uma mão atravessando a vagina e o cérvix até atingir o útero e a outra mão, por palpação transretal, segura o cérvix permitindo a entrada do *pistolet* para que seja efetuada a inseminação intrauterina.



**Figura 5** - Técnica de inseminação artificial em bovinos (fotografia da autora)

### 2.2.3 Patologia Médica

A área da Patologia Médica tem como base a realização de consultas com o objetivo de estabelecer um diagnóstico e proceder à aplicação de tratamentos e/ou profilaxia. A realização de um exame clínico é fundamental para se efetuar um diagnóstico.

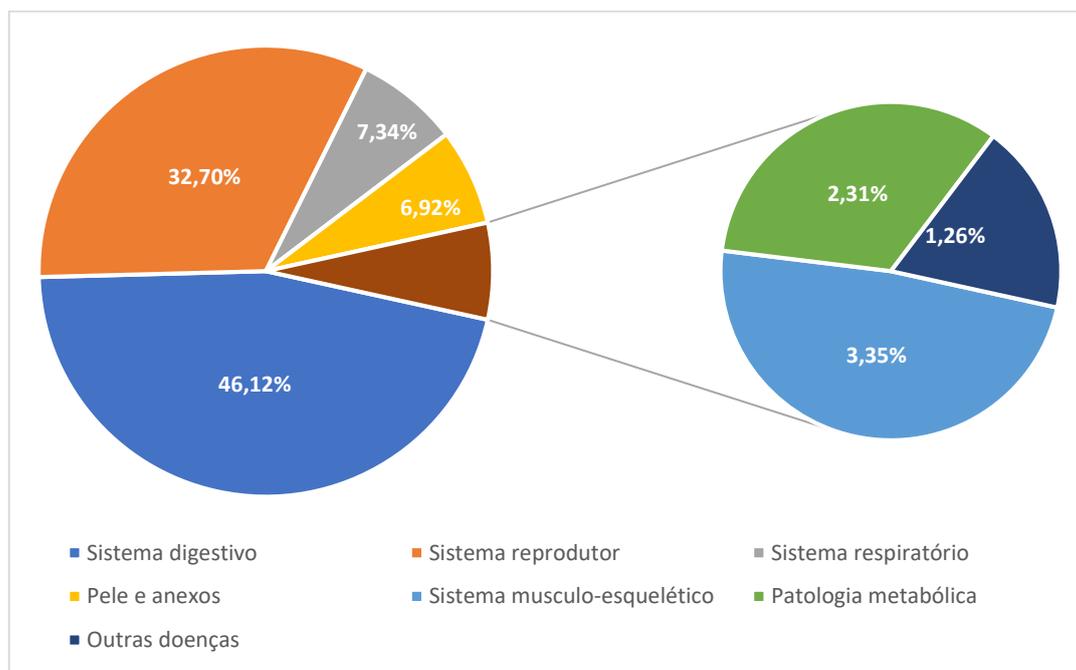
Um exame clínico completo inclui a anamnese, exame físico, exame do ambiente e exames complementares laboratoriais (Constable *et al.*, 2017). Em clínica de campo, a recolha de dados é feita com o auxílio dos produtores ou tratadores que relatam o que observaram e vão respondendo a questões efetuadas pelo médico veterinário. Muitas vezes o exame físico é efetuado apenas com a utilização de termómetro, estetoscópio e palpação transretal, sendo importante a utilização de exames complementares para se chegar a um diagnóstico. Nalguns casos, por motivos económicos, não era possível a realização de exames complementares laboratoriais, estabelecendo-se um diagnóstico presuntivo e não definitivo.

Na tabela 8 estão apresentados todos os casos de Patologia Médica seguidos ao longo do estágio curricular. Dos 477 casos acompanhados, 412 foram da espécie bovina (86,37%), 60 foram de pequenos ruminantes (12,58%) e cinco de equinos (1,05%). A reduzida casuística nos pequenos ruminantes deve-se ao baixo valor económico do próprio animal.

**Tabela 8** – Distribuição das atividades desenvolvidas na área da Patologia Médica consoante a espécie animal e sistema orgânico, frequência absoluta e relativa (n=477)

	Bovinos	Pequenos ruminantes	Equinos	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
Sistema digestivo	169	50	1	220	46,12%
Sistema reprodutor	155	1	-	156	32,70%
Sistema respiratório	35	-	-	35	7,34%
Pele e anexos	27	4	2	33	6,92%
Sistema músculo-esquelético	14	-	2	16	3,35%
Doenças metabólicas	6	5	-	11	2,31%
Outras doenças	6	-	-	6	1,26%
N <sub>i</sub>	412	60	5	477	100,00%
F <sub>i</sub>	86,37%	12,58%	1,05%	100,00%	

No gráfico 3 é possível observar a distribuição dos casos no âmbito da Patologia Médica de acordo com o sistema envolvido. O sistema digestivo foi o sistema que se destacou com 220 intervenções correspondendo a 46,12% dos casos, seguindo-se do sistema reprodutor com 156 animais acompanhados (32,70%).



**Gráfico 3** – Distribuição das atividades desenvolvidas na área da Patologia Médica, de acordo com o sistema orgânico (n=477)

### 2.2.3.1 Sistema digestivo

A tabela 9 apresenta a casuística referente ao sistema digestivo, a diarreia neonatal foi a afeção com o maior número de intervenções, sendo 158 animais acompanhados, resultando em 71,82% dos casos.

**Tabela 9** – Casos clínicos acompanhados referentes ao sistema digestivo, frequência absoluta e relativa (n=170)

	Bovinos	Pequenos ruminantes	Equinos	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
Diarreia neonatal	158	-	-	158	71,82%
Coccidiose	-	50	-	50	22,73%
DAE	6	-	-	6	2,73%
Indigestão	2	-	-	2	0,91%
Timpanismo espumoso	2	-	-	2	0,91%
DAD	1	-	-	1	0,45%
Cólica	-	-	1	1	0,45%
N <sub>i</sub>	169	50	1	220	100,00%
F <sub>i</sub>	76,82%	22,73%	0,45%	100,00%	

### Diarreia neonatal

Define-se diarreia neonatal a diarreia que ocorre em vitelos com idade inferior a um mês (Meganck *et al.*, 2014). É considerada a doença mais importante em recém-nascidos causando graves problemas económicos, tanto em vitelos de aptidão leiteira como de aptidão cárnica (Barrington *et al.*, 2002). As diarreias podem ser de origem infecciosa ou, mais raramente, de origem nutricional.

Fatores que podem influenciar o estado de saúde do neonato incluem a eficiência de imunidade passiva, estado nutricional do vitelo, manejo, exposição ambiental, higiene das instalações e estado sanitário e vacinal da mãe. Uma exploração que possua uma taxa de mortalidade inferior a 5%, causada por diarreia neonatal, apresenta uma boa gestão (Izzo *et al.*, 2015).

Os mais importantes agentes etiológicos da diarreia neonatal são a *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC), rotavírus, coronavírus, *Salmonella spp.* e *Cryptosporidium spp.*, destacando-se o *C. parvum* (Meganck *et al.*, 2014; Izzo *et al.*, 2015).

As diarreias provocadas por ETEC são observadas em vitelos com menos de três dias de idade, embora possam ocorrer mais tarde se estiverem associados a outros agentes. Os rotavírus afetam vitelos entre os cinco dias e as duas semanas de idade enquanto os coronavírus podem afetar até aos 30 dias. As infeções por bactérias do género *Salmonella* pode aparecer em diferentes idades de acordo com o serotipo, relativamente às infeções por protozoários do

género *Cryptosporidium* podem infectar animais entre uma a quatro semanas, mas geralmente só se observam sinais até às duas semanas (Izzo *et al.*, 2015).

As diarreias cujo agente etiológico é a ETEC denominam-se diarreias secretoras uma vez que as enterotoxinas estimulam o aumento da produção de secreções intestinais de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), cloro ( $\text{Cl}^-$ ), sódio ( $\text{Na}^{2+}$ ) e potássio ( $\text{K}^+$ ), não causando nenhuma lesão na estrutura das células da mucosa intestinal. Se os agentes causais das diarreias forem os protozoários e os vírus designam-se diarreias por malabsorção pois verifica-se uma destruição do tecido epitelial responsável pela absorção, neste caso a absorção é prejudicada embora a produção de secreções intestinais seja contínua (Bettencourt & Romão, 2011; Izzo *et al.*, 2015). No caso das diarreias provocadas por *Salmonella spp.*, podem ser observadas diarreias secretoras e/ou por malabsorção, sendo as últimas mais frequentes (Stilwell, 2013).

Quando um animal tem diarreia, apresenta perdas significativas de fluídos e eletrólitos como o  $\text{HCO}_3^-$ , o  $\text{Cl}^-$ , o  $\text{Na}^{2+}$  e o  $\text{K}^+$ . Durante algum tempo, o vitelo ainda consegue compensar estas perdas permanecendo alerta e com reflexo de sucção, depois são observados sinais sistémicos de desidratação ou acidose. O animal fica deprimido, podendo atingir o estado comatoso (Bettencourt & Romão, 2011).

A realização do exame físico do vitelo é fundamental para se estabelecerem as corretas medidas terapêuticas. A desidratação e a acidose são as principais causas de morte em vitelos com diarreia, as medidas terapêuticas têm como objetivo corrigir os desequilíbrios.

O grau de desidratação é estimado de acordo com a posição do globo ocular, o estado das membranas mucosas e o tempo de repleção da prega cutânea (TRPC), de acordo com a tabela 10.

**Tabela 10** - Avaliação do grau de desidratação em vitelos neonatais (adaptado de Izzo *et al.*, 2015)

% de desidratação	Globo ocular	TRPC (segundos)	Mucosas
0	Normal	< 1	Húmidas
1 – 5	Normal	1 – 4	Húmidas
6 – 8	Ligeira enoftalmia	5 – 10	Ligeiramente secas
9 – 10	Moderada enoftalmia	11 – 15	Moderadamente secas
11 - 12	Severa enoftalmia	16 – 45	Secas

A acidose pode ser avaliada pela existência de reflexo de sucção, que em caso de acidose não se verifica, pelo estado de fraqueza e pela idade do vitelo. É importante efetuar regularmente a medição da frequência cardíaca, visto que a bradicardia pode indicar a presença de hipoglicemia, hipercalémia ou hipotermia (Bettencourt & Romão, 2011).

Na exploração pecuária M. Rito, Lda. encontra-se delineado um protocolo de atuação para os vitelos que apresentam diarreia de acordo com os sinais clínicos. Caso o vitelo apresente sintomatologia ligeira a moderada e com reflexo de sucção, o tratamento a aplicar é fluidoterapia oral num período de três a cinco dias, dependendo da melhoria dos sinais clínicos. Esta medida terapêutica consiste na administração diária de 100g de uma solução de eletrólitos (Vitavitel®) e de 50g sulfato de paromomicina (Gabrocol 100®) diluídos em dois litros de água morna. Em situações de desidratação severa, perda do reflexo de sucção e incapacidade de se manter em pé, aplica-se fluidoterapia endovenosa com solução hipertónica seguida de administração de solução isotónica, corrigindo a desidratação intersticial e celular provocada pela solução hipertónica. Se o vitelo apresentar sinais de melhoria, o tratamento instituído será o que foi descrito anteriormente para sintomatologia ligeira a moderada.

Após o tratamento é importante que estes animais sejam vigiados durante alguns dias, garantindo uma alimentação correta e observar a consistência das fezes.

### **2.2.3.2 Sistema reprodutor**

A tabela 11 apresenta os casos clínicos acompanhados referentes ao sistema reprodutor. A infeção uterina foi a afeção com o maior número de intervenções, correspondendo a 66,67% dos casos, seguindo-se a retenção de membranas fetais (RMF) com 16,67%, a laceração vaginal com 8,33% e a distócia perfazendo 5,13% das atividades.

**Tabela 11** – Casos clínicos acompanhados referentes ao sistema reprodutor, frequência absoluta e relativa (n=156)

	Bovinos	Pequenos ruminantes	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
Infeção uterina	104	-	104	66,67%
RMF	26	-	26	16,67%
Laceração vaginal	13	-	13	8,33%
Distócia	8	-	8	5,13%
Prolapso uterino	3	-	3	1,92%
Prolapso vaginal	-	1	1	0,64%
Hidrocelo	1	-	1	0,64%
N <sub>i</sub>	155	1	156	100,00%
F <sub>i</sub>	99,36%	0,64%	100,00%	

### Distócia em bovinos

A distócia é definida como a dificuldade de parto, podendo ser de origem maternal ou fetal. Por outro lado, a eutócia é definida como um parto normal e espontâneo (Mee, 2008). É uma situação de emergência que exige uma rápida resolução de forma a obter um bom prognóstico, tanto para a vaca como para o vitelo (Noakes, 2009; Troedsson, 2015).

As causas mais comuns de distócia em bovinos são as seguintes: desproporção feto-maternal, disposição anómala do feto (apresentação, postura e posição), gestação gemelar, torção uterina, hipocalcémia e insuficiente dilatação do cérvix (Troedsson, 2015). A tabela 12 apresenta as causas de distócia acompanhadas ao longo do estágio curricular. Observaram-se oito casos de distócia, sendo que seis foram por desproporção feto-maternal (75,00%).

**Tabela 12** - Causas de distócia em bovinos acompanhadas ao longo do estágio, frequência absoluta e relativa (n=8)

Causa de distócia	Nº de intervenções	F <sub>i</sub>
Desproporção feto-maternal	6	75,00%
Apresentação posterior	1	12,50%
Gestação gemelar	1	12,50%
N <sub>i</sub>	8	100,00%

Nos casos de desproporção feto-maternal, também se verificou a existência de duas situações em que os fetos tinham defeitos de postura, num dos casos apresentava flexão do carpo e no outro desvio lateral da cabeça.

A realização de manobras obstétricas seguidas da utilização de cordas e extrator obstétrico geralmente foram a primeira opção para a resolução destes partos. Quando não foi possível efetuar as manobras obstétricas, optou-se pela cesariana em três casos de fetos vivos e pela fetotomia num dos casos em que o feto se encontrava morto.

De modo a diminuir os casos de partos distócicos deve-se ter em atenção a idade e o tamanho em que se colocam as novilhas à cobrição ou IA, garantindo o seu desenvolvimento até à altura do parto. A elevada condição corporal das vacas tem sido relacionada com o aumento dos casos de distócias, sendo importante evitar esta situação. A seleção de raças que estejam associadas com maior facilidade de parto, pode contribuir para a diminuição do número de distócias numa exploração (Noakes, 2009).

### 2.2.3.3 Sistema respiratório

A tabela 13 apresenta a casuística referente ao sistema respiratório, existindo apenas 35 casos de pneumonia/broncopneumonia.

**Tabela 13** - Intervenções realizadas referentes ao sistema respiratório, frequência absoluta e relativa (n=35)

	Bovinos	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
<b>Pneumonia/broncopneumonia</b>	35	35	100,00%

#### **Pneumonia/broncopneumonia**

Os casos de pneumonia/broncopneumonia foram diagnosticados maioritariamente em vitelos de engorda, sendo um diagnóstico presuntivo com base nos sinais clínicos, embora seja importante a utilização de exames complementares para identificação do agente etiológico.

É uma afeção típica do Síndrome Respiratório Bovinos (SRB), com etiologia multifactorial e possuindo vários agentes etiológicos (Woolums, 2015). A doença respiratória é muito comum

em bovinos em explorações intensivas provocando grandes perdas económicas devido aos custos de tratamento e profilaxia assim como a baixa produtividade (Constable *et al.*, 2017).

O desenvolvimento desta afeção respiratória deve-se em grande parte a fatores ambientais e de manejo como o tamanho da exploração e as suas condições de higiene, humidade, temperatura e ventilação. A existência de animais provenientes de várias explorações, que foram sujeitos a stress, sendo agrupados em lotes com grande densidade animal e diferentes idades também contribui para uma maior exposição a agentes (Taylor *et al.*, 2010; Bettencourt & Romão, 2011).

Os animais apresentavam hipertermia (temperatura retal com valores superiores a 39,5°C), dispneia, corrimento bilateral seroso ou purulento. Durante a auscultação notava-se alteração dos sons respiratórios com o aumento dos ruídos inspiratórios e presença de sibilos e crepitação.

O sinergismo entre bactérias e vírus é fundamental para a patofisiologia do complexo SRB, uma vez que os agentes virais não têm efeito se atuarem isoladamente, no entanto podem ser fatais se combinados com bactérias comensais do trato respiratório (Constable *et al.*, 2017). Os agentes etiológicos mais frequentes do complexo SRB estão descritos na tabela 14.

