



Relatório de Estágio

Mestrado Integrado Em Medicina Veterinária

Universidade de Évora

Sanidade e Clínica das Espécies Pecuárias

NEOSPOROSE EM BOVINOS DE CARNE

Marta Isabel Casinhas Gafaniz

Évora, 2011

**Orientador:** Professor Doutor Hélder Cortes

**Co-orientador:** Dr. Luís Fragoso

“Este relatório não inclui as sugestões e observações feitas pelo júri.”



Relatório de Estágio

Mestrado Integrado Em Medicina Veterinária

Universidade de Évora

Sanidade e Clínica das Espécies Pecuárias

NEOSPOROSE EM BOVINOS DE CARNE

Marta Isabel Casinhas Gafaniz

Évora, 2011

**Orientador:** Professor Doutor Hélder Cortes

**Co-orientador:** Dr. Luís Fragoso

“Este relatório não inclui as sugestões e observações feitas pelo júri.”

Todas as figuras, gráficos, tabelas e esquemas sem referência são originais do autor.

# Neosporose em Bovinos de Carne

## Resumo

Com o presente trabalho descreve-se a actividade sanitária e clínica efectuada nas espécies pecuárias, acompanhada pela estagiária no decurso do estágio do domínio fundamental do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora.

O estágio decorreu ao longo de quatro meses, sob co-orientação do Médico Veterinário Dr. Luís Fragoso, no ADS Baixo Tejo e na empresa Luso-Pecus Lda. sediada no Porto Alto.

O presente relatório encontra-se dividido em duas partes. Na primeira parte, é apresentada a descrição da casuística clínica e sanitária efectuada ao longo do estágio. Na segunda parte do relatório, após a descrição de alguns agentes abortivos em bovinos, é apresentada como monografia, uma revisão sobre a Neosporose Bovina que antecede a exposição de um caso clínico acompanhado durante o estágio.

**Palavras-Chave:** Bovinos de carne, *N. caninum*, Aborto

# Neosporosis in beef cattle

## Abstract

Though the present work one relates the sanitary and clinical activity performed around the cattle breeding species, attended by the author in course of the traineeship of the essential domination of the integrated master's degree in Veterinary Medicine at the University of Évora.

The trainee happened along four months, under the co-orientation of the Veterinary doctor Luis Fragoso in the ADS Baixo Tejo and in the company Luso-Pecus Lda. placed in Porto Alto.

The present report is divided into two parts. Along the first part is presented the report of the clinical and health casuistry during the traineeships.

Along the second part of the report after the description of some ethiological agents of abortion in cattle, is presented as monograph, a revision about Bovine Neosporosis that precede the exposition of a clinical case attended during the traineeship.

**Key words:** Beef cattle, *Neospora caninum*, abortion.

## **A. Agradecimentos**

Aos meus pais, Amável e Aldina, pois sem eles nunca poderia ter concretizado este sonho.

Ao Pedro, por me ter apoiado nos momentos mais difíceis e por me ter dado força e ânimo  
ao longo do curso.

À minha irmã Alexandra, por me mostrar que existem coisas mais difíceis de ultrapassar.

À minha afilhada Maria, por ter representado uma força adicional para finalizar esta etapa e  
por ser a melhor coisa do mundo.

Aos meus avós, Florindo, Joaquina, Manuel e Jacinta, por serem um exemplo e uma  
referência para mim, e por todo o carinho que me deram ao longo do curso e de toda a minha  
vida.

À minha amiga Tânia e Erica, pelo apoio incondicional, pelas intermináveis noites de estudo  
e por terem representado para mim um ponto de referência pelo qual me guiei ao longo do  
curso.

Ao meu Orientador, Professor Doutor Hélder Cortes, pela disponibilidade e ajuda que  
sempre ofereceu no decorrer de todo este percurso.

Ao meu Co-orientador, Dr. Luís Fragoso, pela disponibilidade, simpatia, transmissão de  
conhecimentos, e pela agradável convivência diária.

À Professora Maria José Vila Viçosa e à Professora Loduvina Padre, pela compreensão e  
ajuda na fase final desta etapa.

À Dr.<sup>a</sup> Helena Lalanda, pela paciência com que me recebeu e por toda ajuda que me deu ao  
longo do estágio.

Ao Paulo e ao Pedro, pelo companheirismo e pelos momentos agradáveis que passámos no  
decorrer do estágio.

## B. Símbolos e Abreviaturas

AB - Antibiótico

Ac - Anticorpo

ADS- Agrupamento de Defesa Sanitária

BRSV- Vírus Sincicial Respiratório Bovino

BVD- Diarreia Viral Bovina

C. - *Clostridium*

CE - Circunferência escrotal

DG – Diagnóstico de Gestação

DGV- Direcção Geral de Veterinária

DIV - Divisão de Intervenção Veterinária

DRA – Direcção Regional da Agricultura

DSRV- Direcção de Serviços de Veterinária Regionais

EDTA – Ácido etilendiamino tetra-acético

ELISA - *Enzyme-linked Immunoassays*

FC – Fixação do complemento

FR - Frequência relativa

ha - hectare

HD - Hospedeiro definitivo

HI - Hospedeiro intermediário

IB – *Immunoblotting*

IBR –Rinotraqueíte infecciosa bovina

IDC – Intradermutuberculinização comparada

IEP- Intervalo entre partos

IFADAP- Instituto de Financiamento e Apoio ao Desenvolvimento da Agricultura e Pescas

IFAT- *Indirect Fluorescent Antibody Test*

IFD- Imunofluorescência directa

IFI - Imunofluorescência indirecta

IFN $\gamma$  - Interferão gama

IgG - Imunoglobulina G

IM- Intramuscular

ISAG – International Society for Animal Genetics

LA- Longa acção

LEB- Leucose enzoótica bovina

LNIV – Laboratório de Investigação Veterinária

MV - Médico Veterinário

MVC – Médico Veterinário coordenador

MVE – Médico Veterinário executor  
OPP – Organização de Produtores Pecuários  
P4 - Progesterona  
PCR- Reacção em cadeia da Polimerase  
PEB – Programa de erradicação da brucelose  
PELBE – Programa de erradicação da leucose bovina enzoótica  
Peq. - Pequenos  
PET – Programa de erradicação da tuberculose  
PI- Persistentemente infectado  
PISA - Programa informático de saúde animal  
PNA – Produtividade numérica anual  
PNSA – Programa Nacional de Saúde Animal  
PPCB - Peripneumonia contagiosa bovina  
RB- Rosa de bengala  
RMF – Retenção de membranas fetais  
Rum - Ruminantes  
SNC – Serviço Nacional Coudélico  
Th- T helper  
TPM – Teste de pré-movimentação



## C. Índice Geral

A. Agradecimentos.....	III
B. Símbolos e abreviaturas.....	IV
C. Índice geral .....	VI
D. Índice de esquemas.....	IX
E. Índice de figuras.....	IX
F. Índice de gráficos .....	IX
G. Índice de tabelas .....	X
H. Índice de anexos .....	X
I. Introdução .....	1
II. Caracterização do estágio .....	3
1. ADS/OPP.....	4
2. Programa Nacional de Saúde Animal.....	5
III. Casuística geral.....	8
1. Intervenções sanitárias obrigatórias e acções profilácticas.....	9
1.1. Programa sanitário anual dos bovinos .....	10
1.1.1. Tuberculose .....	11
1.1.1.1. Intradermotuberculinação de comparação .....	12
1.1.1.1.1. Execução técnica da IDC .....	12
1.1.1.1.2. Interpretação das reacções às tuberculinas.....	13
1.1.1.1.3. Interpretação da IDC.....	13
1.1.2. Brucelose bovina .....	14
1.1.3. Leucose enzoótica bovina.....	15
1.1.4. Procedimentos após o trabalho de campo.....	15
1.2. Programa sanitário anual dos ovinos/caprinos .....	16
1.3. Testes de pré-movimentação .....	16
1.4. Outras vacinações e desparasitações .....	16
2. Casuística clínica.....	17
2.1. Clínica geral.....	17
2.2. Reprodução e obstetrícia .....	22
2.2.1. Partos .....	22
2.2.2. Retenção de membranas fetais.....	25
2.2.3. Exame andrológico .....	26
2.3. Equinos.....	32

IV. Aborto Bovino.....	34
1. Nota introdutória .....	34
1.1. Diagnóstico.....	35
1.1.1. Exame do feto.....	35
1.1.2. Exame da vaca.....	36
1.1.3. Envio de amostras para o laboratório .....	37
2. Aborto de etiologia infecciosa.....	38
2.1. <i>Campylobacter fetus</i> .....	39
2.2. <i>Histophilus somnus</i> .....	39
2.3. <i>Ureaplasma diversum</i> e <i>Mycoplasma spp</i> .....	39
2.4. <i>Brucella abortus</i> .....	40
2.5. <i>Leptospira spp</i> .....	40
2.6. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	41
2.7. <i>Clamydophila abortus</i> .....	41
2.8. Bactérias oportunistas.....	42
2.9. <i>Tritrichomonas foetus</i> .....	42
2.10. Rinotraqueíte infecciosa dos bovinos .....	42
2.11. Vírus da diarreia viral dos bovinos.....	43
2.12. Vírus da língua azul.....	44
2.13. Aborto micótico.....	44
V. Neosporose bovina .....	45
1. Nota introdutória .....	45
2. Etiologia .....	45
3. Hospedeiros.....	45
4. Ciclo de vida.....	46
5. Transmissão.....	48
6. Distribuição geográfica .....	49
7. Prevalência .....	49
8. Sinaís clínicos.....	50
9. Distribuição do parasita e lesões .....	51
10. Patogénese.....	52
11. Factores de risco.....	53
11.1. Risco de infecção para os bovinos.....	54
11.1.2. Idade dos animais .....	54
11.1.3. Presença de hospedeiros definitivos .....	54
11.1.4. Outros carnívoros.....	54
11.1.5. Presença de outros hospedeiros intermediários. ....	55

11.1.6. Alimentação com leite ou colostro .....	55
11.1.7. Maneio da época de partos .....	55
11.1.8. Densidade populacional.....	55
11.1.9. Tamanho da exploração.....	56
11.1.10. Fonte de reposição de novilhas.....	56
11.1.11. Clima .....	56
11.1.12. Vegetação .....	56
11.1.13. Densidade populacional humana .....	57
11.1.14. Factores relacionados com outros agentes infecciosos.....	57
11.1.15. Raça .....	57
11.2. Risco de aborto.....	57
11.2.1. Seroprevalência individual .....	57
11.2.2. Seroprevalência da manada .....	58
11.3. Factores associados com a reprodução.....	58
11.3.1. História de aborto .....	58
11.3.2. Taxa anual de vacas que retornam ao cio .....	58
11.3.3. Retenção placentária.....	58
12. Diagnóstico.....	58
13. Prevenção e controlo .....	60
14. Tratamento .....	62
VI. Caso clínico.....	63
1. Caracterização do efectivo .....	63
2. História da exploração.....	64
3. Abordagem/Diagnóstico.....	64
4. Resultados .....	65
4.1. Sorologia.....	65
4.2. Exame andrológico.....	67
5. Medidas adoptadas .....	68
VII. Discussão .....	69
VIII. Conclusão .....	72
IX. Bibliografia .....	74
X. Anexos.....	82

## D. Índice de Esquemas

Esquema 1 – Relação dos intervenientes do PNSA .....	5
Esquema 2 – Causas de distócia (Adaptado de Hafez e Hafez, 2004) .....	24
Esquema 3 – Representação do ciclo de vida de <i>Neospora caninum</i> (Dias, 2002).....	49

## E. Índice de Figuras

Figura 1 – Medição da prega de pele com o cutímetro ( <a href="http://www.flickr.com/photos/31862256@N06/2981247747/sizes/m/in/photostream/">http://www.flickr.com/photos/31862256@N06/2981247747/sizes/m/in/photostream/</a> ) .....	12
Figura 2 – Sutura de ferida resultante da utilização da vara, na “tenta” em bovino de raça brava de lide.....	19
Figura 3 – Vaca na segunda fase do trabalho de parto (Expulsão fetal) (Jackson, 2004) .....	23
Figura 4 – Vaca na segunda fase de trabalho de parto (Expulsão fetal) (Jackson, 2004).....	23
Figura 5 – Posição fetal normal ( <a href="http://babcock.wisc.edu/pt-br/node/165">http://babcock.wisc.edu/pt-br/node/165</a> ) .....	24
Figura 6 – Distócia devido a má atitude fetal ( <a href="http://www.mcguido.vet.br/wpe42">http://www.mcguido.vet.br/wpe42</a> ) .....	25
Figura 7 – União do cotilédone fetal com a carúncula materna através das criptas ( <a href="http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=1795">http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=1795</a> ) .....	26
Figura 8 – Exame do aparelho genital externo.....	28
Figura 9 – Medição da circunferência escrotal (CE).....	28
Figura 10 – Palpação transrectal em bovino, no âmbito do exame andrológico .....	29
Figura 11 – Bovino a cheirar a fêmea, manifestando interesse sexual.....	29
Figura 12 – Ferida extensa em poldro .....	33
Figura 13 – Medição da circunferência escrotal .....	67
Figura 14 – Recolha de sémen obtido por electroejaculação .....	67
Figura 15 – Avaliação microscópica da motilidade individual dos espermatozóides, no ejaculado colhido.....	67

## F. Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Efectivo total controlado pelo ADS Baixo Tejo (ADS Baixo Tejo, 2009b) .....	3
Gráfico 2 – Animais sob controlo sanitário do ADS Baixo Tejo (ADS Baixo Tejo, 2009b) .....	3
Gráfico 3 – Evolução epidemiológica das doenças do Plano Nacional de Erradicação na área de actuação do ADS Baixo Tejo (ADS Baixo Tejo, 2009b).....	4
Gráfico 4 – Casuística por áreas de intervenção, expresso em frequência relativa (FR) .....	8
Gráfico 5 – Número de animais intervencionados por espécie .....	9

Gráfico 6 – Animais intervencionados em sanidade e profilaxia por espécie e aptidão, expresso em valor absoluto .....	9
Gráfico 7 – Representação das diferentes intervenções, expressas em valor absoluto .....	10
Gráfico 8 – Clínica geral efectuada em bovinos, expressa em FR % .....	18
Gráfico 9 – Tratamento de feridas efectuada em bovinos, expresso em valor absoluto .....	18
Gráfico 10 – Casuística realizada em reprodução e obstetrícia, expressa em valor absoluto.....	22
Gráfico 11 – Representação dos resultados da serologia .....	66

## **G. Índice de Tabelas**

Tabela 1 – Número total de animais intervencionados, expresso em número absoluto e percentagem .....	9
Tabela 2 – Teste de diagnóstico e animais alvo, para o despiste das doenças constantes do plano nacional de erradicação .....	11
Tabela 3 – Diferentes interpretações das reacções às tuberculinas (Adaptado de Regulamento N.º 1226/2002) .....	13
Tabela 4 – Interpretação dos resultados da IDC (Adaptado do Regulamento N.º 1226/2002) ...	13
Tabela 5 – Referência para avaliação da CE (Barbosa <i>et al.</i> , 2005) .....	28
Tabela 6 – Classificação dos efeitos maiores e menores dos espermatozóides (Bloom, 1972 citado por Oliveira, 2009) .....	31
Tabela 7 – Classificação do exame andrológico e respectivas características (Adaptado de Barbosa <i>et al.</i> , 2005).....	32
Tabela 8 – Intervenções realizadas em Equinos, expressas em valor absoluto e FR (%) .....	32
Tabela 9 – Estimativa da idade gestacional de fetos bovinos (Antoniassi, 2007).....	36
Tabela 10 – Amostras necessárias para o diagnóstico de aborto bovino (Antoniassi <i>et al.</i> , 2007).....	37
Tabela 11 – Resultados das análises efectuadas .....	66

## **H. Índice de Anexos**

Anexo I – Vacinas utilizadas na profilaxia das patologias dos bovinos.....	84
Anexo II – Vacinas utilizadas na profilaxia das patologias dos pequenos ruminantes .....	85
Anexo III – Desparasitantes utilizados em bovinos .....	86
Anexo IV – Desparasitantes utilizados em pequenos ruminantes .....	87



## **I - Introdução**

O presente relatório tem como objectivo dar cumprimento ao estipulado pelo artigo 7º do Regulamento de Estágio do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, descrevendo as actividades desenvolvidas no estágio de domínio fundamental nas áreas de sanidade, profilaxia e clínica das espécies pecuárias.

O estágio teve a duração total de 4 meses, tendo sido efectuado nos meses de Setembro, Outubro, Novembro de 2010 e Fevereiro de 2011. As actividades desenvolvidas enquadraram-se no decorrer da execução das acções previstas no Plano sanitário anual do Agrupamento de Defesa Sanitária (ADS) do Baixo Tejo e nos serviços veterinários prestados pela empresa Luso-Pecus Lda. O estágio foi efectuado sob orientação do Dr. Luís Fragoso, Médico Veterinário (MV) Coordenador do ADS do Baixo Tejo, responsável e executor na brigada sanitária nº 1 e elemento do quadro clínico de grandes espécies pecuárias da empresa Luso-Pecus Lda.

O estágio permitiu a aplicação e consolidação do conhecimento teórico e prático adquirido ao longo dos cinco anos curriculares, ao acompanhar diariamente as actividades de um profissional liberal, o que conferiu à discente uma maior autoconfiança e segurança na actividade profissional que em breve se deseja que realize.

A estagiária teve a possibilidade de colaborar activamente nas diversas actividades realizadas pelo MV, tendo representado um papel progressivamente mais activo na execução do plano sanitário anual obrigatório realizado nas espécies pecuárias, bem como nas consultas de ambulatório, contribuindo para a realização do exame clínico, diagnóstico e decisão sobre a terapêutica prescrita.

Beneficiou também do enriquecimento que a vivência com o orientador representou em termos da constatação da importância da relação Médico Veterinário-Produtor/Tratador, relação esta que nem sempre é fácil e que é fundamental para o sucesso de qualquer acto clínico.

O controlo sanitário desenvolvido sob a responsabilidade do MV sanitarista, é crucial para a sociedade, visto ser do correcto desempenho das funções exercidas neste contexto, que depende o sucesso do controlo e erradicação de zoonoses, e, subsequentemente, a segurança da saúde pública.

No capítulo que se segue, é descrita a casuística encontrada em clínica e em sanidade, dando especial relevância aos casos clínicos que foram mais prevalentes (tratamento de feridas, enterotoxémia e afecções respiratórias). No âmbito sanitário, são apresentados os procedimentos inerentes à actividade de campo, englobando a logística administrativa que acompanha este processo.

Na segunda secção do relatório é feita uma descrição sucinta dos diversos agentes infecciosos abortivos em

bovinos, atribuindo-se especial relevância à Neosporose Bovina. Pretende-se descrever a importância desta doença nas explorações, uma vez que é uma das principais causas de aborto em todo o mundo, donde resultam prejuízos incalculáveis para o produtor, sendo poucas vezes quantificados. A descrição de um caso clínico de natureza multifactorial que inclui situações de infecção por *Neospora caninum*, completa esta exposição.



## II - Caracterização do estágio

O estágio curricular teve a duração de quatro meses e foi realizado no ADS do Baixo Tejo e na empresa Luso-Pecus Lda. As actividades realizadas enquadraram-se assim nos serviços clínicos prestados pela empresa acima referida e no cumprimento do plano sanitário anual do ADS Baixo Tejo. A grande componente do estágio englobou o acompanhamento e a participação na rotina diária da Brigada Sanitária nº1 do ADS Baixo Tejo, sendo o MV executor o Dr. Luís Fragoso.

O ADS do Baixo Tejo foi fundado em 1988, por interesse de um grupo de criadores de ruminantes e desde então teve como objectivo melhorar e manter o estatuto sanitário das explorações de grandes e pequenos ruminantes, bem como melhorar os índices produtivos das mesmas. A instituição foi assim criada, com publicação no Diário da República n.º 231, 3ª série, de 6 de Outubro de 1988 enquadrado na Portaria 63/86 de 1 de Março (ADS Baixo Tejo, 2009a). Presentemente, as áreas de intervenção do ADS Baixo Tejo compreendem os Concelhos de Benavente (Freguesias de Benavente, Barrosa, Samora Correia e Santo Estevão), Azambuja (freguesias de Azambuja e de Vila Nova da Rainha), Vila Franca de Xira (freguesia de Vila Franca de Xira) e Chamusca (freguesia do Chouto). A área de intervenção actual corresponde à área geográfica sob a alçada da Direcção de Serviços Veterinários Regionais de Lisboa e Vale do Tejo (ADS Baixo Tejo, 2009b).

O ADS Baixo Tejo controla um efectivo de 54,4% de Bovinos (distribuídos por 143 explorações) e 45,6% de Ovinos e Caprinos (distribuídos por 120 explorações) (Gráfico 1). Estes valores correspondem a um total de 15.113 Bovinos reprodutores e 6.071 pequenos ruminantes. Os bovinos na sua maioria, são gado de aptidão creatopoética, seguido de aptidão de lide e por último, bovinos de aptidão leiteira (Gráfico 2).

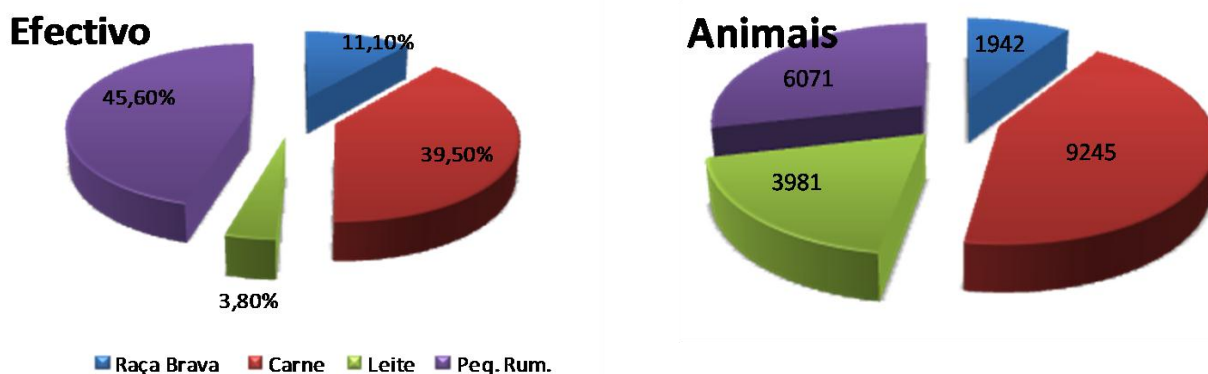


Gráfico 1 – Efectivo total controlado pelo ADS Baixo Tejo (ADS Baixo Tejo, 2009b)

Gráfico 2 – Animais sob controlo sanitário do ADS Baixo Tejo (ADS Baixo Tejo, 2009b)

Como resultado do trabalho efectuado pelo ADS Baixo Tejo, desde 2006 não se verificou a ocorrência de novos casos relativamente às doenças que dizem respeito ao plano nacional de erradicação dos grandes (brucelose, leucose e tuberculose) e pequenos ruminantes (brucelose), tal como podemos verificar no Gráfico 3 (ADS Baixo Tejo, 2009b).

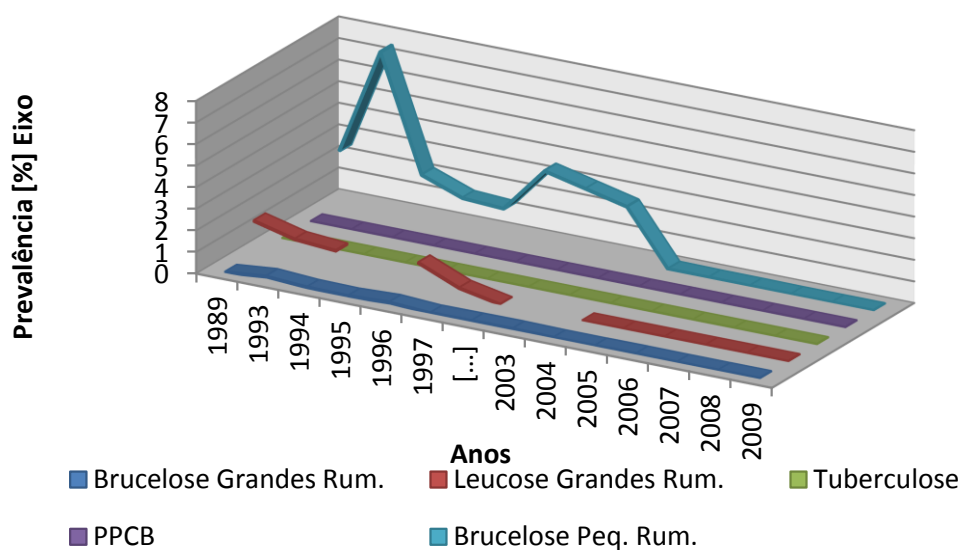


Gráfico 3 - Evolução epidemiológica das doenças do Plano Nacional de Erradicação na área de actuação do ADS Baixo Tejo (ADS Baixo Tejo, 2009b)

Os actos de Sanidade e Profilaxia que integram a rotina diária da Brigada Sanitária nº 1 do ADS Baixo Tejo englobam: intradermotuberculinização comparada (IDC), colheita de amostras de sangue, desparasitação, vacinação, identificação animal dos efectivos e introdução dos dados no programa informático de saúde animal (PISA). Com a supervisão do MV responsável, a estagiária teve a possibilidade de praticar todas as acções acima referidas, quer em efectivos em regime extensivo, quer em regime intensivo (centros de agrupamento e vacarias de aptidão leiteira). Adiante serão descritos e ilustrados todos os processos acima referidos.

## 1. ADS/OPP

A sigla ADS resultou da abreviatura de Agrupamento de Defesa Sanitária, definição inicial das estruturas de natureza associativa, que as autoridades sanitárias nacionais lançaram no ano de 1988 como novo modelo de organização para o controlo e erradicação das doenças dos Planos de Saúde Animal adstritas à produção dos grandes e pequenos ruminantes. Esta denominação emanou da experiência francesa neste domínio, cujas estruturas similares eram denominadas de Groupement de Defense Sanitaire, e que serviram de fonte inspiradora para a primeira legislação nacional que balizou a formação destas estruturas.

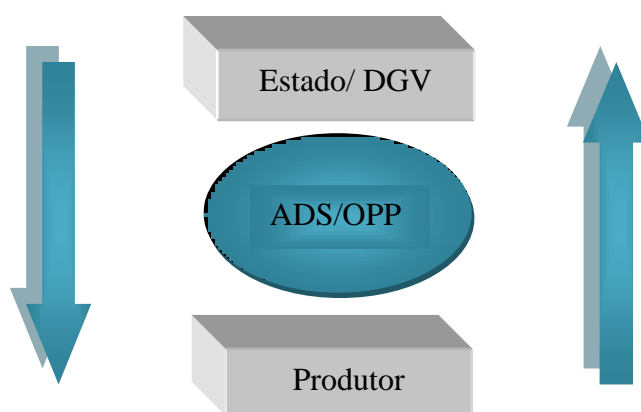
Anos mais tarde e no decurso da caminhada dos ADS pela erradicação e controlo das doenças dos diferentes Planos de Erradicação (Brucelose bovina, ovina e caprina, Tuberculose bovina, Peripneumonia Contagiosa Bovina Enzoótica e Leucose Enzoótica Bovina), o poder político e a DGV entenderam alterar a designação destas estruturas para OPP (Organização de Produtores Pecuários) por entenderem que esta nova denominação espelhava melhor o conceito de associação de produtores e que alargava o âmbito do objecto

destas associações de natureza privada, permitindo-lhes maiores horizontes e outras iniciativas de interesse dos seus associados.

No entanto, as estruturas já estavam organizadas e em funcionamento, pelo que a alteração legal do nome obrigaria a uma série de formalidades legais, que no limite passava pela execução de novas escrituras e registo do novo nome nos mais variados organismos burocráticos oficiais apropriados para o efeito. Esta intenção acarretava custos significativos para os ADS, pelo que a tutela concordou que não se tornaria uma obrigação legal alterar o nome, preferindo torná-la opcional para quem já estava formalizado. A grande maioria dos ADS já em funcionamento optou pela manutenção do nome original, como é o caso do ADS do Baixo Tejo, embora as legislações em vigor desde essa data identifiquem estas associações como OPP, deixando cair em absoluto a designação original.

## 2. Programa Nacional de Saúde Animal

O Programa Nacional de Saúde Animal (PNSA) consiste num plano de erradicação das doenças dos bovinos, ovinos e caprinos e tem como objectivo a classificação das explorações e áreas em indemnes ou oficialmente indemnes. Segundo o Artigo 3º da Portaria 178/2007, a execução das acções do PNSA é de competência da Direcção Geral de Veterinária (DGV) e dos ADS/Organização de Produtores Pecuários (OPP). Para cumprimento dos planos de erradicação inerentes ao PNSA, o dono da exploração pecuária possui a liberdade de escolher o MV executor (MVE), bem como escolher o ADS/OPP ao qual se deseja associar, desde que esta se encontre na mesma região agrícola (Artigo 4º, Portaria 178/2007). O esquema seguinte ilustra as relações existentes entre os intervenientes no cumprimento do PNSA. As suas competências e obrigações serão sucintamente abordadas abaixo.



Esquema 1 – Relação dos intervenientes do PNSA

É competência da DVG a coordenação e controlo das intervenções sanitárias executadas no plano de erradicação em curso e no PNSA. A DGV deve realizar um protocolo anual com os ADS/OPP para desenvolver o programa sanitário a executar nas explorações associadas, devendo definir e divulgar os procedimentos para a execução dos mesmos. São também competências desta autoridade: a avaliação e aprovação dos programas sanitários anuais apresentados pelos ADS/OPP; a coordenação do sistema informático de suporte ao registo das acções realizadas; a promoção da acreditação dos MV coordenadores (MVC) e MVE; a aplicação de sanções por incumprimento previsto pela lei e nos protocolos de execução das acções de profilaxia médica e sanitária e por último, a atribuição da classificação sanitária de áreas com base na classificação sanitária das explorações. (Artigo 8.º da Portaria n.º178/2007 alterado pela Portaria n.º 1004/2010).

