



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

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

**Patologia Veterinária e Clínica e Cirurgia de animais de  
Pecuária**

**Patricia Saraiva Gouveia**

Orientador(es) | Sandra Maria Branco  
Patrícia Carla Araújo de Faria Dias Pereira  
Sara Luz Medina de Sousa

Évora 2023





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

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

**Patologia Veterinária e Clínica e Cirurgia de animais de Pecuária**

**Patricia Saraiva Gouveia**

Orientador(es) | Sandra Maria Branco  
Patrícia Carla Araújo de Faria Dias Pereira  
Sara Luz Medina de Sousa

Évora 2023

---

---

---

---



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

Presidente | Rita Payan-Carreira (Universidade de Évora)

Vogais | Miguel Nuno Pinheiro Quaresma (Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro)  
(Arguente)  
Sandra Maria Branco (Universidade de Évora) (Orientador)

Para os meus amigos com quem partilho todos os meus sucessos e fracassos. Foi graças a vocês e é para vocês.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Professora Doutora Sandra Branco por ter aceitado ser minha orientadora, por toda a dedicação e pelo profissionalismo que enche de admiração os seus alunos.

À Professora Doutora Patrícia Dias Pereira por me ter recebido como estagiária, pela partilha de conhecimentos e pela experiência enriquecedora que me proporcionou sempre numa atmosfera cheia de liberdade e serenidade.

À Doutora Sara por me ter recebido, pela alegria e pela vontade de fazer mais e melhor que inspira qualquer estagiária.

À Doutora Ana Canadas por encontrar sempre tempo para as estagiárias no meio de tanto trabalho.

Ao Professor Doutor Augusto pelas conversas que dão a volta ao mundo enquanto permanecemos sentados ao microscópio.

À Katarzyna pelo companheirismo e pelas aventuras partilhadas não só no estágio, mas também na escalada da vida. (To Katarzyna for the companionship and shared adventures, not only in the internship but also in the climbing of life.)

À Fátima pela alegria que contagia todo o laboratório e pela hospitalidade com que recebe as estagiárias.

À Clara por estar sempre tudo impecável na sala de necropsias e por fazer parte dos nossos dias.

À Doutora Helena que tanto me orientou. Além de tudo, também não esqueço a sensatez que espero um dia ter enquanto veterinária.

À Doutora Margarida Cascão pelos momentos divertidos e inéditos vividos e por fazer parte da minha aprendizagem em veterinária.

À Doutora Maria Felício e à Doutora Julieta por me acolherem tão bem e por se demonstrarem sempre disponíveis para me ajudar, seja antes, durante ou depois do meu estágio. Muito obrigada!!

Ao Raul e ao Pedro por se mostrarem sempre disponíveis para ajudar e facilitar a estadia na vossa linda ilha.

Aos restantes funcionários da AJAM, especialmente ao Rui, ao Hugo e Henrique por também me deixarem acompanhar o vosso serviço para poder aprender sempre mais.

Ao Nélio pela simpatia, pelo empenho na inovação das atividades agropecuárias na ilha e por permitir e promover a realização destes estágios incríveis na AJAM.

Ao Jorge e à sua família por toda a simpatia e por nos mostrarem com tanta paciência o lado do produtor.

À Marta por fazeres parte da animação da ilha.

À minha madrinha Daniela pelo apoio e por cada conselho que fazes questão de partilhar com os teus pupilos.

À Diana pelos desafios ultrapassados com muito trabalho em equipa.

À Janine pelo serviço de revisão e por querereres sempre ajudar.

Ao Samuel por te rires comigo das pequenas angústias de uma vida.

À Carina pela compreensão e por nos fazeres acreditar que tudo vai dar certo.

Ao Igor pelo serviço de consultor informático e por te manteres presente.

À Maria por todos os dias partilhares comigo a tua alegria.

À Bia por acompanhares o processo pacientemente, por me manteres focada quando é preciso e por me distraíres quando é ainda mais preciso.

À Sandrina por me acolheres sempre e pelas aventuras vividas além-fronteiras do Carregal.

À Telma e à Jaylsan pela vossa fé que nos dá esperança e pela vossa alegria que nos inspira.

À minha família que me proporcionou tudo desde sempre. Um especial obrigado à minha mãe e à minha avó.

## RESUMO

O presente trabalho tem como principal objetivo a conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária pela Universidade de Évora. Reúne várias questões da prática veterinária com as quais o autor contactou ao longo do estágio curricular.

O trabalho está organizado em três capítulos: o primeiro capítulo trata as atividades realizadas no âmbito da patologia veterinária no departamento de patologia e imunologia molecular do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. O estágio foi direcionado para a necropsia e análise histopatológica, assim, são essas as vertentes da patologia que o relatório aborda.