**Tabela 14** - Agentes etiológicos mais frequentes no SRB (adaptado de Woolums, 2015 & Constable *et al.*, 2017)

Vírus	Bactérias
Herpesvírus bovino tipo 1	<i>Mannheimia haemolytica</i>
Vírus respiratório sincicial bovino	<i>Pasteurella multocida</i>
Vírus parainfluenza tipo 3	<i>Histophilus somni</i>
Vírus da diarreia viral bovina	<i>Mycoplasma bovis</i>

Nos casos de pneumonia/broncopneumonia acompanhados ao longo do estágio curricular, o isolamento dos animais afetados para um local limpo, ventilado e com temperatura ideal era essencial para a realização de um tratamento adequado. Procedia-se à administração de antimicrobianos de amplo espectro como a tilmicosina (Tilmisone®) na dose de 10 mg/kg de peso vivo por via subcutânea na zona do tórax ou a administração de ceftiofur (Naxcel®), com um intervalo de segurança mais reduzido na carne e nulo no leite, na dose de 5 mg/kg de peso vivo por via subcutânea na base da orelha. Para diminuir a inflamação, administrava-se um anti-inflamatório não esteróide (AINE) como o carprofeno (Rimadyl®) por via subcutânea na dose de

1,4 mg/kg de peso vivo. Nas situações em que os animais apresentavam muito muco, administrava-se bromexina (ERES®), um mucolítico expetorante, podendo ser administrado por via oral (pó dissolvido na água de bebida) ou por via intramuscular (solução injetável), na dose de 0,2 a 0,5 mg/kg de peso vivo. Alertavam-se os proprietários para a importância da realização de planos de vacinação contra os agentes e aconselhamento para melhoria das condições da exploração.

#### 2.2.3.4 Pele e anexos

A tabela 15 apresenta os casos clínicos referentes ao sistema cutâneo e anexos. A mastite foi a afeição com o maior número de intervenções com 18 animais acompanhados (54,55%), seguindo-se as miasas com dez casos (30,30%) e por fim, as feridas com cinco intervenções (15,15%).

**Tabela 15** - Casos clínicos acompanhados referentes à pele e anexos, frequência absoluta e relativa (n=33)

	Bovinos	Pequenos ruminantes	Equinos	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
Mastite	16	2	-	18	54,55%
Miasas	10	-	-	10	30,30%
Feridas	1	2	2	5	15,15%
N <sub>i</sub>	27	4	2	33	100,00%
F <sub>i</sub>	81,82%	12,12%	6,06%	100,00%	

#### Mastite bovina

Define-se mastite a inflamação da glândula mamária, sendo causada por agentes infecciosos (bactérias, fungos, leveduras) ou não-infecciosos. É considerada a doença com maior impacto económico nas explorações de bovinos leiteiros, provocando perdas devido a quebras de produção, custos de produção e refugo (Bradley, 2002; Morin, 2015).

As mastites provocadas por agentes patogénicos podem ser classificadas como mastites contagiosas ou ambientais. Os agentes etiológicos da mastite contagiosa caracterizam-se por serem adaptados ao hospedeiro, especialmente à glândula mamária, o que lhes confere

capacidade de sobrevivência, os agentes mais frequentes são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Mycoplasma spp.* Por outro lado, os agentes da mastite ambiental são considerados como invasores oportunistas da glândula mamária não conseguindo adaptar-se, tendo como agentes etiológicos mais comuns a *Escherichia coli*, o *Streptococcus uberis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Serratia spp.*, fungos e leveduras (Bradley, 2002; Peek & Divers, 2018).

As mastites podem ser subclínicas, havendo inflamação do úbere que é detetada pelo aumento do número de células somáticas no leite, o animal não apresenta sintomatologia e o leite não possui alterações macroscópicas; ou clínicas, onde há produção de leite visivelmente alterado podendo existir sintomatologia (Morin, 2015).

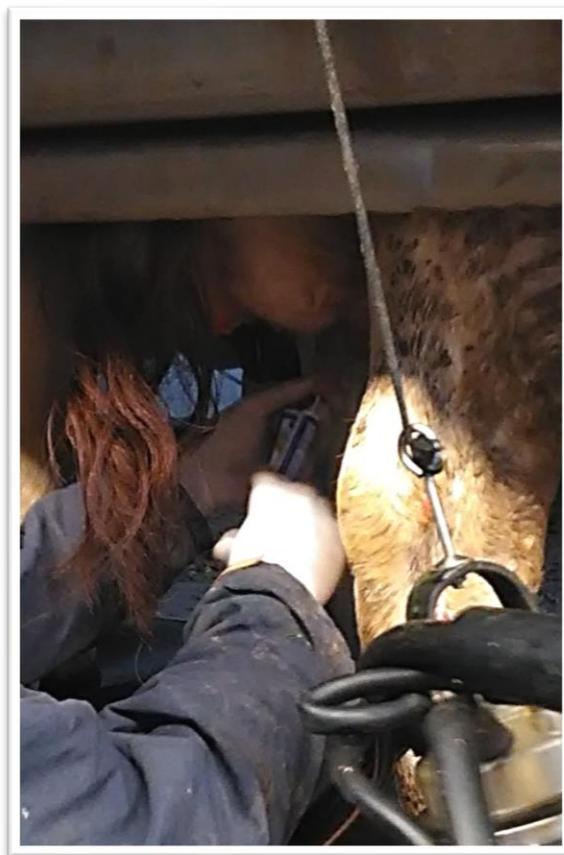
O diagnóstico de mastite é feito através dos sinais clínicos ou da contagem de células somáticas (CCS), que é considerado o indicador mais fiável da presença de mastite subclínica. O teste californiano de mastites (TCM) é o teste mais utilizado para a deteção de mastites subclínicas, consiste na medição da quantidade de ácido desoxirribonucleico (ADN) proveniente das células nucleadas no leite. O reagente do TCM dissolve as paredes celulares e nucleares libertando o material nuclear, o ADN livre forma uma massa gelatinosa que vai aumentando de consistência proporcionalmente ao número de leucócitos presentes no leite (Peek & Divers, 2018). É um teste de avaliação subjetiva, relacionando o valor aproximado de células somáticas com o resultado do TCM (tabela 16).

**Tabela 16** - Relação entre o resultado do TCM e o valor aproximado de CCS (adaptado de Peek & Divers, 2018)

TCM		CCS aproximado ( $\times 10^3$ )/mL
Negativo		0 – 200
Duvidoso	Traço (S)	150 – 500
Positivo	+	400 – 1000
	++	800 – 5000
	+++	> 5000

Para o tratamento de mastites, devem ser realizados protocolos de acordo com as características da exploração, tendo em conta os agentes etiológicos mais frequentemente isolados e a fase de lactação em que se encontra a vaca, podendo o protocolo ser sujeito a alterações se necessário (Roberson, 2003).

O tratamento preconizado durante o estágio curricular para as vacas em início de lactação consistia na administração de 1 mg/kg de peso vivo de cefquinoma (Cobactan®) durante cinco dias ou de 2 mg/kg de peso vivo de marbofloxacina (Marbocyl®) durante três dias, ambas por via intramuscular ou a administração intramamária de cefoperazona (Pathozone®). Se o animal apresentasse sinais clínicos como febre, dor e inflamação do úbere também era administrado o AINE carprofeno (Rimadyl®) por via subcutânea na dose de 1,4 mg/kg de peso vivo, sendo importante a realização regular da ordenha. Caso a vaca se apresentasse em fase final da lactação, efetuava-se o tratamento de secagem com a aplicação intramamária de uma bisnaga de cloxacilina (Orbenin Extra®).



**Figura 6** – Tratamento de secagem com administração intramamária de cloxacilina (fotografia da autora)

A utilização de antimicrobianos em explorações leiteiras deve-se, em grande parte, ao tratamento de mastites, sendo necessária uma consciencialização para a administração de fármacos respeitando o seu intervalo de segurança de forma a evitar risco para a saúde pública

(Erskine *et al.*, 2003). Se os fármacos administrados possuírem intervalo de segurança, a ordenha deverá ser efetuada para um tanque à parte.

### 2.2.3.5 Sistema músculo-esquelético

As intervenções realizadas referentes ao sistema músculo-esquelético encontram-se apresentadas na tabela 17, a claudicação foi a afeção que registou o maior número de casos, 12, resultando em 75,00% das atividades desenvolvidas.

**Tabela 17** - Casos clínicos acompanhados referentes ao sistema músculo-esquelético, frequência absoluta e relativa (n=16)

	Bovinos	Equinos	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
Claudicação	11	1	12	75,00%
Artrite	3	-	3	18,75%
Fratuira óssea	-	1	1	6,25%
N <sub>i</sub>	14	2	16	100,00%
F <sub>i</sub>	87,50%	12,50%	100,00%	

#### Claudicação em bovinos

Nos casos de claudicação que surgiram ao longo do estágio o animal apresentava relutância em movimentar-se. Dos 11 casos assistidos, sete foram de claudicação inespecífica visto que não foi possível determinar a causa, três tiveram como origem a dermatite digital e num caso foi detetado um tiloma.

Presume-se que os casos de claudicação inespecífica sejam de origem traumática, os animais afetados apresentavam sinais de inflamação nomeadamente aumento de temperatura, edema e tumefação na região afetada. O tratamento consistiu na administração de anti-inflamatórios para a redução da dor e inflamação como o AINE carprofeno (Rimadyl®) por via subcutânea na dose de 1,4 mg/kg de peso vivo ou, em casos de claudicação severa, a administração intramuscular de dexametasona (Rapidexon®) na dose de 0,06 mg/kg de peso vivo.

A dermatite digital é definida como uma inflamação da pele na zona digital, é uma afeção dolorosa, infecciosa e contagiosa tendo como agente causal as espiroquetas do género

*Treponema* ou as bactérias anaeróbias, por exemplo o *Dichelobacter nodosus*. Afeta mais frequentemente bovinos de aptidão leiteira que se encontram estabulados pois encontram-se em meios com bastante humidade, favorecendo a ação do agente patogénico. As lesões encontram-se localizadas na parte caudal da extremidade dos membros, sendo que as lesões mais recentes apresentam-se mais dolorosas e com aspeto mais avermelhado comparativamente às lesões mais antigas (Stilwell, 2013; Berry, 2015; Constable *et al.*, 2017). O tratamento utilizado ao longo do estágio foi o corte corretivo das úngulas, seguido da aplicação tópica com *spray* de oxitetraciclina (Oxymycin®) na zona afetada e utilização de pedilúvio com formol a 5%.

O tiloma ou hiperplasia interdigital é uma consequência da dermatite interdigital crónica, uma inflamação da pele na zona interdigital, tendo carácter hereditário. Geralmente não é doloroso a não ser que atinja dimensões significativas influenciando a locomoção do próprio animal, neste caso deve ser efetuada a remoção cirúrgica (Peek & Divers, 2018). No caso acompanhado, a decisão dos produtores foi o abate do animal, por motivos económicos e pelo facto de ser hereditário.

### 2.2.3.6 Doenças metabólicas

A tabela 18 apresenta a casuística referente às doenças metabólicas, a toxémia da gestação foi a afeção que registou maior frequência, resultando em 45,45% dos casos clínicos.

**Tabela 18** - Casos clínicos acompanhados referentes à patologia metabólica, frequência absoluta e relativa (n=11)

	Bovinos	Pequenos ruminantes	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
Toxémia da gestação	-	5	5	45,45%
Hipocalcémia	4	-	4	36,36%
Cetose	1	-	1	9,09%
Hipomagnesiémia	1	-	1	9,09%
N <sub>i</sub>	6	5	11	100,00%
F <sub>i</sub>	54,55%	45,45%	100,00%	

## **Toxémia da gestação em ovelhas**

A toxémia da gestação é uma afeção metabólica que ocorre na fase final da gestação, mais especificamente nas últimas duas a quatro semanas de gestação, sendo mais frequente em ovelhas com dois ou mais fetos. Esta fase da gestação caracteriza-se pela ocorrência de balanço energético negativo devido ao rápido crescimento fetal que leva ao aumento das necessidades energéticas associado à insuficiente alimentação, uma vez que o rúmen apresenta uma menor capacidade com o desenvolvimento dos fetos. Pode ocorrer também em ovelhas com alimentação pobre em energia e com má qualidade, devido ao clima muito frio ou fatores de stress como transporte, tosquia ou ataque de predadores (Brozos *et al.*, 2011; Smith, 2015).

A toxémia da gestação pode ser classificada de acordo com a sua etiologia em: toxémia da gestação primária, toxémia da gestação secundária, toxémia da gestação das ovelhas gordas, toxémia da gestação das ovelhas magras (ou da fome) e toxémia da gestação por stress induzido (Constable *et al.*, 2017).

Os animais normalmente encontram-se isolados do restante rebanho, fracos e com inapetência, podendo estar deprimidos e em decúbito. A depressão é caracterizada por sinais neurológicos como tremores, incoordenação, convulsões, andar em círculos, cegueira, bruxismo e hipersalivação (figura 7). Geralmente os animais apresentam cetonémia, cetonúria e hipoglicémia, visto que uma parte significativa da glucose materna é consumida pelo feto (Smith, 2015; Constable *et al.*, 2017). A toxémia da gestação é fatal se não forem tomadas medidas terapêuticas rapidamente.

O tratamento deve ser realizado com o objetivo de administrar fontes de energia exógenas e remover as causas que levam ao aumento das necessidades energéticas. Deve ser efetuada a administração intravenosa de 100mL de glucose e gluconato de cálcio (Soroglucon®) e a administração oral bidiária de 60mL de propilenoglicol, um precursor da glucose. É aconselhado que seja feita a indução do parto com 20mg dexametasona por via intramuscular (10mL de Rapidexon®) ou a realização de cesariana (Brozos *et al.*, 2011).

Como medidas preventivas, devem-se alertar os proprietários sobre a importância do manejo alimentar nesta fase da gestação das ovelhas uma vez que a quantidade de ingestão tem tendência a diminuir, prestando atenção à condição corporal em que se encontram os seus animais antes do parto e aconselhar os produtores à realização de ecografias de modo a identificar as ovelhas gestantes de dois ou mais fetos.



**Figura 7** - Ovino com toxemia da gestação apresentando hipersalivação (fotografia da autora)

### 2.2.3.7 Outras doenças

Os casos clínicos considerados como outras doenças encontram-se apresentados na tabela 19. Estes seis casos apenas se registaram em bovinos, sendo que três deles (50,00%) tratavam-se de anaplasmose, dois (33,33%) de babesiose e apenas um (16,67%) de onfalite.

**Tabela 19** - Casos clínicos acompanhados referentes a outras doenças, frequência absoluta e relativa (n=6)

	Bovinos	F <sub>i</sub>
Anaplasmose	3	50,00%
Babesiose	2	33,33%
Onfalite	1	16,67%
N <sub>i</sub>	6	100,00%

## Babesiose bovina

A babesiose bovina, também conhecida como febre do Texas, piroplasmose ou febre da carraça, tem como agente etiológico um protozoário intraeritrocitário do género *Babesia*, destacando-se no continente europeu as espécies *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* e *B. major*. Transmite-se geralmente através de carraças, no entanto pode ser transmitida por outros artrópodes ou até por via iatrogénica devido a material contaminado. Relativamente às carraças, estas pertencem à família *Ixodidae*, sendo os géneros *Rhipicephalus* (*Boophilus*), *Ixodes*, *Haemaphysalis* e *Rhipicephalus* os principais vetores de babesiose (Zaugg, 2015; Constable *et al.*, 2017).

Os animais afetados com babesiose apresentam-se com hipertermia, taquicardia, taquipneia, inapetência e fraqueza. Se existir acumulação de eritrócitos infetados nos capilares cerebrais surgem sinais neurológicos como opistótonos, cegueira, depressão, convulsões ou coma. Pode ser observada hemoglobinúria, sendo característica desta afeção, em que a urina tem coloração vermelha escura a acastanhada. Geralmente é fatal em apenas 24 horas se os animais se encontrarem severamente afetados, embora em situações mais prolongadas possa desenvolver-se anemia ou icterícia (Zaugg, 2015, Constable *et al.*, 2017; Peek & Divers, 2018).

Através da observação dos sinais clínicos e pela presença de carraças pode fazer-se um diagnóstico presuntivo. A realização de um esfregaço sanguíneo confirma o diagnóstico, podendo ser possível determinar a espécie de *Babesia*.

O tratamento preconizado consistiu na administração subcutânea de 1 mg/kg de peso vivo de dipropionato de imidocarb (Imizol®). Aconselhou-se a administração profilática ao restante efetivo do mesmo fármaco.

### 2.2.4 Necrópsias

A tabela 20 apresenta as necrópsias que foram efetuadas ao longo do estágio, sendo que duas, das 15 necrópsias realizadas, não foi descoberta a causa da morte.

A realização de necrópsias tem uma grande importância médico-veterinária pois através do diagnóstico é possível implementar medidas terapêuticas e/ou profiláticas com o objetivo de diminuir ou erradicar uma doença numa exploração. A necrópsia permite obter um diagnóstico através da observação macroscópica de lesões juntamente com as informações dadas pelos produtores ou tratadores sobre a história clínica do animal e rebanho, sendo maioritariamente presuntivos.