São atribuições dos ADS/OPP a colaboração com a Administração na execução do PNSA, na vigilância sanitária das explorações e na prevenção e controlo das doenças emergentes dos animais. Estes organismos devem enviar antecipadamente a calendarização das acções que pretendem executar, de acordo com os procedimentos a definir no protocolo com a DGV, bem como promover a execução e registo por animal da totalidade das intervenções sanitárias previstas para os efectivos das explorações associadas. A aplicação informática indicada pela DGV para registo das intervenções sanitárias deve ser assim mantida em funcionamento.

Para efeitos de controlo, auditoria ou inspecção, toda a informação solicitada pela DGV ou outros organismos da Administração Pública deve ser disponibilizada. Ao MVC deve ser concedido acesso aos meios indispensáveis à elaboração do relatório técnico, de forma a permitir a correcta avaliação da aplicação dos programas sanitários, com comunicação à DGV das irregularidades sanitárias observadas.

A melhoria do estatuto sanitário das explorações e da sua área de intervenção, deve ser um objectivo premente, assim como a proposta de medidas importantes para a melhoria da classificação sanitária da região em questão (Artigo 9º, Portaria 178/2007). Contudo, a missão dos ADS/OPP não se esgota neste campo, adquirindo uma vertente complementar, baseada na sua experiência junto dos produtores pecuários e na relação de confiança que com estes é estabelecida. De acordo com o artigo 10º da Portaria 178/2007, a organização e execução de planos colectivos de saneamento das explorações pecuárias também se encontra a cargo dos ADS/OPP, assim como o desenvolvimento de programas de informação e de formação dos associados, outros serviços de assistência técnica no âmbito das actividades pecuárias, e a prestação de assistência às explorações para que estas cumpram os requisitos legais de gestão em matéria de saúde e bem-estar animal previstos no anexo III do Regulamento nº 1782/2003 (regimes de apoio directo no âmbito da Política Agrícola Comum).

A eleição do MVC é efectuada pela direcção do ADS/OPP, devendo este ser acreditado pela DGV para a realização das acções sanitárias oficiais. A este compete a elaboração do programa anual e a apresentação à direcção; coordenação e avaliação da boa execução das acções previstas no programa sanitário pelos MVE; elaboração dos relatórios técnicos; revisão do programa anual, sempre que justificável, em função da evolução dos efectivos e das explorações associadas e identificar e informar a DGV das suspeitas ou das

situações de risco sanitário que ocorram nas explorações associadas, nomeadamente no âmbito da movimentação animal.

O MVE possui a seu cargo diversas competências: executar as acções médico-veterinárias constantes do programa sanitário aprovado, sob a orientação do MVC; informar e prestar a assistência necessária às explorações pecuárias para a melhoria das condições higio-sanitárias e de bem-estar animal e informar o MVC das dificuldades ou das irregularidades encontradas no desempenho das suas funções, bem como reportar as suspeitas sanitárias observadas, nomeadamente as que possam condicionar a classificação sanitária da exploração. O MVC atribuirá ainda aos MVE um programa de intervenção sanitária próprio no qual devem estar identificadas as explorações ou as regiões sob a sua responsabilidade, bem como os efectivos e os objectivos das acções sanitárias a desenvolver anualmente. Para o exercício das acções constantes de um programa sanitário, os MVE devem estar acreditados pela DGV. Cada MVE terá um número máximo de animais por ano, sendo este valor determinado pela DGV depois de consultadas as organizações representativas dos ADS/OPP (Artigo 15º, Portaria 178/2007 alterado pela Portaria 1004/2010).

### III – Casuística Geral

A produção tradicional de bovinos de carne no Ribatejo tem como base o regime extensivo e a maioria dos produtores domina um reduzido leque de conhecimentos técnicos e científicos, sendo os estímulos iatrotrópicos pouco abundantes e geralmente revestidos de uma certa gravidade. Esta realidade é reforçada pela conjuntura actual de crise internacional, de onde resulta um reduzido número de casos clínicos com que o MV é confrontado.

No decorrer do estágio, foi realizado um total de 404 intervenções, das quais 206 corresponderam a actos de profilaxia e sanidade animal, 82 corresponderam a actos clínicos, 82 relacionados com o registo e identificação de equinos e 34 corresponderam a actos de reprodução e obstetrícia (encontrando-se expressos em frequências relativas no gráfico 4). Como se pode observar, 51% dos actos corresponderam à execução do plano sanitário anual obrigatório, 20,3% corresponderam a actos de clínica geral nas diferentes espécies, 20,3% a actos de registo e identificação animal e, por último, 8% corresponderam a actos de reprodução e obstetrícia.

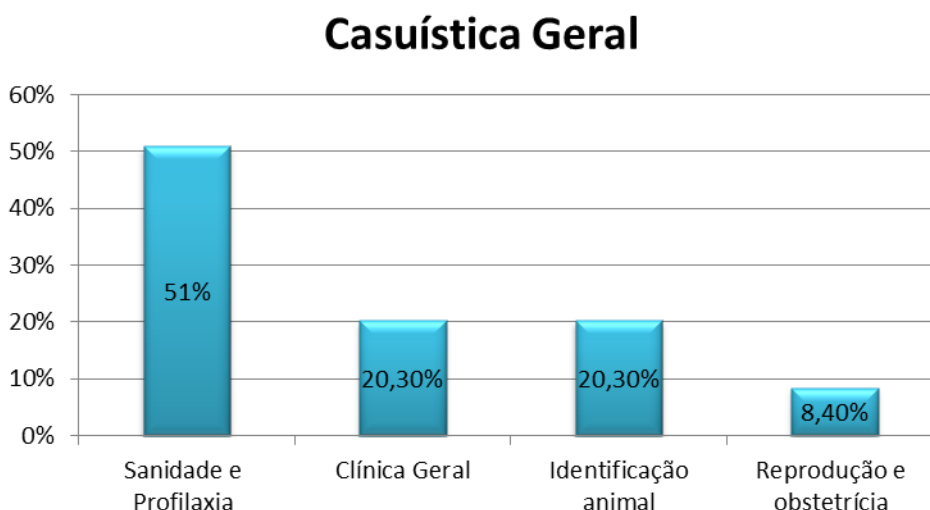


Gráfico 4 – Casuística por áreas de intervenção, expresso em frequência relativa (FR)

No que diz respeito ao total das intervenções, os bovinos representaram a espécie em que houve uma maior casuística como se pode verificar no gráfico seguinte. Na tabela 1 estão incluídos todos os animais que foram intervencionados, tanto em clínica como em sanidade e profilaxia animal.

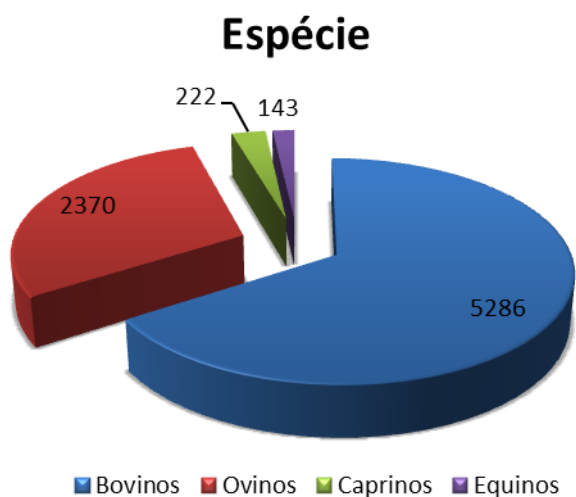


Tabela 1 – Número total de animais intervencionados, expresso em número absoluto e percentagem

Espécie	Valor Absoluto	%
Bovinos	5286	65,9
Ovinos	2370	29,5
Caprinos	222	2,8
Equinos	143	1,8
<b>Total</b>	<b>8021</b>	<b>100%</b>

Gráfico 5- Número de animais intervencionados por espécie.

## 1. Intervenções sanitárias obrigatórias e acções profiláticas

Uma vez que o estágio foi realizado com o MVC do ADS Baixo Tejo, a principal componente deste articulou-se com o cumprimento do plano sanitário anual obrigatório de bovinos e pequenos ruminantes.

Num total de 6883 animais em que foram efectuadas intervenções sanitárias e profiláticas, os bovinos de aptidão creatopoética representaram a fatia maior (2722 animais), seguindo-se os bovinos de aptidão brava de lide, os ovinos, os bovinos de aptidão leiteira e, por último, os caprinos (Gráfico 6).

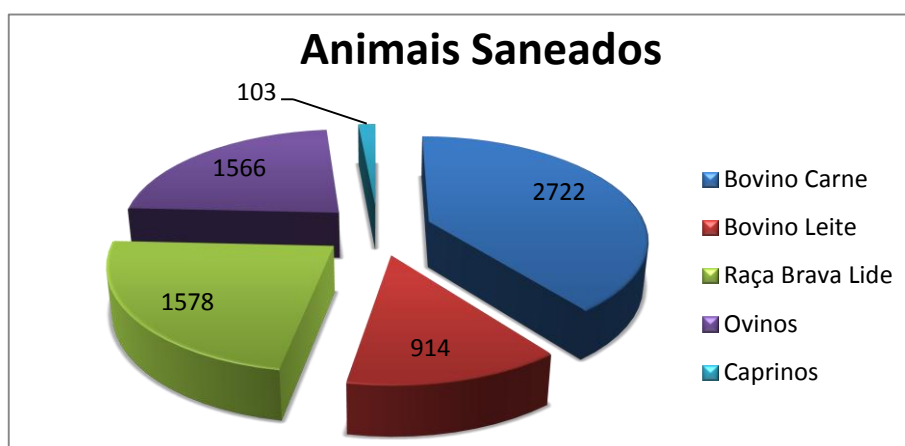


Gráfico 6 – Animais intervencionados em sanidade e profilaxia por espécie e aptidão, expresso em valor absoluto

No total foram efectuadas 206 intervenções sanitárias obrigatórias e actos profilácticos, das quais 26 corresponderam a testes de pré-movimentação (TPM), 79 corresponderam ao plano sanitário anual de bovinos do ADS Baixo Tejo, 28 ao plano sanitário anual de ovinos e caprinos, 28 a desparasitações (ovinos, caprinos e bovinos), 21 corresponderam a vacinações contra a língua azul em ovinos e 24 corresponderam a outras vacinações (ovinos, caprinos e bovinos). Nas secções seguintes, serão descritas as várias acções atrás mencionadas.

As intervenções de sanidade e profilaxia contabilizadas representam a exploração como unidade e não o número de animais intervencionados (Gráfico 7).

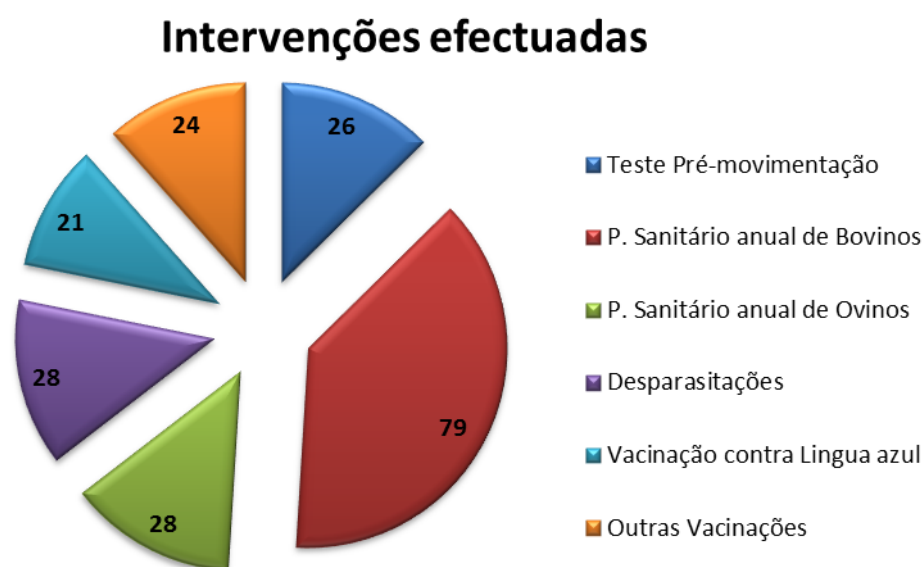


Gráfico 7 – Representação das diferentes intervenções, expressas em valor absoluto

### 1.1. Programa sanitário anual dos bovinos

Como já foi referido anteriormente, o plano sanitário anual dos bovinos representou a maior parte das actividades realizadas na área da sanidade e no estágio em geral. Ao longo dos quatro meses foram intervencionados 79 efectivos bovinos no âmbito do cumprimento do plano sanitário anual obrigatório, contabilizando-se um total de 5214 animais intervencionados.

O plano sanitário obrigatório dos bovinos está integrado nos programas de erradicação contra a tuberculose (PET), brucelose (PEB) e leucose (PELBE). Na tabela seguinte são enumerados os testes de diagnóstico utilizados no despiste de cada doença, bem como a população alvo (zona oficialmente indemne de Brucelose, com prevalência de animais infectados menor que 1%, prevalência de tuberculose da região de 0,2% a 1% e efectivos oficialmente indemnes de Leucose).



Tabela 2- Teste de diagnóstico e animais alvo, para o despiste das doenças constantes do plano nacional de erradicação

Doença	Teste de diagnóstico	Frequência	Animais Alvo
Tuberculose	Intradermotuberculização comparada (IDC)	Anual	machos reprodutores > 12 meses; fêmeas a partir das seis semanas
Brucelose	Serologia (Rosa de Bengala)	Anual	> 12 meses
Leucose	Serologia	Anual	> 24 meses

O teste de diagnóstico utilizado para a pesquisa de Tuberculose Bovina (IDC) será descrito com maior atenção, uma vez que corresponde ao teste de exclusiva responsabilidade e execução do MVE.

Para além do plano sanitário obrigatório, o ADS Baixo Tejo disponibiliza aos criadores associados um serviço básico que inclui como intervenções profiláticas a vacinação contra as clostridioses e a desparasitação dos efectivos. A vacinação contra a enterotóxiemia era realizada com Covexin 8® (Schering-Plough Animal Health), enquanto a desparasitação era realizada com Ivomec F® (Merial) que consiste na associação de ivermectina a 1% com clorsulon a 10%. Nos efectivos leiteiros, a desparasitação era por vezes dispensada (por se tratar de um ciclo fechado) e, quando executada, procedia-se à escolha do desparasitante mais adequado, como o Eprinex® (Merial) *pour on*, que pode ser utilizado em vacas leiteiras em produção, devido ao seu intervalo de segurança para o leite ser zero horas.

Seguidamente serão descritos os procedimentos efectuados no cumprimento do plano sanitário obrigatório para as diferentes doenças.

### 1.1.1. Tuberculose

A Tuberculose bovina é uma doença crónica de carácter zoonótico que tem como agente etiológico o *Mycobacterium bovis*. A doença pode afectar um largo número de mamíferos nomeadamente, os bovinos e humanos (Carstensen & DonCarlos, 2011).

Para controlar e erradicar a doença foi desenvolvido o Programa de Erradicação da Tuberculose (PET), sendo a sua execução da competência das seguintes autoridades: Direcção Geral de Veterinária (DGV), Direcção Regional de Agricultura (DRA), Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV), OPP e Instituto de Financiamento e Apoio ao Desenvolvimento da Agricultura e Pescas (IFADAP) (Artigo 3.º Decreto-lei n.º 272/2000).

Todos os efectivos bovinos são sujeitos a classificação sanitária obrigatória, sendo por isso efectuado anualmente o despiste da doença. Esse despiste é da competência dos MVE e consiste na realização de uma prova de intradermotuberculização comparada (IDC) (prova oficial de diagnóstico).

### 1.1.1.1. Intradermotuberculização de comparação (IDC)

Como já foi referido anteriormente, a prova de IDC é a prova de diagnóstico oficial para proceder ao rastreio de Tuberculose num efectivo, tendo sido efectuada no estágio com grande regularidade. Esta prova consiste na administração intradérmica simultânea de uma só inoculação de tuberculina bovina e uma só inoculação de tuberculina aviária. As tuberculinas são constituídas por um derivado proteico purificado que consiste num preparado obtido a partir dos produtos de crescimento e lise de *Mycobacterium bovis* ou de *Mycobacterium avium*. Estes produtos são tratados termicamente e são capazes de revelar uma hipersensibilidade retardada num animal sensibilizado a microrganismos da mesma espécie (Regulamento nº 1226/2002). A dose mínima para as duas tuberculinas é de 2000 UCT, que corresponde ao volume de 0,1 ml para cada tuberculina.

#### 1.1.1.1.1. Execução técnica da IDC

A inoculação das tuberculinas deve ser efectuada na derme da tábua do pescoço, devendo esta inoculação situar-se entre o terço anterior e médio do pescoço. A inoculação da tuberculina aviária deve ser efectuada a cerca de 10 cm da linha superior do pescoço, ao passo que a tuberculina bovina deve ser inoculada 12,5 cm abaixo, ou seja, o espaço entre ambas deverá corresponder a uma mão-travessa, numa linha paralela à linha da espádua.

Nos animais jovens em que não seja possível separar os pontos de inoculação, deverá proceder-se à inoculação da tuberculina bovina do lado esquerdo e à inoculação da tuberculina aviária do lado direito, em locais idênticos, no centro do terço médio do pescoço.

A pele onde se vai proceder à inoculação deve estar limpa, íntegra e ser alvo de uma tricotomia, após o que se faz uma prega de pele com o dedo indicador e o polegar e se procede à sua medição com o cutímetro, sendo estas medições anotadas em milímetros (mm) nas colunas respectivas da folha de campo.

A tensão utilizada na medição deve ser uniforme para as duas pregas de modo a que o critério de mensuração seja uniforme e fidedigno. Seguidamente, procede-se à inoculação de tuberculina com o auxílio de seringas apropriadas para o efeito. Geralmente, estas seringas

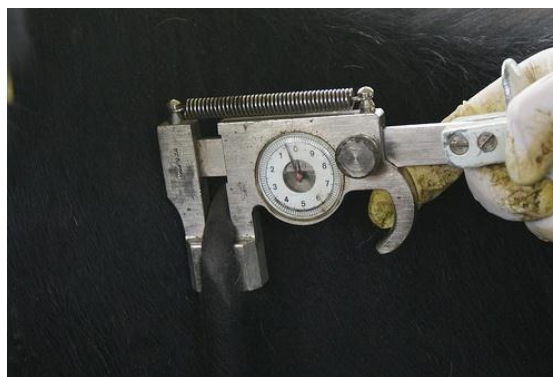


Figura 1 – Medição da prega de pele com o cutímetro (<http://www.flickr.com/photos/31862256@N06/2981247747/sizes/m/in/photostream/>)

são graduadas e possuem uma pequena agulha estéril que é introduzida obliquamente nas camadas mais profundas da pele (derme). No total devem ser utilizadas duas seringas, sendo uma para a tuberculina aviária e outra para a tuberculina bovina, com identificação que permita a sua distinção. Após a inoculação, o MVE deverá confirmar a sua correcta inoculação, através da palpação de uma bolha intradérmica (ligeira tumefacção do tamanho de uma ervilha) no local de inoculação. Se essa bolha intradérmica não for visível ou palpável, o MV deverá proceder a nova inoculação a uma distância de 5 cm ao lado da primeira. A espessura de prega de pele deverá voltar a ser medida com cutímetro e registada 72 horas depois da inoculação na

mesma folha de campo que se utilizou inicialmente, a fim de se poderem calcular os índices e a sua diferença.

#### 1.1.1.1.2. Interpretação das reacções às tuberculinas

A interpretação das reacções deverá ser efectuada 72 horas após a inoculação e é baseada na observação clínica e no aumento da espessura da prega de pele nos pontos de inoculação. Sendo assim, a reacção pode ser considerada negativa, duvidosa ou positiva como podemos ver na tabela seguinte.

Tabela 3 – Diferentes interpretações das reacções às tuberculinas (Adaptado de Regulamento N° 1226/2002)

Interpretação das reacções às tuberculinas	
<b>Reacção negativa</b>	Ausencia de sinais clínicos (edema difuso ou extenso, exsudado, necrose, dor ou reacção inflamatória dos canais linfáticos da região ou dos gânglios) Aumento máximo de 2mm da espessura da prega de pele
<b>Reacção duvidosa</b>	Ausencia de sinais clínicos (referidos anteriormente) Aumento máximo superior a 2mm e inferior a 4 mm da espessura da prega de pele
<b>Reacção positiva</b>	Presença de sinais clínicos (indicados anteriormente) Aumento da espessura da prega de pele superior a 4 mm ou mais.

#### 1.1.1.1.3. Interpretação da IDC

A interpretação e determinação da reacção à prova de IDC pode ser considerada negativa, positiva ou duvidosa. Essa determinação será exemplificada na tabela seguinte.

Tabela 4 – Interpretação dos resultados da IDC (Adaptado do Regulamento N° 1226/2002)

Interpretação da Intradermotuberculização de comparação (IDC)	
<b>Negativa</b>	Ausência de sinais clínicos Reacção bovina negativa, duvidosa ou positiva, mas comparativamente igual ou inferior à reacção aviária positiva ou duvidosa
<b>Duvidosa</b>	Ausência de sinais clínicos Reacção bovina positiva ou duvidosa superior em 1 a 4 mm comparativamente à reacção aviária
<b>Positiva</b>	Presença de sinais clínicos Reacção bovina superior em mais de 4 mm comparativamente à reacção aviária

Caso existam sinais clínicos, estes serão anotados na folha de campo. No caso de existirem animais positivos, estes devem ser identificados, sendo dada ordem para o seu isolamento imediato até que se verifique o seu abate. Os procedimentos anteriormente enumerados tiveram como base o Manual de Procedimentos para a realização da prova de intradermotuberculinização de comparação (DGV, 2005).

### **1.1.2. Brucelose Bovina**

A Brucelose Bovina é uma doença contagiosa de declaração obrigatória, que pode ser transmitida entre os animais (domésticos e selvagens), mas também dos animais ao homem, consituindo assim uma zoonose. A Brucelose Bovina tem como agente etiológico a *Brucella abortus* (DGV, 2009).

O agente possui particular resistência no meio ambiente pelo que a erradicação da doença exige a implementação de estratégias específicas e adaptadas à realidade de cada efectivo, área ou região (DGV, 2009). As medidas aplicáveis encontram-se descritas no PEB, que estabelece que todos os efectivos sejam objecto de rastreio obrigatório e de classificação sanitária obrigatória relativamente à doença (DGV, 2008; Artigo 9º do Decreto-lei n.º 244/2000). À semelhança do PET, a execução do PEB, é competência de diversas entidades: DVG, DRA, LNIV, ADS e IFADAP (Artigo 4.º do decreto-lei n.º 244/2000). O detentor da exploração representa também um papel importante, uma vez que se encontra obrigado a notificar todos os abortos ocorridos na exploração das espécies ovina, ovina e caprina. Tal como na Tuberculose, é expressamente proibido efectuar qualquer tratamento ou vacinação contra a Brucelose sem autorização da autoridade sanitária veterinária nacional (Artigo 7.º e 8.º do decreto-lei n.º 244/2000).

Os ADS/OPP representam as entidades protocoladas para a execução do PEB, nas figuras do MVC e MVE. Actualmente, o teste de diagnóstico *gold standard* é a prova de Rosa de Bengala (RB), devendo ser utilizado para todos os animais como teste de rastreio. Caso este teste apresente resultado positivo, deve-se efectuar de seguida o teste da Fixação do Complemento (FC), pois um animal só poderá ser considerado positivo se apresentar positividade à FC. No entanto, em efectivos confirmados como infectados é feito o abate a animais positivos ao teste RB.

A colheita de amostras de sangue é aplicável em todos os animais sujeitos ao PEB, sendo geralmente efectuada por punção da veia coccígea ou da jugular e consiste na recolha de sangue do animal para um tubo seco, que é devidamente identificado (nº de identificação do animal e relação com o número de ordem da folha de campo). Por conseguinte, a cada animal intervencionado corresponderá um tubo de sangue identificado. Os sangues colhidos são deixados à temperatura ambiente, protegidos do calor excessivo, até que se forme o coágulo e devidamente acondicionados (refrigerados a 2-8Cº) até serem enviados para um laboratório de referência certificado pelo Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV), num período máximo de 72 horas. As amostras são acompanhadas por uma folha de requisição por exploração e por proprietário. No laboratório, todas as amostras serão sujeitas à prova RB.

### **1.1.3. Leucose Enzoótica Bovina (LEB)**

A LEB é uma doença que acomete os bovinos adultos e é causada por um retrovírus, o vírus da Leucemia Bovina. Apesar de a doença ser característica de animais adultos, a infecção pelo agente pode ocorrer em qualquer idade (DGV, 2009a).

Desde 2008, que se encontram implementados programas de erradicação em todo o País, que passaram a ser plurianuais, estando-se neste momento numa fase próxima da erradicação da doença (Programa de Erradicação Plurianual 2011-2013) (Decreto-Lei n.º 114/99).

A execução do Programa de Erradicação da Leucose Bovina Enzoótica (PELBE) é de competência da DGV, DRA, IFADAP e aos serviços próprios dos governos regionais. Tal como a Tuberculose e Brucelose, é uma doença de declaração obrigatória, na qual é expressamente proibido efectuar quaisquer tratamentos terapêuticos contra a doença (Artigo 7.º e 8.º do Decreto-Lei n.º 114/99). Os efectivos são objecto de rastreio sorológico e classificação sanitária obrigatória relativamente a esta doença. As medidas de profilaxia aplicáveis a esta doença consistem assim no controlo sorológico a todos os bovinos com mais de 12 ou 24 meses de idade, de acordo com a classificação sanitária da exploração. O procedimento na obtenção de amostras é idêntico ao descrito para a Brucelose Bovina. O laboratório procederá ao teste serológico, pesquisando anticorpos para o vírus da LEB pelo método de *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

### **1.1.4. Procedimentos após o trabalho de campo**

Após se ter efectuado o trabalho de campo, o MVE tem a seu cargo a entrega das folhas de campo e de serviço nos serviços administrativos do ADS/OPP. Nas folhas de serviço devem constar todas as acções executadas, bem como o número de total de animais intervencionados, produtos utilizados e qualquer outra informação que o MVE julgue relevante para apreciação pelo MVCoordenador. A folha de serviço serve também para identificar os animais que foram sucessivamente submetidos às intervenções sanitárias por ordem sequencial de trabalho e tem como objectivo primordial acompanhar as amostras recolhidas ao laboratório. Nesta fase, o sector administrativo do ADS/OPP é responsável pela introdução de todos os dados constantes da folha de campo no Programa Informático Nacional de Saúde Animal (PISA.NET). Este programa consiste na aplicação informática oficial de registo de todas as intervenções sanitárias a que um bovino, ovino ou caprino é submetido no âmbito dos diferentes programas sanitários anuais.

Após ter sido efectuada a respectiva leitura da IDC 72 horas depois da inoculação das tuberculinas (pelo MVE), e após terem chegado os resultados das análises respectivas à Brucelose e LEB (Laboratório certificado pelo LNIV), é atribuída, pela DIV a que respeita o efectivo animal em questão, uma classificação sanitária à exploração. Os resultados das provas efectuadas na exploração (IDC) deverão ser assim ser introduzidos no PISA.NET pelo ADS, sendo que os resultados dos testes laboratoriais (sorologia) são lançados pelos serviços da DIV respectiva, que controla o laboratório acreditado para a execução das provas sorológicas e que dele recebe os resultados. Aquando da recepção dos resultados a DIV procederá à atribuição, validação e respectivo lançamento na base de dados informática do PISA.NET da classificação sanitária da exploração. A DGV por sua vez, procederá à classificação sanitária das áreas, com base na

classificação sanitária das explorações das diferentes DIV circunscritas às Direcções Regionais de Agricultura respectivas. Todas estas informações sanitárias e intervenções profiláticas obrigatórias a que os ruminantes foram sujeitos, como data de intervenção, acção executada, resultados obtidos e classificação sanitária do efectivo, deverão constar no passaporte dos respectivos animais, sendo este averbamento uma atribuição do ADS/OPP, com validação pelo MVCoordenador e MVExecutor.

## **1.2. Programa sanitário anual dos ovinos/caprinos**

O PEB em Pequenos Ruminantes consiste apenas na colheita de amostras de sangue para pesquisa de anticorpos contra *Brucella melitensis*. Tal como nos bovinos, o programa sanitário anual dos pequenos ruminantes inclui a vacinação contra clostridioses e pasteurelose e a desparasitação. A vacina utilizada em ovinos e caprinos tem como nome comercial Enterovina® (Laboratório sorológico) e é uma vacina polivalente eficaz contra os seguintes agentes: *C. perfringens* tipo D, *C. perfringens* tipo A, *C. sordellii* e *Pasteurella multocida* tipo I. A desparasitação era efectuada com Netobimín (Hapasil 5%®) ou Fenbendazol que tem como nome comercial Panacur 2,5%®. Ambos os desparasitantes são suspensões orais, sendo o último utilizado em efectivos de aptidão leiteira em lactação (intervalo de segurança para o leite: zero horas).

## **1.3. Testes de Pré-Movimentação**

Os TPM definem-se como os testes utilizados nos programas de erradicação para a brucelose e tuberculose bovina e são utilizados no âmbito da circulação animal (DGV, 2009b). O controlo e as regras relativamente à circulação de animais, são estabelecidas pelo Sistema Nacional de Informação e Registo Animal (SNIRA) que impõe o registo dessas movimentações na sua base de dados (DGV, 2009b).

Por conseguinte, os animais com destino à reprodução, de idade superior a 12 meses, para além de terem de ser oriundos de efectivos indemnes ou oficialmente indemnes de Brucelose e de efectivos oficialmente indemnes de Tuberculose, devem apresentar resultados negativos à IDC e ao teste serológico oficial de Brucelose, que neste contexto é a FC. Caso os resultados sejam negativos, os animais poderão sair da exploração num prazo máximo de 30 dias, a partir da data de realização do TPM (DGV, 2009b).

## **1.4. Outras vacinações e desparasitações**

Na perspectiva de que a actuação dos ADS/OPP não se esgota no cumprimento do Plano Sanitário Obrigatório, foram, no decorrer do estágio, efectuadas algumas acções sanitárias com o objectivo de melhorar os índices produtivos das explorações. Assim, foram efectuadas desparasitações extraordinárias em 17 explorações de bovinos, ovinos e caprinos onde foram utilizados os desparasitantes acima referidos.