**Tabela 20** - Necrópsias realizadas durante o período de estágio de acordo com a espécie animal e etiologia, frequência absoluta e relativa (n=15)

	Bovinos	Pequenos ruminantes	Equinos	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
Anaplasmosse	3	-	-	3	20,00%
Toxémia da gestação	-	2	-	2	13,33%
Coccidiose	-	2	-	2	13,33%
Enterotoxémia	1	1	-	2	13,33%
Parasitose gastrointestinal	-	1	1	2	13,33%
Inconclusiva	1	1	-	2	13,33%
Intoxicação por plantas tóxicas	1	-	-	1	6,67%
Pneumonia	-	1	-	1	6,67%
N <sub>i</sub>	6	8	1	15	100,00%
F <sub>i</sub>	40,00%	53,33%	6,67%	100,00%	

Por vezes é necessário recorrer a exames complementares efetuando-se colheitas de amostras para observação microscópica ou para identificação de um ou vários agentes etiológicos, tornando assim o diagnóstico definitivo.

Um dos exemplos em que foi necessário o auxílio de exames complementares foi o caso de um bovino que, segundo os tratadores, encontrava-se anteriormente deprimido e anorético. Durante a realização da necrópsia, verificou-se que tinha as mucosas anémicas e apresentava esplenomegália, hepatomegália e a vesícula biliar aumentada, suspeitando-se de hemoparasitose. Ao enviar-se um esfregaço sanguíneo para o laboratório confirmou-se a presença de *Anaplasma spp.*

No caso da toxémia da gestação foi possível obter diagnóstico sem recorrer a exames complementares, durante a realização da necrópsia verificou-se que ambos os cadáveres apresentavam bastante gordura subcutânea e intra-abdominal e gestação gemelar, sendo que num dos casos o fígado se apresentava friável e coloração amarelada ou pálida (figura 8).



**Figura 8** - Necrópsia a ovelha com toxemia da gestação que apresentava fígado friável e pálido, excesso de gordura subcutânea e intra-abdominal e gestação gemelar (fotografia da autora)

### 2.2.5 Patologia Cirúrgica

A casuística na área da Patologia Cirúrgica encontra-se apresentada na tabela 21, a espécie com o maior número de intervenções foi a equina com a realização de seis orquiectomias (54,55%). Relativamente aos bovinos, efetuaram-se três cesarianas (27,27%) e duas omentopexias (17,17%).

**Tabela 21** - Distribuição das atividades desenvolvidas na área da Patologia Cirúrgica consoante a espécie, frequência absoluta e relativa (n=11)

	Bovinos	Equinos	N <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>
Orquiectomia	-	6	6	54,55%
Cesariana	3	-	3	27,27%
Omentopexia	2	-	2	18,18%
N <sub>i</sub>	5	6	11	100,00%
F <sub>i</sub>	45,45%	54,55%	100,00%	

### Orquiectomia em equinos

A orquiectomia em equinos é realizada com o objetivo de reduzir a agressividade e melhorar o manejo, sendo dos procedimentos cirúrgicos com maior frequência em equinos e podendo ser efetuado em qualquer idade embora essa decisão seja tomada quando começam a mostrar sinais de comportamento masculino, ou seja, entre um a dois anos de idade. Este procedimento também é indicado em situações de orquite, epididimite, neoplasia testicular, hidrocelo, trauma testicular, torção do cordão espermático ou hérnia inguinal, necessitando de orquiectomia unilateral ou bilateral (Schumacher, 2012; Mair *et al.*, 2013).

Durante o estágio, as orquiectomias eram efetuadas com o animal em decúbito uma vez que se tratavam de animais com temperamento agressivo promovendo uma maior segurança ao médico veterinário. Relativamente à técnica cirúrgica, optou-se pela técnica aberta que é mais rápida, com melhor visualização e requer menos disseção.

O protocolo anestésico adotado consistiu na combinação de detomidina e quetamina. A detomidina (Domosedan®) foi administrada por via intravenosa lenta na dose de 20 µg/kg de peso vivo para promover uma leve sedação. Após cinco a dez minutos, administrou-se intravenosamente a quetamina (Imalgene 1000®) na dose de 2,2 mg/kg de peso vivo para indução anestésica. Quando o animal se encontrava em decúbito, procedeu-se à anestesia local com lidocaína (Anestésin 20mg/mL®) no escroto, testículos e cordão espermático. A assépsia do campo cirúrgico foi feita com iodopovidona.

Começou-se por fazer uma incisão na pele do escroto e de seguida na túnica vaginal parietal, cortando-se o ligamento da cauda do epidídimo (que liga o epidídimo à túnica vaginal parietal). Depois os testículos, o epidídimo e a porção distal da cauda do epidídimo são separados da túnica vaginal parietal, utilizando-se um emasculador. O emasculador utilizado era o *Sand* que apenas provoca esmagamento, sendo necessário recorrer a uma lâmina de bisturi ou a uma tesoura para efetuar o corte e proceder-se à excisão. Para minimizar a hemorragia,

efetuou-se uma ligadura no cordão espermático com fio de sutura não absorvível de seda (Silkam®). As incisões escrotais não são suturadas, deixando-se cicatrizar por segunda intenção e aplicando na zona das incisões *spray* de oxitetraciclina (Oxymycin®).

Como medicação pós-cirúrgica, administrou-se 8 mg/kg de peso vivo de penicilina procaína e 10 mg/kg de peso vivo de dihidroestreptomicina, resultando em 1ml de Penistrepto® por 25kg de peso vivo por via intramuscular profunda durante quatro dias. Como anti-inflamatório, foi administrado flunixinina meglumina (Niglumine®) na dose de 1,1 mg/kg de peso vivo por via intravenosa num período de três dias. Recomendaram-se duches frios e andar a passo, sendo necessário uma vigilância da região do escroto para atuar rapidamente em caso de complicação.

As complicações pós-operatórias não são comuns, no entanto podem colocar a vida do cavalo em risco, como exemplos de complicações temos a hemorragia severa que pode estar associada a uma emasculação inadequada, edema excessivo provocado por uma má drenagem ou pela falta de exercício (andar a passo), evisceração, peritonite, hidrocelo, funiculite, infecção aguda ou septicemia, persistência do comportamento de garanhão e lesão do pênis (Hendrickson, 2013; Schumacher *et al.*, 2013).

### 3. Anaplasmosse bovina: revisão bibliográfica

#### 3.1 Caracterização do agente etiológico – *Anaplasma marginale*

O agente etiológico da anaplasmosse bovina pertence ao Reino *Bacteria*, Filo *Proteobacteria*, Classe *Alphaproteobacteria*, Ordem *Rickettsiales*, Família *Anaplasmataceae* e Género *Anaplasma* (Taylor *et al.*, 2016).

O género *Anaplasma* foi descoberto em 1910 por Arnold Theiler, sendo a primeira pessoa a reconhecer a existência de “pontos marginais” em eritrócitos num esfregaço sanguíneo de uma vaca doente, identificando-os como os agentes causais dessa doença, posteriormente esses agentes foram identificados como *Anaplasma marginale* (Kocan *et al.*, 2010).

É uma bactéria gram-negativa intra-eritrócitária obrigatória que infeta diferentes espécies de animais, sendo que algumas espécies de *Anaplasma* podem também afetar os humanos, o que não se verifica no *Anaplasma marginale*. A anaplasmosse é infecciosa, mas não é contagiosa, no entanto tem um grande impacto a nível de produtividade, mortalidade e em medidas preventivas nas explorações causando graves perdas económicas (Aubry & Geale, 2011; Constable *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2019; Okafor *et al.*, 2018).

O género *Anaplasma* é constituído pelas seguintes espécies: *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma ovis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma caudatum* e *Anaplasma platys* (Palomar *et al.*, 2015; Paramanandham *et al.*, 2019). Em 2013, foi isolado o *Anaplasma odocoilei* em veados nos Estados Unidos da América. Na China, no ano de 2015, isolou-se uma nova espécie designada de “*Anaplasma capra*”, não tendo obtido ainda o estatuto de espécie oficialmente reconhecida (Fernandes *et al.*, 2018; Said *et al.*, 2018; Seo *et al.*, 2018).

O *Anaplasma marginale* apresenta como hospedeiros os bovinos, bubalinos e os ruminantes selvagens, é considerado o agente patogénico mais prevalente de doenças transmitidas por carraças em bovinos (Palmer & Clothier, 2015; Taylor *et al.*, 2016, Constable *et al.*, 2017). *A. marginale* foi isolado em ovinos no Irão e em caprinos no Brasil, surgindo a hipótese dos pequenos ruminantes atuarem como reservatório (da Silva *et al.*, 2018).

Relativamente ao *Anaplasma centrale*, é considerado uma subespécie de *Anaplasma marginale* (podendo denominar-se *Anaplasma marginale* subsp. *centrale*) visto que se encontram molecularmente e antigenicamente associados, mas é menos patogénica, causando poucos sinais clínicos. Também atinge os bovinos, os bubalinos e os ruminantes selvagens, no

entanto pensa-se que os ovinos possam ser um hospedeiro reservatório (Palmer & Clothier, 2015; Taylor *et al.*, 2016; Constable *et al.*, 2017, Seo *et al.*, 2018).

Várias estirpes têm sido identificadas de diferentes áreas geográficas, as estirpes distinguem-se na morfologia, sequência proteica, características antigénicas e na sua capacidade de transmissão (Aubry & Geale, 2011). A heterogeneidade genética observada em regiões endémicas pode ser explicada pelo movimento de animais e pelos diferentes meios de transmissão (Battilani *et al.*, 2017).

A diversidade genética tem sido caracterizada através das proteínas de superfície maior (MSP), que possuem um papel importante na interação com as células hospedeiras e na sua aptidão para causar infeção. Seis MSP foram identificadas em *Anaplasma marginale* provenientes de eritrócitos de bovinos, tendo sido também descoberta a elevada capacidade de conservação destas proteínas em carraças e em culturas de células (de la Fuente *et al.*, 2001; de la Fuente *et al.*, 2007; Aubry & Geale, 2011, Battilani *et al.*, 2017; Constable *et al.*, 2017):

- MSP1a: contém o gene MSP1 $\alpha$ , está relacionada com a adesão aos eritrócitos de bovinos e às células da carraça, sendo usada como marcador para a identificação geográfica de estirpes através de um número variável de péptidos repetidos em tandem constituídos por 28-29 aminoácidos;
- MSP1b: composto pelos genes MSP1 $\beta$ 1 e MSP1 $\beta$ 2, apenas estão envolvidos com a adesão aos eritrócitos, provavelmente o papel desta MSP é mais relevante na interação entre a riquétsia e o eritrócito uma vez que esta proteína possui maior atividade de hemaglutinação;
- MSP2: está relacionada com a variação antigénica de forma a escapar à resposta imune do hospedeiro mamífero, assim como à infeção e sobrevivência na carraça, contribuindo para a manutenção da persistência da infeção em ambos os hospedeiros;
- MSP3: pensa-se que tenham função semelhante à MSP2;
- MSP4: é um marcador estável para a caracterização genética das estirpes, não sendo submetido a variação quando é transmitido entre hospedeiro vertebrado e carraça;
- MSP5: é altamente conservada, podendo ser efetiva no diagnóstico antigénico, para além de ser identificada em *A. marginale* e *A. centrale*, existem também noutras espécies de *Anaplasma*, como *A. ovis* e *A. phagocytophilum*.

Três destes MSP, nomeadamente a MSP1a, a MSP4 e a MSP5, são oriundos de um único gene e não variam antígenicamente na estirpe. Enquanto as outras três, a MSP1b, a MSP2 e a MSP3, são provenientes de famílias multigénicas e podem variar antígenicamente, estando presentes em animais persistentemente infetados (Aubry & Geale, 2011).

Alguns estudos demonstraram que uma baixa percentagem de bovinos pode infetar-se com mais do que uma estirpe de *A. marginale* quando existem genótipos distintos na mesma

região, indicando a possibilidade de ocorrência de superinfecção com diferentes genótipos. Em áreas endêmicas, múltiplos genótipos MSP1 $\alpha$  podem coexistir em explorações, mas apenas um é encontrado por animal, ou seja, apenas desenvolve infecção com um único genótipo (Kocan *et al.*, 2002; Battilani *et al.*, 2017).

## 3.2 Transmissão

A transmissão biológica de *Anaplasma spp.* ocorre geralmente durante a alimentação das carrças, a espécie do vetor difere de acordo com a localização geográfica, sendo que algumas espécies de carrças transmitem uma determinada estirpe. A transmissão através de carrças é a mais importante uma vez que esta riquétisia tem capacidade de se desenvolver e multiplicar apenas na carrça (Constable *et al.*, 2017).

Também pode ocorrer a transmissão mecânica através de insetos como por exemplo as moscas dos cavalos (*Tabanidae*), moscas dos estábulos (*Stomoxys spp.*) ou mosquitos (*Culicidae*). Os piolhos sugadores (*Haematopinus spp.* e *Linognathus spp.*) têm sido identificados como possíveis vetores de anaplasrose em bovinos e bubalinos (Kocan *et al.*, 2010; Palmer & Clothier, 2015; Taylor *et al.*, 2016; Constable *et al.*, 2017).

A via iatrogênica pode ser um dos meios de transmissão mecânica através de fomites contendo sangue contaminado, de animais infetados para animais não infetados. Exemplos de transmissão são as agulhas contaminadas, a realização do procedimento da descorna, orquiectomias, tatuagens, utilização do arganel, transfusão de sangue, transplante de embriões ou aplicação de brincos, sendo as raças leiteiras as que possuem maior risco de infecção por este meio (Aubry & Geale, 2011; Palmer & Clothier, 2015; Taylor *et al.*, 2016; Constable *et al.*, 2017).

Também têm sido descritos alguns casos de transmissão por via transplacentária, em que os eritrócitos infetados atravessam a placenta no útero das vacas infetadas para a sua descendência (Aubry & Geale, 2011). O risco de transmissão de *Anaplasma marginale* através de sêmen congelado é considerado negligenciável (Peek & Divers, 2018).

Pensa-se que os hospedeiros reservatórios, como é o caso dos ruminantes selvagens, nomeadamente os bisontes, veados e os alces, possam ter alguma importância na transmissão da anaplasrose, tanto biológica como mecânica, uma vez que raramente apresentam sintomatologia clínica e geralmente são portadores ou persistentemente infetados (Kocan *et al.*, 2010; Palmer & Clothier, 2015).

Também se colocou a hipótese que a presença de carrças em aves migratórias possa contribuir para a expansão de *Anaplasma spp.* a outras áreas geográficas (Palomar *et al.*, 2015; Constable *et al.*, 2017).

### 3.2.1 Ixodídeos

As carrças são consideradas os vetores mais importante de agentes patogénicos que afetam bovinos, em todo o mundo (Bursakov & Kovalchuk, 2019). Aproximadamente 20 espécies de carrças da família *Ixodidae* podem ser consideradas como vetores de anaplasmose (Kocan *et al.*, 2010).

As carrças atravessam quatro fases: ovo, larva, ninfa e adulta, sendo que todos estes estágios do ciclo de vida requerem a alimentação com sangue, embora o alvo mude consoante a fase. As carrças geralmente alimentam-se nos bovinos durante a fase de ninfa e adulta, quando ocorre a transmissão da doença entre a carrça e o hospedeiro vertebrado (Zabel & Agosto, 2018).

Os vetores biológicos machos têm um papel fundamental na transmissão de anaplasmose, visto que são considerados reservatório porque tornam-se persistentemente infetados com *Anaplasma marginale* e podem transmitir a infeção a vários animais (de la Fuente *et al.*, 2001).

O género *Rhipicephalus* tem a capacidade de infestar uma variedade de mamíferos como os bovinos, ovinos, caprinos, equinos, cervídeos, canídeos, roedores, entre outros, no entanto raramente infetam aves ou répteis. A maioria das carrças são de três hospedeiros, no entanto algumas espécies deste género são de dois hospedeiros (Taylor *et al.*, 2016). Este género é composto por mais de 80 espécies, destacando-se o *Rhipicephalus sanguineus* (figura 9), o *Rhipicephalus simus* e o *Rhipicephalus (B.) annulatus* como transmissores de anaplasmose em bovinos (Kocan *et al.*, 2010; Antunes *et al.*, 2016; Constable *et al.*, 2017; Said *et al.*, 2018; Nicholson *et al.*, 2019)



**Figura 9** - Vista dorsal de *Rhipicephalus sanguineus*: (A) Fêmea, (B) Macho (Nicholson *et al.*, 2019)

O gênero *Boophilus* é considerado um subgênero de *Rhipicephalus*, podendo também parasitar diferentes mamíferos e, menos frequentemente, aves, é o vetor de maior importância nas regiões tropicais e subtropicais. Das cinco espécies deste subgênero, todas são consideradas carraças de um hospedeiro, sendo que as que atuam como vetores de anaplasmoose são as seguintes: o *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*, o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e o *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus*, pensa-se que o *Rhipicephalus (Boophilus) geygyi* possa também transmitir estes agentes (Taylor *et al.*, 2016; Constable *et al.*, 2017; Nicholson *et al.*, 2019).