As vacinações extraordinárias incluem vacinações contra as seguintes doenças: Rinotraqueíte Infecciosa dos Bovinos (IBR), Diarreia Viral dos Bovinos (BVD), Para-influenza 3 (PI3), Vírus Sincicial Respiratório

Bovino (BRSV) com Hiprabovis 4®; Língua Azul com Syvazul® 1 (serótipo 1) e Bovilis BTV® 8 (serótipo 8) e diarreias neonatais (Rotavec Corona® e Trivacton 6® - Merial). De notar que as vacinações contra o Complexo Respiratório e as Diarreias Neonatais tiveram como base casuística clínica e resultados laboratoriais que suportaram estas escolhas vacinais. No caso da Língua Azul, os efectivos vacinados constavam de animais sujeitos ao programa nacional de vigilância e controlo e erradicação da Língua Azul e a transacções comerciais internacionais.

## **2. Casuística Clínica**

A empresa Luso-Pecus Lda. está sediada no Porto Alto e tem como sócios gerentes, o Dr. José Carlos Duarte e o Dr. Luís Fragoso (orientador de estágio). É uma empresa constituída por um corpo clínico de seis Médicos Veterinários, dos quais dois prestam serviços clínicos em animais de companhia, dois prestam serviços clínicos exclusivamente a Equinos e os restantes, incluindo o Dr. Fragoso, prestam serviços em regime de ambulatório a Ruminantes e Equinos, maioritariamente em regime extensivo. Na área clínica, a estagiária pôde acompanhar e auxiliar o clínico na realização de consultas, participando assim na anamnese, exame físico, diagnóstico, terapêutica a implementar e avaliação dos resultados obtidos.

Como referido anteriormente, o sector pecuário, à semelhança de outros sectores, está a atravessar grandes dificuldades. O aumento dos custos de produção, do preço das rações, a concorrência decorrente das importações de países terceiros e a crise geral vivida neste momento, levam a que os produtores fiquem cada vez mais incapacitados para recorrer ao MV sempre que necessitam. Este facto reflectiu-se bastante ao longo do estágio, havendo uma grande diminuição do número de consultas efectuadas pelo MV.

### **2.1 Clínica Geral**

Os actos clínicos efectuados em Bovinos estão separados por Clínica Geral e Reprodução e Obstetrícia para melhor compreensão dos procedimentos efectuados.

No que diz respeito aos actos clínicos efectuados em bovinos (82), o tratamento de feridas representa a maior percentagem (46,3%), seguida de casos de enterotoxémia (23,1%) e afecções respiratórias (14,6%). As doenças que a estagiária presenciou com menor frequência dizem respeito a: queratoconjuntivite infecciosa (7,3%), theileriose juvenil (2,4%), hérnia abdominal (2,4%), actinobacilose (1,2%), reacção de hipersensibilidade (1,2%) e, por último, septicémia (1,2%) (Gráfico 8).

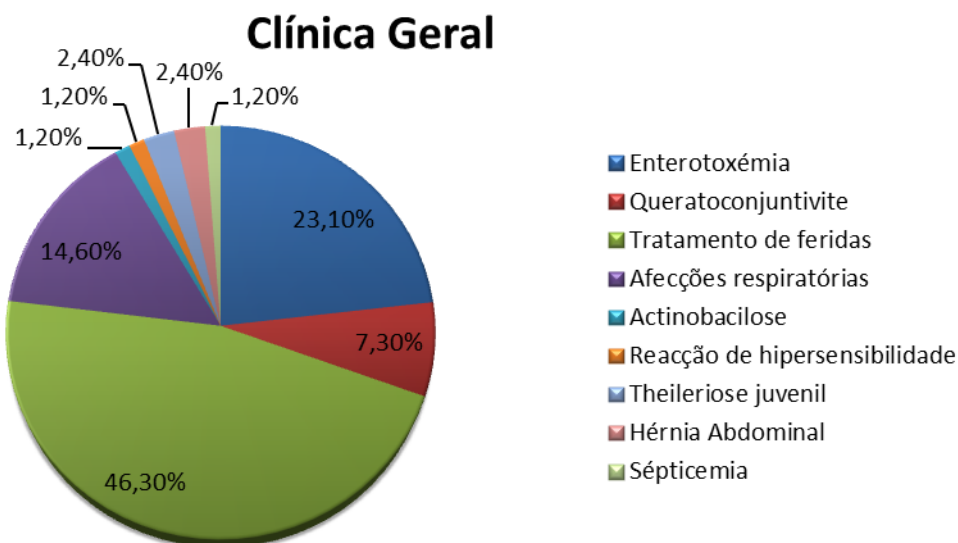


Gráfico 8 – Clínica geral efectuada em bovinos, expresso em FR %

Relativamente ao tratamento de feridas, foram acompanhados 38 casos. Destes 38 casos, 29 correspondem a tratamento de feridas de bovinos de raça brava de lide, 6 corresponderam a drenagem de abscessos e, por último 3 casos corresponderam ao tratamento de feridas com larvas de mosca. (Gráfico 9).

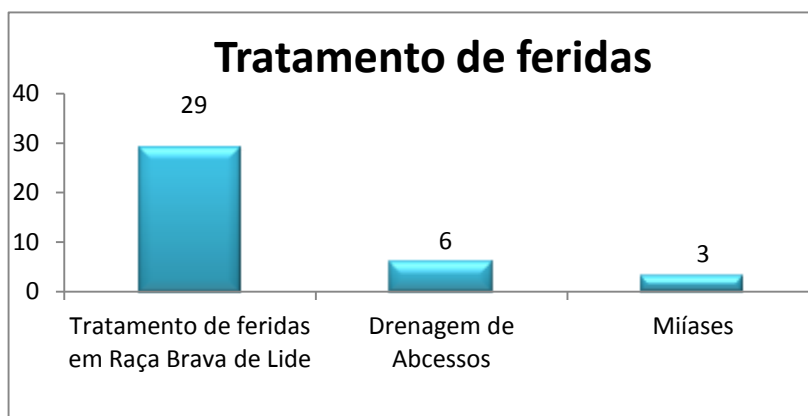


Gráfico 9 – Tratamento de feridas efectuados em bovinos, expresso em valor absoluto.

A elevada casuística verificada no tratamento de feridas, justifica-se pelo facto do clínico prestar serviço a um número significativo de ganadarias e de, neste tipo de exploração, constituir prática comum como forma de selecção de futuros reprodutores, a prova funcional denominada “tenta”. Esta prova consiste em picar o bovino (novilhos) com uma vara pontiaguda por um indivíduo que se encontra a cavalo. Se o animal investir contra o cavalo, mesmo estando a ser picado, atribui-se a este acto o significado de bravura, obtendo o animal um resultado positivo nesta prova e permanecendo assim na exploração como reprodutor. Deste processo resultam feridas graves, geralmente na região da espádua e dorso que têm de ser tratadas pelo MV



assistente com alguma urgência, e que frequentemente abecedam.

Dependendo da extensão da ferida, esta pode ser suturada ou apenas desinfectada. Antes de iniciar o tratamento, há que efectuar uma tricotomia em redor da lesão, de modo a garantir a assépsia do local afectado. Após a tricotomia, é feita a desinfecção da ferida com clorhexidina e posteriormente, consoante a extensão da ferida, procede-se à sutura da mesma. Se o músculo estiver envolvido, efectua-se sutura contínua travada. Se por outro lado, só existir envolvimento da pele, efectuam-se pontos interrompidos em U, para que não haja tensão nos tecidos. Por vezes, devido à existência de grande volume de exsudados, é necessária a colocação de drenos na ferida.

Em situações em que as feridas se encontravam bastante edemaciadas, administrava-se dexametasona e hidroclorotiazida injectável (Diurizone® Vetoquinol), de modo a reduzir o edema dos tecidos e a inflamação da ferida. Depois de suturada, a ferida era novamente desinfectada, e por último colocava-se oxitetraciclina em spray (Oxymycin® spray) (Figura 2).



Figura 2 – Sutura de ferida resultante da utilização da vara, na “tenta” em bovino de raça brava de lide

A terapêutica destes animais, era concluída com aplicação de um antibiótico de longa acção por via parenteral, pois como se trata de gado bravo, o seu maneo é bastante difícil, podendo estes animais demorar semanas e mesmo meses a voltarem à manga para poderem ser tratados.

Geralmente, utilizava-se Oxymycin® LA injectável, que tem como princípio activo a oxitetraciclina.

A enterotoxémia surgiu como a segunda afecção mais frequente, manifestando-se essencialmente em bovinos e ovinos jovens não vacinados e sujeitos a mudanças bruscas do plano alimentar. A enterotoxémia é uma doença inflamatória aguda não contagiosa de evolução geralmente fatal que tem como agente etiológico, o *Clostridium perfringens* (Haskell, 2008). Este é um habitante normal do aparelho digestivo, no entanto, dietas altamente nutritivas como pastagens suculentas e fornecimento de grãos podem provocar um desequilíbrio da flora intestinal e conseqüentemente a proliferação do agente e das toxinas produzidas pelo mesmo, originando um quadro de enterotóxiemia (Radostits *et al.*, 2002). Os tipos de *Clostridium perfringens* que podem causar a doença são o tipo A, B, C, D e E. A enterotoxémia provocada pelos tipos A e E podem

resultar em crise hemolítica endovenosa da cavidade abdominal e torácica com ou sem manifestação de icterícia. Por outro lado, os tipos B e C podem levar a necrose e hemorragia dos tecidos afectados, essencialmente no intestino. Os tipos B e D, por sua vez, provocam um aumento da permeabilidade vascular e consequentemente hemorragia, edema e necrose intestinal. Por último, a enterotoxémia provocada pelo *Cl. perfringens* tipo E causa um aumento da permeabilidade vascular (Haskell, 2008). Segundo Haskell (2008), os sinais clínicos podem ser sugestivos mas não são definitivos para chegarmos ao tipo de *Clostridium* em questão. No entanto, cada tipo de *Clostridium* possui uma característica específica associada, que permite orientar o diagnóstico. Sendo assim, a Enterotóxemia provocada por *C. perfringens* tipo D, também conhecida como doença da super-alimentação ou do rim pulposo, está associada a animais jovens em que ocorrem alterações bruscas no regime alimentar. O tipo C por sua vez, está geralmente associado a enterite hemorrágica aguda fatal em animais jovens e o tipo A, está associado a depressão, distensão abomasal e abomasite (Haskell, 2008). Os animais apresentavam como sinais clínicos: sialorreia, ataxia, cabeça em baixo, conjuntiva hiperémica, prostração e convulsão. No exame post-mortem de alguns animais verificou-se que o intestino se encontrava hemorrágico e com presença de petéquias. Verificou-se também a presença de fluidos sanguinolentos na cavidade abdominal, edemaciação e hemorragia nos linfonodos mesentéricos e os rins encontravam-se destruídos assemelhando-se a uma massa pastosa.

Em entrevista ao produtor, tornou-se óbvio que os animais tinham sido sujeitos a alterações bruscas na alimentação. Os ovinos tinham sido mudados para uma pastagem de sorgo verde e os bezerros provenientes do desmame, encontravam-se a comer ração e feno. A anamnese juntamente com os sinais verificados ante e post-mortem permitiu chegar a um diagnóstico presuntivo de Enterotoxémia, possivelmente causada por *Clostridium perfringens* tipo D, devido também ao facto de os casos estarem relacionados com alterações na alimentação.

Nos bovinos em que se verificou esta afecção, foi efectuada vacinação de emergência com Covexin 8® (Schering-Plough Animal Health), que é uma vacina utilizada para a prevenção das Clostridioses do tipo B, C, D entre outras. Para além da vacina, procedeu-se também à administração de oxitetraciclina de longa acção (Oxymycin LA®), de modo a prevenir a toxémia de algum animal que pudesse ter o processo em fase inicial. Em relação ao manejo, o produtor foi aconselhado a retirar ou reduzir a quantidade de alimentos ricos em energia (ração) durante duas semanas (período de tempo que a imunidade leva a estabelecer-se) e aumentar a quantidade de alimentos forrageiros. Nos ovinos, o procedimento foi semelhante. O produtor ficou aconselhado a retirar de imediato os ovinos do sorgo e procedeu-se também à vacinação do efectivo com a vacina Enterovina® (Medinfar sorológico) que é efectiva contra o *C. perfringens* tipo D, A entre outros. Nestes casos, associados a elevadas taxas de mortalidade, as vacinas de emergência foram eficazes, não se dispondo de tempo para esperar pelo isolamento laboratorial do agente. Numa situação não urgente, ter-se-ia optado por enviar material para análise de modo a identificar o agente etiológico em questão e, posteriormente, seleccionar a vacina mais adequada.

Por último, a terceira afecção mais frequentemente verificada pela estagiária, foi de natureza respiratória. Os

animais afectados apresentavam alguns dos seguintes sinais clínicos: orelhas caídas, taquipneia, taquicardia, dispneia, posição ortopneica, corrimento nasal bilateral, hipertermia, prostração, anorexia e depressão. Para além dos sinais clínicos visíveis, o MV confirmou a sua suspeita com recurso à auscultação. No estágio inicial de uma pneumonia, os sons revelam-se aumentados essencialmente sobre a região crânio-ventral dos pulmões. Por outro lado, enquanto que no desenvolvimento de uma broncopneumonia, os sons de crepitação resultantes da exsudação bronquiolar se tornam audíveis, na pneumonia intersticial, os sons característicos são os sibilos, que resultam da presença de bronquiolite (Radostits *et al.*, 2002). A pneumonia pode ser causada por vírus, bactérias, fungos, parasitas, agentes químicos e físicos. A associação de bactérias e vírus como causa de pneumonia também pode ocorrer (Radostits *et al.*, 2002). Os agentes mais comuns na origem da pneumonia são aqueles que causam a pneumonia enzoótica dos bezerros como: Parainfluenza 3 (PI3), vírus sincicial respiratório dos bovinos (BRSV), herpesvírus-1 (BHV-1), *Chlamydia* sp, *Mycoplasma* sp, *Pasteurella* sp, *Actinomyces pyogenes* e *Streptococcus* sp. Para que estes agentes causem pneumonia, é necessário que existam factores de risco que podem estar associados ao próprio animal, às condições ambientais e de manejo e, por último, ao agente patogénico em questão (Radostits *et al.*, 2010).

O tratamento de base da pneumonia consiste na administração de terapêutica antimicrobiana, associada à aplicação de AINES, dependendo sempre da avaliação atenta do paciente, da experiência com o medicamento e dos resultados do antibiograma. Se a pneumonia for causada por agentes víricos, deve-se proceder igualmente à terapêutica antimicrobiana, uma vez que a pneumonia de etiologia vírica permite geralmente a entrada de agentes bacterianos secundários, devido à imunossupressão que causam. Para além da terapêutica antimicrobiana, deve também ser considerada a vacinação do efectivo contra a Rinotraqueíte Infeciosa Bovina (IBR), Vírus Parainfluenza 3 (PI3) e o Vírus Sincicial Respiratório Bovino (BRSV) profilaticamente, desde que a serologia seja concordante.

Nos casos presenciados pela estagiária, foi utilizado o Micotil® (Elanco), que é um antibiótico macrólido, que tem como princípio activo a Tilmicosina que está indicada para o tratamento de doenças respiratórias dos bovinos (Plumb, 2005). Para além deste antibiótico, utilizou-se noutros animais afectados o Hexasol® (Norbrook) que consiste numa associação de oxitetraciclina de longa acção com flunixinina meglumine. A oxitetraciclina pode também ser utilizada para combater infecções do trato respiratório dos bovinos como *Mycoplasma* spp e *Chlamydia* spp. Em situações em que os animais apresentavam sinais de edema pulmonar, foi utilizado Diurizone® (Vetoquinol), que é um corticoesteróide (dexametasona) associado a um anti-edematoso (dihidroclorotiazida).

Se existirem outros animais com a mesma afecção na exploração, pode estar indicado o recurso a antibióticos (AB) nos alimentos ou na água de modo a tratar o efectivo. No entanto, é de salientar que as condições de manejo e higio-sanitárias são a base para a prevenção do problema.

## 2.2 Reprodução e obstetrícia

Os valores apresentados no gráfico 10 representam a casuística observada na área de reprodução e obstetrícia. Os diagnósticos de gestação (DG) correspondem ao número de explorações e não ao número de animais em que o processo foi efectuado.



Gráfico 10 – Casuística realizada em reprodução e obstetrícia, expressa em valor absoluto.

Na área da reprodução e obstetrícia, os partos assistidos surgiram como o principal estímulo iatrotópico. Outros procedimentos como os diagnósticos de gestação, exames andrológicos, remoção/ eliminação de membranas fetais retidas e resolução de prolapsos uterinos foram também efectuados com alguma regularidade.

### 2.2.1.Partos

O parto ou trabalho de parto corresponde ao processo fisiológico pelo qual o útero gestante expulsa o feto e dos invólucros fetais da progenitora. Segundo Hafez e Hafez (2004), o trabalho de parto é caracterizado por três fases distintas: dilatação do cérvix; expulsão do feto e expulsão de membranas fetais.

A primeira fase do trabalho de parto (Dilatação do Cérvix), corresponde ao período em que se iniciam as contrações uterinas até que o cervix esteja dilatado e em continuidade com a vagina. Nesta fase, ocorre também a alteração na posição e postura do feto, agitação materna e aumento da frequência respiratória e cardíaca desta. Esta fase do trabalho de parto é marcada por contrações uterinas regulares e demora cerca de 2 a 6 horas.

A segunda fase do trabalho de parto ou expulsão do feto (Figura 3 e 4), corresponde ao período da completa dilatação do cervix até ocorrer a expulsão fetal. Nesta fase, a fêmea deita-se e faz esforços contínuos, verificando-se os seguintes acontecimentos: ruptura do alantocórcion com saída de líquido na vulva; aparecimento da membrana amniótica na vulva e posterior ruptura, e expulsão do feto.

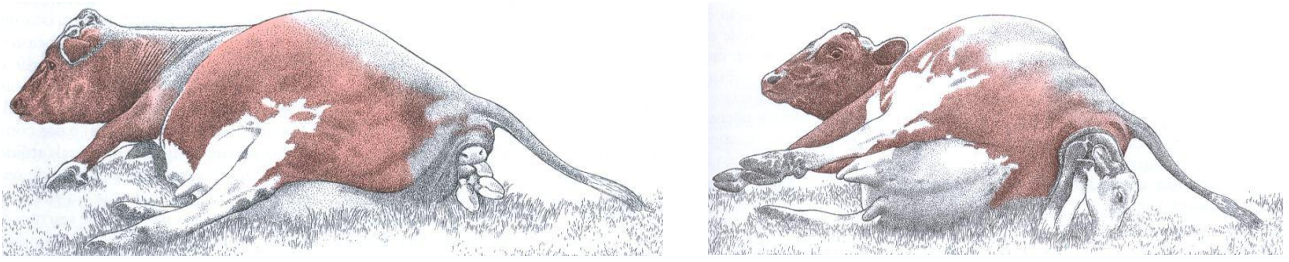


Fig 3 a 4 – Vaca na segunda fase do trabalho de parto (Expulsão fetal) (Jackson, 2004)

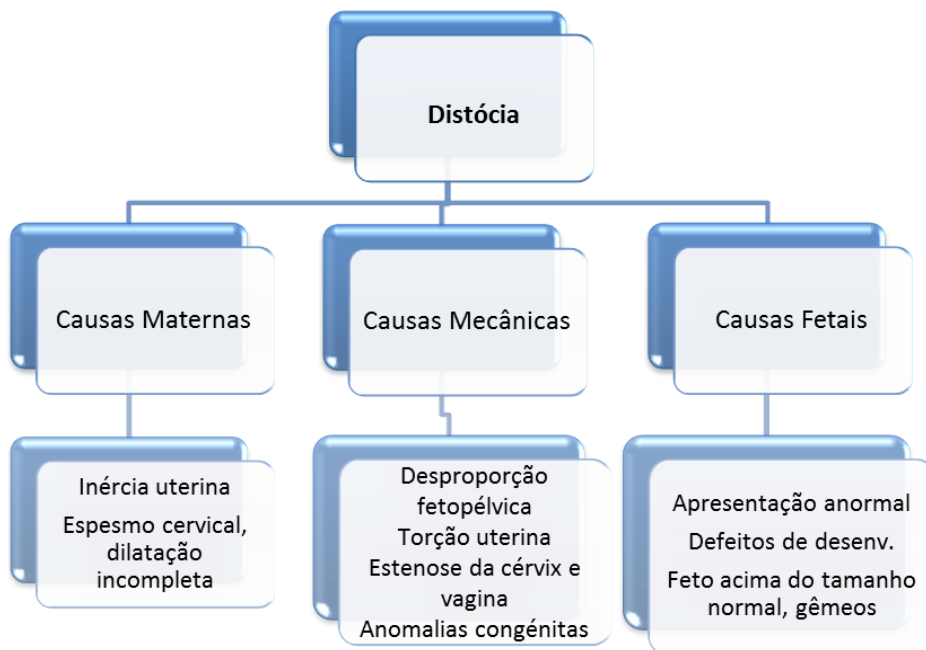
Esta fase é caracterizada por fortes contrações uterinas e abdominais e demora cerca de 30 min a 1 hora.

Por último, a terceira fase de trabalho de parto (expulsão de membranas fetais) corresponde ao período após o nascimento do feto até à expulsão das membranas fetais.

Nesta fase, terminam as contrações maternas, ocorre o descolamento das vilosidades coriônicas das criptas uterinas, ocorre a inversão do corioalantóide e a expulsão das membranas fetais.

Como já foi dito as contrações uterinas vão diminuindo em amplitude até desaparecerem, demorando esta última fase entre 6 a 12 horas (Hafez e Hafez, 2004).

Nesta fase é importante diferenciar parto eutócico de parto distócico. O parto eutócico foi descrito anteriormente e é aquele que ocorre normalmente sem complicações e sem necessidade de intervenção. O parto distócico, por sua vez, é aquele em que ocorre uma interrupção ou prolongamento na primeira ou na segunda etapa do trabalho de parto, havendo necessidade de assistência (Haskell, 2008). O parto distócico pode ocorrer devido a causas mecânicas, fetais e causas maternas como se pode verificar no esquema seguinte.



Esquema 2 – Causas de distócia (Adaptado de Hafez e Hafez, 2004)

Situações como as enumeradas no esquema anterior podem levar a trabalhos de parto prematuros, trabalhos de parto prolongados ou até o impedimento do trabalho de parto.

No estágio, foram efectuados 10 partos, dos quais apenas um foi realmente considerado distócico. A distócia era de causa fetal devido a atitude incorrecta, por flexão do membro anterior esquerdo, ao nível do joelho (Figura 5). Numa situação normal, a disposição fetal consiste em apresentação anterior, posição dorsal e atitude distendida.

A apresentação indica o tipo de relação entre o eixo longo do feto e o eixo longo do canal obstétrico, podendo ser longitudinal anterior ou posterior, transversal ou vertical. (Jackson, 2004). A posição, por sua vez, está relacionada com a superfície do canal obstétrico que contacta directamente com o dorso do feto, podendo esta ser dorsal, ventral ou lateral esquerda ou direita. Por último, a atitude está

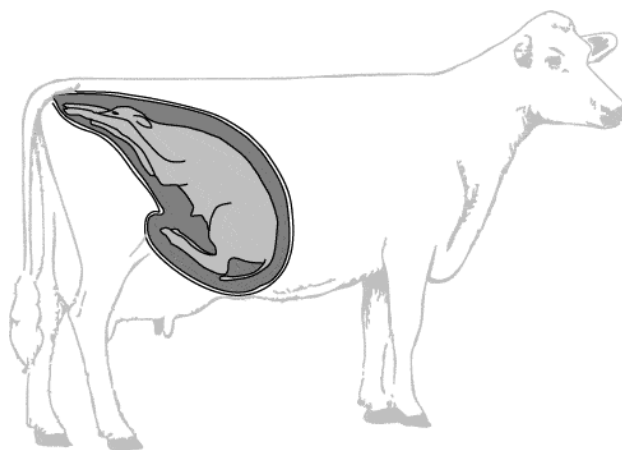


Figura 5 - Posição fetal normal (<http://babcock.wisc.edu/pt-br/node/165>)

relacionada com as extremidades fetais (cabeça e membros) podendo estas estarem flectidas ou distendidas (Haskell, 2008; Jackson, 2004). A abordagem a estas situações consiste primeiramente em determinar as coordenadas fetais e avaliar a viabilidade do feto. Caso as coordenadas fetais não se enquadrem nos parâmetros fisiológicos, estas devem ser corrigidas, através de manobras tocológicas, antes de procedermos à extracção do feto. Por último, deve determinar-se se existe espaço suficiente e lubrificação necessária para extrair o feto pelo canal obstétrico. A cesariana deve ser considerada quando o feto se encontra vivo, mas não

se consegue extrair pelo canal obstétrico, devido a desproporção feto-materna ou coordenadas fetais inadequadas (Haskell, 2008).

No caso presenciado pela estagiária, o diagnóstico da distócia foi efectuado através de um cuidadoso exame vaginal, onde se chegou à conclusão acima descrita (apresentação anterior, posição dorsal, membro anterior flectido) (Figura 6). Este caso foi resolvido com manobras obstétricas, no sentido de conseguir a extensão do membro flectido e posterior exteriorização do feto numa apresentação, posição e atitude fisiológica. Após a correcção tocológica, o feto foi traccionado com o auxílio do extractor obstétrico (fórceps) e de gel lubrificante.

Os restantes casos podem-se considerar partos assistidos, uma vez que se conseguiram solucionar através do canal obstétrico com o auxílio do fórceps. No entanto, o motivo pelo qual tiveram de ser assistidos deveu-se ao facto de existir alguma desproporção fetopélvica. Segundo Hafez e Hafez (2004) a desproporção fetopélvica resulta de uma disparidade entre o tamanho do feto e o tamanho da pélvis da vaca, sendo por isso um motivo comum de distócia nestes animais.

Nos casos presenciados, pôde-se verificar que a principal causa desta desproporção ocorria em novilhas que tinham sido cobertas muito cedo, chegando ao parto ainda demasiado jovens. Outro factor que contribuía para esta situação, era o facto dessas novilhas serem cobertas por touros puros de aptidão creatopoética cuja genética resulta em fetos grandes, dificultando ainda mais o parto. Segundo Hafez e Hafez (2004) este tipo de desproporção pode ser

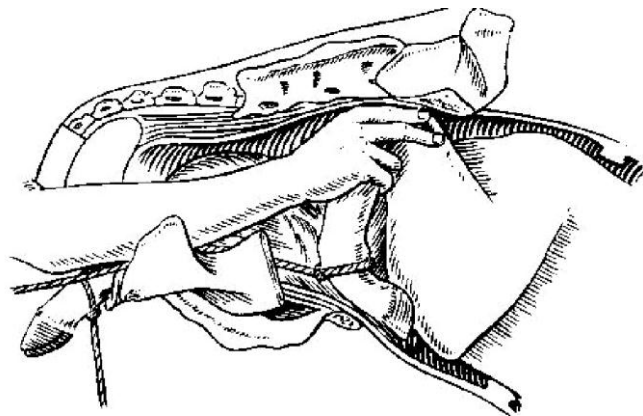


Figura 6 – Apresentação longitudinal anterior, posição superior, flexão unilateral carpal (<http://www.mcguido.vet.br/wpe42>)

evitado das seguintes maneiras: planejar o acasalamento para evitar fetos muito grandes em vacas com pequeno diâmetro pélvico, acasalando as novilhas de acordo com o peso e não com a idade; utilizando touros da mesma raça ou de uma raça que produza bezerros pequenos ao nascimento.

### 2.2.2.Retenção de Membranas Fetais (RMF)

A RMF é uma complicação característica que ocorre no pós-parto dos bovinos, resultante de uma falha na expulsão das mesmas. Essa falha está geralmente associada a inércia uterina ou a inflamações uterinas, que dificultam o descolamento entre os cotilédones fetais e as carunculas maternas (Hafez e Hafez, 2004) (Figura 7). Hafez e Hafez (2004), consideram que a retenção é patológica a partir das 12 horas após o parto ter ocorrido, no entanto, outros autores consideram que a situação é de carácter patológico se a retenção se mantiver 6, 12 e 24 horas após o parto. Os animais acometidos podem ter a sua fertilidade afectada, uma vez que a RMF pode causar retardamento da involução uterina e infecção uterina (metrite e endometrite) (Hafez e Hafez, 2004), devendo assim esta situação ser rapidamente resolvida. O diagnóstico desta afecção pode ser efectuado pela inspeção externa do animal ou, se necessário, pode ser confirmado por palpação vaginal ou transrectal. A abordagem terapêutica relativa à remoção manual das membranas fetais é ainda controversa,



uma vez que não existe um protocolo específico definido. Alguns autores consideram que a tracção manual pode ser prejudicial, uma vez que pode causar agravamento dos danos no endométrio, aumentar o risco de tóxiemia e consequentemente atrasar o retorno à ciclicidade (Haskell, 2008). Por outro lado, em animais com retenção de 3 a 7 dias, a tracção pode ser efectuada (Haskell, 2008), pois contribui para a higiene local (Hafez e Hafez, 2004) e geralmente não é necessário um grande esforço de tracção.

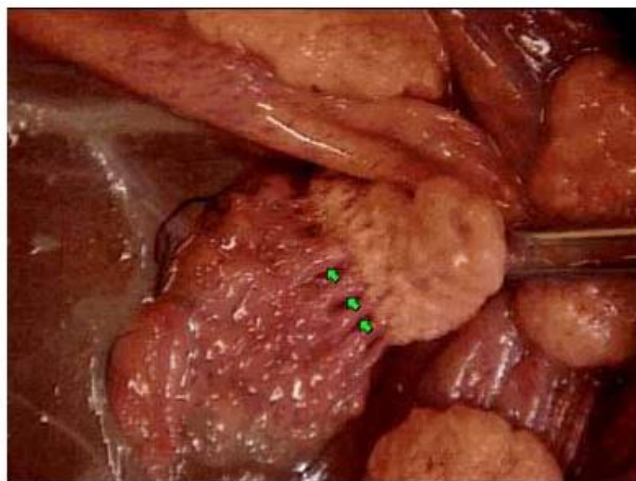


Figura 7 – União do cotilédone fetal com a carúncula materna através das criptas (<http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=1795>)

A utilização de antibióticos também não consitui uma regra no tratamento desta afecção. Segundo Haskell (2008), estudos realizados indicam que cerca de metade das vacas afectadas não requerem a utilização de antibióticos porque não apresentam febre. Hafez e Hafez (2004) também consideram que o tratamento só deve ser efectuada apenas nos casos mais complicados.

Nos casos presenciados pela estagiária, as membranas fetais foram tracionadas ligeiramente de modo a verificar se o descolamento seria possível. Nas situações em que o descolamento ainda oferecia resistência, não se forçou a tracção das membranas, procedendo-se apenas ao corte das mesmas, deixando uma porção externa para exercer peso e também para ser mais fácil verificar uma expulsão posterior. Em todos os casos, utilizou-se oxitetraciclina injectável e oxitetraciclina sob a forma de comprimidos intra-uterinos.

### 2.2.3 Exame Andrológico

Ao longo do estágio foram efectuados quatro exames andrológicos a toiros de raça Limousine.

Os exames andrológicos foram efectuados no sentido de confirmar suspeitas de que as falhas reprodutivas nos efectivos eram de responsabilidade dos touros e noutros casos, serviram para avaliar a capacidade reprodutiva dos machos antes do início da época de cobrição. As colheitas de sêmen realizadas no âmbito dos exames andrológicos, foram efectuadas por electroejaculação (Modelo Electrojac V). Seguidamente, para melhor compreensão das etapas deste exame, será feita uma descrição sobre o mesmo.

Num sistema de produção de carne que pratica o sistema de cobrição natural, para além da fisionomia e do padrão genético, a fertilidade é das características mais importantes a ter em conta na escolha do macho



reprodutor. Neste sentido, o exame andrológico surge como um exame importante e completo, que tem como fundamento a avaliação de todos os factores que contribuem para a função reprodutiva do macho. Este exame permite classificar e seleccionar os touros de maior potencial reprodutivo, bem como descartar toiros estéreis ou subférteis. No entanto, há que avaliar outros parâmetros como a libido do macho, a capacidade de resistência ao longo do período de cobrição e a capacidade para efectuar a cópula (Oliveira, 2009).

Uma vez que o exame andrológico permite avaliar os factores que contribuem para a função reprodutiva do touro, faz com que este exame esteja indicado nas seguintes situações: comercialização de reprodutores; avaliação do macho antes da época de cobrição; diagnóstico de problemas de fertilidade; ocorrência de falhas reprodutivas no efectivo e admissão do reprodutor em centros de reprodução e congelação de sémen (Nóbrega, 2010). Para a condução do exame andrológico, deve-se adoptar um formulário apropriado que contenha a identificação do médico veterinário responsável, bem como a identificação do proprietário e do animal. Para além destes campos, o formulário deve conter as especificações do exame clínico, do exame da libido, do espermograma e do diagnóstico ou conclusão.

### 1. Identificação

Na identificação deve constar o nome, número oficial de registo (nº de Sistema de Identificação Animal), data de nascimento e raça do touro. Para além da identificação do touro, deve constar também a identificação do proprietário e exploração (nome, morada).

### 2. Exame clínico

Anamnese- deve incluir a história clínica do animal, o motivo pelo qual está a realizar o exame e os dados relacionados com a exploração (Nóbrega, 2010).

Exame Clínico Geral- deve conter a avaliação semiológica completa dos diversos sistemas (respiratório; nervoso; digestivo e locomotor), bem como a avaliação do estado hígido do animal. Qualquer alteração detectada deve ser aprofundada no exame clínico (Nóbrega, 2010).

Exame do aparelho genital externo- consiste na observação, inspeção e palpação dos órgãos genitais externos (Figura 8). O escroto, testículos, epidídimo e cordões espermáticos devem ser avaliados quanto à presença, simetria, forma, consistência, sensibilidade e mobilidade. Quanto à avaliação do prepúcio, situações patológicas como prolapsos, hematomas, abscessos ou cicatrizes não devem estar presentes, bem como qualquer outra situação que comprometa a exteriorização do pénis. Este por sua vez, deve ser examinado se possível em repouso e em erecção (Oliveira, 2009).

Dentro do exame do sistema genital, existe um parâmetro de grande importância que é a medição da circunferência escrotal (CE) (Figura 9).



Figura 8 – Exame do aparelho genital externo

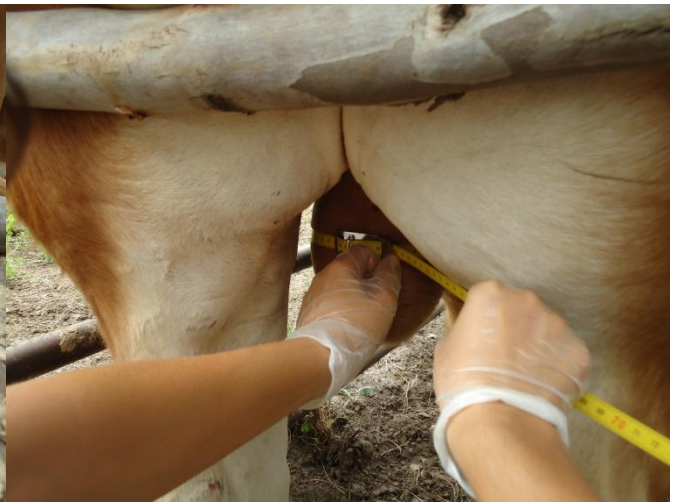


Figura 9 – Medição da circunferência escrotal (CE)

A CE é um bom indicador dos aspectos reprodutivos, por apresentar correlações positivas com o volume testicular, motilidade e vigor espermático. Outros autores (Toelle e Robinson, 1985), referiram ainda que os touros com maior CE têm filhas com maior eficiência reprodutiva, devido ao facto desta característica apresentar uma correlação genética favorável com a taxa de gestação, bem como a idade à primeira cobrição e ao primeiro parto (Nóbrega, 2010).

A tabela seguinte indica os valores mínimos de circunferência escrotal recomendados para *Bos taurus taurus*.

Tabela 5 – Referência para avaliação da CE (Barbosa *et al*, 2005)

Mínimo recomendado para <i>Bos taurus taurus</i>	
Idade (Meses)	Circunferência escrotal (cm)
<15	30
>15 <18	31
>18 <21	32
> 21 <24	33
>24	34

Exame do aparelho genital interno – é realizado por palpação transrectal (Figura 10) e consiste no exame das glândulas vesiculares, próstata e glândulas bulbo-uretrais, canais deferentes e ampolas, devendo estas estruturas ser avaliadas quanto à consistência, volume, forma e dimensão (Nóbrega, 2010).



Figura 10 – Palpação transrectal em bovino, no âmbito do exame andrológico

Avaliação do comportamento sexual – consiste na avaliação de líbido e execução da cópula quando o macho se encontra perante um grupo de fêmeas, estando alguma em cio. Sinais como reacção de Flehmen, movimentos pélvicos, cheirar, lambe e cabecear a fêmea são potenciais indicadores de interesse sexual (Figura 11).

No teste de líbido, o macho pode ser classificado em questionável (0-3), bom (4-6), muito bom (7 a 8) e excelente ou superior (9 a 10) (Oliveira, 2009). Quando a execução deste teste não é exequível, a entrevista ao produtor poderá fornecer informações importantes a este respeito.

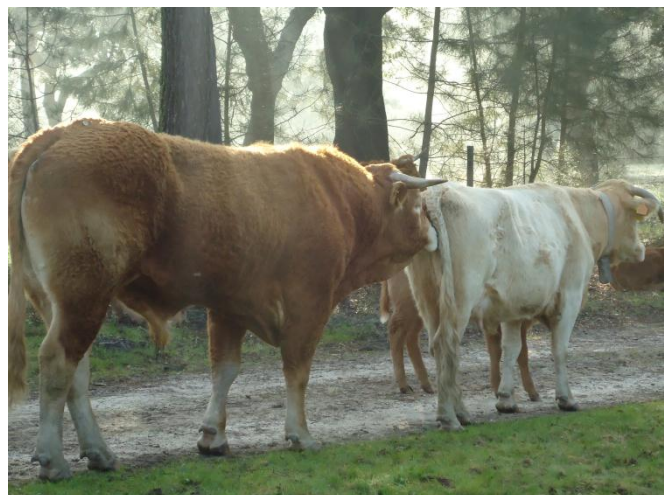


Figura 11– Bovino a cheirar a fêmea, manifestando interesse sexual

### 3. Espermograma

O espermograma consiste na colheita e análise de uma amostra de sémen, podendo essa recolha ser efectuada por electroejaculação, vagina artificial ou

massagem transrectal das vesículas seminais. Após a obtenção da amostra de sémen, deve-se proceder imediatamente à sua avaliação quanto às seguintes características físicas: volume, aspecto, mobilidade massal, motilidade, vigor e concentração (Oliveira, 2009).

Características físicas do ejaculado - O ejaculado deve ser avaliado tendo em conta as seguintes características: volume, aspecto, motilidade massal, motilidade individual, vigor e concentração. O volume do ejaculado varia com o método de recolha e é medido em mililitros (ml), sendo os valores médios de referência 5 a 8 ml.

O aspecto é avaliado pela cor e aspecto do ejaculado. A cor normalmente é esbranquiçada, branca, marfim ou

amarelada, podendo ser alterada pela presença de urina, sangue ou pus. Quanto ao aspecto, pode ser classificado em aquoso, leitoso, cremoso-fino, cremoso e cremoso espesso, como resultado da concentração espermática.

A mobilidade massal é avaliada ao microscópio, tendo como objectivo avaliar a intensidade da movimentação dos espermatozóides resultante da motilidade individual, do vigor e da concentração espermática. A escala de avaliação classifica o movimento em massa de 0 a 5, sendo que 0 corresponde a ausência do movimento e 5 corresponde a acentuada movimentação.

A motilidade individual, também avaliada microscopicamente, consiste numa avaliação percentual da proporção de espermatozóides com movimentos rectilíneos e progressivos. A avaliação da motilidade pode ser feita no sémen fresco ou no sémen diluído. A avaliação da motilidade em sémen fresco pode ser dificultada pela concentração espermática, tornando difícil distinguir padrões de motilidade individual, devendo, por isso, proceder-se à diluição do sémen.

O vigor deve ser avaliado individualmente, tendo em conta a intensidade de movimentação dos espermatozoides. A escala classifica o vigor de 0 a 5, sendo que 0 corresponde às células paradas, e o 5 corresponde a movimentos vigorosos de alta velocidade.

A concentração corresponde ao número de espermatozóides por unidade de volume de ejaculado (milímetro cúbico ou centímetro cúbico) e, normalmente varia de  $2 \times 10^8$  /ml em touros jovens a  $1,8 \times 10^9$  em touros adultos. (Nóbrega, 2010; Oliveira, 2009; Hafez e Hafez, 2004). Este parâmetro é determinado pela contagem de espermatozóides numa câmara de contagem de células, após uma determinada diluição, do ejaculado, e respectivos cálculos, tendo em atenção as características da câmara e o factor de diluição.

Características morfológicas dos espermatozóides- A avaliação das características morfológicas dos espermatozóides é feita através de esfregaços corados ou de preparação húmida que posteriormente são observados ao microscópio com dispositivo de contraste de fase (Nóbrega, 2010; Oliveira, 2009).

Segundo Hafez e Hafez (2004), a fertilidade do touro diminui quando as células espermáticas anormais excedem os 20%. Por este motivo, a avaliação dessas células é de extrema importância, uma vez que existe uma forte correlação negativa entre a presença de formas anormais dos espermatozóides com a fertilidade dos efectivos.

As formas anormais podem ser classificadas como primárias, secundárias ou terciárias, sendo que as primárias estão associadas com a cabeça espermática e o acrossoma, as secundárias estão associados com a presença de gotas citoplasmáticas na peça intermediária da cauda e, por último, as terciárias estão associadas aos defeitos da cauda (Hafez e Hafez, 2004). No entanto, para Bloom (1972) citado por Oliveira (2009), as formas anormais podem ser classificadas em defeitos maiores e defeitos menores como podemos ver na tabela seguinte.

Tabela 6 – Classificação dos defeitos maiores e menores dos espermatozóides (Bloom, 1972, citado por Oliveira, 2009)

Classificação morfológica dos espermatozóides	
Classificação	Patologias Esperáticas
<b>Defeitos Maiores</b>	Acrossoma; gota citoplasmática proximal; cabeça subdesenvolvida, piri-forme, estreita na base, isolada patológica, pequena anormal e controno anormal; “pouch formation”; formas teratogénicas; patologias da peça intermediária; cauda fortemente enrolada ou cobrada, enrolada na cabeça ou cauda dobrada com gota distal
<b>Defeitos Menores</b>	Cabeça deslgada, gigante, curta, larga, pequena normal, isolada normal; inserção de cauda abaxial, retroaxial, oblíqua; cauda dobrada ou enrolada; gota citoplasmática distal

#### 4. Conclusão

A conclusão do exame andrológico é baseada nos resultados obtidos no exame clínico geral, no exame detalhado do aparelho genital, na análise representativa de uma amostra de sémen quanto às suas características físicas e morfológicas (espermograma) e no exame do comportamento sexual. Diante a avaliação global dos factores acima enumerados, o touro pode ser classificado em apto, inapto ou questionável (Tabela 7), sendo que esta classificação não é permanente (Barbosa *et al*, 2005). Sempre que se identifique um animal com classificação de questionável, este deverá ser reavaliado num período de tempo não inferior a um ciclo espermático, para se poder proceder a um resultado conclusivo (Nóbrega, 2010).

Tabela 7 – Classificação do exame andrológico e respectivas características (Adaptado de Barbosa *et al*, 2005)

Classificação do exame andrológico	Características
<b>Apto</b>	Animais que atingam ou ultrapassem o limite mínimo para: CE; motilidade e morfologia espermática. Não apresentem características físicas anormais ou razões que possam comprometer o desempenho reprodutivo
<b>Inapto</b>	Animais que não atingiram o limite mínimo recomendado em uma ou mais características e para os quais é improvável que haja melhora na classificação. Animais com defeitos genéticos ou problemas irreversíveis.
<b>Questionável</b>	Touros que devem aguardar novos exames. Touros imaturos ou que sofrem de um problema transitório que os impede de serem classificados como satisfatórios na época do exame, mas que podem melhorar. Animais em que houve problemas nas colheitas de sémen.

### 2.3 Equinos

Relativamente à espécie Equina, foram efectuadas 143 intervenções. As intervenções realizadas com maior frequência foram a identificação animal (70), desparasitação (45), e consultas de clínica geral (13). Para além destas intervenções, a estagiária pôde também assistir e ajudar o MV na realização de diagnósticos de gestação e profilaxia vacinal (Tabela 8). A tabela 8 não inclui na análise de dados as consultas de acompanhamento.

Tabela 8 – Intervenções realizadas em Equinos, expressas em valor absoluto e FR (%)

Tipo de Intervenção	Nº de Intervenções	%
Identificação animal	70	48,7%
Profilaxia vacinal	6	4,2%
DG	9	6,3%
Desparasitações	45	31,5%
Consultas de Clínica Geral	13	9,1%
<b>Total</b>	<b>143</b>	<b>100%</b>

Tal como foi referido anteriormente, a principal acção realizada em equinos foi a identificação animal, contabilizando-se um total de 70 intervenções. A actividade que designamos por identificação animal foi efectuada em poldros e diz respeito aos seguintes processos: colocação de microchip e colheita de amostras de sangue para determinação do genótipo com vista à consequente comprovação da paternidade do animal,



de modo a proceder à sua inscrição no Livro de Nascimento e posteriormente, no Livro de Nascimento e posteriormente, no Livro de Adultos, no âmbito da inscrição no Livro Genealógico da Raça Lusitana. No que diz respeito à clínica geral efectuada foi possível assistir aos seguintes casos: claudicações (4 casos), pneumonias (2), subnutrição (1), tratamento de feridas (6) (Figura 12).



Figura 12 - Ferida extensa em poldro

## IV – Aborto Bovino

### 1. Nota introdutória

Grande parte das explorações de bovinos de carne em regime extensivo tem como objectivo e como principal fonte de lucro, a vendas de vitelos ao desmame. Deste modo, o factor mais importante a ter em conta para um produtor é a fertilidade da vacada e consequentemente o número de vitelos desmamados por ano. No entanto, por vezes existem obstáculos que impedem o atingir desse objectivo tais como: aborto; aumento do intervalo entre partos; défices de maneio; nascimento de vitelos débeis; problemas relacionados com o touro, entre outros.

Neste trabalho, a estagiária optou por falar do aborto, por consituir um dos grandes obstáculos à produção de uma exploração. O aborto pode ser de carácter espontâneo ou induzido, infeccioso e não infeccioso. No entanto, o aborto infeccioso contribui para a maior percentagem de gestações perdidas nos animais domésticos (Hafez e Hafez., 2004). Por este motivo, será feita uma abordagem breve do aborto bovino, bem como os procedimentos a ter em conta pelo MV, e posteriormente serão descritos sucintamente os agentes infecciosos mais comuns na origem de aborto bovino, dando especial relevância e atenção ao agente *N.caninum*.

O aborto é considerado quando ocorre perda da gestação com a expulsão de um feto de tamanho reconhecível mas que não é viável, ou seja, até ao 260º dia de gestação (Hafez e Hafez., 2004). Para Morrow (1986), o aborto corresponde a uma expulsão fetal que ocorre do 42º ao 260º dia de gestação, podendo este feto nascer morto ou sobreviver por menos de 24 horas (Noakes et al., 2001).

Morte embrionária precoce, por sua vez, diz respeito às mortes ocorridas a partir do dia de concepção até ao 42º dia de gestação, sendo que neste período de tempo, os embriões podem ser absorvidos ou expulsos (Morrow, 1986). Por último, entende-se por parto prematuro aquele que ocorre a partir do 260º dia de gestação até ao termo (Morrow, 1986).

Noakes (1997) considera que uma taxa de aborto de 1 a 2% em vacas prenhas é considerada normal. No entanto, se essa taxa for de 3-5% deve proceder-se a uma investigação aprofundada, devendo os nado-mortos e partos prematuros ser levados em consideração no cálculo da taxa de aborto.

O aborto pode ser causado por factores que actuam directamente ou indirectamente no corpo lúteo causando luteólise e por factores que comprometem a viabilidade do feto ou a integridade da placenta. Os factores que podem provocar luteólise são os seguintes: tratamento com prostaglandina F2 $\alpha$ ; afecções inflamatórias ou febris; endotoxémia; stress por calor; stress por transporte e doenças debilitantes. Por sua vez, os factores que comprometem a viabilidade fetal ou integridade da placenta são: placentite; insuficiência placentária (fibrose endometrial); insulto directo ao feto (causas mecânicas ou infecciosas); mal formação fetal e insuficiência ou desequilíbrio hormonal (Haskell, 2008).



## **1.1 Diagnóstico**

Determinar as causas de aborto representa uma tarefa difícil, uma vez que este é causado por inúmeros factores de natureza infecciosa e não infecciosa. (Gorbellini *et al.*, 2006). No entanto, estudos efectuados revelaram que na maioria dos casos em que a causa é determinada, os agentes infecciosos surgem como a principal causa de aborto em manadas. (Antoniassi *et al.*, 2007).

Existem informações que podem ser úteis para direccionar o diagnóstico, nomeadamente a história da exploração. Deste modo, existem perguntas que são de extrema importância num caso de aborto, tais como: idade dos animais que abortaram; método de cobrição; aborto individual ou surto; história reprodutiva do/s animal/ais; tempo de gestação; tratamentos e vacinações efectuados nas últimas duas semanas; movimento de animais no último mês; tipo de alimentação; instalações próximas de águas estagnadas ou de escoamentos de produtos lácteos; contacto com animais selvagens; taxa de aborto anterior e actual da manada; abortos autolisados ou frescos; presença de retenção placentária e presença de sinais de doença nos animais que abortaram. (Anderson, 2007; Haskell, 2008).

Após o conhecimento da história da exploração, o Médico Veterinário deve proceder a um exame externo detalhado, com o objectivo de identificar possíveis alterações macroscópicas que possam ser úteis para auxiliar o diagnóstico. Posteriormente, os tecidos de interesse devem ser enviados para o laboratório com o intuito de identificar o agente etiológico do aborto.

O diagnóstico de aborto resulta assim de uma associação de factores como a história clínica, exame macroscópico e exame laboratorial.

### **1.1.1 Exame do feto**

O exame do feto deve ser baseado em análises sorológicas, bacteriológicas, histopatológicas e na necropsia. A sorologia deve ser efectuada a partir de amostras de sangue cardíaco e as análises bacteriológicas por sua vez, devem ser efectuadas a partir de amostras do conteúdo estomacal e fluidos fetais. A necropsia do feto consiste na avaliação interna e externa deste para pesquisa de lesões ou desenvolvimentos anormais, e consiste também na sua medição (Haskell, 2008).

Achados internos como fluídos abdominais serosanguinolentos geralmente resultam da retenção do feto após a sua morte (Morrow, 1986). A presença de hemorragias em redor dos vasos do cordão umbilical e o facto de os pulmões estarem insuflados (Anderson, 2007), significam que o feto estaria vivo pouco antes de ocorrer o parto ou até durante o mesmo (Morrow, 1986). Um feto que foi expulso assim que morreu apresenta fluidos nas cavidades do corpo de cor âmbar e aspecto límpido, no entanto, se a expulsão acontecer 1 a 2 dias depois da morte, os fluidos tornam-se serosanguinolentos. Este processo é seguido de desidratação gradual dos tecidos, verificando-se passado uma semana a desidratação total do feto sem vestígios de conteúdo abomasal. (Anderson, 2007).

Ao nível da avaliação externa, a condição geral do feto deve ser avaliada e descrita pelo MV, esteja este

fresco, decomposto ou mumificado (Morrow, 1986). Outros achados como a presença de áreas circulares multifocais branco-aczentadas na pele e anomalias como hidrocefalia e fenda palatina devem também ser registadas pelo MV (Antoniassi *et al.*, 2007).

A medição do feto, bem como a análise da presença de pêlo e coloração da pele, devem ser efectuadas de modo a calcular uma idade gestacional aproximada. A medição do feto deve assim ser efectuada desde a nuca até a inserção da cauda. (Tabela 9).

Tabela 9 - Estimativa da idade gestacional de fetos bovinos (Antoniassi *et al.*, 2007)

Idade gestacional (meses)	Medida do feto (cm)
3	13-21
4	21-31
5	32-43
6	44-57
7	59-67
8	68-85
9	>86

A histopatologia deve ser realizada a partir de amostras de fígado, cérebro, baço, rim, estômago e pulmões devendo estas ser refrigeradas ou fixadas (Haskell, 2008).

### 1.1.2 Exame da Vaca

Numa situação de aborto, a vaca deve também ser examinada. A abordagem a ter em conta consiste no seguinte: exame clínico da vaca; análises serológicas; análises bacteriológicas, e por último, exame físico e histopatológico da placenta.

O exame clínico deve conter informações como: condição corporal, exame físico (temperatura, pulso e respiração), comportamento, ecografia transrectal do útero, exame vaginal e biopsia uterina (em alguns casos) (Haskell, 2008).

A serologia deve ser efectuada nas vacas que abortaram e deve repetir-se 2 a 3 semanas após o aborto ter ocorrido. A análise bacteriológica deve ser realizada a partir da placenta, de descargas vaginais e zaragatoas uterinas. (Haskell, 2008).

A placenta representa uma estrutura de grande importância no diagnóstico de aborto bovino, uma vez que existem manifestações que ocorrem somente nela. (Antoniassi *et al.*, 2007). O exame físico consiste na observação externa das membranas fetais expulsas, com o intuito de encontrar sinais sugestivos de desenvolvimento insuficiente, sinais de placentite e lesões do cordão umbilical (Haskell, 2008). O exame das membranas fetais deve conter uma descrição do estado de autólise, do peso e se estas estavam ou não, retidas (Morrow, 1986), bem como conter informações sobre a forma, coloração e consistência dos cotilédones

fetais (Antoniassi *et al.*, 2007). É de salientar que numa placenta normal, as membranas fetais expulsas, apresentam cotilédones vermelhos e o espaço intercotiledonar é limpo e brilhante. Antoniassi e colaboradores (2007) concluem assim, que as porções de placenta retidas no útero são as melhores para efectuar uma análise histopatológica, uma vez que não foram contaminadas por microorganismos presentes no ambiente.

### 1.1.3 Envio de amostras para o laboratório

A obtenção de sucesso no diagnóstico depende de factores como o tipo de amostras que são enviadas para o laboratório (Antoniassi *et al.*, 2007). O feto abortado, as membranas fetais e a amostra de soro da mãe correspondem às amostras ideais para analisar em laboratório (Anderson, 2007).

Em relação ao feto, sempre que possível, este deve ser enviado na totalidade para o laboratório (Noakes *et al.*, 2001) no entanto, se o feto não puder ser enviado na totalidade, deve proceder-se a uma selecção de tecidos, como o pulmão fresco, fígado, rins, placenta, fluidos fetais torácicos e fluidos abomasais. Estas amostras devem ser refrigeradas e colocadas em tubos esterilizados e separados (Anderson, 2007). A tabela seguinte indica as amostras que devem ser colhidas na necrópsia do feto e o respectivo exame a ser efectuado para chegar ao diagnóstico.

Tabela 10 – Amostras necessárias para o diagnóstico de aborto bovino (Antoniassi *et al.*, 2007)

AMOSTRA	EXAME A REALIZAR
<b>TECIDO REFRIGERADO</b>	
Pulmão, fígado e conteúdo do abomaso	Isolamento aeróbio e isolamento anaeróbio de conteúdo do abomaso para <i>Brucella</i> sp.
Amostra de rim ou pulmão	IFD para <i>Leptospira</i> sp.
Soro fetal (cavidade torácica)	Sorologia para <i>Leptospira</i> sp.; <i>Neospora caninum</i> ; BVDV.
<b>TECIDO FIXADO EM FORMOL</b>	
Cérebro, fígado, rim, pulmão, coração, músculo-esquelético, baço, timo, abomaso e membranas fetais	Histopatologia
Amostra de timo, pulmão ou pele (orelha)	Imunohistoquímica BVDV
Amostra do fígado	Imunohistoquímica IBR
Amostra do cérebro	Imunohistoquímica <i>Neospora caninum</i>

Como já foi referido, relativamente às membranas fetais e se houver retenção destas, a amostra tem mais valor de diagnóstico se estas foram colhidas dentro do útero, pois geralmente é a porção menos contaminada por agentes ambientais. Sendo assim, deve-se remover uma parte para cultura, refrigerar outra parte para

bacteriologia, congelar outra parte para virologia e fixar outra parte para realizar um exame histológico (Morrow, 1986). A cultura para pesquisa de fungos deve ser efectuada se existirem lesões sugestivas de envolvimento destes. (Anderson, 2007).

A análise serológica de uma amostra de sangue ajuda a determinar se houve exposição a determinado agente, no entanto, não diferencia se a infecção ocorreu por exposição natural ou por vacinação, ou se essa exposição foi recente ou antiga. (Anderson, 2007). No entanto, é de salientar que por vezes ocorre seroconversão materna após o aborto, não se verificando portanto títulos elevados de anticorpo no momento da colheita de sangue (Anderson, 2007), devendo por isso como já foi referido anteriormente, proceder-se a nova colheita 2 a 3 semanas após o aborto ter ocorrido (Haskell, 2008).

Por conseguinte, a análise de sangue materno é mais eficaz em vacadas não vacinadas, quando vários animais são testados e quando a análise é acompanhada de uma história clínica de cada animal ou do rebanho. Na análise sorológica de rotina é possível identificar IBR, BVD, *Leptospira* spp, *Neospora caninum* e *Brucella* spp (Anderson, 2007).

Outras amostras como a urina, muco cervical, muco uterino e leite podem ser importantes na identificação do agente etiológico (Morrow, 1986).

## **2. Aborto de Etiologia Infecciosa**

O aborto de etiologia infecciosa é responsável pela maioria das gestações perdidas nos animais domésticos (Hafez e Hafez, 2004), afectando assim o desempenho reprodutivo da vacada (Noakes *et al.*, 2001). Este processo pode ocorrer através de efeitos directos sobre o sistema reprodutivo ou através de efeitos indirectos sobre o estado geral de saúde dos animais afectados. (Noakes *et al.*, 2001)

As doenças infecciosas podem afectar o sistema reprodutor, impedindo a sobrevivência do esperma ou do seu transporte no tracto feminino, conduzindo assim a uma taxa reduzida de fertilização.

Para além deste factor, os agentes infecciosos podem actuar de forma directa no embrião e de forma indirecta na sobrevivência do mesmo, actuando sobre a função uterina. Ambos processos resultam em morte embrionária precoce, morte fetal com aborto, nado-morto, parto prematuro ou mumificação. (Noakes *et al.*, 2001).

Nos últimos 40 a 50 anos, pôde-se constatar uma alteração na relação dos agentes infecciosos abortivos, verificando-se que doenças como a Campylobacteriose, Trichomoníase e Brucelose têm sido erradicadas devido a programas específicos de controlo como: inseminação artificial em explorações leiteiras (Campylobacteriose, Trichomoníase) e vacinação, sorologia de rotina e abate sanitário de animais infectados (Brucelose) (Noakes *et al.*, 2001). No entanto, surgiram outras doenças que representam uma grande importância na história de aborto bovino como o IBR, BVD, Leptospirose, Neosporose, Ureaplasmosse, e infecções por *Haemophilus somnus*, devendo-se este factor ao aumento da prevalência das mesmas doenças ou sabe-se actualmente da sua existência, devido à evolução dos métodos de diagnóstico (Noakes *et al.*, 2001).

Actualmente, existem inúmeros agentes bacterianos, virais, fúngicos e parasitários que estão associados com

a infertilidade e aborto nas explorações. Estes agentes resultam em grandes perdas económicas para o proprietário, uma vez que causam um grande aumento do intervalo entre partos, quer seja por morte embrionária precoce, reabsorção fetal ou aborto. Bettencourt e Romão (2009), baseados em estudos anteriores, chegaram à conclusão de que cada dia de aumento de intervalo entre partos poderá custar ao produtor 1€ por vaca/dia. Por conseguinte, é de grande importância estabelecer medidas de controlo adequadas de modo a evitar a infecção nas explorações (Givens e Marley, 2008).

As causas bacterianas compreendem os seguintes agentes: *Campylobacter fetus*, *Histophilus somnus*, *Ureaplasma* spp., *Brucella abortus*, *Leptospira* spp, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia* spp, *Salmonella* e *Coxiella burnetii*.

Os protozoários, por sua vez, são os seguintes: *Neospora caninum*, *Tritrichomonas fetus*, *Toxoplasma gondii* e *Anaplasma marginale*.