Relativamente ao gênero *Dermacentor*, este é um dos gêneros de carraças mais importantes com cerca de 35 espécies, sendo considerado vetor primário de anaplasmoose bovina nas regiões temperadas. A maioria das carraças deste gênero são de três hospedeiros, porém algumas são de apenas um hospedeiro. As principais espécies responsáveis pela transmissão são o *Dermacentor andersoni*, o *Dermacentor occidentalis*, o *Dermacentor variabilis* (figura 10), o *Dermacentor albipictus*, o *Dermacentor reticulatus* e o *Dermacentor marginatus* (Kocan *et al.*, 2011; Suarez & Noh, 2011; Taylor *et al.*, 2016; Constable *et al.*, 2017; Nicholson *et al.*, 2019).



**Figura 10** - Vista dorsal de *Dermacentor variabilis*: (A) Fêmea, (B) Macho (Nicholson *et al.*, 2019)

Neste género, destaca-se o *Dermacentor andersoni* (figura 11) visto que as fêmeas podem infetar-se ainda em fase de ninfas e têm capacidade de transmitir a infecção ao sexto dia após alimentarem-se. Os machos infetam-se apenas em adultos, no entanto têm uma grande importância como vetores uma vez que se alimentam repetidamente e podem transmitir a infecção em 24 horas (Nicholson *et al.*, 2019).



**Figura 11** - Vista dorsal de *Dermacentor andersoni*: (A) Fêmea, (B) Macho (Nicholson *et al.*, 2019)

O género *Ixodes* é o maior da família *Ixodidae* com aproximadamente 250 espécies, sendo vetor de anaplasmose o *Ixodes ricinus* (Taylor *et al.*, 2016). Para além disso, num estudo realizado por Antunes *et al.* (2016) também foi isolado *Anaplasma marginale* em *Ixodes ventralloi*.

O segundo maior género da família *Ixodidae* é o *Haemaphysalis* com mais de 150 espécies. São consideradas carraças de três hospedeiros, em que as larvas e as ninfas alimentam-se em pequenos mamíferos e aves e os adultos infestam os grandes mamíferos, entre eles os bovinos. O *Haemaphysalis punctata* tem sido descrito como vetor de *Anaplasma marginale* e *A. centrale* (Palomar *et al.*, 2015; Antunes *et al.*, 2016; Taylor *et al.*, 2016).

Por último, o género *Hyalomma* é considerado relativamente pequeno com cerca de 30 espécies, sendo normalmente carraças de dois hospedeiros, embora surjam algumas de três hospedeiros, este género apresenta como vetores de *Anaplasma marginale* e *A. centrale* as espécies *Hyalomma marginatum*, *Hyalomma excavatum* e *Hyalomma detritum* (Suarez & Noh, 2011; Serras, 2017; Said *et al.*, 2018).

### 3.2.2 Tabanídeos

Os tabanídeos têm um grande impacto a nível económico na agricultura, atacando efetivos que se encontram em pastoreio e provocando perda de sangue, diminuição da produção de leite, perda de peso e o desenvolvimento de nódulos cutâneos originados pelas picadas. Para além da transmissão mecânica de *Anaplasma spp.*, entre animais selvagens, domésticos e humanos, estas moscas podem ser vetores biológicos ou mecânicos de uma variedade de agentes, incluindo vírus como o da anemia infecciosa equina ou o da leucemia bovina, protozoários como o *Trypanosoma evans* ou o *T. vivax* e bactérias como a *Borrelia burgdorferi* ou *Brucella spp.* (Wersko *et al.*, 2019).

Esta forma de transmissão mecânica, em certas áreas dos Estados Unidos da América, América Central e do Sul, assim como em África, pode ser o principal meio de disseminação de anaplasmose, uma vez que nestes locais a presença de vetores biológicos pode ser reduzida ou nula (Kocan *et al.*, 2010).

Estes insetos são considerados os vetores mecânicos mais eficientes de *A. marginale*, uma vez que possuem uma elevada mobilidade, estão constantemente a alimentar-se e podem transmitir a infeção entre três minutos a duas horas após a refeição, transferindo células sanguíneas infetadas entre animais nas suas peças bucais. Apenas os adultos possuem capacidade para obter a infeção, transmitindo a bactéria na sua próxima refeição (Aubry & Geale, 2011; Palmer & Clothier, 2015, Wersko *et al.*, 2019).

### 3.3 Epidemiologia

A localização das afeções depende das carraças existentes nessa área, mas geralmente é mais prevalente em zonas com climas tropicais e subtropicais, tendo alguma importância em zonas temperadas. Os valores de prevalência de anaplasmoze também podem ser influenciados pelos programas de controlo de vetores, manejo, organização da exploração e/ou existência de hospedeiros reservatório selvagens (Said *et al.*, 2018).

Na maioria dos países existe uma variação geográfica com diferentes prevalências o que leva ao surgimento de regiões consideradas enzoóticas que poderão ser estáveis ou instáveis, nestas regiões pensa-se que a existência de animais com baixos níveis de riquetsiemia sejam um fator importante para a transmissão de anaplasmoze. Uma das preocupações atuais deve-se às alterações climáticas, uma vez que contribuem para a expansão das áreas endémicas devido à migração dos hospedeiros artrópodes (Kocan *et al.*, 1981; Kocan *et al.*, 2010; Aubry & Geale, 2011; Constable *et al.*, 2017).

Nos bovinos, a infeção é endémica em regiões tropicais e subtropicais, em que exista um elevado número de vetores, tendo sido reportada uma prevalência aproximada de 80% em bovinos e de 40% em bubalinos. Relativamente às zonas de climas temperados, a infeção ocorre mais esporadicamente nas áreas em que a ação dos vetores é sazonal. Em algumas regiões pode ocorrer anaplasmoze em zonas para além das infestadas por carraças (Constable *et al.*, 2017).

As espécies *Bos indicus*, *Bos taurus* e os seus cruzamentos têm a mesma suscetibilidade para a infeção por *Anaplasma spp.*, no entanto em condições desfavoráveis o *Bos indicus* não é tão afetado, partindo do pressuposto de que apresenta uma maior resistência a infestações de carraças. Relativamente às raças, as raças de pelagem vermelha ou preta têm maior risco de infeção comparativamente às raças de pelagem branca nas regiões em que os vetores são moscas, contudo as raças autóctones geralmente apresentam maior resistência (Stilwell, 2013; Constable *et al.*, 2017).

As vacas em áreas endémicas são particularmente suscetíveis à infeção por *Anaplasma marginale*, chegando a exploração a atingir uma taxa de mortalidade de 80%. No entanto, se as vacas forem criadas nestas áreas ficam menos suscetíveis, pois pensa-se que possam adquirir imunidade enquanto jovens, sendo possível o desenvolvimento de anaplasmoze em situações oportunistas quando são também afetados por outros agentes, como é o caso da babesiose (Taylor *et al.*, 2016).

Na Europa, existe um elevado número de casos nos países do sul deste continente, sendo a anaplasose bovina endêmica em Portugal, Espanha e Itália, com alguns casos esporádicos em França, Suíça, Holanda, Hungria e Áustria (Taylor *et al.*, 2016).

Relativamente ao continente americano, as regiões com maior número de casos reportados são as áreas temperadas dos Estados Unidos da América, sendo endêmico no México, América Central e do Sul, nomeadamente Venezuela, Colômbia, Brasil, Paraguai, Argentina e países das Caraíbas, exceto em zonas desérticas e montanhosas, como os Andes (Kocan *et al.*, 2010; Taylor *et al.*, 2016; Zabel & Augusto, 2018; Paramanandham *et al.*, 2019).

Também têm sido descritos alguns casos na Ásia e em alguns países de África, onde as condições climáticas e a existência de vetores são favoráveis ao desenvolvimento de *A. marginale*. Na Austrália, a anaplasose é mais prevalente na região norte, estando relacionada com a presença de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Quinn *et al.*, 2011; Constable *et al.*, 2017; Said *et al.*, 2018).

Em Portugal, as características climáticas, o modo de produção como o extensivo e o tipo de vegetação são fatores favoráveis para a existência de anaplasose bovina (Serras, 2017). Num estudo realizado por Antunes *et al.* (2016) em 17 das 23 sub-regiões de Portugal Continental, estudaram-se 428 carraças da família *Ixodidae* para a deteção de agentes patogénicos de importância veterinária, sendo que o *Anaplasma marginale* foi isolado nas seguintes espécies: em quatro *Dermacentor marginatus*, um *Haemaphysalis punctata*, cinco *Ixodes ricinus*, cinco *Ixodes ventraloi* e quatro *Rhipicephalus sanguineus*.

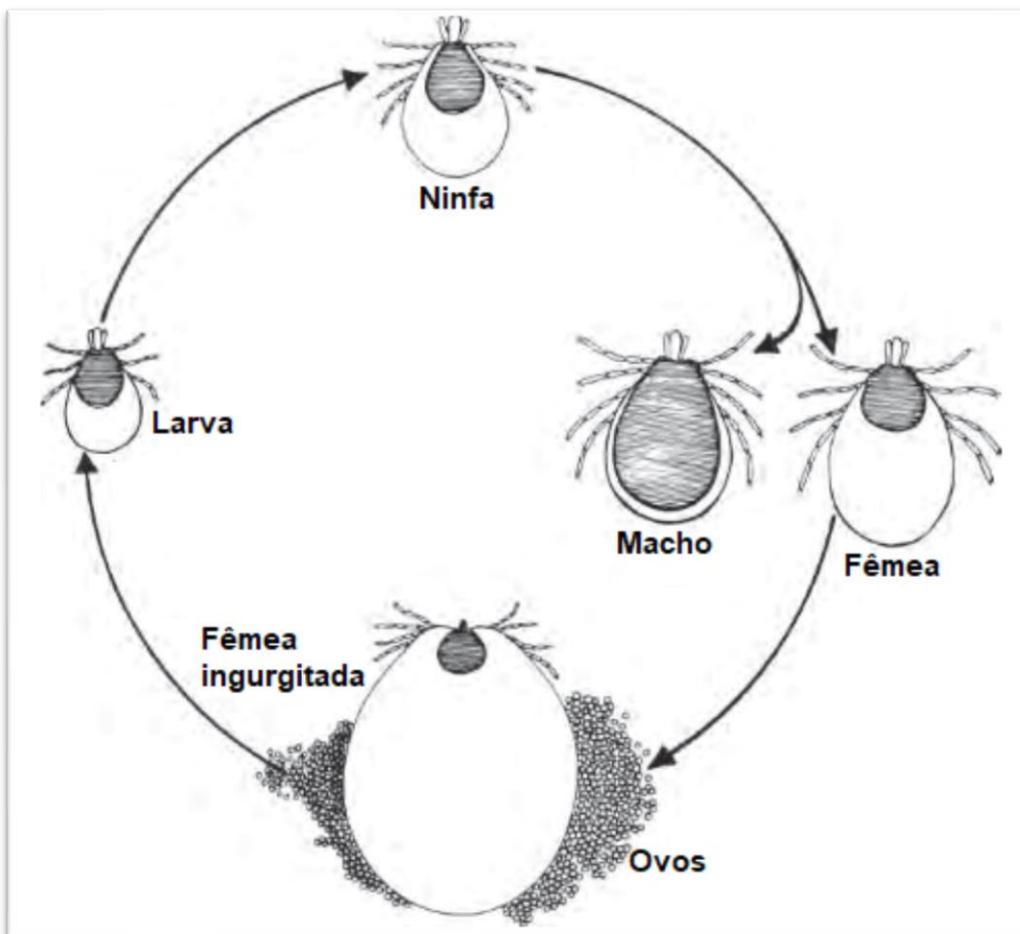
Outro estudo realizado por Serras (2017), em oito explorações dos concelhos de Idanha-a-Nova, Castelo Branco e Vila Velha de Ródão, onde foram selecionados 111 animais num total de 888 para a realização de esfregaços sanguíneos para a deteção de hemoparasitas em bovinos, nomeadamente *Anaplasma spp.*, *Theileria spp.* e *Babesia spp.* O *Anaplasma marginale* encontrava-se presente em todas as amostras, tendo uma prevalência de 100%.

Os surtos de anaplasose são mais frequentes no final da primavera e no verão quando a atividade dos artrópodes é elevada, no caso do *Ixodes ricinus* este possui um segundo período de atividade durante o outono. Nos meses mais quentes, os animais encontram-se durante mais horas nas pastagens onde as carraças têm maior reprodutibilidade e mobilidade, havendo maior exposição entre estes vetores e os animais suscetíveis. No entanto, a transmissão por via iatrogénica pode ocorrer a qualquer altura do ano (Palmer & Clothier, 2015; Constable *et al.*, 2017; Okafor *et al.*, 2019).

### 3.4 Ciclo de vida

A maior parte do ciclo de vida de *Anaplasma spp.* acontece nas carrças, podendo transmitir-se entre estadios, transtadialmente, ou no próprio estadio, intrastadialmente, como é o caso dos machos, no entanto não existem fortes evidências da ocorrência de transmissão transovárica (Kocan *et al.*, 2002; Kocan *et al.*, 2010).

Dependendo da disponibilidade dos hospedeiros, o ciclo de vida das carrças de três hospedeiros pode durar entre um a três anos para se completar (figura 12). Os ovos, que são depositados no solo pelas fêmeas adultas, eclodem e surgem as larvas. Então as larvas fixam-se ao primeiro hospedeiro, como os roedores, alimentando-se durante dois a três dias e de seguida caem no chão e transformam-se em ninfas. As ninfas fixam-se a um segundo hospedeiro que geralmente são pequenos mamíferos, por exemplo os esquilos, as marmotas ou os coelhos, onde se alimentam por três a onze dias e depois caem novamente no solo, podendo evoluir para a fase adulta ou hibernar (Aubry & Geale, 2011; Constable *et al.*, 2017).



**Figura 12** - Ciclo de vida de um ixodídeo (adaptado de Taylor *et al.*, 2016)

Na primavera, as ninfas, os machos adultos e as fêmeas adultas fixam-se a grandes mamíferos, neste caso os bovinos e os ruminantes selvagens. Se os adultos não conseguirem encontrar um hospedeiro adequado, escondem-se no solo para sobreviver às condições climáticas sendo que uma pequena parte consegue aguentar-se até à primavera seguinte. Assim que a carraça alcança o mamífero, desloca-se até um local onde possa fixar o hipóstoma e quelíceras, iniciando a sua alimentação. Se o hospedeiro estiver infetado com *Anaplasma marginale*, a carraça torna-se infetada (Aubry & Geale, 2011).

Relativamente ao ciclo de vida das carraças de um hospedeiro, a principal diferença deve-se ao facto de, independentemente da fase em que se encontram, as carraças alimentam-se no mesmo hospedeiro (Aubry & Geale, 2011). Nas carraças de dois hospedeiros, a fase larvar e de ninfa ocorre num hospedeiro e a de adulta sucede noutra (Taylor *et al.*, 2016).

O ciclo de vida de *A. marginale* na carraça é complexo e coordenado de acordo com a alimentação destes vetores (figura 13), os eritrócitos infetados com estes microrganismos são ingeridos pela carraça, replicando-se inicialmente nas células epiteliais do intestino e células do túbulo de Malpighi, de seguida migram para outros locais como as glândulas salivares e os ovários, onde se podem suceder mais replicações. A carraça alimenta-se de uma variedade de animais vertebrados, transmitindo o agente infeccioso para diversos hospedeiros (Kocan *et al.*, 2003; Kocan *et al.*, 2009; Quinn *et al.*, 2011; Taylor *et al.*, 2016).