Os agentes virais incluem: Herpesvirus Bovino tipo 1 (BHV-1), Vírus da diarreia viral dos bovinos (BVDV) e Vírus da língua azul.

Por último, como agentes fúngicos causadores de aborto temos: *Aspergillus fumigatus*, *Mucor* spp e *Mortierella wolffi* (Givens e Marley, 2008).

### **2.1 *Campylobacter fetus***

O *Campylobacter fetus* é uma bactéria gram-negativa que representa 2 a 10% dos diagnósticos de aborto em bovinos. A sub-espécie associada ao aborto corresponde ao serótipo *venerealis*. (Anderson, 2007).

A transmissão da doença ocorre por via venérea bem como através do contacto com camas contaminadas, instrumentos contaminados e contacto com animais infectados (Givens e Marley, 2008).

Os animais infectados podem apresentar infecção da vagina, do colo do útero, do endométrio e da placenta, no entanto, outros sinais estão presentes como a infertilidade devido a morte embrionária precoce e o aborto que ocorre entre os 4 e os 7 meses de gestação (Givens e Marley, 2008).

### **2.2 *Histophilus somnus***

O agente *Histophilus somnus*, faz parte da flora bacteriana do trato reprodutivo e não tem sido associada ao aborto. No entanto, este agente bacteriano pode causar infertilidade através da ligação deste à zona pelúcida do embrião.

A transmissão da doença ocorre por via respiratória através do contacto com materiais contaminados ou com descargas vaginais. A bactéria atinge o feto por via hematogénea (Givens e Marley, 2008).

### **2.3 *Ureaplasma diversum* e *Mycoplasma* spp.**

Os agentes *Ureaplasma diversum* e *Mycoplasma* spp, fazem parte da flora normal do trato reprodutivo, no entanto, podem causar problemas reprodutivos (Givens & Marley, 2008). O *Ureaplasma diversum* pode também estar presente no tracto respiratório superior (Anderson, 2007).

A transmissão destes agentes ocorre através do contacto directo com ambientes contaminados com urina

infectada e também por via venérea (Givens e Marley, 2008).

Nas infecções causadas por *Mycoplasma bovis*, pode-se verificar a presença de vulvovaginite, infertilidade e endometrite ao passo que, nas infecções causadas por *Ureaplasma diversum*, podem ser visíveis sinais de vulvite, infertilidade, aborto e nascimento de bezerros fracos (Givens e Marley, 2008). Os abortos por *Ureaplasma diversum*, geralmente ocorrem no último terço da gestação, podendo ocorrer retenção placentária (Anderson, 2007). Estudos experimentais, efectuados com *Mycoplasma abortus*, demonstraram que este agente pode causar salpingite, endometrite, infertilidade e aborto (Givens e Marley, 2008).

#### **2.4 *Brucella abortus***

A Brucelose bovina tem como agente etiológico a bactéria *Brucella abortus* que causa grandes prejuízos económicos devido ao facto de afectar a fertilidade da vacada, causando nascimento de vitelos débeis, orquite, epididimite e até esterilidade nos machos, no entanto o sinal mais importante da doença é o aborto (Godfroid *et al.*, 2010). A Brucelose representa uma das zoonoses com maior importância em todo o mundo, sobretudo em países desenvolvidos (Neta *et al.*, 2010).

A *Brucella abortus* é um cocobacilo gram negativo que possui distribuição mundial, apresentando em alguns países baixa incidência (Antoniassi *et al.*, 2007), devido aos programas de erradicação da doença (Anderson, 2007).

A Brucelose é uma doença que é transmitida através da ingestão do feto, placenta, descargas uterinas, ou materiais contaminados por estes tecidos. A bactéria multiplica-se nos linfonodos regionais e pode atingir o feto e outros órgãos por via hematogénea, ocorrendo o aborto a partir do quinto mês de gestação (Givens e Marley, 2008). O feto e a placenta representam as amostras indicadas para ser feita a pesquisa do agente (Antoniassi *et al.*, 2008). A placenta é caracterizada por apresentar edema na região intercotiledonária e necrose dos cotilédones (Antoniassi *et al.*, 2008). Para além destas lesões, sinais como metrite e retenção de membranas fetais também podem ocorrer (Anderson, 2007). O feto, por sua vez, não apresenta alterações macroscópicas, no entanto, por vezes pode ser observada arterite necrosante (especialmente no pulmão), áreas focais de necrose, formação de granulomas nos linfonodos, fígado, baço e rim e, por último, pequenos nódulos de cor esbranquiçada, presentes nos pulmões. Microscopicamente, estes nódulos caracterizam-se por bronquite e broncopneumonia supurativa (Antoniassi *et al.*, 2007).

O diagnóstico pode ser feito através da observação de alterações macroscópicas e microscópicas juntamente com a cultura do agente. (Antoniassi *et al.*, 2007). Para além da cultura do agente, têm sido desenvolvidos métodos serológicos para a sua detecção (Anderson, 2007).

#### **2.5 *Leptospira spp.***

A Leptospirose é uma zoonose de grande importância mundial e está identificada como uma importante causa de aborto em bovinos. (Antoniassi *et al.*, 2007).

Os serótipos mais importantes de *Leptospira interrogans* dizem respeito ao serótipo *hardjo* e *pomona*, estando estes associados ao aborto em bovinos. Os serotipos *icterohaemorrhagiae* e *grippotyphosa* por sua

vez, não têm sido associados ao aborto bovino (Anderson, 2007). O serótipo *L. hardjo* encontra-se adaptado aos bovinos, representando este o principal hospedeiro (Anderson, 2007).

A *Leptospira* pp. pode sobreviver no ambiente húmido até 30 dias e ser excretada na urina durante várias semanas, no entanto, em infecções causadas por *L. hardjo* essa excreção é ainda mais prolongada (Anderson, 2007).

A transmissão da doença ocorre através do contacto com ambientes contaminados com urina infectada, ou através do contacto com leite e líquido amniótico infectado. A transmissão transplacentária ou venérea pode também ocorrer (Givens e Marley, 2008).

As bactérias presentes em ambientes e fluidos contaminados penetram nas mucosas íntegras (nariz, conjuntiva e vagina) ou em feridas da pele (Anderson, 2007).

Geralmente, os abortos ocorrem a partir do sexto mês de gestação não havendo manifestação de lesões macroscópicas (Antoniassi *et al.*, 2007). Givens e Marley (2008) por sua vez, consideram também que o aborto por *L. pomona* ocorre no último trimestre da gestação, enquanto que por *L. hardjo* ocorre a partir do 4º mês de gestação até ao termo (Givens e Marley, 2008). Microscopicamente, pode-se verificar a presença de necrose tubular e nefrite intersticial nos fetos abortados. (Antoniassi *et al.*, 2007).

Na Leptospirose crónica, o único sinal visível em fêmeas adultas é a ocorrência de aborto. A Leptospirose aguda por sua vez, ocorre em animais jovens e é caracterizada por: febre, anemia hemolítica, hemoglobinúria, icterícia e elevada morbilidade (Anderson, 2007).

A serologia materna pode ser utilizada para o diagnóstico de Leptospirose, no entanto, há que ter em atenção o facto de os animais serem vacinados.

## **2.6 *Listeria monocytogenes***

A *Listeria monocytogenes*, um cocobacilo gram-positivo é agente zoonótico (Givens e Marley, 2008). A proporção de abortos ocorridos devido a este agente é normalmente baixa, no entanto, estudos efectuados no Midwest (Estados Unidos) demonstraram que estava presente em 4,1% dos abortos diagnosticados (Anderson, 2007).

A transmissão deste agente ocorre por ingestão de alimentos contaminados por fetos, placentas e corrimentos uterinos infectados. Posteriormente, o agente dissemina-se por via hematogénea onde atinge a placenta e feto (Givens e Marley, 2008).

Normalmente, o aborto causado por este agente ocorre no último terço da gestação. Os animais infectados podem apresentar perda de peso, hipertermia, endometrite e retenção de membranas fetais (Givens e Marley, 2008).

## **2.7 *Clamydophila abortus***

A infecção causada por *Clamydophila abortus*, pode resultar em aborto entre os 6 e os 8 meses de gestação e pode também resultar no nascimento de bezerros fracos.

A transmissão destes agentes ocorre através da inalação ou ingestão de urina, fezes ou descargas contaminadas. O agente pode multiplicar-se nos cotilédones e causar endometrite (Givens e Marley, 2008).

## 2.8 Bactérias Oportunistas

O aborto pode ainda ser causado por outros agentes bacterianos que fazem parte da flora normal ou do ambiente. Estas bactérias podem ser as seguintes: *Pasteurella* spp., *Salmonella* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *E.coli* (Antoniassi *et al.*, 2007), *Arcanobacterium pyogenes*, *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. (Givens e Marley, 2008). Estes agentes geralmente causam aborto esporádico nas explorações, sendo o feto e a placenta atingidos por via hematogênea no final da gestação (Antoniassi *et al.*, 2007; Givens e Marley, 2008).

## 2.9 *Tritrichomonas foetus*

O *Tritrichomonas foetus* é um protozoário flagelado que causa doenças venéreas em bovinos (Givens e Marley, 2008).

As vacas infectadas com o protozoário podem apresentar morte embrionária precoce, infertilidade e aborto (Givens e Marley, 2008), podendo este ocorrer desde o início da gestação, causando reabsorção fetal até ao termo da gestação, causando aborto (Anderson, 2007). Os fetos podem apresentar algum estado de autólise e a placenta pode estar edemaciada (Anderson, 2007). O controlo da doença consiste na identificação e abate dos touros infectados e na definição de épocas de cobrição curtas (Bondurant, 2007).

## 2.10 Rinotraqueíte infecciosa dos bovinos

O vírus da rinotraqueíte infecciosa (IBR) dos Bovinos é um Herpesvirus Bovino tipo -1 (BHV-1) (Antoniassi *et al.*, 2007), que pode levar a infecções respiratórias, infecções genitais e aborto (Givens e Marley, 2008). Este agente foi identificado pela primeira vez nos Estados Unidos da América em 1957 (Antoniassi *et al.*, 2007). A transmissão deste agente ocorre através do contacto com animais infectados que excretam o vírus pelas secreções respiratórias, genitais e conjuntivais (Anderson, 2007), no entanto, a transmissão venérea pode também ocorrer (Givens e Marley, 2008).

Os abortos causados por este agente estão geralmente associados à forma respiratória da doença (Givens e Marley, 2008) e normalmente ocorrem a partir dos 5 meses de gestação (Antoniassi *et al.*, 2007). A infecção pelo vírus do IBR pode também resultar em morte embrionária precoce (Givens e Marley, 2008) como resultado da infecção contraída no início da gestação (Anderson, 2007). Os animais afectados podem apresentar anorexia, hipertermia, mucosa nasal vermelha, tosse, conjuntivite, (Givens e Marley, 2008), doença respiratória, encefalomielite nos adultos e infecção sistémica fatal nos neonatos (Anderson, 2007). Para além destes sinais, pode ainda ocorrer a forma genital da doença que é caracterizada por vulvovaginite nas fêmeas e balanopostite nos machos (Anderson, 2007). Após os 56 dias de gestação, já são visíveis a presença de pontos esbranquiçados de 1 mm de diâmetro no fígado e pulmão do feto. Microscopicamente, estes pontos correspondem a focos de necrose. Nos exames histológicos, pode-se verificar a presença de necrose de coagulação multifocal no fígado, linfonodos, pulmão, rim, e placenta (Antoniassi *et al.*, 2007). Apesar de não existirem lesões patognómicas de aborto por IBR, as lesões acima referidas são bastante sugestivas (Antoniassi *et*



*al.*, 2007). O BHV-1 estabelece uma infecção latente, podendo ocorrer seroconversão e posterior reactivação após um período de latência. Por este motivo, os animais infectados representam uma fonte de infecção para os animais não infectados (Givens e Marley, 2008).

O diagnóstico pode ser confirmado através do teste de imunohistoquímica (Antoniassi *et al.*, 2007), isolamento do vírus, detecção de antígeno viral nos tecidos fetais e através de imunofluorescência (Anderson, 2007).

## **2.11 Vírus da diarreia viral dos bovinos**

O Vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é um Pestivírus (Givens e Marley, 2008) que apresenta distribuição mundial e é caracterizado por causar entre outros sinais, aborto em bovinos (Antoniassi *et al.*, 2007). Inicialmente, este agente foi identificado em doenças gastrointestinais, no entanto, actualmente este vírus está associado a falhas reprodutivas (Antoniassi *et al.*, 2007), uma vez que pode causar para além de aborto, morte embrionária precoce (antes do 42º dia de gestação) (BonDurant, 2007). A transmissão da doença ocorre por via transplacentária, através da ingestão ou inalação de materiais contaminados com secreções infectadas (Givens e Marley, 2008) e através do contacto com animais infectados (Anderson, 2007). Os animais com infecção aguda podem apresentar como sinais clínicos, corrimento nasal, enterite, hipertermia e leucopénia (Givens e Marley, 2008).

A infecção causada por este agente pode apresentar resultados variáveis como infertilidade temporária, perda reprodutiva, retorno ao cio, morte embrionária/fetal, aborto, malformações fetais e nascimento de bezeros fracos (Antoniassi *et al.*, 2007), que dependem do momento da infecção e do biótipo do vírus infectante (Anderson, 2007).

Givens e Marley (2008), consideram que os animais gestantes que contraem a infecção até aos 45 dias de gestação podem apresentar uma diminuição das taxas de fertilização e pode também ocorrer morte embrionária (Givens e Marley, 2008). Caso a infecção ocorra entre os 45 e 175 dias de gestação pode resultar em aborto. No entanto, se os fetos sobreviverem à infecção com a estirpe não citopatogénica do BVDV entre os 70 e os 150 dias de gestação, tornam-se persistentemente infectados (PI) com o vírus (Givens e Marley, 2008). Os animais PIs, apresentam uma grande importância na epidemiologia desta doença, uma vez que, são clinicamente normais, apresentam resultado serológico negativo mas excretam o vírus continuamente em grande quantidade (Antoniassi *et al.*, 2007). A infecção fetal ocorrente entre os 100 e 150 dias de gestação pode resultar em anomalias congénitas (hipoplasia cerebelar, aplasia do timo), ao passo que se a infecção ocorrer entre os 150 e 285 dias de gestação, o feto geralmente é capaz de eliminar o vírus, desenvolvendo-se normalmente. Estes animais exibem anticorpos pré-colostrais neutralizantes frente ao vírus (Givens e Marley, 2008).

O meio de controlo mais eficaz para a erradicação do BVDV é baseado na identificação e refugio de animais PIs dos rebanhos. (Antoniassi *et al.*, 2007).

Presentemente, existem diversos meios de diagnóstico que podem ser utilizados para a detecção de PIs como: isolamento do vírus, serologia, imunohistoquímica, PCR e ELISA para pesquisa de antígeno (Anderson, 2007).

## 2.12 Vírus da língua azul

O vírus da língua azul é um Orbivírus que é transmitido por um mosquito (*Culicoides imicola*, *Culicoides obsoletus*) (Givens e Marley, 2008).

Se a infecção pelo vírus da língua azul ocorrer até aos 100 dias de gestação, pode haver aborto ou reabsorção. Por outro lado, se a infecção ocorrer entre os 75 e 100 dias de gestação pode resultar em morte fetal, nascimento de bezerros fracos ou nascimento de bezerros com anomalias cerebrais. O feto deixa de ser afectado pelo vírus, se a infecção ocorrer a partir dos 150 dias de gestação (Givens e Marley, 2008).

## 3.13 Aborto micótico

As infecções causadas por agentes micóticos, apresentam distribuição mundial (Antoniassi *et al.*, 2007), sendo em algumas regiões consideradas como a maior causa de aborto (Anderson, 2007).

Existem inúmeras espécies de fungos relatados, no entanto, o principal causador de aborto micótico em bovinos é o fungo *Aspergillus fumigatus* (Anderson, 2007).

O fungo é ubiqüitário no ambiente e a sua concentração pode aumentar no Inverno quando os animais se encontram estabulados (Anderson, 2007) ou alimentados com feno (Givens e Marley, 2008). Apesar da epidemiologia da doença não ser totalmente conhecida, pensa-se que a infecção ocorre a partir do tracto vaginal, respiratório e digestivo (Antoniassi *et al.*, 2007). O fungo chega à placenta provavelmente por via hematogénea (Anderson, 2007), sendo as lesões mais frequentemente encontradas na placenta (Antoniassi *et al.*, 2007).

Estudos experimentais efectuados a partir da administração intravenosa de *A. fumigatus* demonstraram a existência de aborto 25-35 dias após a infecção (Anderson, 2007).

O aborto micótico ocorre esporadicamente (Givens e Marley, 2008) no terceiro trimestre da gestação, apresentando como sinais clínicos retenção placentária e placentite (Anderson, 2007).

O diagnóstico deste agente requer o isolamento do fungo ou a identificação por microscopia juntamente com a observação de lesões compatíveis na placenta e no feto, pois, uma vez que o agente é ubiqüitário no ambiente, pode surgir apenas como resultado de contaminação ambiental, falseando assim os resultados (Anderson, 2007).

## V – Neosporose bovina

### 1. Nota Introdutória

A escolha da estagiária por este tema deveu-se ao facto de a Neosporose ser uma doença que é por vezes sub-diagnosticada e sub-valorizada e à qual ainda não se atribui a devida importância, uma vez que a presença deste parasita nas explorações é por vezes negligenciada. A escolha deste tema foi ainda reforçada pelo aparecimento de um caso clínico de natureza multifactorial em que a neosporose foi identificada como um dos agentes causadores de aborto.

A Neosporose é uma doença causada pelo agente *Neospora caninum*, que é um protozoário que para além de causar aborto, pode também causar nascimento de bezerros congenitamente infectados, fracos e débeis (Haskell, 2008).

Actualmente, a Neosporose é considerada como uma das principais causas de aborto em bovinos em todo o mundo (Oliveira *et al.*, 2010).

O agente foi descrito pela primeira vez em 1984 em cães, no entanto, não lhe foi atribuído nenhum nome, sendo diagnosticado como *Toxoplasma gondi*, devido às semelhanças que ambos apresentavam (Dubey, 1999; Santolària *et al.*, 2010). Em 1988, o protozoário foi identificado em cães domésticos com encefalomielite e miosite e Dubey e colaboradores descreveram o parasita atribuindo-lhe o nome de *Neospora caninum* (Oliveira *et al.*, 2010; Bowman *et al.*, 2003; Anderson *et al.*, 2000; Coetzer e Tustin, 2004).

Após a identificação do protozoário, os cães e os coiotes foram confirmados como hospedeiros definitivos do parasita (Oliveira *et al.*, 2010).

Estudos efectuados indicam que para além de causar aborto e morte neo-natal, *Neospora caninum* quando presente em elevados títulos provoca uma redução acentuada de ganho médio diário em bezerros e novilhas, causando assim um grande prejuízo económico para o produtor (Moré *et al.*, 2010).

Em Portugal, o agente *Neospora caninum* foi isolado pela primeira vez em 2001, a partir do cérebro de um feto abortado com 4 meses, numa vacaria leiteira no Porto (Canada *et al.*, 2002).

### 2. Etiologia

A espécie *N. caninum* é um protozoário intracelular, pertencente ao filo Apicomplexa (Protozoa), sub-filo Sporozoa, família *Sarcocystidae* e género *Neospora caninum* (Urquhart *et al.*, 1998).

### 3. Hospedeiros

Os cães podem funcionar como hospedeiro definitivo e hospedeiro intermediário. Apesar do coiote (*Canis latrans*) e do dingo australiano (*Canis lúpus dingo*) serem considerados hospedeiros definitivos, apenas no

cão doméstico foi possível verificar a presença de oocistos viáveis nas fezes, e recentemente no lobo cinzento (Dubey e Schares, 2011).

Os bovinos são o principal hospedeiro intermediário (HI), podendo também infectar ovinos, caprinos, equinos, búfalos e veados. Recentemente, foram encontrados anticorpos de *N. caninum* em raposas, coiotes e camelos, aumentando assim a lista de hospedeiros intermediários do parasita (Cotzer e Tustin, 2004). Os humanos não são considerados hospedeiros intermediários do agente (Dubey e Schares, 2011).

#### 4. Ciclo de Vida

Apesar de a estrutura do *Neospora caninum* ser bastante semelhante à do *T. gondii*, existem diferenças entre ambos. A Neosporose é uma doença do gado (bovinos, ovinos, caprinos, equinos, búfalos, veados) que tem como hospedeiro definitivo o cão e a Toxoplasmose é considerada uma zoonose, infectando humanos, ovelhas e cabras e todo o animal homeotérmico, que tem como único hospedeiro definitivo os felinos (Dubey *et al.*, 2007).

O ciclo de vida do parasita é heteroxeno, ou seja, necessita de dois hospedeiros para completar o seu ciclo. Os cães e os coiotes representam o hospedeiro definitivo (HD) onde ocorre a fase entérica do ciclo, enquanto os bovinos, equinos, caprinos, ovinos, búfalos e veados representam o hospedeiro intermediário (HI) (Dubey *et al.*, 2006).

Actualmente conhecem-se três estados infectantes: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos (Buxton *et al.*, 2002; Ortega-Mora *et al.*, 2007).

Os taquizoítos e bradizoítos correspondem à fase de proliferação assexuada do parasita e encontram-se nos hospedeiros intermediários (bovinos, equino, caprinos, ovino, veado e também o cão) e nos hospedeiros definitivos (cão), sendo agentes intracelulares obrigatórios. Os taquizoítos correspondem à fase de proliferação aguda do ciclo e os bradizoítos correspondem à fase de proliferação lenta (Ortega-Mora *et al.*, 2007) Os esporozoítos correspondem à fase sexuada do ciclo, e encontram-se no interior dos oocistos excretados nas fezes do HD. Por conseguinte, os oocistos expulsos nas fezes contêm dois esporocistos com quatro esporozoítos cada (Dubey *et al.*, 2006).

Os taquizoítos apresentam uma forma globular ou semi-lunar, medindo  $3-7 \mu\text{m} \times 1-5 \mu\text{m}$ , consoante o seu estado de divisão. Os taquizoítos podem invadir uma grande variedade de células nucleadas como os neurónios, macrófagos, fibroblastos, miócitos, células endoteliais vasculares, hepatócitos e células dérmicas dos animais infectados, encontrando-se dentro de um vacúolo parasitário no citoplasma (Coetzer e Tustin, 2004). Neste local, o taquizoíto irá dividir-se rapidamente por endodiogonia, causando lise celular da célula hospedeira. Os taquizoítos recém formados por sua vez, irão invadir outras células vizinhas, podendo atingir todo o corpo, através da corrente sanguínea (Ortega-Mora *et al.*, 2007).

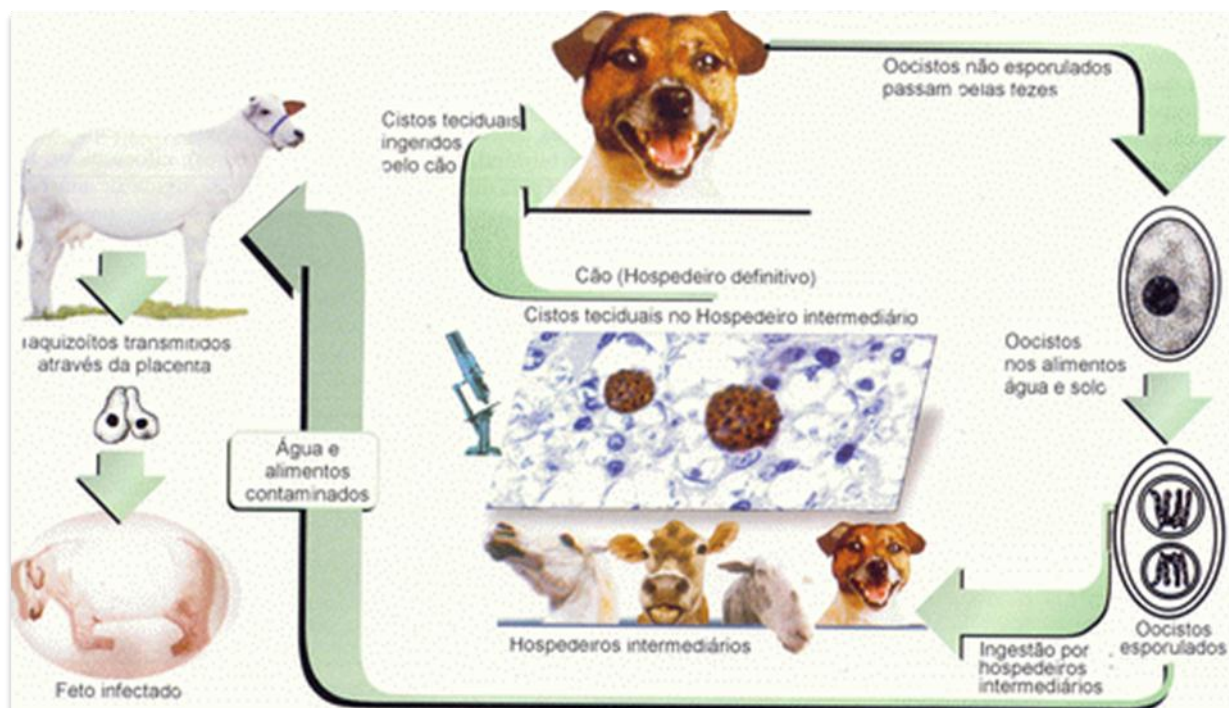
Os bradizoítos são delgados apresentando como medidas  $6-8 \mu\text{m} \times 1-1,8 \mu\text{m}$  (Coetzer e Tustin, 2004) e encontram-se dentro de quistos tecidulares. Estes por sua vez, possuem uma forma oval, que pode atingir  $107 \mu\text{m}$  de comprimento. O quisto é revestido por uma parede única que é lisa e pode medir 2 a 4  $\mu\text{m}$ . Esta

parede protege o agente das recções físicas e imunológicas por parte do hospedeiro. Os quistos tecidulares têm sido observados em tecidos nervosos e musculares, podendo estes persistir no hospedeiro infectado durante muitos anos, sem causar manifestações clínicas significantes (Coetzer e Tustin, 2004; Ortega-Mora, 2007).

O oocisto não esporulado representa o estado resistente ao ambiente, sendo excretado nas fezes dos cães. Os oocistos possuem uma dimensão de  $11,3 \times 11,7 \mu\text{m}$  e a sua parede é incolor possuindo uma espessura de 0,6 a 0,8  $\mu\text{m}$  (Dubey *et al.*, 2002). Como já foi referido, cada oocisto possui dois esporocistos, com quatro esporozoítos cada. Fora do hospedeiro, o oocisto demora cerca de 24 horas a esporular. Após a esporulação, estes oocistos tornam-se infectantes para os hospedeiros intermediários (Rosypal e Lindsay, 2005).

O modo como o cão fica infectado na natureza ainda não é totalmente compreendido (Dubey e Schares, 2011). No entanto, pensa-se que os carnívoros ficam infectados a partir da ingestão de tecidos do HI contaminados (placenta de bovinos) contendo quistos teciduais (Dubey *et al.*, 2007) ou através de leite ou colostro infectado (Hall, Reichel e Ellis, 2005) (Esquema 3). Recentemente foi comprovado pela primeira vez, que outros tecidos como o coração, fígado, masséter e cérebro do feto representam outras formas de infecção para os cães (Cavalcante *et al.*, 2011). Esta suposição é reforçada por estudos laboratoriais que demonstraram que o cão excretou oocistos nas fezes após ter consumido tecidos de ratos infectados com o agente (Godim, 2006). Contudo, a ingestão de fetos abortados surge com menor frequência na origem da infecção dos cães. Após a ingestão dos tecidos, o quisto tecidular migra até ao estômago, onde se mantém intacto devido à acção protectora da sua parede que é resistente à pepsina, permitindo assim, que os bradizoítos sejam libertados apenas no epitélio intestinal, onde iniciam o seu ciclo sexuado (esquizogonia e gametogonia), que resulta na multiplicação e libertação de oocistos nas fezes (Collery, 1996; Ortega-Mora *et al.*, 2007).

Para que haja continuidade do ciclo, os bovinos (HI) têm de ingerir alimentos e água contaminada com oocistos esporulados de *N. caninum* expulsos nas fezes de cães portadores (Rosypal e Lindsay, 2005).



Esquema 3 – Representação do ciclo de vida de *Neospora caninum* ([www.milkpoint.com.br//radar-tecnico/sanidade/caes-e-vacas-leiteiras-aborto-define-a-relacao-16696n.aspx](http://www.milkpoint.com.br//radar-tecnico/sanidade/caes-e-vacas-leiteiras-aborto-define-a-relacao-16696n.aspx))

Após a ingestão de água ou alimentos contaminados, os oocistos eclodem no estômago dos ruminantes devido à acção mecânica, libertando os esporozoítos que, por sua vez, invadem os tecidos e sofrem multiplicação rápida assexuada dando origem a taquizoítos móveis. Os taquizoítos disseminam-se pelo sistema circulatório atingindo células como os neurónios, macrófagos, fibroblastos e miócitos (Collery, 1996). Este estadió de desenvolvimento denominado de taquizoíto, corresponde à fase invasiva e proliferativa do parasita (Urquhart *et al.*, 1998). Seguidamente, dá-se a formação lenta de bradizoítos que se encontram protegidos das acções mecânicas do organismo por quistos tecidulares. O ciclo termina quando o hospedeiro definitivo ingere tecidos do hospedeiro intermediário com quistos tecidulares contendo bradizoítos (Dubey *et al.*, 2007). O facto de os coiotes excretarem oocistos juntamente com a constatação do veado de cauda branca constituir um HI, sugere a existência de um ciclo selvático de *N. caninum* no América do Norte (Ortega-Mora *et al.*, 2007; Godim, 2006).

## 5. Transmissão

O agente *N. caninum* é considerado um dos parasitas que possui maior eficiência, no que diz respeito à transmissão placentária em bovinos (Dubey *et al.*, 2007).