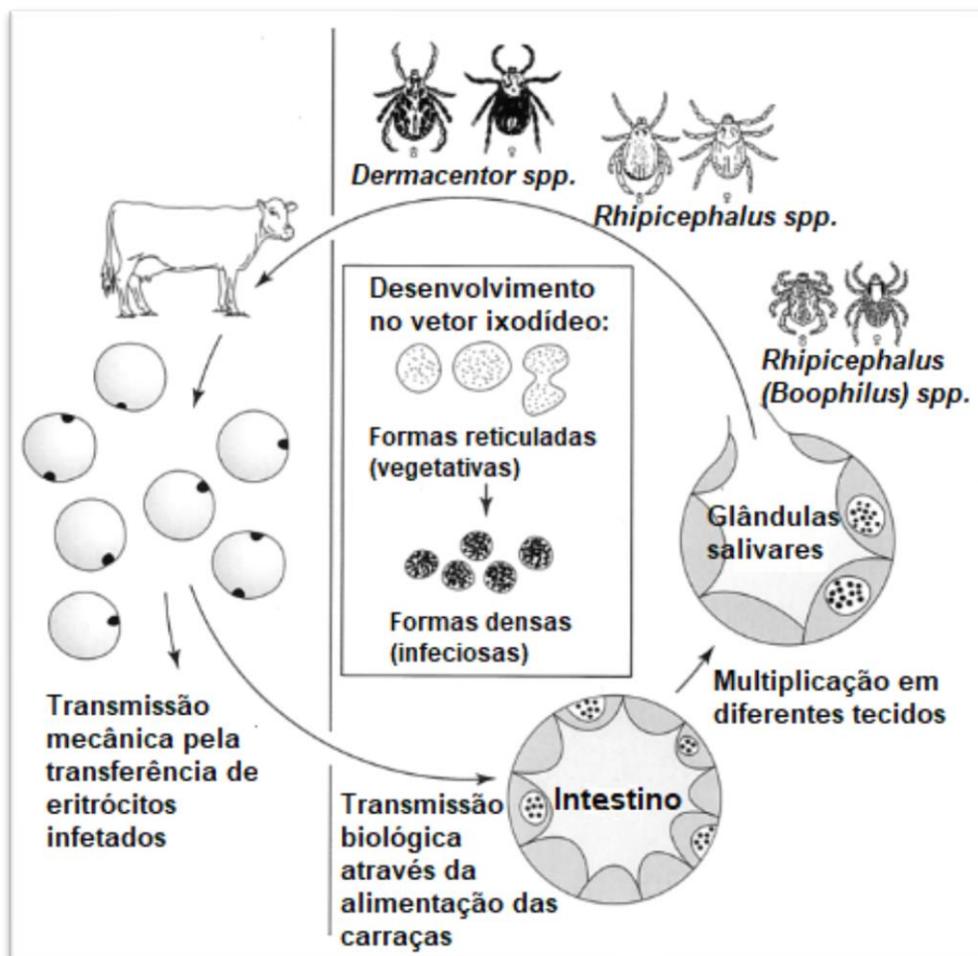


Figura 13 - Ciclo de vida de *Anaplasma marginale* (adaptado de Kocan *et al.*, 2003)

Assim que atingem a corrente sanguínea, os microrganismos entram nos eritrócitos maduros por invaginação da membrana celular formando um vacúolo que se vai multiplicando por divisão binária até formar um corpo de inclusão constituído por oito corpos iniciais unidos, originando uma mórula. De seguida, saem do eritrócito por exocitose e outros eritrócitos maduros vão ser infetados. O número de eritrócitos infetados duplica a cada 24 a 48 horas, podendo atingir na fase aguda  $10^9$  glóbulos vermelhos infetados por mililitro de sangue. Estes corpos de inclusão podem persistir durante anos mesmo após tratamento, servindo como reservatório para transmissão da doença no futuro, no caso dos animais portadores ou persistentemente infetados (Aubry & Geale, 2011; Palmer & Clothier, 2015; Taylor *et al.*, 2016).

Os animais portadores têm ciclos de parasitemia a cada dez a 14 dias, aproximadamente, associadas ao desenvolvimento de novas variantes antigénicas permitindo a formação de novos ciclos de invasão, multiplicação e destruição, sendo que estas novas variantes não são

reconhecidas pelos anticorpos presentes (Constable *et al.*, 2017). Como o tempo médio de vida de um eritrócito bovino é de 160 dias, a existência destes ciclos de parasitemia são necessários para manter a persistência da infecção, através da reinfeção de novos glóbulos vermelhos (Aubry & Geale, 2011).

Acredita-se que a imunoglobulina G (IgG) - 2 é responsável por controlar a bacteriemia inicial aguda e os subsequentes picos de bacteriemia que surgem durante a infecção persistente, atuando diretamente contra a região hipervariável específica do MSP2 e MSP3. Estes anticorpos atuam neutralizando as bactérias extracelulares durante o processo de invasão de eritrócitos ou opsonizando bactérias que serão sujeitas a fagocitose. No entanto este processo não é suficiente para eliminar a infecção. Outro fator que pode contribuir para a persistência da infecção é a rápida depleção dos linfócitos T CD4+ antígeno-específicos logo após a infecção e a incapacidade de se estabelecer uma forte resposta das células T de memória no decurso da doença (Aubry & Geale, 2011; Constable *et al.*, 2017).

### 3.5 Patogenia

Pode existir co-infecção com outras espécies de *Anaplasma*, nomeadamente *A. centrale* ou *A. phagocytophilum*, e outros agentes infecciosos como a *Ehrlichia spp.*, *Borrelia spp.*, *Bartonella spp.* ou *Babesia spp.*, principalmente em áreas em que estes agentes têm em comum vetores e hospedeiros. A infecção com estes microrganismos pode provocar uma variedade de alterações clínicas e patológicas, dependendo da severidade da infecção, podendo ser assintomática ou até levar à morte (Aubry & Geale, 2011; Taylor *et al.*, 2016).

A infecção por *Anaplasma marginale* caracteriza-se por uma reação febril aguda acompanhada por uma anemia hemolítica severa. Após um período de incubação que pode variar entre sete a 60 dias, com uma média de 28 dias, surge febre e bacteriemia e, mais tarde, desenvolve-se anemia que se torna severa no período de uma semana (Kocan *et al.*, 2010; Quinn *et al.*, 2011; Taylor *et al.*, 2016).

Bovinos de todas as idades podem infetar-se com *Anaplasma marginale*, mas a severidade da doença depende da idade, visto que os vitelos são menos suscetíveis à doença clínica. Os sinais clínicos são moderados ou inexistentes se o animal tiver uma idade inferior a um ano, a suscetibilidade vai aumentando a partir dos dois a três anos com o desenvolvimento de uma anaplasmosose com sintomatologia típica e muitas vezes fatal, no entanto em bovinos com idade superior a três anos a doença manifesta-se de forma aguda e é frequentemente fatal (Aubry & Geale, 2011; Taylor *et al.*, 2016). A resistência dos animais mais jovens à infecção pode

ser explicada parcialmente pelos anticorpos passivos obtidos pela ingestão de colostro (Peek & Divers, 2018).

Relativamente à infecção por *Anaplasma centrale*, o modo de ação do agente infeccioso é semelhante, mas é considerada menos patogênica relativamente à *A. marginale* (Taylor *et al.*, 2016).

Dependendo da estirpe e da suscetibilidade do hospedeiro, os eritrócitos infetados podem variar entre 10 a 90%, surgindo a sintomatologia clínica quando mais de 15% dos eritrócitos estão infetados. Os eritrócitos infetados são destruídos por fagocitose com ativação de uma resposta inflamatória aguda e consequente desenvolvimento de febre. A atividade fagocítica contínua leva ao surgimento de anemia moderada a severa e icterícia sem hemoglobinémia nem hemoglobinúria (Aubry & Geale, 2011, Constable *et al.*, 2017).

A ausência de hemoglobinémia e hemoglobinúria é justificada pela ocorrência de hemólise extravascular, havendo fagocitose e destruição dos eritrócitos pelos macrófagos do sistema retículo-endotelial no baço, fígado ou medula óssea (McGrath, 1993; Stillwell, 2013).

O grau de anemia varia de acordo com a percentagem de eritrócitos infetados e de acordo com a idade, em que os animais adultos desenvolvem uma anemia mais severa. O aparecimento de microrganismos nos eritrócitos sucede com uma descida dos valores do hematócrito e dos níveis de eritrócitos, verificando-se a presença de eritrócitos imaturos (reticulócitos) no esfregaço sanguíneo. Os anticorpos anti-eritrócitos surgem no final da fase aguda agravando a anemia (Palmer & Clothier, 2016; Constable *et al.*, 2017).

### 3.6 Sinais clínicos

A anaplasmosose pode manifestar-se sob duas apresentações clínicas, a aguda e a hiperaguda, sendo que a severidade dos sinais clínicos aumenta com a idade (Taylor *et al.*, 2016).

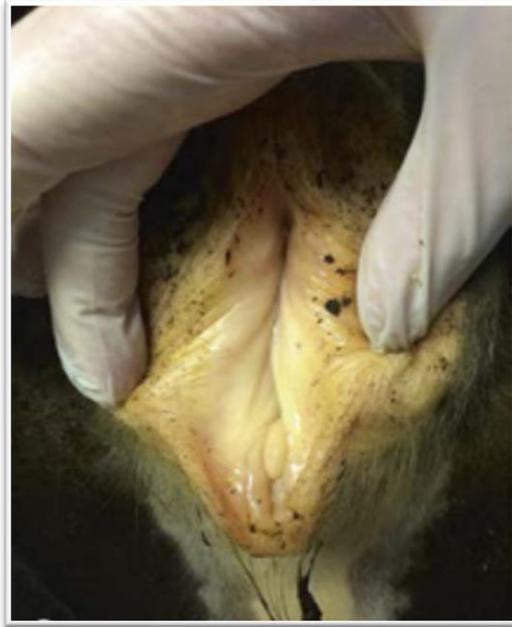
Nos casos agudos a sintomatologia clínica é caracterizada inicialmente pela presença de febre com temperaturas entre 39,4 a 41,7°C durante três a sete dias, aumentando lentamente, seguindo-se a manutenção em valores entre febre e temperatura normal. Os animais afetados geralmente encontram-se deprimidos, fracos, emaciados, desidratados e o espelho encontra-se seco. Observa-se perda de apetite, mas a anorexia completa é rara (Kocan *et al.*, 2010; Quinn *et al.*, 2011; Taylor *et al.*, 2016).

A nível gastrointestinal, existe diminuição da ruminação, obstipação e as fezes são castanhas escuras com muco. Os animais afetados podem apresentar dispneia, taquipneia e taquicardia. As fêmeas podem abortar, se estiverem em fase avançada da gestação e, no caso de bovinos de aptidão leiteira, verifica-se uma quebra na produção. Relativamente aos machos, os touros podem desenvolver uma infertilidade temporária (Kocan *et al.*, 2010; Quinn *et al.*, 2011; Taylor *et al.*, 2016).



**Figura 14** - Terceira pálpebra e mucosa conjuntiva pálida e subictérica de um bovino (adaptado de Peek & Divers, 2018)

As membranas mucosas apresentam-se pálidas e/ou ictéricas (figura 14 e 15), principalmente após a fase aguda, resultando da massiva fagocitose dos eritrócitos infetados pelo sistema reticulo endotelial, não se observando a presença de hemoglobinúria (Taylor *et al.*, 2016).



**Figura 15** - Mucosa vulvar de um bovino demonstrando palidez e icterícia (Peek & Divers, 2018)

Os animais que apresentam doença clínica ou em recuperação tendem a isolar-se do restante do efetivo podendo ficar em decúbito se forem sujeitos a algum stress. A locomoção também é característica quando as pinças dos membros posteriores arrastam no solo (Stillwell, 2013).

Ocasionalmente os casos agudos podem resultar em morte com apenas um dia de sinais clínicos. Os animais apresentam-se agressivos devido à hipoxia cerebral que está associada à anemia e também pode ser observada polaquiúria (Quinn *et al.*, 2011; Palmer & Clothier, 2015; Taylor *et al.*, 2016).

Em relação aos casos hiperagudos, os animais afetados apresentam febre severa, dispneia, anemia e/ou icterícia, ocorrendo a morte, geralmente, em 24 horas. As vacas gestantes abortam e os touros apresentam a função testicular afetada durante meses. Mesmo antes da morte, os animais encontram-se frequentemente excitados e tendem a ser agressivos (Constable *et al.*, 2017). Os casos hiperagudos são mais frequentes em raças puras e em bovinos de aptidão leiteira em alta produção (Kocan *et al.*, 2010).

## 3.7 Diagnóstico

O diagnóstico geralmente é feito com base na localização geográfica, estação do ano, sinais clínicos e/ou achados de necrópsia em animais afetados. Para a confirmação do diagnóstico, recorre-se a exames complementares laboratoriais (Kocan *et al.*, 2010).

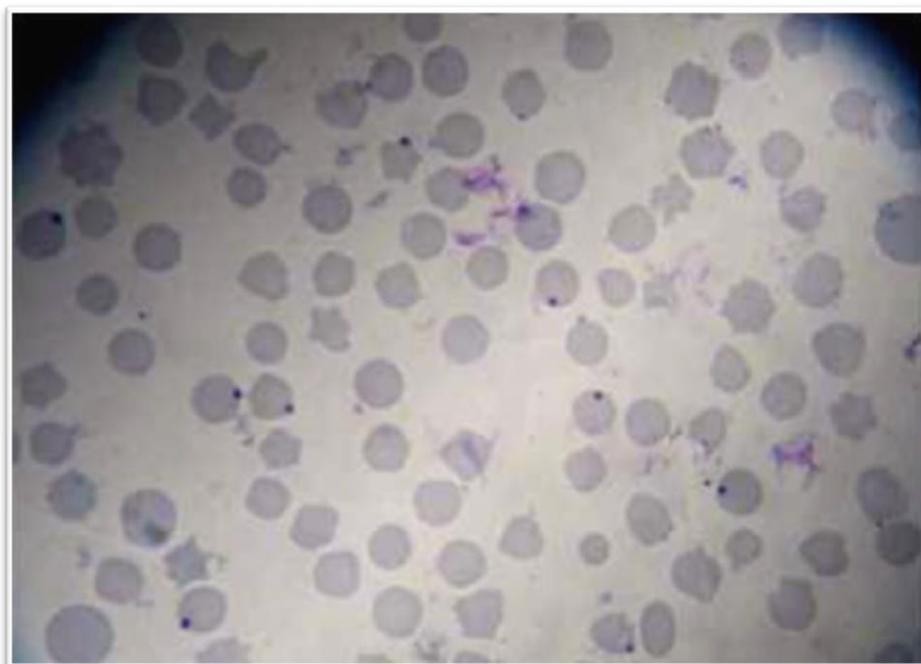
Exemplos de meios de diagnóstico complementares são a realização de hemograma, bioquímicas e observação do agente infeccioso em esfregaços sanguíneos. Para a detecção de portadores ou persistentemente infetados podem ser utilizadas as provas de fixação do complemento (FC), teste de aglutinação em cartão (CAT), reação em cadeia de polimerase (PCR), imunofluorescência indireta (IFI) ou prova de imunoabsorção enzimática (ELISA).

### 3.7.1 Esfregaço sanguíneo

Na realização de um esfregaço sanguíneo com a coloração Giemsa, em infecções por *Anaplasma marginale* é possível observar-se a presença de pequenos corpos redondos de cor vermelho escuro com um tamanho aproximado de 0,3 a 1,0 µm no interior dos eritrócitos, também pode ser utilizada a coloração Wright ou o azul de metileno (Taylor *et al.*, 2016).

A coloração Diff-Quick pode ser tão precisa como a coloração Giemsa tendo a vantagem de ser feita em cerca de 15 segundos. Na maioria dos casos, apenas se encontra um microrganismo por eritrócito na margem externa, sendo visíveis em 10% dos eritrócitos em casos agudos e nos casos hiperagudos em mais de 50% dos eritrócitos (figura 16) (Palmer & Clothier, 2015; Constable *et al.*, 2017). Este método de diagnóstico não é fiável para a detecção de animais pré-sintomáticos ou portadores (Aubry & Geale, 2011).

Verificam-se mais organismos no esfregaço dez dias após o aparecimento da febre, quando cerca de metade dos eritrócitos se apresentam infetados. Quando terminar a fase de anemia severa, a percentagem de eritrócitos infetados vai diminuindo, sendo detetada uma regeneração eritrocitária. Os eritrócitos observados nos esfregaços sanguíneos apresentam anisocitose, pontilhado basofílico, poiquilocitose, policromatofilia e reticulocitose (Quinn *et al.*, 2011; Palmer & Clothier, 2015; Taylor *et al.*, 2016).



**Figura 16** - Esfregaço sanguíneo apresentando eritrócitos infectados com *Anaplasma marginale* (1000x)  
(Kumar *et al.*, 2019)

Relativamente ao *Anaplasma centrale*, após a utilização da coloração Giemsa, a presença de corpos vermelhos escuros no interior dos eritrócitos também é observável, tendo o mesmo tamanho e morfologia da *A. marginale*, apresentando como única diferença o facto dos microrganismos se encontrarem em posição central no citoplasma dos eritrócitos (Taylor *et al.*, 2016).

Embora seja o método de diagnóstico mais utilizado para a forma clínica de anaplasmoze, apresenta como desvantagem uma baixa sensibilidade sendo detetáveis quando existem  $10^3$  a  $10^6$  eritrócitos infectados por mililitro de sangue e requer alguma experiência do técnico de laboratório de forma a diferenciar o agente patogénico de outros microrganismos ou artefactos (Suarez & Noh, 2011; Kumar *et al.*, 2019).

### 3.7.2 Hemograma e bioquímicas

Na realização de hemograma, o hematócrito apresenta valores muito baixos, sendo que a morte ocorre quando o hematócrito atinge valores entre 10 a 20%. Para além disso, os níveis

de eritrócitos também se encontram baixos, rondando os 1,5 milhões de eritrócitos por microlitro (Constable *et al.*, 2017).

Inicialmente a anemia é normocítica normocrômica, sendo que com o desenvolvimento da doença pode tornar-se macrocítica normocrômica. A presença de eritrócitos imaturos é comum, sendo que a sua existência é considerada um sinal favorável (Constable *et al.*, 2017).