Presentemente existem duas formas de transmissão conhecidas, sendo que a primeira e, provavelmente a mais importante, é chamada de transmissão vertical, transmissão congénita ou mais precisamente transmissão transplacentária endógena (Trees e Williams, 2005). Este tipo de transmissão consiste na passagem do agente para o feto *in útero*, através da placenta da vaca persistentemente infectada. Geralmente a infecção ocorre a partir de uma reactivação dos bradizoítos dentro dos quistos tecidulares, quando o

período de recrudescência, que é reforçado por uma diminuição do estado imunitário da mãe infectada (Ortega-Mora *et al.*, 2007) ou quando os taquizoítos atingem a placenta e o feto (Williams e Trees, 2006). Geralmente, estes fetos dão origem ao nascimento de bezerros persistentemente infectados, mas saudáveis, sendo capazes de transmitir a infecção à próxima geração aquando a gestação, mantendo assim a infecção no rebanho (Anderson, 2007). As taxas de infecção congénita são elevadas, variando entre 66% a 95% (Ortega-Mora *et al.*, 2007), no entanto, estudos teóricos comprovam que a infecção dos rebanhos com *N. caninum* não se sustenta sem transmissão horizontal (Ortega-Mora *et al.*, 2007).

A segunda forma de infecção é denominada de transmissão horizontal, pós-natal ou transplacentária exógena e consiste na ingestão de oocistos esporulados pelo hospedeiro intermediário, ou seja, na ingestão de oocistos esporulados presentes na água (Dubey, 1999a) e/ou alimentos contaminados (Rosypal e Lindsay, 2005). Este tipo de transmissão diz respeito à infecção fetal que ocorre devido à exposição materna ao agente durante a gestação. Esta última classificação possui menos importância pois a prevalência da infecção fetal é maior quando a transmissão para o feto ocorre por via endógena (Trees e Williams, 2005). Para além deste tipo de transmissão, sabe-se que os vitelos podem ficar infectados ao ingerirem leite materno contaminado, no entanto, esta via de transmissão não evidencia grande importância (Davison *et al.*, 2001). No entanto, é de salientar que o facto de o feto não apresentar anticorpos, não significa que este não se encontre infectado, uma vez que a infecção pode ter ocorrido no final da gestação e não ter havido tempo para a síntese de anticorpos. O nascimento de bezerros seropositivos filhos de mães seronegativas raramente é possível pois a mãe pode ter estado infectada e os níveis de anticorpo baixarem de forma a não serem detectáveis (Dubey *et al.*, 2007).

A transmissão de *N. caninum* de vaca para vaca, também não representa grande importância uma vez que ainda não foi observada (Dubey e Schares, 2011).

A transmissão venérea parece não representar grande importância (Dubey *et al.*, 2007), no entanto, é possível se for realizada experimentalmente com um elevado número de taquizoítos (Ortega-Mora *et al.*, 2007).

## **6. Distribuição geográfica**

A Neosporose pode ser encontrada em diversas regiões dos Estados Unidos e tem sido também documentada noutros países como a Austrália, Nova Zelândia, Argentina, Reino Unido, Itália, Portugal, Espanha, Japão e Coreia (Haskell, 2008).

## **7. Prevalência**

A prevalência do agente *N. caninum* difere consoante o país, região, aptidão bovina (leite ou carne). (Dubey e Schares, 2011) e tipo de análise utilizada (Dubey, 2003).

Estudos recentes realizados em Espanha, em amostras de 20 206 animais de aptidão creatopoética e 37 090 animais de aptidão leiteira indicam que a prevalência da doença pode diferir de acordo com a raça, no entanto, alguns destes resultados podem ter sido causados por diferenças no sistema de produção utilizado e

não por diferenças na susceptibilidade da raça, uma vez que a prevalência verificada no estudo foi de 25,6% (amostra de 20 206 animais) em bovinos de carne e 22,5% em bovinos de leite (amostra de 37 090 animais) (Dubey e Schares, 2011).

O mesmo estudo demonstrou ainda que a seroprevalência da doença aumenta com a idade. Nos bovinos de leite, a prevalência era a seguinte: 10,4% em animais dos 12-24 meses, 14,1% em animais com 25-36 meses e 24,6% em animais com mais de 36 meses. Nos bovinos de aptidão creatopóética, a seroprevalência aumentou igualmente com a idade, verificando-se os seguintes valores: 12,9% em animais com 12-24 meses, 15,3% em animais com 25-36 meses e 31,8% em animais com mais de 36 meses (Dubey e Schares, 2011).

Estudos realizados nos Estados Unidos em explorações leiteiras demonstraram que 90% das vacas eram seropositivas e estudos quantitativos, revelaram que cerca de 12% a 42% dos fetos abortados em explorações leiteiras nos Estados Unidos, Europa e Nova Zelândia estavam infectados com *Neospora caninum* (Haskell, 2008). Em Portugal, estudos efectuados também em bovinos de leite (Holstein-Frísia), determinaram que a prevalência da doença em animais escolhidos ao acaso correspondia a 28%, enquanto a prevalência em explorações com história de aborto correspondia a 46%. Relativamente aos fetos abortados que foram analisados, a prevalência calculada foi de 36% (Canada *et al.*, 2004).

Outros estudos realizados em Itália (Otranto *et al.*, 2003; Rinaldi, 2005) e em Portugal (Canada *et al.*, 2004) revelaram que a incidência de *N. caninum* é relativamente elevada no sul da Europa, facto que pode estar relacionado com factores climáticos (Ortega-Mora *et al.*, 2007).

## 8. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos de Neosporose podem estar presentes tanto em vacas leiteiras como em vacas de carne, primíparas ou múltiparas, sendo o aborto o único sinal clínico observado (Radostits *et al.*, 2002; Haskell, 2008). No entanto, é de referir que apenas uma pequena proporção (<5%) de vacas poderá abortar novamente nas gestações seguintes (Ortega-Mora *et al.*, 2007). Estudos realizados demonstraram que as mães cronicamente infectadas podem ter um risco de aborto duas vezes superior em relação às mães seronegativas (Dubey *et al.*, 2007), provavelmente devido ao facto dos animais apresentarem uma resposta imunitária diminuída (Thurmond e Hietala, 1997). Nas vacas infectadas, para além do aborto podem também ocorrer situações como: morte fetal, mumificação, reabsorção fetal, retorno ao cio, nascimento de nados-mortos e nascimento de animais vivos mas doentes (Trees *et al.*, 1999). Para além destas situações, pode ainda haver o nascimento de animais clinicamente normais, mas cronicamente infectados (Radostits *et al.*, 2002), sendo que 95% dos bezeros congenitamente infectados apresentam-se clinicamente normais ao nascimento (Haskell, 2008). O aborto pode ocorrer em qualquer fase da gestação a partir dos três meses, no entanto, a maioria dos abortos ocorre do quinto para o sexto mês de gestação (Dubey e Schares, 2011).

Estudos efectuados a uma amostra de 83 fetos abortados, indicaram que 19 ocorreram no primeiro trimestre da gestação, 52 ocorreram no segundo trimestre e 12 ocorreram no último trimestre da gestação (Marques *et al.*, 2010), sendo por isso a prevalência de aborto no segundo trimestre da gestação característica desta doença (Anderson, 2007).

O aborto pode apresentar carácter epidémico ou endémico, sendo considerado epidémico se os surtos de



aborto ocorrerem em mais de 10% das vacas em risco num período de 6 a 8 semanas (Dubey e Schares, 2011; Ortega-Mora *et al.*, 2007). O aborto endêmico, por sua vez é considerado se mais de 5% dos animais, abortarem durante vários meses ou mesmo anos (Anderson, 2007). Pensa-se que o aborto epidémico ocorre como consequência de infecção primária nas mães, ou seja, resulta da ingestão de alimentos ou água contaminada por oocistos e o aborto endêmico está geralmente associado a vacas congenitamente infectadas em que ocorreu reactivação de uma infecção latente (Dubey *et al.*, 2007; Ortega-Mora *et al.*, 2007).

Para além do aborto, os sinais clínicos mais visíveis provocados pelo agente são documentados apenas em neonatos de idade inferior a 2 meses (Haskell, 2008). Os bezerros apresentam baixo peso corporal e sinais neurológicos como ataxia, fraqueza e diferentes graus de tetraparesia como incapacidade de se colocarem em estação (Haskell, 2008; Dubey e Schares, 2011). Ao exame neurológico pode-se também observar um atraso no reflexo patelar, perda de propriocepção e ataxia. Os membros anteriores e/ou posteriores podem estar em flexão ou hiperextensão. Para além destes sinais, a presença de exoftalmia ou assimetria ocular pode também estar presente, bem como a presença de hidrocefalia, torcicolo, artrogripose e estreitamento da coluna vertebral (Dubey e Schares, 2011; Haskell, 2008).

## **9. Distribuição do parasita e Lesões**

O aspecto geral dos fetos abortados é marcado por autólise (Radostits *et al.*, 2002). As lesões presentes no feto são caracterizadas por focos esbranquiçados no coração e sistema músculo-esquelético e acumulação de fluidos serosanguinolentos nas cavidades corporais. A presença de hepatite, focos de necrose, miosite, miocardite e presença de infiltrados intersticiais não supurativos nos pulmões e rins representam achados comuns da doença. O cérebro apresenta infiltrados de células e focos de necrose (Anderson, 2007). Pensa-se que a placentite seja a causa da morte fetal e aborto, no entanto, o grau desta afecção pode ser variável (Anderson, 2007).

Estudos realizados demonstraram que numa amostra de 9 animais infectados, o agente *N. caninum* foi encontrado no cérebro de 5 animais, na medula espinhal de 3 animais e estava presente na placenta de todas as mães infectadas. A placenta com o feto vivo possuía inflamação na junção materno-fetal, caracterizada por necrose focal, infiltração de neutrófilos, células mononucleares e exsudados. Na placenta em que o feto estava morto, a placenta apresentava áreas extensas de necrose e placentite com mineralização. Os taquizoítos foram observados na placenta destes animais (Almería *et al.*, 2010). O mesmo estudo realizado por Almería (2010) e colaboradores, revelou que o agente estava presente em todos os fetos infectados, demonstrando uma maior incidência do parasita na medula espinhal, pulmão e cérebro. Os fetos apresentavam lesões inflamatórias em diversos órgãos, no entanto, com maior gravidade no cérebro, língua, fígado e coração. As lesões neurológicas eram caracterizadas por hemorragia, necrose ligeira e infiltração de células mononucleares. Nos restantes órgãos, as lesões consistiam em infiltrados de células mononucleares. No feto, os taquizoítos estavam presentes apenas no cérebro (Almería *et al.*, 2010).

## 10. Patogénese

A neosporose bovina é uma afecção que ocorre essencialmente na placenta e no feto, como resultado de uma parasitémia desencadeada a partir de uma infecção primária (exógena) ou como resultado de uma infecção persistente (endógena) durante a gestação (Dubey *et al.*, 2007).

O papel da defesa do hospedeiro é de extrema importância, uma vez que a resposta imunitária celular pode reduzir a parasitémia causada por *N. caninum* (Santolaria *et al.*, 2011).

Ao longo da gestação, os componentes mais importantes da resposta imunitária celular são representados pelos linfócitos T *helper* (Th) que regulam a resposta imune como o crescimento e diferenciação dos linfócitos T e B através das citocinas de controlo (Santolaria *et al.*, 2011).

As citocinas são geralmente classificadas como citocinas de pró-gestação (derivadas de células Th2) e citocinas inflamatórias (derivadas de células Th1) (Santolaria *et al.*, 2011). Estas citocinas estimulam a imunidade celular e promovem uma resposta humoral. A resposta celular encontra-se mais elevada no início e no final da gestação quando os níveis de progesterona (P4) séricos estão mais baixos (Innes *et al.*, 2001). Estudos recentes, realizados por Santolaria (2011) e colaboradores, demonstraram que a resposta humoral apresenta diferenças relativamente aos rebanhos de carne e de leite. No estudo foram contabilizados os títulos de anticorpos na gestação de três tipos de cruzamento diferentes: cruzamento de bovinos de raças de carne; cruzamento de vacas leiteiras com um bovino de carne e, por último, cruzamento de bovinos leiteiros. No primeiro cruzamento efectuado em mães que não abortaram, os títulos de anticorpos apresentaram-se elevados (IgG1 e IgG2). No segundo cruzamento, verificou-se um título de anticorpos intermédio e, por último, no cruzamento de raça de leite verificou-se um baixo título de anticorpo (Santolaria *et al.*, 2011). Este facto, permite concluir que a patogenia da doença varia com a resposta humoral de cada animal, e esta por sua vez, pode variar consoante a raça ou cruzamento de raças.

Estudos *in vitro*, demonstraram que o gama interferão (citoquina Th1) favorece a produção de anticorpos IgG2, enquanto que a interleucina-4 (citoquina Th2) regula a síntese de anticorpos IgG1 (Santolaria *et al.*, 2011). Actualmente sabe-se que a resposta do IFN $\gamma$  e a proliferação celular específica estão diminuídas no meio da gestação (Innes *et al.*, 2005), permitindo que os bradizoítos se tornem activos e causem parasitémia e consequentemente infecção placentária e fetal (Innes *et al.*, 2001). Após a fase de parasitémia, o agente é capaz de se estabelecer nas carúnculas maternas antes de atravessar as vilosidades placentárias fetais. Os danos primários causados pelo parasita na placenta podem comprometer a sobrevivência do feto ou provocar uma libertação de prostaglandinas a nível materno que por sua vez, pode provocar luteólise e aborto (Dubey e Schares, 2011).

As lesões fetais podem ocorrer devido aos danos primários causados pela multiplicação do agente no feto, ou devido a danos secundários na placenta resultantes de hipóxia (Santolaria *et al.*, 2011). Para além destes factores, pensa-se que a expulsão do feto também possa ocorrer como resultado de uma resposta imunitária da mãe, resultante da libertação de citocinas pró-inflamatórias na placenta ou resultante de factores de desregulação hormonais (Dubey e Schares, 2011). Todos estes mecanismos são importantes, no entanto, todos eles podem ser influenciados pela fase de gestação (Dubey e Schares, 2011). Ao longo da gestação, o

nível de anticorpos sofre alterações, existindo um aumento destes no meio da gestação, o que, juntamente com o facto de o IFN $\gamma$  estar diminuído pode explicar o aborto nesta fase de gestação. Por outro lado, se o nível de anticorpos aumentar no final da gestação, não ocorre aborto, mas sim o nascimento de vitelos congenitamente infectados (Guy *et al.*, 2001).

Factores como a produção de citocinas reguladoras (IL-10) e citocinas inflamatórias (IFN $\gamma$ ) bem como lesões do feto resultantes da multiplicação da taquizoítos, podem determinar a sobrevivência ou morte deste (Dubey e Schares, 2011). A sobrevivência do feto bem como o grau das lesões, depende também do seu tempo de gestação, ou seja, um feto com 150 dias possui capacidade de reconhecer e responder à infecção (Almería *et al.*, 2010), conseguindo combater o crescimento do parasita e, conseqüentemente o desenvolvimento das lesões. No entanto, estes animais ficam persistentemente infectados (Dubey *et al.*, 2006). Por outro lado, num feto em que ocorra a infecção precocemente, ocorre morte fetal como resultado de imunocompetência reduzida (Almería *et al.*, 2010). Estudos efectuados indicaram a presença de taquizoítos nos tecidos fetais, 10 a 14 dias após a infecção materna ter ocorrido, juntamente com elevados títulos de IFN $\gamma$  (Almería *et al.*, 2010).

Existem diversos factores que podem estar envolvidos na patogénese do parasita a nível fetal, representando a placenta, o factor mais importante. Estudos realizados destacaram a importância da placenta no que diz respeito à limitação e propagação da infecção para o feto, bem como a ocorrência de aborto (Almería *et al.*, 2010). No estudo, os investigadores verificaram que os fetos filhos de mães com lesões graves na placenta apresentavam lesões extensas em diversos órgãos, ao passo que, nas mães sem lesão placentária, os fetos apresentavam lesões menos graves (Almería *et al.*, 2010). Sabe-se também que em animais naturalmente infectados, a imunidade adquirida resultante de infecções ocorrentes antes da gestação, não é suficiente para prevenir a transmissão transplacentária (endógena), mas apenas a transmissão exógena (Almería *et al.*, 2010). A transmissão transplacentária apresenta-se mais eficaz em vacas mais jovens, abortando estas mais cedo comparativamente com as vacas mais velhas (Radostits *et al.*, 2002).

O facto da placenta no último trimestre da gestação se encontrar mais permeável juntamente com o facto do nascimento de vitelos persistentemente infectados (resultantes de infecções transplacentárias) pode explicar o porquê da eficácia da transmissão da doença aumentar com a idade gestacional (Dubey e Schares, 2011).

## **11. Factores de Risco**

O conhecimento dos factores de risco associados à Neosporose bovina nos rebanhos é extremamente importante, pois permite que sejam desenvolvidas medidas de controlo para evitar a doença (Dubey e Schares, 2011).

Sabe-se que a permanência de cães nas explorações aumenta o risco de infecção, devido ao facto de ingerirem tecidos infectados e posteriormente libertarem oocistos no ambiente.

Alterações de manejo na exploração como a alimentação, manejo dos pastos, a densidade animal, e a dimensão da exploração, podem fazer toda a diferença no risco das explorações contraírem a infecção (Dubey e Schares, 2011).

Estudos realizados sobre a seroprevalência de *N. caninum* demonstraram que existem diversas diferenças

relativamente ao país, ao interior dos países, entre regiões e entre o gado de aptidão creatopoética e leiteira (Dubey *et al.*, 2007).

Dubey (2007) considerou os seguintes riscos de infecção para os bovinos: idade dos animais; presença de hospedeiros definitivos, outros carnívoros e de outros hospedeiros intermediários; o pasto, a forragem e a água de bebida; alimentação com leite ou colostro; manejo da época de partos; densidade populacional e tamanho da exploração; fonte de reposição de novilhas; clima; vegetação; densidade populacional humana; factores relacionados com outros agentes infecciosos e a raça.

No que diz respeito ao risco do aborto ocorrer, Dubey (2007) enumerou os seguintes factores: seropositividade individual, seroprevalência da exploração, factores relacionados com o risco de infecção e factores relacionados com a reprodução (Dubey *et al.*, 2007).

## **11.1 Risco de infecção para os bovinos**

### **11.1.1. Idade dos animais**

O risco dos animais serem seropositivos pode aumentar com a idade e com o número de gestações, tanto em bovinos de aptidão creatopoética, como de aptidão leiteira (Dubey *et al.*, 2007). Radostits (2002), acrescenta que as novilhas podem abortar mais cedo do que as vacas mais velhas (Radostits *et al.*, 2002). Estes factores sugerem que a transmissão horizontal representa uma particular importância em algumas explorações.

Estudos Britânicos realizados em explorações com problemas associados ao *N. caninum* revelaram que a seroprevalência em novilhas de 13 a 24 meses de idade era menor comparativamente com as novilhas de 7 a 12 meses e com as vacas com mais de 24 meses. Apesar de serem seronegativas, foi colocada a hipótese, de que as novilhas de 13 a 24 meses estariam congenitamente infectadas, daí a seroprevalência nesta idade ser menor (Dubey *et al.*, 2007). Por outro lado, a recrudescência verificada nas gestações das vacas mais velhas, pode ter explicado a seroprevalência elevada nesta faixa etária (Dubey *et al.*, 2007).

### **11.1.2. Presença de hospedeiros definitivos**

A presença de cães na exploração foi considerada como um factor de risco para a seropositividade dos rebanhos (Dubey *et al.*, 2007). Mesmo que não existam cães na exploração, a presença destes e de fauna silvestre como raposas em locais próximos pode representar um factor de risco. Na Alemanha verificou-se também uma relação positiva entre a densidade populacional dos cães e a seropositividade dos rebanhos em determinadas regiões (Dubey *et al.*, 2007). Segundo Godim e colaboradores (2005), os cães mais novos excretam mais oocistos relativamente aos mais velhos, afirmando também que o facto de introduzir novos cães no rebanho representa um risco de transmissão mais elevado.

### **11.1.3. Outros carnívoros**

Estudos efectuados demonstraram que os gatos não são considerados hospedeiros definitivos para o agente *Neospora caninum*. No entanto, pode existir um factor de protecção associado aos gatos, uma vez que estes são predadores de possíveis hospedeiros intermediários como os ratos. O facto de os gatos eliminarem os

ratos, diminuem assim a probabilidade de uma possível infecção para os hospedeiros definitivos e consequentemente para os bovinos (Dubey *et al.*, 2007).

Presentemente, estudos demonstraram que os coiotes são considerados hospedeiros definitivos e que existe uma relação entre a abundância de coiotes e raposas e a seroprevalência em bovinos de carne na região do Texas (Dubey *et al.*, 2007). O facto de as raposas serem consideradas um hospedeiro definitivo ainda levanta algumas dúvidas, no entanto, estes animais podem representar um grande factor de risco para a seroprevalência dos rebanhos em Portugal.

#### **11.1.4. Presença de outros hospedeiros intermediários**

Para além dos bovinos existem outros hospedeiros intermediários que podem representar uma fonte de infecção para o hospedeiro definitivo. A presença de DNA do parasita em tecidos de ratos infectados, faz com que este seja considerado como uma importante fonte de infecção para os cães. No entanto, existem outros animais que podem representar um risco de infecção para o hospedeiro definitivo, como o coelho, o pato e outras aves de capoeira, devendo por isso ser efectuado um estudo mais aprofundado para confirmar a suspeita (Dubey *et al.*, 2007).

#### **11.1.5. Pasto, forragem e água de bebida**

Os oocistos libertados nas fezes dos cães representam a principal fonte de contaminação do alimento e água que, por sua vez, representam a principal fonte de infecção pós-natal para os bovinos. Pensa-se que os meses de Verão quentes e secos, possam contribuir como um factor de protecção das pastagens, no entanto, não existem estudos que possam confirmar esta suposição (Dubey *et al.*, 2007).

#### **11.1.6. Alimentação com leite ou colostro**

Estudos demonstraram que os vitelos podem ficar infectados ao ingerir leite com taquizoítos. No entanto, devido ao facto de bezerros filhos de mães seronegativas serem amamentados por mães seropositivas e não contraírem a doença, torna esta fonte de infecção questionável (Dubey *et al.*, 2007).

#### **11.1.7. Maneio da época de partos**

No que diz respeito ao maneio dos vitelos, um estudo francês demonstrou que a seropositividade do rebanho é maior em explorações que possuem uma época de partos curta (3 meses) comparativamente com as explorações que possuem uma época de partos longa (3 a 6 ou 6 a 12 meses). (Haskell, 2008; Dubey *et al.*, 2007).

#### **11.1.8. Densidade populacional**

Segundo estudos realizados na América do Norte em vitelos e vacas de aptidão creatopóética, a densidade populacional está inteiramente relacionada com a seropositividade do rebanho. O facto de a densidade populacional ser elevada leva a que os produtores tenham de suplementar os animais com maior regularidade e consequentemente tenham de adquirir condições de armazenamento para esses suplementos, ou seja, o

armazenamento destes suplementos representa um local atractivo para os roedores e consequentemente para os cães que são predadores destes animais. Estes acontecimentos são factores predisponentes para que ocorra a contaminação dos suplementos dos bovinos com fezes de cães contaminadas com oocistos (Dubey *et al.*, 2007).

#### **11.1.9. Tamanho da exploração**

O tamanho da exploração representa outro factor de risco para a seropositividade do rebanho, devido à difícil implementação e controlo de medidas de higiene que visam impedir o contacto com o hospedeiro definitivo. Por este motivo, o conhecimento dos padrões geográficos é essencial para que seja possível desenvolver meios de controlo de uma forma eficaz. (Loobuyck *et al.*, 2009) Para além disto, Dubey (2007) e colaboradores indicaram que a seropositividade é maior, devido ao facto de existirem mais cães em explorações de grande dimensão.

#### **11.1.10. Fonte de reposição de novilhas**

A fonte de reposição de novilhas representa um importante factor de contribuição para a seroprevalência do rebanho, uma vez que a transmissão vertical é bastante eficaz. Este factor leva a que a reposição de novilhas com origem na própria exploração não seja um bom método para reduzir a seroprevalência do rebanho. Por este motivo, as novilhas de reposição devem ser oriundas de explorações que não possuam a doença (Dubey *et al.*, 2007).

#### **11.1.11. Clima**

Pensa-se que as temperaturas possam ter efeitos sobre a esporulação e sobrevivência dos oocistos, uma vez que temperaturas elevadas podem favorecer a esporulação dos oocistos nas pastagens, no entanto, não se conhecem limites estabelecidos (Dubey *et al.*, 2007). Estudos Canadianos foram efectuados numa tentativa de relacionar o efeito do clima e pH do solo com a seropositividade ao agente *N. caninum*, no entanto não foram observados efeitos significativos (Dubey e Schares, 2011). Relativamente à humidade, estudos realizados demonstraram que o risco de aborto foi maior em novilhas e vacas que estiveram sujeitas a uma humidade relativa inferior a 60% durante o segundo trimestre da gestação (Dubey e Schares, 2011).

#### **11.1.12. Vegetação**

Relativamente à vegetação existem dois tipos de opiniões. Uma das opiniões defende que a seropositividade do rebanho diminui com o aumento do índice de vegetação, uma vez que os bovinos deixam de pastar em locais com floresta e folhas largas. Por outro lado, a segunda opinião defende que a seropositividade aumenta com o facto de os animais não pastarem (Dubey *et al.*, 2007).

### **11.1.13.Densidade populacional humana**

A densidade populacional humana também pode representar um factor de risco, uma vez que grandes densidades populacionais levam a que exista conseqüentemente um grande número de cães, que por sua vez, representam por si só um factor de risco para os bovinos (Dubey *et al.*, 2007).

### **11.1.14.Factores relacionados com outros agentes infecciosos**

*N. caninum* é considerado o primeiro agente patogénico, no entanto, existem diversos agentes infecciosos que podem agravar a Neosporose. Na Itália, foi encontrada uma co-infecção com Herpesvírus Bovino tipo 1 (BHV-1) em 27% de uma amostra de 948 animais. Esta co-infecção foi considerada como um potencial factor de risco para a Neosporose bovina (Dubey e Schares, 2011). No Vietname, foi realizado outro estudo numa pequena amostra de animais, no entanto, verificou-se uma forte associação entre a Diarreia Viral dos Bovinos (BVD) e a seropositividade a *Neospora caninum* (Dubey e Schares, 2011).

### **11.1.15.Raça**

Existem diversos estudos que indicam que a seropositividade varia de acordo com a raça em questão, no entanto, estes resultados devem ser analisados com precaução devido aos diferentes maneios implementados em determinadas raças (Dubey *et al.*, 2007).

Santolaria e colaboradores (2011), demonstraram que a raça Limousine apresenta uma seroprevalência mais baixa comparada com outras raças. Além disso, demonstrou que a taxa de aborto é menor em vacas inseminadas ou cruzadas com toiros Limousines (Santolaria *et al.*, 2011). Estes factores remetem para que existam diferenças no que diz respeito à susceptibilidade da doença para as diferentes raças, podendo concluir, no entanto, que a imunidade humoral contra a infecção por *N. caninum* é mais eficaz em bovinos de carne do que em bovinos de leite (Santolaria *et al.*, 2011).

## **11.2. Risco de Aborto**

### **11.2.1. Seropositividade individual**

As vacas seropositivas apresentam um risco maior de aborto comparativamente com as vacas seronegativas, aumentando esse risco quando os níveis de anticorpos específicos contra *N. caninum* estão elevados (Dubey *et al.*, 2007). Sabe-se também que existe uma forte relação entre o nível de anticorpos da mãe e a ocorrência de lesões histopatológicas no feto abortado. Relativamente à infecção pós-natal existe também uma associação entre o nível de anticorpos encontrado e a eficácia de multiplicação do agente (Dubey *et al.*, 2007).

### **11.2.2. Seroprevalência da manada**

Estudos efectuados por Dubey e colaboradores (2007) demonstraram que a elevada seroprevalência no rebanho está intimamente relacionada com o aumento do risco de aborto. No entanto, nem todos os efectivos com elevada prevalência abortam, o que leva a pensar que existem outros factores (para além da infecção) que podem influenciar a ocorrência de aborto.

### **11.3. Factores associados com a reprodução**

#### **11.3.1. História de aborto**

Actualmente sabe-se que as vacas infectadas com história prévia de aborto possuem uma probabilidade maior deste ocorrer comparativamente com as vacas infectadas sem história de aborto. (Dubey *et al.*, 2007). No entanto, Pábon e colaboradores (2007) e Peek (2008) citado por Haskell, defendem que o risco de repetição de aborto na mesma vaca pode ocorrer, mas em pequenas proporções (<5%).

#### **11.3.2. Taxa anual de vacas que retornam ao cio**

Estudos canadianos confirmaram que existe uma relação positiva entre a ocorrência de *N. caninum* e a taxa anual de vacas que retornam ao estro, após a confirmação da gestação. Esta teoria é baseada no facto de os animais infectados experimentalmente no dia 70 pós-inseminação se apresentarem mais susceptíveis ao aborto comparativamente com os animais infectados no dia 140 e 210 pós-inseminação. Contudo, outros estudos indicam que o agente não é capaz de causar morte precoce embrionária (Dubey *et al.*, 2007).

#### **11.3.3. Retenção placentária**

Existem evidências de que a patogénese da retenção placentária está relacionada com a infecção por *N. caninum*, no entanto, são necessários mais estudos para comprovar este factor (Dubey *et al.*, 2007).

## **12. Diagnóstico**

O diagnóstico da Neosporose é caro e difícil de efectuar, uma vez que para além do aborto, as vacas adultas não possuem nenhuma evidência da doença (Dubey e Shares, 2011). No entanto, há que referir que a maioria das infecções congénitas por *N. caninum* não leva ao aborto, verificando-se uma dificuldade acrescida no diagnóstico desta infecção (Jenkins *et al.*, 2002).

É de salientar que 20% dos diagnósticos de aborto associados a *Neospora caninum*, são efectuados pela exclusão de todas as causas de aborto e através da observação de lesões presentes nos fetos abortados (Dubey *et al.*, 2007), por esse motivo, a formulação do diagnóstico deve ter em conta o exame do feto e da placenta



(Antoniassi *et al.*, 2007). Ortega-Mora e colaboradores (2007) sugerem que o diagnóstico de aborto bovino deve consistir em duas fases, sendo que na primeira deve-se examinar o feto, efectuando a pesquisa do agente e, na segunda fase, deve-se proceder à pesquisa de anticorpos contra o parasita nas vacas que abortaram.

A presença do parasita no feto deve ser confirmada através de análises imunohistoquímicas ou por PCR, efectuadas aos tecidos (cérebro, coração e fígado) com lesões presentes. A primeira técnica (imunohistoquímica) tem-se revelado eficaz na identificação de taquizoítos e quistos tecidulares nos tecidos fetais, no entanto, em tecidos autolisados, a especificidade deste teste diminui bastante (Anderson, 2007), sendo por isso o PCR considerado o teste de eleição para pesquisa do agente (Ortega-Mora *et al.*, 2007). A imunohistoquímica representa assim um método eficiente na identificação do agente a partir de tecidos fetais, no entanto, apresenta melhores resultados se a amostra for colhida do cérebro, pulmão, rim, tecido músculo-esquelético e placenta (Anderson, 2007).

Para efectuar exames histopatológicos deve proceder-se também à colheita de amostras do cérebro, coração, fígado, tecido músculo-esquelético e pulmão do feto. Para além destas amostras, é também necessária a colheita de fluidos corporais para efectuar testes serológicos (Antoniassi *et al.*, 2007). O diagnóstico presuntivo desta infecção pode ser feito pela visualização de células inflamatórias mononucleares no coração, músculo e principalmente no encéfalo, uma vez que são achados altamente sugestivos de *Neospora caninum* (Gorbellini *et al.*, 2006), no entanto, a identificação do agente não comprova que o aborto tenha sido causado pelo mesmo (Ortega-Mora *et al.*, 2007). Em situações em que o feto se apresenta muito autolisado, é essencial que seja feita uma associação entre as lesões encontradas como focos de necrose no pulmão e a observação de células inflamatórias mononucleares para se poder efectuar o diagnóstico (Antoniassi *et al.*, 2007).

As análises serológicas constituem um importante meio de diagnóstico, uma vez que possuem a vantagem de poder ser utilizadas antemortem e obter informações sobre o estadió da infecção (Dubey e Schares, 2006).

Presentemente existem diversas técnicas serológicas disponíveis para efectuar o diagnóstico da Neosporose, nomeadamente: ELISA, *immunoblotting* (IB), imunofluorescência indirecta (IFAT) e a aglutinação directa (Ortega-Mora *et al.*, 2007). Estes testes encontram-se disponíveis e permitem confirmar a presença de anticorpos contra *Neospora caninum* nos fetos abortados (fluidos fetais) (Ortega-Mora *et al.*, 2007). Em animais vivos, o diagnóstico só pode ser efectuado a partir da detecção de anticorpos contra o agente, no leite e no soro (Ortega-Mora *et al.*, 2007).

As técnicas de ELISA e IFAT permitem efectuar a detecção de anticorpos no soro, bem como em amostras de leite individuais e a todo o efectivo. Estes testes são considerados ideais para a identificação de rebanhos infectados (Radostits *et al.*, 2002), no entanto, possuem limitações no que diz respeito à sensibilidade, especificidade e confiança dos resultados (Borsuk *et al.*, 2011). Estudos demonstraram que o método ELISA tem um poder discriminativo baixo, embora seja uma técnica de diagnóstico indicada quando se trata de um grande número de amostras. O método de ELISA que utiliza a proteína recombinante de *N. caninum* demonstrou ter maior sensibilidade e especificidade do que quando utiliza a lise total de taquizoítos (Radostits *et al.*, 2002). A técnica de ELISA indirecta demonstrou ser útil na análise ao soro e ao leite,

(Bartels *et al.*, 2006) representando assim uma alternativa barata para monitorizar a seroprevalência do rebanho (Dubey *et al.*, 2007).

O *immunoblotting* (IB) é um método de diagnóstico bastante seguro que possui elevada sensibilidade e especificidade para a detecção de antígeno/anticorpo, sendo amplamente utilizado para avaliar a performance dos ensaios serológicos (Hu *et al.*, 2011). Estudos efectuados por Hu e colaboradores (2011) demonstraram que o *immunoblotting* possui maior sensibilidade que o método ELISA. O estudo foi efectuado em 52 animais, onde 50 foram identificados como positivos pelo IB, ao passo que pela técnica de ELISA, foram identificados como positivos 48 animais (Hu *et al.*, 2011). A pesquisa de antígeno pode ser efectuada apenas a partir de novas técnicas de diagnóstico, como por exemplo o PCR (Radostits *et al.*, 2002). A técnica de PCR tem sido descrita como um teste que possui elevada sensibilidade e especificidade na identificação do DNA do parasita ou mesmo do parasita em si em tecidos cerebrais, placentários e sangue. O PCR possui elevada importância na medida em que permite associar os seus resultados com achados histopatológicos (Sager *et al.*, 2011). No que diz respeito à sensibilidade, o PCR foi considerado mais sensível do que a imunohistoquímica na identificação da infecção fetal (Anderson, 2007).

Geralmente, as vacas que abortam um feto infectado apresentam títulos de anticorpos elevados, diminuindo esses títulos durante vários meses após o aborto ter ocorrido. O feto infectado, por sua vez, pode apresentar títulos negativos de anticorpo, devido à idade gestacional, duração da infecção e estado de autólise. Por conseguinte, um título fetal negativo não exclui a infecção e um título positivo não prova que esta infecção foi responsável pelo aborto. A serologia pode então ser utilizada no rebanho para investigar a associação entre a seropositividade e o aborto, comparando os resultados entre as vacas que abortaram e as que não abortaram, estimando assim se os abortos são atribuídos ao agente em questão (Anderson, 2007).

### **13. Prevenção e controlo**

A Neosporose é uma afecção que causa diversas perdas económicas para o produtor, tanto a nível directo como a nível indirecto. Os custos directos estão relacionados com a perda fetal (valor do vitelo, mais valor diário do intervalo entre partos), ao passo que os custos indirectos estão relacionados com as despesas efectuadas com o diagnóstico da doença, com perdas na produção de leite e com custos de reposição (se o produtor efectuar o refúgio das vacas que abortaram) (Dubey e Schares, 2011).

Para prevenir a infecção de um rebanho que não possua a doença, as medidas de biossegurança são essenciais, no sentido de evitar que o parasita entre na exploração. Por outro lado, nas explorações seropositivas, o objectivo consiste em diminuir a transmissão horizontal, através do controlo do HD e, diminuir a transmissão vertical, eliminando os animais seropositivos (Dubey *et al.*, 2007).

Ortega-Mora e colaboradores (2007) sugeriram que as medidas de controlo da doença devem ser efectuadas tendo em conta um conjunto de procedimentos importantes tais como: medidas de higiene; medidas de manejo reprodutivo; vacinação e testagem e abate de animais seropositivos (Reichel e Ellis, 2008).

As medidas de higiene são de extrema importância e devem incluir técnicas como a prevenção dos solos

a água pelo H.D, eliminação de fetos abortados e outros tecidos contaminados, e controlo do rodenticidas. Por conseguinte, devem ser criadas condições para que as pastagens e os cursos de água onde as vacas se alimentam, não sejam acessíveis aos cães e outros hospedeiros definitivos, de modo a evitar a contaminação destes recursos com oocistos eliminados nas fezes. No entanto, em regimes extensivos a presença de cães domésticos pode ser benéfica, uma vez que inibem a presença de cães vadios e silvestres que possam aproximar-se (Dubey *et al.*, 2007). Materiais como a placenta, bezerros mortos e fetos abortados devem ser eliminados adequadamente de modo que o hospedeiro definitivo não possa ingerir estes materiais, evitando assim a continuidade do ciclo do parasita (Radostits *et al.*, 2002).

Medidas de controlo de combate aos roedores devem também ser implementadas regularmente, numa tentativa de reduzir um potencial risco destes animais como reservatório da doença (Ortega-Mora *et al.*, 2007).

No que diz respeito às medidas de manejo reprodutivo, podem ser utilizadas técnicas como a transferência de embriões e inseminação artificial de vacas seropositivas com sêmen de touros de aptidão creatopoética (Ortega-Mora *et al.*, 2007).

A transferência de embriões tem sido descrita como bastante eficaz no controlo da doença, no entanto, este procedimento só tem resultados positivos se a transferência for feita de mães seropositivas para receptoras seronegativas. Este processo permite prevenir a infecção transplacentária endógena, dando oportunidade de haver recuperação da descendência de uma mãe seropositiva com elevado valor genético (Dubey e Schares, 2011).

No que refere à inseminação artificial, estudos realizados em Espanha demonstraram que o aborto é significativamente menor em vacas múltiparas e novilhas inseminadas com sêmen de toiros de aptidão creatopoética relativamente aos toiros Holstein-Friesian (Dubey e Schares, 2011), talvez devido ao efeito favorável que uma gravidez cruzada possui no funcionamento da placenta (Ortega-Mora *et al.*, 2007), visto que as concentrações plasmáticas da glicoproteína tipo-1 aumentam, traduzindo-se este aumento como um indicador de bem-estar da placenta e do feto (Santolaria *et al.*, 2011).

A presença de vacas infectadas na exploração deve ser considerada como um reservatório da doença, que pode permitir que esta se dissemine lentamente através da transmissão transplacentária endógena ou rapidamente, através da transmissão horizontal, ou seja, através da ingestão de água e alimentos contaminados. Como consequência da permanência destes animais na exploração, o produtor pode optar por remover os animais infectados ou a sua descendência (Ortega-Mora *et al.*, 2007). O controlo sorológico anual representa assim uma medida útil no controlo da Neosporose bovina. Dubey e colaboradores (2011), sugeriram um protocolo de controlo que consiste nas seguintes opções: refugio das vacas seropositivas ou das vacas seropositivas com história de aborto, inseminação de vacas seropositivas com sêmen de toiros de aptidão cárnea ou exclusão de novilhas de descendência seropositiva para reposição do efectivo. No entanto, como já foi referido, os custos destes procedimentos são elevados, devendo por isso proceder-se a uma avaliação de custo-benefício. Medidas como o refugio de animais seropositivos com história de aborto e o refugio de vacas de descendência seropositiva não mostraram ser rentáveis, no entanto, em explorações onde a seroprevalência é superior a 50%, a última medida (exclusão de novilhas de descendência seropositiva para

reposição do efectivo) apresentou-se financeiramente atractiva (Dubey e Schares, 2011). Por conseguinte, se a seroprevalência na exploração for baixa, pode pensar-se no refugio dos animais infectados como uma boa medida de controlo. No entanto, em explorações onde a prevalência é elevada, esta medida fica inviabilizada por motivos económicos (Radostits *et al.*, 2002). Sempre que o refugio seja efectuado e o produtor tenha de repor animais, estes devem ser provenientes de explorações seronegativas. Os bezerros infectados congenitamente podem ser identificados também por controlo serológico na fase pré-colostral, dando oportunidade de refugar estes animais numa fase precoce. Após esta fase, o controlo serológico pode ser efectuado aos seis meses, no entanto, os títulos de anticorpos são igualmente indicadores de infecção pós-natal ou congénita (Radostits *et al.*, 2002).

Actualmente não existe vacina (viva ou recombinante) comercial disponível para a Neosporose, estando a decorrer estudos sobre a eficácia de vacinas vivas e recombinantes (Dubey e Schares, 2011). Estudos realizados sobre a inoculação de vacinas mortas indicam que há um desenvolvimento de imunidade humoral e celular (Dubey e Schares, 2011), no entanto, outros estudos indicam que a vacinação com Bovilis Neoguard® (Intervet) (vacina morta), apresenta uma eficiência limitada, uma vez que a taxa de aborto fica reduzida em apenas 50% (Reichel e Ellis, 2008).

Experiências recentes demonstraram que a inoculação de taquizoítos vivos em vacas que contraíram a infecção por via exógena, pode prevenir a morte fetal dos bezerros, no entanto, esta protecção não se verificou em vacas que contraíram a infecção por via endógena (Dubey e Schares, 2011). Presentemente encontra-se em estudo a formulação de uma vacina com o antigénio NcCyp, que demonstrou para já ser eficiente na protecção contra a infecção por *N. caninum* em ratos. O efeito protector do antigénio será confirmado se os resultados da experiência que se encontra a decorrer em ovelhas, se revelar eficaz na protecção contra o aborto e contra a transmissão vertical (Tuo *et al.*, 2011). Na Europa ainda não se encontra qualquer tipo de vacina disponível (Dubey *et al.*, 2007).

## **14. Tratamento**

Actualmente não existe tratamento seguro e eficaz contra a neosporose bovina (Dubey e Schares, 2011).

No entanto, estudos realizados demonstraram o efeito do toltrazuril e do ponazuril sobre os taquizoítos *in vitro* e *in vivo* em ratos e em bezerros. Nos bezerros tratados com o segundo fármaco, verificou-se que a presença do parasita deixou de ser detectável no cérebro e noutros órgãos após o tratamento. (Dubey e Schares, 2011). Nos ratos experimentalmente infectados, foram obtidas evidências de que o tratamento com toltrazuril poderá ser capaz de bloquear a infecção ocorrente através da transmissão transplacentária endógena (Ortega-Mora *et al.*, 2007).

## VI - Caso Clínico

O caso clínico que a seguir se descreve foi seleccionado devido ao facto de apresentar diversas situações de interesse para a estagiária, tais como: problemas de manejo, problemas relacionados com os touros, presença do agente *N.caninum* entre outros agentes infecciosos abortivos e, porque, devido à sua natureza multifactorial, permitiram a aplicação de vários conceitos e competências adquiridos durante o Curso.

### 1. Caracterização do efectivo

A exploração localiza-se no concelho de Coruche, na freguesia de Santana do Mato. Actualmente, esta conta com um efectivo bovino de 108 animais, dos quais 106 fêmeas em produção e 2 machos reprodutores. As fêmeas são “cruzadas de carne” e os machos são de raça Limousine. Os touros acompanham a vacada todo o ano e presentemente não existe separação das novilhas de substituição, havendo portanto uma vacada única.

A exploração em questão pratica o regime extensivo e dedica-se à produção e venda de vitelos ao desmame. Diariamente, a vacada é conduzida ao pasto pelo maioral da exploração, que assume a responsabilidade da escolha das pastagens a percorrer ao longo do ano, tentando gerir da melhor forma as pastagens disponíveis. O maioral possui ainda cães que o auxiliam nesta tarefa diária, funcionando estes como uma ajuda para guardar e conduzir a vacada.

Os partos ocorrem ao longo de todo o ano, não existindo uma época de partos bem definida. No entanto, verifica-se uma maior concentração durante os meses de Janeiro a Abril. A cobrição ocorre também ao longo de todo o ano. Actualmente, não existem quaisquer programas de indução ou sincronização deaios, ocorrendo a beneficiação por monta natural.

A alimentação dos animais consiste no aproveitamento das pastagens naturais disponíveis e, nas épocas de maior escassez de alimento (Setembro, Dezembro) é disponibilizado feno aos animais. O abeberamento é feito em cursos de água naturais, como pequenas ribeiras, charcas ou bebedouros providenciados pelo proprietário.

A nível sanitário, a exploração possui um estatuto de Oficialmente Indemne, o que significa que tem uma classificação de T3, B4, L4.

O programa sanitário da exploração é realizado no início do mês de Outubro e é constituído pelas seguintes intervenções:

- Plano sanitário obrigatório para manutenção da classificação sanitária (animais com mais de 12 meses). Este plano compreende: prova da Intradermotuberculinação comparada e colheita de amostras de sangue para pesquisa de Brucelose e Leucose Enzoótica Bovina. Uma vez, que o efectivo possui o estatuto de L4, apenas os animais com mais de 24 meses de idade são sujeitos à pesquisa de Leucose Enzoótica Bovina.
- Profilaxia vacinal contra as Clostridioses com vacina multivalente (Covexin 8® Schering-Plough Animal Health) e desparasitação anual parentérica (Ivomec F® Merial).

O desmame dos vitelos é feito sensivelmente pelos sete meses de idade, sendo estes separados das mães e colocados numa cerca à parte, onde possuem alimento composto farinado e feno á disposição para

posteriormente serem vendidos.

O refugio das vacas é baseado em animais não férteis ou em animais que não possuem leite suficiente para criar os vitelos. No entanto, esta eliminação (venda) é efectuada ocasionalmente, verificando-se assim a permanência na exploração de alguns animais pouco ou nada produtivos durante longos períodos de tempo. Quando se procede à venda destes animais, são seleccionadas novilhas para ficarem como fêmeas de substituição.

Em relação à presença dos touros, estes permanecem na exploração enquanto se manifestarem produtivos. No que diz respeito às fêmeas, estas mantêm-se na exploração até ao final da sua vida, a menos que sejam detectados problemas (anteriormente enumerados) que conduzam ao seu refugio.

## **2. História da exploração**

Actualmente, a exploração depara-se com diversos problemas no que diz respeito ao nível produtivo da vacada. Apesar de possuírem alguns registos dos últimos anos no que diz respeito aos partos e ao número de vitelos desmamados, estes nunca foram estudados exhaustivamente pelo produtor, não possuindo este a noção do intervalo entre partos da vacada e da taxa de aborto da mesma. No entanto, devido ao facto da produtividade numérica anual (PNA) ser baixa, foi feita uma análise dos registos existentes e verificou-se um intervalo entre partos (IEP) muito aumentado e uma taxa de aborto preocupante tendo, por isso, sido solicitada a intervenção do Médico Veterinário.

Segundo o maioral da exploração, no ano em que ocorreu este caso clínico (2011) abortaram 11 animais num período de tempo de três meses (Fevereiro a Abril). Segundo este, os abortos ocorreram em qualquer fase da gestação, existindo no entanto, uma maior concentração no segundo terço da mesma. Foi ainda referido que sempre ocorreram abortos, mas este ano o número tem sido mais elevado e que algumas vacas retornam ao cio poucos meses depois de terem sido cobertas. Por último, o maioral alertou para o facto de que um dos touros não consegue executar eficazmente a monta, pois ao saltar sobre a vaca em cio ocorre o desvio do pénis, não se dando a penetração.

O proprietário, por sua vez, referiu ainda que comprou cerca de 20 novilhas prontas para cobrição noutra exploração e dois touros há cerca de três anos. No entanto, os abortos verificaram-se tanto na vacada mais antiga, como nesta nova vacada. A principal queixa do proprietário é o facto do número de vitelos desmamados ser baixo para o pretendido.

Em relação ao plano profilático, conforme descrito anteriormente, os animais eram apenas vacinados contra as Clostridioses.

## **3. Abordagem/Diagnóstico**

Tendo em conta a situação, o caminho mais adequado na busca do diagnóstico seria recorrer à colheita de amostras de sangue das vacas que abortaram e enviar o feto e a placenta para análise laboratorial. No entanto, o produtor só posteriormente aos abortos recorreu ao MV, não existindo portanto essa possibilidade.

Como tal, por sugestão do MV assistente da exploração foi realizada em primeira instância uma análise dos

registros existentes para melhor compreensão dos índices produtivos da vacada. Após esta análise, verificou-se que a média do IEP da exploração era de 544 dias, muito acima dos desejados 365 dias. Para além deste factor, calculou-se também a produtividade numérica anual (PNA) pela seguinte fórmula:

$$\text{PNA} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de vitelos desmamados}}{\text{N}^\circ \text{ de fêmeas em reprodução}} \times 100$$

Da análise destes dados, verificámos que a produtividade numérica anual foi 48,5%. Este parâmetro é fácil de calcular e possui uma ligação directa com a receita da vacada, o que é muito importante para o produtor. Para além disso, é um parâmetro global, que nos alerta para a existência de problemas na vacada. Em consequência o veterinário recomendou que fossem efectuados os seguintes procedimentos:

- Observação e análise laboratorial do feto e placenta de algum animal que pudesse abortar entretanto
- Colheita de sangue a uma amostra da vacada para pesquisa de agentes infecciosos abortivos
- Exame andrológico aos touros
- Diagnóstico de gestação para avaliar o número de vacas gestantes no momento

## 4. Resultados

### 4.1. Serologia

Segundo os sinais clínicos descritos pelo proprietário e pelo maioral, o MV achou pertinente efectuar um rastreio sorológico (ELISA) de IBR, BVDV, *Neospora caninum* e *Leptospira* spp) à vacada. A amostra correspondeu a 9,5% do rebanho (10 animais) tendo-se incluindo na pesquisa vacas que haviam abortado e outras que não haviam abortado, procurando também incluir animais de diferentes faixas etárias. Os resultados confirmaram as suspeitas, verificando-se que numa amostra de 10 animais, 7 apresentaram resultados positivos ao vírus do IBR e ao protozoário *N. caninum*, enquanto 2 apresentaram resultados positivos à bactéria *L. hardjo* e 1 apresentou resultado positivo ao vírus do BVD. Nesta amostra, houve ainda 5 animais, que apresentaram simultaneamente resultados positivos ao vírus de IBR e ao Protozoário *N. caninum* (Tabela11).

Tabela 11 – Resultados das análises efectuadas. (Ac-anticorpos)

Nº amostra	Nº casa	Idade (anos)	BVD- Ac	IBR - Ac	<i>Neopora caninum</i> – Ac	<i>L. hardjo</i> - Ac
1	101	4	Neg	Neg	Neg	Neg
2	74	5	Neg	Pos	Neg	Neg
3	134	4	Neg	Neg	67,8% Pos	Pos
4	45	4	Neg	Neg	26,7% Pos	Neg
5	88	11	Neg	Pos	71,1% Pos	Neg
6	107	4	Neg	Pos	35,2% Pos	Neg
7	73	9	Neg	Pos	53,1% Pos	Neg
8	18	8	Neg	Pos	41,4% Pos	Neg
9	82	14	Pos	Pos	Neg	Pos
10	53	9	Neg	Pos	32,7% Pos	Duv
<b>Total de animais Positivos</b>			<b>1</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>2</b>

Relativamente à prevalência, pode-se verificar que numa amostra de 10 animais, 70% apresentaram resultado positivo para IBR e *Neospora caninum*, 20% apresentaram resultado positivo para *Leptospira* sp. e apenas 10% apresentaram resultado positivo para BVD (Gráfico 11).

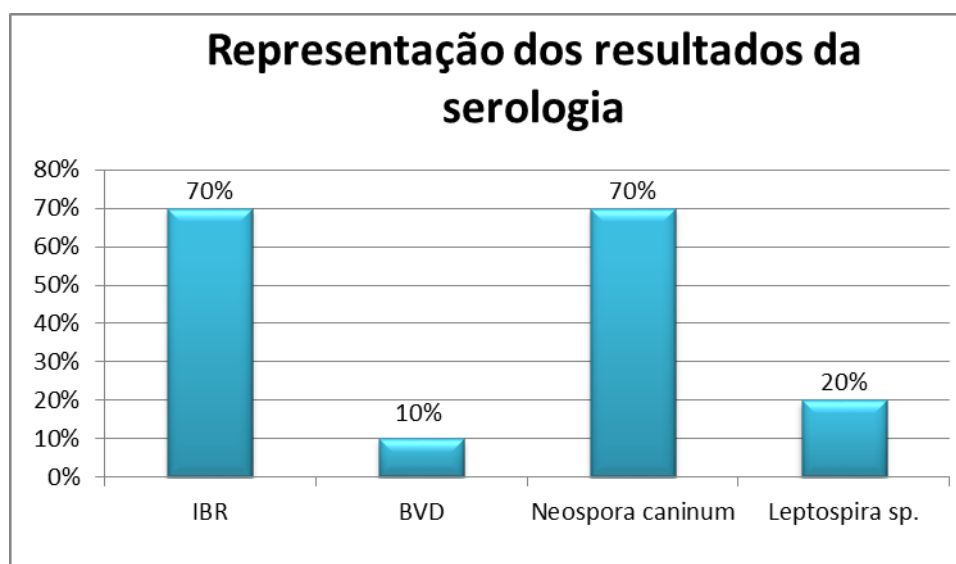


Gráfico 11- Representação dos resultados da serologia



## 4.2. Exames andrológicos

Os exames andrológicos (Figura 13) foram efectuados de modo a avaliar a potencialidade reprodutiva dos touros. Para realizar este exame, os touros foram sujeitos a cerca de 15 dias de descanso, ficando estes separados da vacada.

No decorrer do exame andrológico, e na sequência da colheita de sémen, verificou-se na exteriorização do pénis que um dos toiros apresentava uma anomalia denominada de pénis em saca-rolhas. Esta condição manifestada por um desvio do pénis, resulta numa falha em conseguir efectuar a penetração (Hafez e Hafez, 2004) aquando a cobrição, facto confirmado pelo maiorial.



Figura 13 - Medição da circunferência escrotal

Este animal foi considerado inapto para realizar as suas funções como reprodutor.

O segundo touro apresentava parâmetros considerados normais no espermograma, no entanto, exibia um edema a nível da porção distal do pénis, possivelmente, de origem traumática, sendo aconselhado ao produtor o tratamento imediato deste touro. Por conseguinte, concluiu-se que este touro não se encontrava apto a cobrir no imediato, havendo alguma expectativa que pudesse recuperar, sendo classificado como questionável devido à situação identificada.

Este animal deveria então ser reavaliado 4 a 8 semanas depois. As figuras seguintes ilustram alguns dos procedimentos efectuados nos exames andrológicos.



Figura 14 - Recolha de sémen obtido por electroejaculação



Figura 15 – Avaliação microscópica da motilidade individual dos espermatozóides, no ejaculado colhido

## 5. Medidas adoptadas

Após terem sido efectuados todos os passos acima indicados e analisados e integrados os resultados obtidos, foi proposto ao proprietário que efectuasse a vacinação (contra IBR, BVD, *Leptospira spp*) de todo o efectivo com carácter imediato, de modo a tentar reduzir a incidência dos abortos e iniciar desde logo o combate à livre propagação das doenças infecciosas identificadas.

Por conseguinte, como medida inicial e tendo como objectivo imediato melhorar os índices produtivos da exploração e iniciar o processo de estabilização e posterior controlo das doenças identificadas e suas consequências, o proprietário foi então aconselhado a vacinar o efectivo com a vacina Triangle® 9 (Fort Dodge®), que é uma vacina inactivada que possui acção contra o vírus do IBR, BVD, PI3, BRSV que também actua contra 5 géneros de Leptospiras, nomeadamente, *L.pomona*, *L. hardjo*, *L.grippotyphosa*, *L. canicola* e *L. icterohaemorrhagiae*. No entanto, a vacina encontrava-se esgotada e foi necessário efectuar outra escolha. Uma vez que apenas dois animais apresentavam resultado positivo à Leptospirose e também como não existia disponibilidade do mercado em fornecer outra vacina contra a doença (Leptavoid® Schering-Plough) que se pudesse associar à Hiprabovis 4® (Hipra), optou-se por utilizar a Hiprabovis 4® (Hipra) isoladamente, uma vez que é uma vacina inactivada eficaz contra o vírus do IBR, BVD, PI3 e BRSV. A vacinação foi então efectuada em todo o efectivo, procedendo-se após três semanas à respectiva revacinação.

Em relação aos touros, foi sugerido o refugo e a substituição do primeiro touro devido à anomalia congénita que este apresentava. Com a substituição deste, foi dito ao proprietário que seria imprescindível adquirir um novo touro para a vacada ou mesmo dois. O produtor foi ainda alertado sobre a importância da realização do exame andrológico, bem como o rastreio de doenças de incidência produtiva, nomeadamente o IBR, BVD-PI, *Leptospirose spp* e Neosporose bovina ou outras cuja proveniência do touro assim o indicasse no acto de compra do animal. No que diz respeito ao segundo touro, foi efectuado tratamento imediato que consistiu na administração de um anti-inflamatório corticosteroíde de acção rápida (dexametasona) (Vetacort® Vetoquinol) e Vitamina E e selénio (Duphafra vit-E e selénio® Fort Dodge). Este segundo touro, ficou sujeito a nova avaliação na expectativa de comprovar se estaria apto a cobrir aquando do novo exame andrológico.

No que diz respeito à presença de *Neospora caninum* na exploração, foi sugerido ao produtor que se estabelecessem medidas higio-sanitárias rígidas de controlo da mesma como: eliminação dos materiais provenientes do aborto, como placenta e o próprio feto; rotação das pastagens; testagem de animais presentes na exploração e refugo dos mesmos, assim que possível, testagem dos cães do maioral e impedimento do acesso destes aos cursos de água e zonas de alimentação dos bovinos

## VII. Discussão

Nas palavras sempre realçadas do Dr. Luís Fragoso, para o sucesso produtivo de uma exploração três parâmetros essenciais não podem ser descurados: Nutrição, Profilaxia Sanitária e Reprodução.

No que diz respeito à nutrição aquando da visita à exploração verificou-se que os animais em questão apresentavam em geral uma boa condição corporal, excluindo portanto este factor como causa determinante do insucesso produtivo da mesma.

No que diz respeito à profilaxia sanitária, foram identificados vários problemas que poderiam estar na origem dos problemas produtivos da exploração, nomeadamente a presença de agentes abortivos. Relativamente a estes agentes, observou-se que não existe apenas um, mas sim uma associação de vários agentes responsáveis, sendo eles: IBR, BVD, *Neospora caninum* e *L. hardjo*. Havendo ainda a considerar a possibilidade de existirem outros agentes etiológicos envolvidos e por diagnosticar, no entanto devido aos custos de identificação (directos e indirectos), não se equacionou nesta primeira fase a possibilidade de efectuar a pesquisa de outros agentes. Os agentes identificados estão na origem dos abortos ocorridos e também na origem do IEP aumentado, uma vez que alguns deles podem causar absorção fetal.

Perante esta situação, foi essencial tomar medidas profiláticas como a vacinação do efectivo para os agentes acima mencionados. O médico veterinário sugeriu que fosse efectuada a vacinação com a vacina Triangle 9® (Fort Dodge®). No entanto, como não havia disponibilidade do mercado e o objectivo imediato era melhorar os índices produtivos da exploração e o controlo da excreção, circulação e disseminação dos agentes no efectivo, optou-se pela Hiprabovis 4® (Hipra®) que possui valências para o IBR, BVD, PI3 e BRSV. Dada a natureza da vacina utilizada na primo-vacinação e à pressão dos agentes infecciosos entretanto identificados, foi também recomendado pelo MV que o efectivo fosse vacinado semestralmente de forma a manter os níveis de anticorpos elevados e de forma a imunizar adequadamente as novilhas de substituição antes da sua entrada para o efectivo de reprodução. A revacinação passaria a ser anual quando os índices de fertilidade da vacada e o IEP apresentassem níveis aceitáveis. Para além destes factores, a vacinação dos novos touros não pode ser descurada e deve ser implementado um sistema de monitorização destas doenças sobre todo o efectivo, de modo a adequar atempadamente o processo vacinal.