Em relação às análises bioquímicas, as proteínas de fase aguda como a haptoglobina, a amiloide A sérica, a ceruloplasmina e o fibrinogênio podem apresentar valores elevados (Constable *et al.*, 2017). Os níveis de bilirrubina direta e total encontram-se significativamente aumentados, sendo indicativos da existência de hemólise extravascular (Hofmann-Lehmann *et al.*, 2004).

### 3.7.3 PCR

Das técnicas de diagnóstico, o PCR é o que apresenta maior sensibilidade e especificidade comparativamente à observação microscópica e aos métodos serológicos. Esta prova não depende da imunocompetência dos animais, consegue distinguir de outros microrganismos semelhantes e facilita a detecção da infecção na fase latente da doença quando o nível de bacteriemia é muito baixo. Para além disso, o PCR tem a capacidade de lidar com um grande número de amostras (Bursakov & Kovalchuk, 2019).

O PCR não só possui capacidade de detetar baixos níveis de infecção em portadores, como também nas carraças. O limite de detecção reportado em PCR é de 24 eritrócitos infetados por microlitro, correspondendo a 0,0001% de glóbulos vermelhos infetados. Relativamente ao *Nested-PCR*, este é mais sensível comparativamente ao PCR convencional, conseguindo identificar, em condições experimentais, 30 eritrócitos infetados por mililitro, equivalente a 0,0000001%, o que estaria em valores inferiores aos que os animais portadores apresentam (Aubry & Geale, 2011).

Este método de diagnóstico tem como alvo o MSP4 e/ou o MSP1 $\alpha$ , sendo utilizados para a identificação da origem do surto e diferenciar de outras espécies de *Anaplasma*. Em alguns estudos o alvo é o MSP5, visto que é altamente conservado, servindo como marcador ideal para o diagnóstico específico de *A. marginale*. Contudo na realização de um teste de diagnóstico apenas direcionado na detecção do MSP5 é expeável a existência de problemas significativos de especificidade quando usado em efetivos cujos animais possam estar infetados com outros *Anaplasma spp.* (Aubry & Geale, 2011; Kumar *et al.*, 2019).

O RT-PCR é usado com sucesso na detecção e quantificação de ADN de *Anaplasma marginale* (MSP1b) no sangue de bovinos naturalmente infetados, apresentando uma elevada especificidade, sem reações cruzadas com outros hemoparasitas de ruminantes, nomeadamente *A. bovis*, *A. centrale*, *A. phagocytophilum*, *Babesia bigemina* e *Theileria buffeli* (Aubry & Geale, 2011).

A técnica de PCR também possui desvantagens como a baixa sensibilidade na detecção de infeções recentes, tendo sido também descritas algumas falhas em animais que se encontrem em tratamento de quimioesterilização, para além disso tem um elevado custo na sua realização e a necessidade de equipamento e pessoal qualificado (Aubry & Geale, 2011).

### 3.7.4 ELISA

Para a realização do diagnóstico de *Anaplasma marginale*, podem ser efetuados três tipos de provas ELISA: o ensaio de imunoabsorção enzimática competitivo (cELISA), o ensaio de imunoabsorção enzimática indireto (iELISA) e o dot-ELISA (Aubry & Geale, 2011).

O cELISA é considerado o teste serológico mais preciso, dos disponíveis para a anaplasmose. Esta prova consiste na utilização de um anticorpo monoclonal específico para a MSP5, no entanto pode não ter capacidade de diferenciar entre *Anaplasma marginale* e outras espécies como, por exemplo, *A. centrale* ou *A. ovis*, em regiões onde possa haver co-infeção pois todas possuem MSP5. Num estudo realizado numa região endémica com animais persistentemente infetados, em que foram definidos como verdadeiramente positivos ou negativos através de *Nested-PCR*, o cELISA teve uma sensibilidade de 96% e uma especificidade de 95% (Kocan *et al.*, 2010; Aubry & Geale, 2011; Constable *et al.*, 2017).

O cELISA apresenta como desvantagens a baixa sensibilidade para a detecção de infeções precoces, a especificidade insuficiente para detetar animais verdadeiramente negativos na altura do tratamento de quimioesterilização e, como mencionado anteriormente, incapacidade de diferenciar de outros *Anaplasma spp.*, podendo existir reações cruzadas (Aubry & Geale, 2011).

O iELISA tem sido descrito como confiável para a detecção de *Anaplasma marginale* em soro. Este método consiste no uso de eritrócitos normais, designado de antigénio negativo, e na utilização de eritrócitos infetados com *A. marginale*, denominado de antigénio positivo. Este teste possui uma sensibilidade de 87,3% e uma especificidade de 98,4%, todavia têm sido reportadas reações cruzadas com *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia bovis* e *B. bigemina* (Aubry & Geale, 2011).

Por último, o *dot*-ELISA possui uma elevada sensibilidade (93%) e especificidade (96%), podendo ser aplicado em exame de campo. Comparativamente ao iELISA é mais rápido, barato e simples de usar, não tendo sido descritas reações cruzadas com *Babesia bovis* ou *B. bigemina* (Kocan *et al.*, 2010; Aubry & Geale, 2011; Constable *et al.*, 2017).

### 3.7.5 Prova da fixação do complemento

A prova da FC foi muito utilizada durante anos, encontrando-se atualmente em desuso e sendo substituído pelo PCR e cELISA. Este teste é baseado nas reações de imunoglobulinas M (IgM) que são produzidas no início da infecção primária, sendo menos sensível em infecções crônicas. Apresenta uma sensibilidade variável, entre os 20 a 60%, devido à diferença nas técnicas para a produção de antigénio que é produzido a partir de eritrócitos infetados (Vidotto & Marana, 2001; Aubry & Geale, 2011; Peek & Divers, 2018).

Não é considerado um método de diagnóstico fiável, uma vez que já foram detetadas falhas em grande parte dos portadores e nas fases iniciais da doença. O uso contínuo da FC poderia levar a que animais infetados fossem considerados negativos, levando à introdução de animais persistentemente infetados como falsos negativos em explorações de animais suscetíveis (Aubry & Geale, 2011).

### 3.7.6 Teste de aglutinação em cartão

Tal como o FC, o CAT encontra-se atualmente em desuso. No entanto é um teste que examina o soro ou o plasma para a pesquisa de anticorpos e pode ser usado em laboratório ou em campo, sendo barato, rápido, com resultados em 30 minutos e é suficientemente preciso (Aubry & Geale, 2011; Constable *et al.*, 2017; Peek & Divers, 2018).

No entanto apresenta como inconvenientes a existência de reações não específicas, havendo uma subjetividade na interpretação das reações que pode resultar em variabilidade na interpretação do teste. Para além disso, o antigénio de CAT é difícil de preparar e pode variar entre lotes e laboratórios, sendo necessária a infecção de vitelos esplenectomizados com inoculação intravenosa contendo eritrócitos infetados com *Anaplasma marginale* (Aubry & Geale, 2011).

### 3.7.7 Imunofluorescência indireta

A prova da imunofluorescência indireta é considerada precisa para a detecção de animais recentemente infetados, sendo utilizada para a detecção do aumento do título de anticorpos (Constable *et al.*, 2017).

Neste teste os esfregaços sanguíneos com eritrócitos parasitados são usados como antígenos. Os anticorpos IgG, que estão presentes no soro do teste, reagem com o antígeno, onde são identificados por anticorpos anti-IgG bovina que se encontram marcados com fluoresceína (Vidotto & Marana, 2001).

Devido às limitações do número de testes que podem ser efetuados diariamente por um operador, outros testes serológicos têm sido preferencialmente utilizados. Outro problema encontrado aquando da realização da prova é a existência de fluorescência não específica atribuída a anticorpos presentes na superfície de eritrócitos infetados (Aubry & Geale, 2011).

## 3.8 Diagnósticos diferenciais

Os diagnósticos diferenciais de anaplasmosose bovina devem ser realizados incluindo outras afeções que provoquem a mesma sintomatologia, assim como morte súbita (Capucille, 2008; Kocan *et al.*, 2010; Stilwell, 2013; Carlson, 2015). Destacando-se as seguintes doenças:

- Babesiose: presença de hemoglobinúria e hemoglobinemia, identificação de microrganismos piriformes intra-eritrocitários em esfregaços sanguíneos;
- Teileriose: observação em esfregaços sanguíneos de esquizontes nos glóbulos brancos e/ou piroplasmas nos eritrócitos;
- Hemoglobinúria bacilar: presença de hemoglobinúria, enzimas hepáticas com valores elevados, identificação de microrganismos em esfregaços por aposição do fígado em animais que morreram recentemente;
- Carbúnculo hemático ou *anthrax: rigor mortis* incompleto, saída de sangue muito escuro (quase preto) das aberturas naturais;
- Clostridioses: íleo-jejunitis hemorrágica-necrótica com acumulação de fluido hemorrágico no lúmen intestinal, animais geralmente com boa condição corporal;
- Leptospirose: observação do agente etiológico na urina por microscopia em campo escuro;
- Tripanossomíase: observação de esfregaços sanguíneos contendo grandes protozoários flagelados com membranas ondulantes no plasma;

- Ingestão de plantas hepatotóxicas: evidência de ingestão de plantas tóxicas, exame histopatológico ao fígado e níveis aumentados de enzimas hepáticas;
- Intoxicação por cobre: embora seja mais frequente em ovinos, elevadas concentrações de cobre no fígado e sangue, hemoglobinúria, metahemoglobinemia, fezes azuis-esverdeadas em casos agudos;
- Parasitismo gastrointestinal: exames coprológicos apresentando grande carga parasitária, lesões de gastro-enterite (hiperemia, congestão e edema).

### 3.9 Aspectos anatomopatológicos

Durante a realização da necrópsia, é bastante comum observar-se as membranas mucosas, tecido subcutâneo e músculos pálidos em casos de anaplasmoses aguda, podendo estar ictericos em estados mais tardios da doença, a carcaça apresenta-se magra e o sangue muito fluido. Na cavidade abdominal, é frequente a existência de esplenomegália em que o baço apresenta um tamanho quatro a cinco vezes acima do normal, assim como de hepatomegália onde o fígado apresenta os bordos arredondados, a vesícula biliar encontra-se aumentada, as vias biliares estão obstruídas contendo bilis espessa e de coloração escura e os rins podem apresentar-se congestionados (Palmer & Clothier, 2015; Taylor *et al.*, 2016, Constable *et al.*, 2017).

Na cavidade torácica, observam-se petéquias no epicárdio, pericárdio, pleura e diafragma, o coração apresenta-se frequentemente pálido e sem rigidez. A cavidade da medula óssea pode estar avermelhada devido ao aumento do tecido hematopoiético em casos agudos, mas pode haver atrofia serosa da gordura medular em casos crônicos. Linfadenomegália pode ser observável. A urina apresenta-se com coloração amarelada escura, mas sem hemoglobinúria sendo importante para descartar outras afeções hemolíticas (Kocan *et al.*, 2010; Palmer & Clothier, 2015; Taylor *et al.*, 2016, Constable *et al.*, 2017).

A nível microscópico, observa-se hiperplasia da medula óssea. O baço apresenta diminuição dos linfoblastos com aumento de vacúolos e degenerescência das células reticulares, a polpa branca encontra-se reduzida e existe acumulação de pigmentos semelhantes a hemossiderina (Taylor *et al.*, 2016).

A identificação *post-mortem* pode ser realizada através de esfregaços sanguíneos, sendo preferível a utilização de sangue comparativamente aos esfregaços por aposição de órgãos. O sangue pode ser obtido a partir do ventrículo direito, uma vez que a colheita de sangue periférico pode não ser possível quando este se encontra coagulado (Constable *et al.*, 2017).

### 3.10 Tratamento

Inicialmente, uma variedade de agentes quimioterápicos como os arsênicos, antimalários, derivados de antimônio e corantes eram utilizados para o tratamento de anaplasnose aguda, no entanto estes compostos possuíam pouco ou nenhum efeito quimioterápico (Kocan *et al.*, 2010).

Atualmente o tratamento de anaplasnose tem como base a administração de antimicrobianos ou antiprotozoários, podendo ser necessária a utilização de terapia de suporte em certos casos. A recuperação pode ser bastante demorada podendo durar três a quatro semanas, sendo que o tratamento não elimina a infecção persistente (Quinn *et al.*, 2011, Palmer & Clothier, 2015).

Os antimicrobianos são indicados para o tratamento da anaplasnose clínica, em animais que manifestem doença, ou para o controle da infecção ativa, sendo administrada em animais aparentemente saudáveis durante a época de maior atividade dos vetores de modo a minimizar os sinais clínicos da infecção (Aubry & Geale, 2011).

A tetraciclina tem-se mostrado efetiva se administrada cedo ou antes de atingir o pico (Taylor *et al.*, 2016). As tetraciclinas são fármacos bacteriostáticos cuja função é a ligação aos ribossomos e ao ácido ribonucleico mensageiro (mRNA), inibindo a síntese proteica (Kocan *et al.*, 2010).

A oxitetraciclina é um derivado da tetraciclina obtido a partir de *Streptomyces rimosus*, sendo bastante utilizado para o tratamento de infecções por *Anaplasma spp.* (Kocan *et al.*, 2010). O tratamento de anaplasnose aguda por ser efetuado pela administração intravenosa de oxitetraciclina na dose de 11 mg/kg de peso vivo durante três a cinco dias (Palmer & Clothier, 2015).

Outra opção para o tratamento de anaplasnose aguda é a administração de oxitetraciclina de longa ação, na dose de 20 mg/kg de peso vivo, por via intramuscular, em injeção única ou duas vezes com um intervalo de 72 horas (Palmer & Clothier, 2015).

A enrofloxacin, uma fluoroquinolona que inibe o ADN-girase bacteriana (topoisomerase II) e topoisomerase IV, também tem mostrado eficácia no tratamento de anaplasnose. Comparativamente à oxitetraciclina de longa ação pode ser mais rápida na redução da riquetsiemia e na recuperação até que o hematócrito atinja valores normais. Dois estudos indicam que a enrofloxacin é efetiva na dose de 5 a 10 mg/kg de peso vivo, embora seja recomendado duas administrações com 48 horas de diferença na dose de 12,5 mg/kg de peso vivo, por via subcutânea (Kocan *et al.*, 2010; Constable *et al.*, 2017).

Relativamente ao antiprotozoário, dipropionato de imidocarb, pode ser efetivo se administrado precocemente, podendo também ajudar no tratamento de animais portadores ou com infecções mistas com *Babesia spp.* (Stilwell, 2013; Taylor *et al.*, 2016). A administração por via subcutânea ou intramuscular, na dose única de 2,1 mg/kg de peso vivo em caso de anaplasnose aguda ou, em animais portadores, a administração de 5 mg/kg de peso vivo, duas vezes com um intervalo de sete ou 14 dias (Constable *et al.*, 2017; Peek & Divers, 2018).

O uso de dipropionato de imidocarb, nos Estados Unidos da América, apenas é permitido para o tratamento de babesiose canina, pelo que não poderá ser usado para o tratamento de anaplasnose bovina. Este fármaco possui um intervalo de segurança longo, tanto para o leite como para a carne (Kocan *et al.*, 2010; Peek & Divers, 2018).

Tem sido descrito, para além do tratamento antimicrobiano, a administração de cipionato de estradiol, na dose de 14,3 mg/kg de peso vivo por via intramuscular (Constable *et al.*, 2017). Um estudo realizado por Zaugg (1998) concluiu que a utilização conjunta deste fármaco com oxitetraciclina pode aumentar a taxa de recuperação em casos de anaplasnose severa, supondo que o cipionato de estradiol proporcionaria uma rápida diminuição da riquetsiemia enquanto a oxitetraciclina assegurava um controlo duradouro.

O tratamento de suporte consiste na realização de transfusão de sangue, entre quatro a oito litros, se o hematócrito atingir valores inferiores 15%, prevenindo a morte e diminuindo o tempo de recuperação. Se o hematócrito for inferior a 8%, o prognóstico é desfavorável. A morte ocorre mesmo que se efetue o tratamento e a terapia de suporte adequadas (Constable *et al.*, 2017). No entanto, os bovinos são considerados bastantes resistentes a anemias crónicas se não forem sujeitos a demasiados esforços físicos (Stilwell, 2013).

Relativamente à eliminação da persistência, pensa-se que ainda não foi identificado o antimicrobiano ideal. Estudos reportam sucesso na eliminação da persistência de *Anaplasma marginale* em bovinos utilizando oxitetraciclina intravenosamente na dose de 11 a 22 mg/kg de peso vivo durante cinco a 12 dias assim como na administração intramuscular de oxitetraciclina de longa duração na dose de 20 mg/kg de peso vivo, duas a quatro vezes, com intervalos de três a sete dias. Relativamente a estes estudos, existem razões para duvidar da fiabilidade uma vez que se basearam em métodos de diagnóstico pela FC que têm baixa sensibilidade, podendo levar a uma conclusão errada de que o estatuto seronegativo indica uma quimioesterilização bem sucedida (Kocan *et al.*, 2010).

Num outro estudo, em que se efetuou a administração de 12,5 mg/kg de enrofloxacin, duas vezes com 48 horas de diferença, em vitelos esplenectomizados, estes permaneceram persistentemente infetados apesar de apresentarem melhorias (Kocan *et al.*, 2010).

A utilização de clortetraciclina tem demonstrado algum sucesso na eliminação da persistência, através da administração na comida de 1,1 mg/kg de peso vivo durante 120 dias ou 11 mg/kg durante 30 a 60 dias (Kocan *et al.*, 2010). Outro estudo, realizado em bois persistentemente infetados, administraram-se doses diárias de clortetraciclina entre 4,4 a 22 mg/kg de peso vivo durante 80 dias, demonstraram sucesso na eliminação de *Anaplasma marginale*. No entanto, o tratamento de animais com antimicrobianos durante longos períodos tem-se tornado cada vez menos aceitável uma vez que pode levar ao aparecimento de resistências, tanto em agentes patogénicos animais como em humanos (Suarez & Noh, 2011).

### 3.11 Controlo e profilaxia

As medidas de controlo e profilaxia dependem das áreas geográficas e do tipo de sistema de exploração. No entanto apresentam como base: a manutenção de explorações livres de *Anaplasma spp.* através do controlo de movimentos, realização de testes e eliminação de animais portadores; prevenção da transmissão iatrogénica; utilização de vacinas; administração de antimicrobianos e controlo de vetores (Aubry & Geale, 2011; Constable *et al.*, 2017).

A realização de testes serológicos é recomendada de modo a prevenir a entrada de animais portadores nas explorações. A eliminação de portadores é viável apenas em zonas onde surge periodicamente a anaplasmose e que número de vetores não seja significativo, podendo ser feito através da realização de testes serológicos com abate dos animais positivos ou na administração oral de oxitetraciclina durante um longo período de tempo (Constable *et al.*, 2017). De forma a evitar a introdução de um animal falso-negativo numa exploração, recomenda-se a realização de dois testes com um intervalo de aproximadamente três semanas, não havendo possibilidade de surgir infeção durante esse tempo, ou seja, fora da época do vetor (Aubry & Geale, 2011).

Relativamente à prevenção da transmissão por via iatrogénica, aconselha-se o uso de materiais devidamente desinfetados para a realização de procedimentos cirúrgicos ou em administrações injetáveis, sendo notória uma redução na transmissão se forem utilizadas agulhas de uso único (Constable *et al.*, 2017). Embora existam casos reportados de doenças transmitidas pelo procedimento da palpação transretal, a transmissão de *Anaplasma marginale* por este meio nunca foi relatada, contudo é importante a utilização de luvas descartáveis entre cada vaca assim com a desinfecção da sonda do ecógrafo aquando da sua utilização (Aubry & Geale, 2011).

A vacinação é considerada um método económico e relativamente efetivo para o controlo de anaplasmose bovina em todo o mundo, estando incluídas em dois grupos: vacinas vivas e

vacinas mortas. Ambos os tipos de vacinas têm como base o microrganismo proveniente de eritrócitos de vitelos infetados, induzem a imunidade que é efetiva a nível de sintomatologia, mas não previne que o animal se torne persistentemente infetado, perpetuando a transmissão (Aubry & Geale, 2011; Kocan *et al.*, 2010; Taylor *et al.*, 2016).

As vacinas vivas consistem na inoculação dos bovinos com eritrócitos infetados com *Anaplasma centrale* ou *A. marginale* atenuada. Para a produção da vacina viva, vitelos esplenectomizados são mantidos em quarentena e inoculados experimentalmente com estirpes selecionadas, servindo como dadores de sangue infetante, contudo apresenta como risco a transmissão de outros hemoparasitas. A utilização de estirpes atenuadas de *Anaplasma marginale*, produzidas a partir de irradiação ou através da inoculação em hospedeiros considerados “anormais” como ovinos ou veados tem sido proposta, no entanto a proteção fornecida por este tipo de vacinas não é confiável, uma vez que se podem tornar virulentas com as sucessivas passagens pelos bovinos e carraças (Kocan *et al.*, 2000; Kocan *et al.*, 2010).

A vacina mais utilizada para o controlo da anaplasmoze bovina é a vacina viva de *Anaplasma centrale*, uma vez que esta riquetsia é menos patogénica do que *A. marginale* e que animais infetados com *A. centrale* desenvolvem imunidade protetora contra a infeção por *A. marginale*. Estudos têm demonstrado que a variação antigénica de MSP2 que ocorre durante a infeção persistente de *A. centrale* é semelhante à descrita em *A. marginale* (Kocan *et al.*, 2010). Porém existe alguma relutância relativamente à introdução desta vacina em regiões onde não tem sido detetada a presença de *A. centrale* (Constable *et al.*, 2017).

As vacinas vivas apenas podem ser administradas a animais jovens e são contraindicadas em animais gestantes e mais velhos (Palmer & Clothier, 2015). A vacinação única, realizada em regiões endémicas, geralmente é suficiente para promover a imunidade ao longo de toda a vida do animal (Constable *et al.*, 2017).

Relativamente às vacinas mortas, estas apresentam algumas vantagens comparativamente às vacinas vivas como o baixo risco de contaminação com agente infecciosos indesejáveis, o facto de poderem ser armazenadas de forma barata e geralmente a reação pós-inoculação é mínima. No entanto, as vacinas mortas são menos eficazes e exigem a realização de várias imunizações, mas podem ser eficientes da indução da proteção parcial contra a elevada morbidade e mortalidade se administradas algumas semanas antes do início da atividade do vetor, outros inconvenientes são o elevado custo para a purificação de *Anaplasma marginale* de eritrócitos e a ausência de proteção de animais provenientes de regiões geográficas diferentes (Kocan *et al.*, 2010; Palmer & Clothier, 2015; Constable *et al.*, 2017).

A vacina morta apresenta um risco estando relacionada com o facto dos anticorpos produzidos nos eritrócitos do animal vacinado poderem ser transferidos pelo colostro e

provocarem isoeritrolise em vitelos em fase de amamentação, sendo contraindicada em vacas em fase final da gestação. Para minimizar esta situação, as vacinas inativadas têm estado a ser desenvolvidas através da realização de processos de purificação de forma a evitar a produção destes anticorpos eritrocitários (Kocan *et al.*, 2010; Taylor *et al.*, 2016).

Em alguns países de África, Ásia, América Central e do Sul foram implementados planos de vacinação em efetivos suscetíveis (por exemplo, mudança para regiões endémicas) com vacina de *Anaplasma centrale* viva. Nos Estados Unidos da América é utilizada a vacina morta com *Anaplasma marginale* (Quinn *et al.*, 2011; Taylor *et al.*, 2016). Na Austrália, também é administrada a vacina viva de *A. centrale*, todavia foi implementada a utilização de uma vacina viva trivalente contra *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* (Aubry & Geale, 2011; Palmer & Clothier, 2015). É importante mencionar que na produção de vacinas com base em algumas estirpes podem não conferir proteção em zonas afetadas por outras estirpes, sendo que o uso de vacinas é restrito a algumas regiões geográficas (Kocan *et al.*, 2000).

A proteção temporária face ao risco exposto pode ser optada através da administração única por via intramuscular de 20 mg/kg de peso vivo de oxitetraciclina de longa ação demonstrando bons resultados exceto se o animal estiver exposto à infeção há mais de 14 dias anteriores ao tratamento. A proteção prolongada pode realizar-se através da administração intramuscular de 20 mg/kg de peso vivo de oxitetraciclina de longa ação a cada 28 dias ou na administração diária de clortetraciclina na alimentação na dose 1,1 mg/kg de peso vivo (Constable *et al.*, 2017).

O controlo da anaplasmose depende muito da redução de carraças e moscas, embora seja difícil evitar o contacto entre os artrópodes e o efetivo, tem sido implementado o uso de acaricidas e inseticidas no período de maior atividade dos vetores (Taylor *et al.*, 2016).

Embora não seja muito utilizado nos bovinos, o controlo anual com organofosfatos ou acaricidas piretróides sintéticos pode ajudar na redução do número de carraças. No entanto o uso frequente destes produtos tem levantado questões relativamente ao impacto ambiental, saúde pública, custos elevados e aumento da resistência das carraças aos pesticidas devido a aplicações repetidas (Aubry & Geale, 2011; Constable *et al.*, 2017).

A erradicação da anaplasmose não é um procedimento adotado atualmente, na maioria dos países, devido à enorme variabilidade de insetos com capacidade de transmitir o agente, aos animais portadores ou persistentemente infetados e, em algumas regiões, à existência de animais selvagens portadores (Constable *et al.*, 2017).

## 4. Caso clínico

O caso clínico apresentado ocorreu no final do verão numa exploração no concelho de Idanha-a-Nova constituída por aproximadamente 400 bovinos em sistema extensivo, sendo que as fêmeas reprodutoras são cruzadas de carne, destacando-se as cruzadas de Mertolenga. Os machos reprodutores são de raça *Limousine* e *Charolais*, ambas as raças são consideradas exóticas. Quatro semanas anteriormente à ocorrência deste episódio, tinha surgido um caso clínico semelhante nesta mesma exploração tendo sido confirmada a infeção por *Anaplasma marginale*.

### 4.1 Identificação do animal

- Espécie: bovino
- Raça: cruzada de Mertolenga
- Sexo: fêmea
- Idade: cerca de dez anos

### 4.2 Anamnese e exame clínico

O médico veterinário foi chamado à exploração pelo produtor que relatou que o bovino se encontrava isolado do restante efetivo há alguns dias e que já não se alimentava, havendo diminuição da sua condição corporal. Assim que o animal foi avistado, apercebeu-se que este se encontrava muito emaciado.

Optou-se por levar o animal até à manga para que se pudesse realizar, de uma forma mais correta e segura, o exame físico. No decorrer da deslocação entre a pastagem e a manga, a vaca mostrava sinais de agressividade tentando atacar os próprios produtores.

Durante a realização do exame clínico de estado geral, o animal apresentava uma temperatura de 40,4°C, as membranas mucosas apresentavam-se ictéricas (figura 17) e o TRPC igual a três segundos. Relativamente à frequência cardíaca e respiratória, a vaca encontrava-se com taquicardia e taquipneia.



**Figura 17** - Mucosa vulvar apresentando icterícia (fotografia da autora)

### 4.3 Diagnóstico

Para a realização do diagnóstico neste caso clínico, o médico veterinário baseou-se na história pregressa e nos sinais clínicos apresentados pelo bovino, nomeadamente emaciação, agressividade, inapetência, desidratação, febre e a presença de membranas mucosas ictéricas. Para além disso, a existência de um caso de anaplasmose relatado recentemente teve um peso importante para que estabelecesse um diagnóstico presuntivo.

Como possíveis diagnósticos diferenciais, destacaram-se as seguintes afeções:

- Anaplasmose
- Babesiose
- Teileriose
- Leptospirose

## 4.4 Exames complementares

Para a identificação do agente etiológico de forma a efetuar-se um diagnóstico definitivo, procedeu-se à colheita de uma amostra de sangue da veia coccígea mediana para um tubo com o anticoagulante ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA), sendo enviada para o laboratório da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro, em Castelo Branco.

Posteriormente, foram divulgados os resultados laboratoriais que confirmaram a infeção por *Anaplasma marginale* (Anexo I).

## 4.5 Plano terapêutico

O tratamento deste animal consistiu na administração de oxitetraciclina de longa ação (Calimicina®) intramuscularmente na dose de 20 mg/kg de peso vivo e de dipropionato de imidocarb (Imizol®) por via subcutânea na dose de 2,1 mg/kg de peso vivo. Recomendou-se a administração de uma segunda dose de oxitetraciclina de longa ação após três dias.

Foi aconselhado o isolamento do animal num local com água e alimento, sendo vigiado regularmente.

Após os resultados laboratoriais terem confirmado a infeção por *Anaplasma marginale*, tendo sido registados dois casos em menos de um mês na mesma exploração, o médico veterinário recomendou a administração profilática de dipropionato de imidocarb ao restante efetivo, na dose de 5 mg/kg de peso vivo por via subcutânea.

## 4.6 Evolução do caso clínico

Na manhã seguinte ao tratamento, o bovino foi encontrado morto apresentando sinais de desidratação como enoftalmia. Como ainda não tinham sido obtidos os resultados do laboratório, optou-se pela realização da necrópsia para observação macroscópica.

No decorrer da necrópsia, na observação da cavidade abdominal verificou-se a existência de esplenomegália, hepatomegália e vesícula biliar aumentada com a presença de bÍlis escura.

## 4.7 Discussão

O presente caso clínico relata um bovino com aproximadamente dez anos, a idade avançada deste animal é considerada um dos fatores de risco para o desenvolvimento de uma doença severa e muito frequentemente fatal, corroborando com a bibliografia consultada (Aubry & Geale, 2011).

De acordo com a anamnese relatada pelo produtor e através dos sinais clínicos observados, nos quais se destacam a perda progressiva de peso, inapetência, desidratação, hipertermia, assim como as membranas mucosas ictéricas, que são considerados por vários autores como a sintomatologia clínica mais frequente em animais infetados com *Anaplasma marginale*, poderia também suspeitar-se de outras afeções hemolíticas, nomeadamente a babesiose, teileriose ou leptospirose (Kocan *et al.*, 2010, Quinn *et al.*, 2011, Taylor *et al.*, 2016).

O diagnóstico de anaplasmosose bovina teve como base a localização geográfica da exploração, estação do ano e sintomatologia clínica (Kocan *et al.*, 2010). O caso clínico apresentado decorreu no verão, verificando-se ainda alguma atividade dos vetores, tanto biológicos como mecânicos. Outro fator importante para a realização do diagnóstico deve-se à localização da exploração numa área considerada endémica. No entanto, a existência de um caso semelhante nas semanas anteriores na mesma exploração contribuiu para que se estabelecesse o diagnóstico presuntivo.

Como o animal afetado apresentava sinais clínicos, optou-se pela realização de um método de diagnóstico mais prático e económico, a colheita de sangue para um tubo com EDTA para que se procedesse à execução de um esfregaço sanguíneo.

Perante este caso, as medidas terapêuticas tomadas foram a administração de um antimicrobiano, a oxitetraciclina de longa ação, e de um antiprotozoário, o dipropionato de imidocarb. A administração deste último fármaco baseou-se não só para aumentar a eficácia no tratamento da infeção por *A. marginale*, em que é fundamental que se instaure um tratamento precoce, mas também pelo facto de estarmos perante um diagnóstico presuntivo e não definitivo, cujo principal diagnóstico diferencial era a infeção por *Babesia spp.*, tendo-se optado pela administração de ambos os fármacos.

Quando foi confirmada a infeção por *Anaplasma marginale* pelos resultados do esfregaço sanguíneo, o médico veterinário aconselhou a administração de dipropionato de imidocarb ao restante efetivo de modo a tratar os animais portadores, uma vez que a exploração se encontra

numa região onde existe uma elevada prevalência de animais em que *A. marginale* foi isolado (Serras, 2017).

Por fim, a abordagem diagnóstica e terapêutica efetuada pelo médico veterinário foi realizada com base na bibliografia recomendada e, não menos importante, de acordo com as possibilidades económicas do proprietário da exploração. Apesar da aplicação das corretas medidas terapêuticas, o desfecho não foi favorável.

## 5. Considerações finais

O presente relatório de estágio foi dividido em duas partes: a primeira, que retrata a casuística das atividades desenvolvidas ao longo dos seis meses de Estágio Curricular; e a segunda, constituída por uma revisão bibliográfica sobre anaplasmoses bovina e a apresentação de um caso clínico com a respetiva discussão.

O Estágio Curricular assume uma grande importância, permitindo por em prática os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, assim como a aquisição de novos conhecimentos, completando a aprendizagem graças às numerosas e diversificadas atividades desenvolvidas no decorrer do estágio. A observação e participação em diferentes práticas e áreas clínicas, bem como espécies animais nomeadamente os bovinos, ovinos, caprinos, suínos, equinos e espécies cinegéticas.

Apesar do médico veterinário de espécies pecuárias atuar, na maioria das vezes, sozinho, sendo necessário obter autonomia e dependência, a aquisição de competências de trabalho em equipa é fundamental tanto para a partilha de conhecimentos como interajuda.

De um modo geral, o Estágio Curricular foi bastante proveitoso, visto que possibilitou o acompanhamento diário de um médico veterinário, adaptando a autora ao contexto profissional e realçando a importância da interação entre médico veterinário e cliente.

A escolha do tema da monografia sobre anaplasmoses bovina surgiu pelo fascínio da autora na área das doenças infecciosas e parasitárias e também pelo facto de ser uma patologia pouco abordada em Portugal, não havendo ainda muitos estudos para a profilaxia e controlo, como é o caso da implementação de planos de vacinação contra a anaplasmoses que apenas foram desenvolvidos em alguns países.