Relativamente à reprodução, os exames andrológicos representam uma mais-valia assinalável, pois a presença de touros estéreis ou subférteis na exploração resulta em perdas na produção e consequentemente, prejuízos para o produtor. O ideal é proceder a um exame andrológico anual antes de o touro entrar na época de cobrição, de modo a verificar se este apresenta parâmetros compatíveis com uma fertilidade normal e por conseguinte, apto para a cobrição. O facto de existir um touro subfértil com a agravante de este ser o macho dominante, contribuiu também de forma decisiva para o número reduzido de bezerras, pois um touro para um efectivo de 106 vacas em produção é manifestamente pouco para se atingir valores aceitáveis de IEP e bons índices de fertilidade na vacada. Situações destas podem ser evitadas se o exame andrológico for realizado antes da aquisição de um novo reprodutor, antes da época de cobrição e, sempre que se verificarem alterações negativas nos parâmetros reprodutivos do efectivo ou observações na manada de comportamentos

alterados que possam ser atribuídos ao touro.

Relativamente à Neosporose, nesta exploração há claramente uma associação entre as duas formas de transmissão actualmente conhecidas (vertical e horizontal). Tal como os estudos indicam, a transmissão vertical é considerada a mais importante, no que diz respeito à permanência da infecção na exploração (Trees & Williams, 2005). No entanto, outros estudos comprovam que a infecção dos efectivos com *N. caninum* não se sustenta sem transmissão horizontal (Ortega-Mora *et al.*, 2007). Neste caso específico, provavelmente a via mais importante de transmissão da doença será a transmissão transplacentária endógena, uma vez que o efectivo reprodutor de substituição (novilhas) tem origem na mesma exploração, ou seja, existe uma grande possibilidade das novilhas de substituição estarem congenitamente infectadas, sendo capazes de transmitir a infecção à próxima geração, mantendo assim a doença na exploração. Por outro lado, o facto dos cães se encontrarem juntos com o efectivo, reforça a ideia de Ortega-Mora e colaboradores (2007) que referem que a infecção por *N. caninum* não é sustentável se não ocorrer exposição do HI ao agente, ou seja, se não ocorrer transmissão horizontal através da ingestão de alimentos ou água contaminada com oocistos. Na exploração em questão existe ainda a possibilidade de existir um ciclo selvático, devido à presença de raposas no local.

Os abortos verificados neste caso, possivelmente foram de carácter epidémico, uma vez que 10% dos animais abortaram num curto espaço de tempo (Dubey & Schares, 2011). No entanto, o vaqueiro descreveu que os animais costumam abortar esporadicamente (sem que os conseguisse quantificar), nunca se verificando um surto deste nível. Isto sugere que os abortos ocorridos desde sempre na exploração possam ser de carácter endémico. Esta suposição é reforçada por Anderson (2007) que considera aborto de carácter endémico quando 5% dos animais aborta num longo espaço de tempo. No entanto, a presença de outros agentes abortivos não pode ser descorada, tendo para alguns dos agentes sido estabelecido um plano de vacinação e devendo ser levada em conta também outras etiologias de aborto, sempre que estes ocorram.

Nesta exploração, ficou explícito que a implementação de regras higio-sanitárias para minimizar a propagação do agente é crucial para o controlo desta parasitose. Não foi possível implementar o refugo de animais seropositivos, devido aos custos que este processo implicaria para o produtor. Como tal, foi indicado que se procedesse ao envio para o laboratório dos materiais provenientes do aborto, como placenta e o feto, com o objectivo de pesquisar outros agentes, devendo posteriormente proceder-se à eliminação destes materiais. Para além destas medidas existem outras, como a rotação das pastagens e a testagem de animais adquiridos noutras explorações, devendo o produtor certificar-se sempre se esses animais estão livres da infecção por *N. caninum* antes de adquirir algum animal.

Uma vez que o cão é o responsável pela libertação das formas infectantes através das fezes, seria ideal que estes não tivessem acesso aos materiais provenientes do aborto, ou a cadáveres de bovinos, bem como, às pastagens e aos cursos de água onde os bovinos regularmente permanecem. No entanto, nesta exploração, este procedimento não é viável, pois os cães representam uma ajuda essencial para o vaqueiro, auxiliando-o na condução do rebanho. Contudo, os cães presentes na exploração não apresentavam sinais de Neosporose canina descritos em cães adultos, como envolvimento do sistema nervoso central (cegueira, convulsões, tremores, alterações de comportamento), poliomiosite e miocardite, sendo que nem sempre estão presentes no hospedeiro definitivo. No entanto, não foram realizados teste de diagnóstico para confirmar esta hipótese.

O diagnóstico poderia ter sido efectuado através de testes serológicos (IFA, ELISA, imunoprecipitação) de fluido cérebroespinal ou soro e através da pesquisa do oocistos nas fezes destes (Haskell, 2008).

A estagiária pôde então concluir que nesta exploração a causa da produtividade baixa e do número de abortos elevado, é multifactorial, existindo uma associação de diversos factores e agentes etiológicos, sendo a infecção por *Neospora caninum* um importante factor a considerar.

## VIII. Conclusão

A realização do estágio em sanidade e clínica das espécies pecuárias, revelou um conjunto de mais valias para a estagiária, facilitando a consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo de 5 anos de curso.

Ao longo dos 4 meses, a estagiária lidou com a actividade clínica e sanitária exercida pelo MV das grandes espécies, adquirindo experiência nas diferentes áreas de trabalho.

No decorrer do tempo, a estagiária deparou-se com variadas situações que lhe permitiram adquirir prática e experiência de modo a escolher os melhores métodos de abordagem para cada caso.

A dedicação, vontade de ensinar e o bem receber do MV, bem como auxiliares e grupo de trabalho, foram essenciais para a boa integração da estagiária e para o processo de aprendizagem desta. Por este motivo, a estagiária esforçou-se ao máximo, para conseguir acompanhar o ritmo diário do Médico Veterinário, mostrando-se sempre disponível para ajudar nas mais variadas tarefas.

A casuística observada em sanidade animal, foi a principal actividade realizada, revestindo-se de uma grande importância no que diz respeito à aprendizagem das obrigações e competências do MVE/MVC e ADS/OPP.

Presentemente, a clínica das grandes espécies é direccionada profilaticamente para o grupo e não para um animal individual, deste modo, é bastante importante que o MV saiba aconselhar o produtor estabelecendo um plano profilático para cada exploração.

O facto de os bovinos de carne se encontrarem essencialmente em regime extensivo e explorados ainda em regime tradicional, faz com que por vezes o produtor não preste a adequada atenção para os índices produtivos da sua exploração.

Actualmente, a sobrevivência a partir dos lucros conseguidos de uma exploração de carne torna-se cada vez mais difícil para o produtor, sendo por este motivo essencial que determinados parâmetros como a sanidade, reprodução e nutrição estejam em equilíbrio, de modo a alcançar uma boa produtividade do rebanho.

Para melhorar a produtividade do rebanho é essencial que sejam cumpridas determinadas medidas como a análise e registo dos partos (intervalos entre partos, retorno ao cio, abortos, número de vitelos desmamados). Estes representam a base para o sucesso produtivo, uma vez que a partir destes, o MV consegue compreender as deficiências produtivas da exploração, podendo assim estabelecer um plano terapêutico ou profilático ou ainda sugerir a alteração de regras de manejo inadequadas.

Grande parte das explorações que apresentam insucesso produtivo, podem devê-lo à presença de doenças infecciosas como IBR, BVDV, Leptospirose, Neosporose, entre outras. Perante esta realidade, o MV deve

sugerir a implementação de medidas de controlo (testes de diagnóstico, vacinações, refugo de animais) de modo a tentar erradicar ou controlar estas doenças nas explorações. Para além da pesquisa de agentes infecciosos é também importante que sejam efectuados exames reprodutivos aos machos e às fêmeas de modo a identificar animais problema. Esta realidade foi crucial para a escolha do tema deste relatório.

## IX. Bibliografia

A. J. (2001) *Neospora caninum* in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *The Veterinary Record*. 149, 443-449.

ADS Baixo Tejo (2009a) Acedido em Maio, 15, 2011, disponível em: [www.adsbaixotejo.com/about.aspx](http://www.adsbaixotejo.com/about.aspx)

ADS Baixo Tejo (2009b) Acedido em Maio, 15, 2011, disponível em: [adsbaixotejo.com/Pdfs/Divulgações/20%20ANOS%20DE%20ADS%20DO%20BAIXO%20TEJO.pdf](http://adsbaixotejo.com/Pdfs/Divulgações/20%20ANOS%20DE%20ADS%20DO%20BAIXO%20TEJO.pdf)

Almería, S., Araujo, R., Tuo, W., López-Gatius, F., Dubey, J. P., Gasbarre, L. C. (2010) Fetal death in cows experimentally infected with *Neospora caninum* at 110 days of gestation. *Veterinary Parasitology*. 169, 304-311.

Anderson, M. L., Andrianarivo, A. G., Conrad, P. A. (2000) Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*. 60-61, 417-431.

Anderson, M. L. (2007) Infectious causes of bovine abortion during mid-to late-gestation. *Theriogenology*. 68, 474-486.

Antoniassi, N.A.B.; Santos, A.S.; Oliveira, E.C.; Pescador, C.A.; Driemeier, D. (2007) Diagnóstico das causas infecciosas de Aborto em Bovinos. *Biológico*, São Paulo. 69, 69-72.

Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. (2001) *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Eight Edition. W.B Saunders Company. England. pp 473-519.

Barbosa, R. T., Machado, R., Bergamachi, M. A. C. M. (2005) A importância do exame andrológico em bovinos. *Embrapa Pecuária Sudeste*. Circular Técnica, 41.

Bartels, C. J. M., Arnaiz-Seco, J. J., Ruiz-Santa-Quitera, A., Bjorkman, C., Frossling, J., vonBlumroder, D., Conraths, F. J., Schares, G., van Maanen, C., Wouda, W. & Ortega-Mora, L. M. (2006) Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden. *Veterinary Parasitology*. 137, 17-27.

Bettencourt, E. e Romão, R. (2009) Avaliação económica da explorações de bovinos de carne: impacto dos factores reprodutivos. Acedido em Janeiro, 22 de 2012, disponível em: [www.hvetmuralha.pt/uploads/cms/20090331073402\\_Avaliacao\\_economica\\_de\\_exploracoes\\_de\\_bovinos\\_de](http://www.hvetmuralha.pt/uploads/cms/20090331073402_Avaliacao_economica_de_exploracoes_de_bovinos_de)



Bondurant, R. H., (2007) Selected diseases and conditions associated with bovine conceptus loss in the first trimester. *Theriogenology*. 68, 461-473

Borsuk, S., Andreotti, R., Leite, F. P. L., Pinto, L. da S., Somionatto, S., Hartleben, C. P., Goetze, M., Oshiro, L. M., Matos, M. de F. C. and Berne, M. E. A. (2011) Development of an indirect ELISA-NcSRS2 for detection of *Neospora caninum* antibodies in cattle. *Veterinary Parasitology*. 177, 33-38.

Bowman, D.D., Lynn, R. C., Eberhard, M. L., Alcaraz, A. (2003) *Parasitology for Veterinarians*. 8th Edition. W. B. Saunders Company. pp. 382

Buxton, D., McAllister, M. M., & Dubey, J. P. (2002) The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends in Parasitology*. Vol. 18. No.12.

Canada, N., Meireles, C. S., Rocha A., Sousa S., Thompson G., Dubey, J. P., Romand, S., Thulliez, P., Costa, J.M.C. (2002) First Portuguese isolate of *Neospora caninum* from an aborted fetus from a dairy herd with endemic neosporosis. *Veterinary Parasitology*. 110, 11-15.

Canada, N., Carvalheira, J., Meireles, C.S., Costa, J. M. C. & Rocha, A. (2004). Prevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cows and its consequences for reproductive management. *Theriogenology*, 62, 1229-1235.

Carstensen, M., DonCarlos, M. W. (2011) Preventing the Establishment of a Wildlife Disease Reservoir: A case Study of Bovine Tuberculosis in Wild Deer in Minnesota, USA. *Veterinary Medicine International*. Article ID 413240.

Cavalcante, G. T., Monteiro, R. M., Soares, R. M., Nishi, S. M., Alves Neto, A. F., Esmerini, P. de O., Sercundes, M. K., Martins, J. and Gennari, S. M. (2011) Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed different tissues from naturally infected cattle. *Veterinary Parasitology*. 179, 220-223.

Coetzer, J. A. W., Tustin, R. C. (2004) *Infectious Diseases of Livestock*. Volume 2. 2<sup>nd</sup> Edition. Oxford University Press. South Africa. pp 875-963.

Collery, P. (1996) Neosporosis in domestic animals. *Irish Veterinary Journal*. 49, 152-156.

Davison, H. C., Guy, C. S., McGarry, J.W., Guy, F., Williams, D. J. L., Kelly, D. F. and Trees, A. J. (2001). Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. *Research in Veterinary Science*. 70, 163-168.

Decreto-Lei n.º 114/1999 de 14 de Abril

Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de Setembro

Decreto-Lei n.º 272/2000 de 8 de Novembro

DGV (2005) Manual de Procedimentos para a realização da intradermotuberculização de comparação, no âmbito do Programa de Erradicação da Tuberculose Bovina. Acedido em Janeiro. 20, 2012, disponível em: [www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=220669&cboui=220669](http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=220669&cboui=220669)

DGV (2008) Manuais de Procedimentos: Manual de Apoio às Estratégias de Controlo da Brucelose Bovina – No âmbito do programa de erradicação da Brucelose Bovina. Acedido em Janeiro. 10, 2012, disponível em: [www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=574916&cboui=574916](http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=574916&cboui=574916)

DGV (2009) Brucelose Bovina. Acedido em Janeiro. 10, 2012, disponível em: [www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=18550&generico=18472&cboui=18472](http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=18550&generico=18472&cboui=18472)

DGV (2009a) Leucose Enzoótica Bovina. Acedido em Janeiro. 15, 2012, disponível em: [www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=18650&cboui=18651](http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=18650&cboui=18651)

DGV (2009b) Manual de Apoio à implementação dos testes de pré-movimentação-No âmbito dos Programas de Erradicação da Tuberculose e Brucelose Bovina Acedido em Janeiro. 16, 2012, disponível em: [www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=220669&cboui=220669](http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=220669&cboui=220669)

Dubey, J. P. (1999) Neosporosis – the first decade of research. *International Journal for Parasitology*. 29, 1485-1488.

Dubey, J. P. (1999a) Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*. 84, 349-367.

Dubey, J. P., Barr, B. C., Barta, J. R., Bjerkas, I., Bjorkman, C., Blagburn, B. L., Bowman, D. D., Buxton, D., Ellis, J. T., Gottstein, B., Hemphill, A., Hill, D. E., Howe, D. K., Jenkins, M. C., Kobayashi, Y., Koudela, B., Marsh, A. E., Mattsson, J. G., McAllister, M. M., Modrý, D., Omata, Y., Sibley, L. D., Speer, C. A., Trees, A. J., Uggla, A., Upton, S. J., Williams, D. J. L. & Lindsay, D. S (2002). Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *International Journal for Parasitology*. 32, 929-946.

Dubey, J. P. (2003) Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*. 41, 1-16.

- Dubey, J. P., & Schares, G. (2006) Diagnosis of bovine neosporosis. *Veterinary Parasitology*. 140, 1-34.
- Dubey, J. P., Buxton, D. & Wouda, W. (2006) Pathogenesis of bovine neosporosis. *Journal of Comparative Pathology*. 134, 267-289.
- Dubey, J.P., Schares, G. and Ortega-Mora, L.M. (2007) Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*. 20, 323-367.
- Dubey, J.P. and Schares, G. (2011) Neosporosis in animals – The last five years. *Veterinary Parasitology*. 1-19
- Givens, M. D., Marley, M. S. D. (2008) Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology*, 70, 270-285.
- Godfroid, J., Nielsen, K. and Saergerman, C. (2010) Diagnosis of Brucellosis in Livestock and Wildlife. *Croatian Medical Journal*. 51, 296-305.
- Godim, L. F. P., McAllister, M. M. and Gao, L. (2005) Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*. 134, 33-39.
- Godim, L. F. P. (2006) *Neospora caninum* in wildlife. *Trends in Parasitology*. Vol. 22.No.6.
- Gomes, A. L. (2011) Parâmetros reprodutivos da vacada aleitante. Raça Charolesa. *Boletim informativo 2010/2011*. pp.14-16.
- Gorbellini, L. G., Pescador, C. A., Frantz, F., Wunder, E., Steffen, D., Smith, D. R., Driemeier, D. (2006) Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection in aborted fetuses in Southern Brazil. *The Veterinary Journal*. 172, 114-120.
- Gottstein. B. (2001) A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR. Histopathology and serology. *Veterinary Parasitology*. 102, 1-15.
- Guy, C. S., Williams, D. J. L., Kelly, D. F., McGarry, J. W., Bjorkman, C., Smith, R. F. & Trees,
- Hafez, B. e Hafez, E. S. E. (2004) *Reprodução Animal*. Sétima Edição. Manole. São Paulo, Brasil. Pp.150-155, 270-277, 369-379.

- Hall, C. A., Reichel, M. P. and Ellis, J. T. (2005) Neospora abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Veterinary Parasitology*. 128, 231-241.
- Haskell, S. R. R. (2008) *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Ruminant*. First Edition. Wiley-Blackwell, USA. Pp. 216-217, 312-313, 778-781, 8-13, 618-620.
- Hu, J., Ferroglio, E., Trisciuglio, A. (2011) Immunoblot diagnosis of infection with *Neospora caninum* in cattle based on recombinant NcSAG4 Antigen. *Parasitology Research*. 108, 1055-1058.
- Innes, E. A., Wright, S. E., Maley, S., Rae, A., Schock, A., Kirvar, E., Bartley, P., Hamilton, C., Carey, I. M. & Buxton, D. (2001) Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *International Journal for Parasitology*. 31, 1523-1534.
- Innes, E. A., Wright, S., Bartley, P., Maley, S., Macalodowie, C., Esteban-Redondo, I. & Buxton, D. (2005) The host-parasite relationship in bovine neosporosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 108, 29-36.
- Jackson, P. G.G (2004) *Handbook of Veterinary Obstetrics*. Second Edition. Saunders.pp
- Jenkins, M., Baszler, T., Bjorkman, C., Schares, G., Williams, D. (2002) Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *International Journal for Parasitology*. 32, 631-636.
- Laing, J. A., Morgan, W. J. B., Wagner, W. C. (1988) *Fertility & Infertility in Veterinary Practice*. Fourth Edition. London. W. B. Saunders.
- Loobuyck, M., Frossling, J., Lindberg, A., Bjorkman, C. (2009) Seroprevalence and spatial distribution of *Neospora caninum* in a population of beef cattle. *Preventive Veterinary Medicine*. 92, 116-122.
- Marques, F. A. C., Headley, A. S., Figueredeo-Pereira, V., Taroda, A., Barros, L. D., Cunha, I. A. L., Munhoz, K., Bugni, F. M., Zulpo, D. L., Igarashi, M., Vidotto, O., Guimarães Junior, J. S., Garcia, J. L. (2010) *Neospora caninum*: evaluation of vertical transmission in slaughtered beef cows (*Bos indicus*). *Parasitology Research*. 108, 1015-1019.
- McAllister, M. M., Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Jolley, W. R., Wills, R. A. & McGuire, A. M. (1998) Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*. 28, 1473-1478.
- Moré G., Bacigalupe, D., Basso, W., Rambeaud, M., Venturini, M.C. and Venturini, L., (2010) Serologic profiles for *Sarcocystis* sp. and *Neospora caninum* and productive performance in naturally infected beef calves. *Parasitology Research*. 106, 689-693.

Morrow, D. A., (1986) *Current Therapy in Theriogenology*. 2nd Edition. W.B Saunders Company. United States of America. pp 250-295.

Neta, A. V. C., Mol, J. P. S., Xavier, M. N., Paixão, T. A., Lage, A. P., Santos, R. L. (2010) Pathogenesis of bovine brucellosis. *The Veterinary Journal*. 184, 146-155.

Noakes, D. E., (1997) *Fertility and Obstetrics in Cattle*. Second Edition. Blackwell Science. United Kingdom. pp. 71-77

Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. (2001) *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Eight Edition. Saunders. USA.

Nóbrega, S. (2010) Importância do Exame Andrológico em Touros. Raça Charolesa. Boletim Informativo 2020/2011, 24-27.

Oliveira, M. E. F. (2009) A importância do exame andrológico e avaliação da libido. Interural. Nº 21. Acedido em Janeiro, 11, 2012 disponível em: [www.interural.com/interna.php?referencia=revistas&materia=168](http://www.interural.com/interna.php?referencia=revistas&materia=168)

Oliveira, V. S. F., Garcia, Álvarez-Garcia, G., Ortega-Mora, L. M., Borges, L. M. F., Silva, A. C. (2010) Abortions in bovines and *Neospora caninum* transmission in an embryo transfer center. *Veterinary Parasitology* .173, 206-210.

Ortega-Mora. L. M., Gottstein. B., Conraths, F. J., Buxton. D. (2007) *Protozoal Abortion in Farm Ruminants. Guidelines for Diagnosis and Control*. CABI Head Office, UK. pp.42-121, 276-284.

Pabón, M., López-Gatius, F., García-Ispuerto, I., Bech-Sábat, G., Nogareda, C. and Almería, S. (2007) Chronic *Neospora caninum* infection and repeat abortion in dairy cows: a 3 year study. *Veterinary Parasitology*. 147, 40-46.

Palmer, M. V. and Waters W. R. (2011) Bovine Tuberculosis and the Establishment of an Eradication Program in the United States: Role of Veterinarians. *Veterinary Medicine International*. Article ID 816345.

Plumb, D. C. (2005) *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 5th Edition. Blackwell Publishing. Iowa. pp. 1099.

Portaria n.º 1004/2010 de 1 de Outubro

Portaria n.º 178/2007 de 9 de Fevereiro

Portas, M. (2003) *Identificação de Equinos*. Tipografica belgráfica. Portugal.

Radostits, O. M., Gay, C.C., Blood, D. C., Hinchcliff, K. W. (2002) *Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos*. 9º Edição. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. pp. 1174-1176, 676-699, 397-403.

Reichel, M. P., Ellis, J. T. (2008) Re-evaluating the economics of neosporosis control. *Veterinary Parasitology*. 156, 361-362.

Rosypal, A. C. and Lindsay, D. S. (2005) The sylvatic cycle of *Neospora caninum*: where do we go from here?. *Trends in Parasitology*. 21, 439-440.

Sager, H., Fisher, I., Furrer, K., Strasser, M., Waldvogel, A., Boerlin, P., Audigé, L., Santolaria, P., Almeria, S., Martínez-Bello, D., Nogareda, C., Mezo, M., Gonzalez-Warleta, M., Castro-Hermida, J. A., Pabón, M., Yániz, J.L. and López-Gatius, F. (2011) Different humoral mechanisms against *Neospora caninum* infection in puerbred and crossbreed beef/dairy cattle pregnancies. *Veterinary Parasitology*. 178, 70-76.

Thurmond, M. C. and Hietala, S. K. (1997) Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *American Journal of Parasitology Research*. 58, 1381-1385.

Trees, A. J. (2001) Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. *Research in Veterinary Science*. 70, 163-168.

Trees, A. J. and Williams D. J. L. (2005) Endogenous and Exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *TRENDS in Parasitology*. 21, 558-561.

Trees, A. J., Davison, H. C., Innes, E. A., Wastling, J. M. (1999) Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. *International Journal for Parasitology*. 29, 1195-1200.

Tuo, W., Zhao, Y., Zhu, D. and Jenkins, M. C. (2011) Immunization of female BALB/c mice with *Neospora cyclophilin* and/or NcSRS2 elicits specific antibody response and prevents against challenge infection by *Neospora caninum*. *Vaccine*. 29, 2392-2399.

Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W. (1998) *Parasitologia Veterinária*. Segunda Edição. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. pp. 207.

Williams, D. J. L. & Trees, A. J. (2006) Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetopathy in *Neopora caninum*-infected cattle. *Parasite Immunology*. 28, 61-67.

Youngquist, R. S. (1997) *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. 1st Edition. W.B Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania, United States of America. pp. 364-386.

<http://babcock.wisc.edu/pt-br/node/165>, acessado em Janeiro, 11 de 2012.

<http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=1795>, acessado em Janeiro, 10 de 2012.

<http://www.hipra.com/wps/portal/web/inicio/nuestrosProductos>, acessado em Maio, 15 de 2011.

<http://www.mcguido.vet.br/wpe42.gif>, acessado em Janeiro, 10 de 2012.

<http://www.flickr.com/photos/31862256@N06/2981247747/sizes/m/in/photostream/>, acessado em Janeiro, 20 de 2012.

[http://www.fortdodge.com.br/divisooes/bovinos/bovinos\\_exibicao\\_bula](http://www.fortdodge.com.br/divisooes/bovinos/bovinos_exibicao_bula), acessado em Maio, 15 de 2011.

[www.milkpoint.com.br//radar-tecnico/sanidade/caes-e-vacas-leiteiras-aborto-define-a-relacao-16696n.aspx](http://www.milkpoint.com.br//radar-tecnico/sanidade/caes-e-vacas-leiteiras-aborto-define-a-relacao-16696n.aspx)), acessado em Junho, 15 de 2011.

## **X. ANEXOS**



## Anexo I: Vacinas utilizadas na profilaxia das patologias dos Bovinos

Vacina	Composição	Indicação	Via de Administração
Covexin® 8	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Toxoide de Cl. perfringens tipo B</li> <li>-Toxoide de Cl. perfringens tipo C</li> <li>-Toxoide de Cl. perfringens tipo D</li> <li>-Cultura completa de Cl. Chauvoei</li> <li>-Células de Cl. haemolyticum</li> <li>-Toxoide de Cl. novyi</li> <li>-Toxoide de Cl. septicum</li> <li>-Toxoide de Cl. Tetani</li> </ul>	Imunização activa dos ovinos e bovinos contra doenças associadas a infecções causadas por Cl. perfringens tipo B, C, D, Cl. chauvoei, Cl. novyi tipo B, Cl. septicum e Cl. haemolyticum e contra o tétano causado pelo Clostridium Tetani.	Subcutânea
Hiprabovis® 4	<p>Vírus inactivado de IBR, PI3 e BVD</p> <p>Vírus de BRSV</p>	<p>Prevenção nos adultos: Rinotraqueíte Infecciosa dos Bovinos (IBR) ; Vulvovaginite Pustular infecciosa (IPV) ; Diarreia Viral dos Bovinos (BVD);</p> <p>Prevenção nos jovens: Rinotraqueíte Infecciosa dos Bovinos (IBR); Parainfluenza 3 (PI3); Diarreia Viral dos Bovinos (BVD) Pneumonia causada por Vírus Sincicial respiratório dos Bovinos (BRSV)</p>	Intramuscular
Bovilis® BTV8	Sérotipo 8 do Vírus da Língua Azul	<p>Ovinos: Estimulação activa da imunidade nos ovinos a partir de 1 mês de idade contra o serótipo 8 do Vírus da Língua Azul</p> <p>Bovinos: Estimulação activa da imunidade a partir das 6 semanas de idade contra o serótipo 8 do vírus da Língua Azul</p>	Subcutânea

## Anexo II: Vacinas utilizadas na profilaxia das patologias dos Pequenos Ruminantes

Vacina	Composição	Indicação	Via de administração
<b>Enterovina®</b>	-Clostridium perfringens (Tipo A e D) -Clostridium sordellii -Pasteurella multocida tipo I	Imunização activa contra: -Enterotoxémia(Cl. Perfringens tipo D) -Gangrena gasosa (Cl. Perfringens tipo A, Cl. Sordellii) - Pasteurelose (Pasteurella multocida tipo I)	Subcutânea
<b>Syvazul®1</b>	Vírus da Língua Azul inactivado (Serótipo 1)	Imunização activa de ovinos e bovinos para a prevenção da virémia causada pelo serótipo 1 do Vírus da Língua Azul	Ovinos: Subcutânea  Bovinos: Intramuscular
<b>Covexin® 8</b>	Toxoide de Cl. perfringens tipo B Toxoide de Cl. perfringens tipo C Toxoide de Cl. perfringens tipo D Cultura completa de Cl. Chauvoei Células de Cl. haemolyticum Toxoide de Cl. novyi Toxoide de Cl. septicum Toxoide de Cl. Tetani	Imunização activa dos ovinos e bovinos contra doenças associadas a infecções causadas por Cl. perfringens tipo B, C, D, Cl. chauvoei, Cl. novyi tipo B, Cl. septicum e Cl. haemolyticum e contra o tétano causado pelo Clostridium Tetani.	Subcutânea

### Anexo III: Desparasitantes utilizados em Bovinos

Desparasitante	Composição	Indicação	Via de administração
Ivomec® F	Ivermectina + Clorsulon	Tratamento e controlo da acção prolongada de doenças parasitárias provocadas por nemátodes gastrointestinais, pulmonares, moscas, piolhos, sugadores, argasídeos e ácaros da sarna psorótica, sarcóptica e carraças, controlo de piolhos mastigadores, ácaros de sarna coriódica	Subcutânea
Eprinex®	Doramectina	Tratamento e controlo de acção prolongada das doenças parasitárias provocadas por nemátodes gastrointestinais, pulmonares e oculares, e por moscas, piolhos, ácaros de sarna e carraças	Subcutânea

#### Anexo IV: Desparasitantes utilizados em pequenos ruminantes

Desparasitantes	Composição	Indicação	Via de administração
Panacur® 2,5%	Febendazol	Contra os estádios maduros e imaturos de nemátodes gastrointestinais, vermes pulmonares e ténias em ovinos e caprinos <i>Haemonchus</i> spp., <i>Ostertagia</i> spp., <i>Trichostrongylus</i> spp., <i>Cooperia</i> spp., <i>Nematodirus</i> spp., <i>Oesophagostomum</i> spp., <i>Chabertia</i> spp., <i>Bunostomum</i> spp., <i>Gaigeria pachyscelis</i> ., <i>Trichuris</i> spp., <i>Strongyloides</i> spp., <i>Dictyocaulus filaria</i> , <i>Moniezia</i> spp.	Via oral
Hapasil®5%	Netobimín	Nemátodes gastrointestinais e pulmonares, fasciola, trematodes e céstodes.	Via oral