Confirma-se que a medicina veterinária é uma área que se encontra em constante evolução, sendo necessário que o médico veterinário esteja sempre atualizado de conhecimentos que vão surgindo assim como de novas técnicas, tendo não só em consideração a saúde animal, mas também a saúde pública.

## Referências bibliográficas

ABSGlobal (2013). *Protocols – ABS Technical Services*. ABSGlobal. Wisconsin, EUA. Acedido a 20/03/2019 em <http://www.abstechservices.com/?pages=protocols>.

Antunes S, Ferrolho J, Domingues N, Santos AS, Santos-Silva MM & Domingos A (2016) *Anaplasma marginale* and *Theileria annulata* in questing ticks from Portugal. *Experimental and Applied Acarology*. DOI: 10.1007/s10493-016-0057-y.

Aubry P & Geale DW (2011) A Review of Bovine Anaplasmosis. *Transboundary and Emerging Diseases*. **50**: 1-30.

Barrington GM, Gay JM & Evermann JF (2002), Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*. **18**: 7-34.

Battilani M, Arcangeli S, Balboni A & Dondi F (2017) Genetic diversity and molecular epidemiology of *Anaplasma*. *Infection, Genetics and Evolution*. DOI: 10.1016/j.meegid.2017.01.021.

Berthelin-Baker CF & George LW (2015) Diseases of the Nervous System – Pseudorabies (Aujeszky Disease, Mad Itch, Bulbar Paralysis). In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, pp. 942-943.

Bettencourt EMV & Romão RJ (2011) Patologia e Clínica de Espécies Pecuárias (Texto de apoio à unidade curricular de Patologia e Clínica de Espécies Pecuárias II), Universidade de Évora, pp. 96-100; 116-162.

Bradley AJ (2002) Bovine Mastitis: An Evolving Disease. *The Veterinary Journal*. **164**: 116-128.

Berry SL (2015) Diseases of the Skin – Digital Dermatitis (Papillomatous Digital Dermatitis, Bovine Digital Dermatitis, Foot Warts, Heel Warts, Hairy Foot Warts, Mortellaro's Disease, Strawberry Heel Warts). In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, pp. 1200-1202.

Brozos C, Mavrogianni VS & Fthenakis GC (2011) Treatment and Control of Peri-Parturient Metabolic Diseases: Pregnancy Toxemia, Hypocalcemia, Hypomagnesemia. *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*. **27**: 105-113

Bursakov SA & Kovalchuk SN (2019) Co-infection with tick-borne disease agents in cattle in Russia. *Ticks and Tick-borne Diseases*. **10**: 709-713.

Carlson GP (2015) Diseases of the Hematopoietic and Hemolymphatic Systems – Leptospirosis. In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, p. 1059.

Capuccile DJ (2008) Anaplasmosis. In *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Ruminant*, 1ª edição, ed. Haskell, S.R.R., Wiley-Blackwell, EUA, 978-0-7817-5325-8, pp. 50-51.

Christensen BW, McNabb BR, Troedsson MHT & Woodward EM (2015) Diseases of the Reproductive System – Female Reproductive Disorders. In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, pp. 1347-1348, 1353-1354.

Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH & Grünberg W (2017) *Veterinary medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*, 11ª edição, Elsevier, EUA, 978-0-7020-5246-0, pp. 766-775, 785-790, 799-805, 903-913, 1435-1437, 1722-1725, 1781-1783, 2015-2016, 2069-2072.

Da Silva NB, Taus NS, Johnson WC, Mira A, Schnittger L, Valente JDM, Vidotto O, Masterson HE, Vieira TSWJ, Ueti MW & Vieira RFC (2018) First report of *Anaplasma marginale* infection in goats, Brazil. *PLOS ONE*. DOI: 10.1371/journal.pone.0202140.

De la Fuente J, Garcia-Garcia JC, Blouin EF, Rodríguez SD, García MA & Kocan KM (2001) Evolution and function of tandem repeats in the major surface protein 1a of the ehrlichial pathogen *Anaplasma marginale*. *Animal Health Research Reviews*. **2**: 163-173.

De la Fuente J, Ruybal P, Mtshali MS, Naranjo V, Shuqing L, Mangold AJ, Rodríguez SD, Jiménez R, Vicente J, Moretta R, Torina A, Almazán C, Mbatia PM, de Echaide ST, Farber M, Rosario-Cruz R, Gortazar C & Kocan KM (2007) Analysis of world strains of *Anaplasma marginale* using major surface protein 1a repeat sequences. *Veterinary microbiology*. **119**: 382-390.

Decreto-Lei nº 85/2012, de 5 de abril. Diário da República nº69/2012, Série I. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa. Acedido a 13/03/2019 em <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/85/2012/04/05/p/dre/pt/html>.

Decreto-Lei nº 157/98, de 9 de junho. Diário da República nº 133/1998, Série I-A. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa. Acedido a 12/03/2019 em <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/157/1998/06/09/p/dre/pt/html>.

Decreto-Lei nº 114/99, de 14 de abril. Diário da República nº 87/1999, Série I-A. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa. Acedido a 13/03/2019 em <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/114/1999/04/14/p/dre/pt/html>.

Decreto-Lei nº 222/2012, de 15 de outubro. Diário da República nº199/2012, Série I. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa. Acedido a 13/03/2019 em <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/222/2012/10/15/p/dre/pt/html>.

Decreto-Lei nº 244/2000, de 27 de setembro. Diário da República nº 258/2000, Série I-A. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa. Acedido a 12/03/2019 em <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/244/2000/09/27/p/dre/pt/html>.

Decreto-Lei nº 272/2000, de 8 de novembro. Diário da República nº 272/2000, Série I-A. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa. Acedido a 12/03/2019 em <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/272/2000/11/08/p/dre/pt/html>.

DGAV (2011). Plano de controlo e erradicação de Tuberculose em caça maior. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 14/03/2019 em <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2017) Sanidade Animal, relatório 2010-2016, Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 13/03/2019 em [http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look\\_parentBoui=28961539&att\\_display=n&att\\_download=y](http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look_parentBoui=28961539&att_display=n&att_download=y).

DGAV (2018a). Plano nacional de erradicação da tuberculose bovina 2019. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 11/03/2019 em <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2018b). Manual de Procedimentos para a classificação sanitária de efetivos no âmbito dos programas de erradicação da tuberculose, brucelose e leucose enzoótica bovinas e da brucelose dos pequenos ruminantes. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa

DGAV (2018c). Programa Nacional de Erradicação da Brucelose dos Bovinos 2019. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 12/03/2019 em <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2018d). Programa Nacional de Erradicação da Brucelose dos Pequenos Ruminantes. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 13/03/2019 em <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2019). Edital nº 50, de 26 de abril. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 6/06/2019 em <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=18285&cboui=18285>

Erskine RJ, Wagner S & DeGraves FJ (2003) Mastitis therapy and pharmacology. *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*. **19**: 109-138.

Fernandes SJ, Matos CA, Freschi CR, Ramos IAS, Machado RZ & André MR (2019) Diversity of *Anaplasma* species in cattle in Mozambique. *Ticks and Tick-borne Diseases*. **10**: 651-664.

Hendrickson DA (2013) Equine Urogenital Surgery. In *Turner and McIlwraith's Techniques in Large Animal Surgery*, 4ª edição, ed. Hendrickson D.A. & Baird A.N., Wiley Blackwell, EUA, 978-1-1182-7323-4, pp. 145-146.

Hofmann-Lehmann R, Meli ML, Dreher UM, Gönczi E, Deplazes P, Braun U, Engels M, Schüpbach J, Jörger K, Thoma R, Griot C, Stärk KDC, Willi B, Schmidt J, Kocan KM & Lutz H (2004) Concurrent Infections with Vector-Borne Pathogens Associates with Fatal Hemolytic Anemia in a Cattle Herd in Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 3775-3780.

Instituto Nacional de Estatística (2013). Acedido a 10/03/2019 em [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_unid\\_territorial&menuBOUI=13707095&contexto=ut&selTab=tab3](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_unid_territorial&menuBOUI=13707095&contexto=ut&selTab=tab3).

Izzo M, Gunn AA & House JK (2015) Manifestations and Management of Disease in Neonatal Ruminants – Neonatal Diarrhea. In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, pp. 314-335.

Kocan KM, Blouin EF & Barbet AF (2000) Anaplasmosis Control – Past, Present, and Future. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **916**: 501-509.

Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF & Ewing SA (2010) The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary Parasitology*. **187**: 95-107.

Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF & Garcia-Garcia JC (2002) Adaptations of the tick-borne pathogen, *Anaplasma marginale*, for survival in cattle and ticks. *Experimental and Applied Acarology*. **28**: 9-25.

Kocan KM, de la Fuente J, Guglielmone AA & Meléndez RD (2003) Antigens and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle. *Clinical Microbiology Reviews*. **16**: 698-712.

Kocan KM, Hair JA; Ewing SA & Stratton LG (1981) Transmission of *Anaplasma marginale* Theiler by *Dermacentor andersoni* Stiles and *Dermacentor variabilis* (Say). *American Journal of Veterinary Research*. **42**: 15-18.

Kocan KM, Zivkovic Z, Blouin EF, Naranjo V, Almázan C, Mitra R & de la Fuente J (2009) Silencing of genes involved in *Anaplasma marginale*-tick interactions affects the pathogen developmental cycle in *Dermacentor variabilis*. *BMC Developmental Biology*. **9**: 42.

Kumar N, Solanki JB, Varghese A, Jadav MM, Das B, Patel MD & Patel DC (2019) Molecular Assesment of *Anaplasma marginale* in Bovine and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Tick of Endemic Tribal Belt of Coastal South Gujarat, India. *Acta Parasitologica*. DOI: 10.2478/s11686-019-00041-z.

McGrath JP (1993) Assessment of Hemolytic and Hemorrhagic Anemias in Preclinical Safety Assessment Studies. *Toxicologic Pathology*. **21**: 158-163.

Mee JF (2008) Prevalence and risk factors for dystocia in dairy cattle: A review. *The Veterinary Journal*. **176**: 93-101.

Meganck V, Hoflack G & Opsomer G (2014) Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. *Acta Veterinaria Scandinavica*. **56**: 1-8.

Morin DE (2015) Mammary Gland Health. In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, pp. 1015-1020.

Nicholson WL, Sonenshine DE, Noden BH & Brown RN (2019) Ticks (Ixodida). In *Medical and Veterinary Entomology*, 3ª edição, ed. Mullen, G.R. & Durden, L.A., Elsevier, EUA, 978-0-12-814043-7, pp. 604-605, 615, 622, 652-655.

Noakes D (2009) Dystocia and other disorders associated with parturition. In *Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 9ª edição, ed. Noakes, D. E., Parkinson, T. J. & England, G. C. W., Saunders Elsevier, EUA, 978-0-7020-2887-8, pp. 209-216.

Okafor CC, Collins SL, Daniel JA, Coetzee JF & Whitlock BK (2019) Seroprevalence of bovine Anaplasmosis in Georgia. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. **15**: 100258.

Okafor CC, Collins SL, Daniel JA, Harvey B, Coetzee JF & Whitlock BK (2018) Factors associated with seroprevalence of bovine anaplasmosis in Texas. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. **14**: 32-40.

Palmer GH & Clothier KA (2015) Infectious Causes of Hemolytic Anemia – Bovine Anaplasmosis. In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, pp. 1054-1056.

Palomar AM, Portillo A, Santibáñez P, Mazuelas D, Roncero L, García-Álvarez L, Santibáñez S, Gutiérrez Ó & Oteo JA (2015) Detection of tick-borne *Anaplasma bovis*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma centrale* in Spain. *Medical and Veterinary Entomology*. **29**: 349-353.

Paramanandham K, Mohankumar A, Suresh KP, Jacob SS & Roy P (2019) Prevalence of *Anaplasma* species in India and the World in dairy animals: A systematic review and meta-analysis. *Research in Veterinary Science*. **123**: 159-170.

Peek SF & Divers TJ (2018) *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, 3ª edição, Elsevier, EUA, 978-0-323-39055-2, pp. 420, 445-446, 559, 748-753, 758-760.

Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, FitzPatrick ES, Fanning S & Hartigan PJ (2011) *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*, 2ª edição, Wiley-Blackwell, Reino Unido, 978-1-4051-5823-7, pp. 396-404.

Roberson JR (2003) Establishing treatment protocols for clinical mastitis. *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*. **19**: 223-234.

Said MB, Belkahia H & Messadi L (2018) *Anaplasma spp.* in North Africa: A review on molecular epidemiology, associated risk factors and genetic characteristics. *Ticks and Tick-borne Diseases*. **9**: 543-555.

Schumacher J (2012) Testis. In *Equine Surgery*, 4ª edição, ed. Auer J.A. & Stick J.A., Saunders Elsevier, EUA, 978-1-4377-0867-7, pp. 817-818.

Schumacher J, Schumacher J & Spano JS (2013) Diseases of the equine urinary tract. In *Equine medicine, surgery and reproduction*, 2ª edição, ed. Mair, T.S., Love, S., Schumacher, J., Smith, R. K. W. & Frazer, G.S., Saunders Elsevier, EUA, 978-0-7020-2801-4, pp. 169-170.

Seo M-G, Ouh I-O, Lee H, Geraldino PJJ, Rhee MH, Kwon O-D & Kwak D (2018) Differential identification of *Anaplasma* in cattle and potential of cattle to serve as reservoirs of *Anaplasma capra*, an emerging tick-borne zoonotic pathogen. *Veterinary Microbiology*. **226**: 15-22.

Serras, LMS (2017) Contribuição para o estudo dos hemoparasitas dos bovinos na Beira Interior. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Portugal.

Smith BP (2015) Large Animal Internal Medicine, 5ª edição, Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, p. 865.

Stilwell G (2013) Clínica de Bovinos, Edição especial para a Bayer, Publicações Ciência & Vida, Portugal, 978-972-590-092-5, pp. 51-55, 59-60, 195-200, 206, 234-237, 257-258.

Suarez CE & Noh S (2011) Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. *Veterinary Parasitology*. **180**: 109-125.

Taylor JD, Fulton RW, Lehenbauer TW, Step DL & Confer AW (2010) The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors?. *Canadian Veterinary Journal*. **51**: 1095-1102.

Taylor MA, Coop RL & Wall RL (2016) Veterinary Parasitology, 4ª edição, Wiley-Blackwell, Reino Unido, 978-0-470-67162-7, pp. 157-158, 241-253, 405-407.

Troedsson MHT (2015) Alterations in Sexual Function – Dystocia. In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, pp. 190-192.

Vidotto O & Marana ERM (2001) Diagnóstico em anaplasmoze bovina. *Ciência Rural*. **31**: 361-368.

Waters WR (2015) Diseases of the Respiratory System – Bovine Tuberculosis. In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, pp. 633-634.

Werszko J, Szewczyk T, Steiner-Bogdaszeska Z, Laskowski Z & Karbowski G (2019) Molecular Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Blood-Sucking Flies (Diptera: Tabanidae) in Poland. *Journal of Medical Entomology*. DOI: 10.1093/jme/tjy217.

Woolums AR (2015) Diseases of the Respiratory System – Approach to Diagnosis and Treatment of Respiratory Disease of Undetermined Cause (Undifferentiated Ruminant

Respiratory Disease). In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, pp. 603-609.

Zabel TA & Augusto FB (2018) Transmission Dynamics of Bovine Anaplasmosis in a Cattle Herd. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Disease*. DOI: 10.1155/2018/4373981.

Zaugg JL (1998) Oestradiol combined with oxytetracycline as therapy for severe anaplasmosis. *The Veterinary Record*. **142**: 44.

Zaugg JL (2015) Diseases of the Hematopoietic and Hemolymphatic Systems – Babesiosis. In *Large Animal Internal Medicine*, 5ª edição, ed. Smith, B.P., Elsevier, EUA, 978-0-323-08839-8, pp. 1057-1058.

# Anexo I – Resultados laboratoriais da amostra de sangue em EDTA colhida ao animal do caso clínico apresentado

 <b>REPÚBLICA PORTUGUESA</b>		<small>AGRICULTURA, FLORESTAS E DESENVOLVIMENTO RURAL</small>	
<b>DRAP Centro</b> Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro			
<b>LABORATÓRIO DE APOIO REGIONAL</b>			
<b>PARASITOLOGIA</b>			
ENTRADA Nº:                    /2018 DATA: 2018-09-10 AMOSTRA: 1 amostra de sangue com Edta ACONDICIONAMENTO: ..... DATA DE INÍCIO DA ANÁLISE: 2018-09-12 ENSAIOS:		AMOSTRAS	
Exames a efectuar		Sangue	
Pesquisa de <i>Anaplasma</i> s sp		Positivo	
Pesquisa de <i>Babesia</i> sp		Negativo	
OBSERVAÇÕES: Observaram-se formas de <i>Anaplasma marginale</i> DATA DE CONCLUSÃO DA ANÁLISE: 2018-09-17 O TÉCNICO: Maria Helena Félix			