O segundo capítulo é referente às atividades realizadas em clínica e cirurgia de animais de pecuária na Associação de Jovens Agricultores Micaelenses. Inicia com uma descrição do ambiente em geral e em particular da agropecuária existente na ilha de São Miguel (Açores), seguidamente, é exposta a casuística e são descritas as atividades veterinárias realizadas.

O terceiro capítulo apresenta uma monografia acerca da paratuberculose bovina e inclui o relato de um caso clínico que surgiu durante o estágio em clínica e cirurgia em animais de pecuária. A paratuberculose, também conhecida como doença de Johne, é uma enterite crónica infecciosa que afeta bovinos e outros ruminantes. *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculosis* (MAP) é o agente etiológico. O maior desafio da paratuberculose é o diagnóstico precoce dos animais infetados. Este trabalho inclui a descrição dos meios de diagnóstico atualmente disponíveis, quais as suas limitações e quais as recomendações para o seu uso nas explorações bovinas.

**Palavras-chave:** patologia, necropsias, histopatologia, animais de pecuária

# INTERNSHIP REPORT IN VETERINARY PATHOLOGY AND CLINIC AND SURGERY OF LIVESTOCK ANIMALS

## ABSTRACT

The main goal of this report is the conclusion of the Integrated Master's degree in Veterinary Medicine from the University of Evora. It assembles several issues related to the veterinary practice which took place during the author's internship.

The present work is organized in three chapters: the first one refers to the activities developed in veterinary pathology at the pathology and molecular immunology department of ICBAS (Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar). The necropsy and the histopathological analysis were the activities performed more often in the internship, and that is the reason why these aspects of pathology are focused in more detail in this report.

The second one is a description of the clinical and surgical activities performed on livestock animals at Associação de Jovens Agricultores Micaelenses (AJAM). This chapter begins with a brief description of the environment in general and about the agriculture and cattle raising existing in Sao Miguel (Azores), followed by a description of several clinical cases, as well as other veterinary activities developed.

The third one presents a brief literature review about bovine paratuberculosis, which includes a description of a clinical case assisted by the author. Paratuberculosis, also known as Johne's disease, is a chronic infectious enteritis that affects cattle and other ruminants. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) is the etiologic agent of paratuberculosis. The main challenge of paratuberculosis is the early diagnosis of the infected animals. This review includes a description of the diagnostic tests currently available, their limitations, and some recommendations regarding their use in the field.

**Keywords:** pathology, necropsy, histopathology, livestock animals

## ÍNDICE GERAL

DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMENTOS .....	v
RESUMO.....	vii
ABSTRACT .....	viii
ÍNDICE GERAL.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE TABELAS .....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xvi
INTRODUÇÃO.....	1
1. PATOLOGIA VETERINÁRIA .....	2
1.1 Caracterização do local de estágio.....	2
1.2 Descrição das atividades desenvolvidas.....	2
1.2.1 Intervalo <i>post mortem</i> .....	6
1.2.2 Necropsia .....	7
1.2.1 Recolha de amostras para histopatologia.....	8
1.2.1 Observação microscópica e interpretação histopatológica.....	8
2. CLÍNICA E CIRURGIA DE ANIMAIS DE PECUÁRIA .....	18
2.1 Caracterização da instituição de acolhimento e do local de estágio .....	18
2.2 Atividades desenvolvidas no estágio .....	20
2.2.1 Sanidade e Medicina Preventiva .....	21
2.2.1.1 Remoção do tronco encefálico.....	21
2.2.1.2 Pesquisa de brucelose .....	22
2.2.1.3 Intradermotuberculização .....	22
2.2.1.4 Vacinação .....	23
2.2.1.5 Controlo de qualidade do leite .....	23
2.2.2 Controlo Reprodutivo.....	23
2.2.2.1 Protocolo de sincronização e inseminação a tempo fixo ....	24
2.2.2.2 Diagnóstico de gestação .....	24
2.2.3 Clínica Médica .....	24
2.2.3.1 Neonatos .....	25
2.2.3.2 Novilhos e novilhas .....	29
2.2.3.5 Vacas em produção .....	31
2.2.3.6 Vacas em periparto.....	34
2.2.3.7 Vacas em período seco.....	38
2.2.3.8 Outras doenças .....	39
2.2.3.9 Outras espécies.....	43
2.2.4 Clínica cirúrgica.....	44
2.2.4.1 Cesariana .....	44

2.2.4.2 Abomasopexia.....	45
2.2.4.3 Nodulectomia .....	46
2.2.4.4 Enucleação .....	46
2.2.4.5 Herniorrafia umbilical .....	47
2.2.5 Correção de cascos.....	47
2.2.6 Necropsia .....	48
3. PARATUBERCULOSE: O DESAFIO DE DIAGNOSTICAR EM CLÍNICA DE BOVINOS .	51
3.1 Caracterização da doença .....	51
3.2 Caracterização do agente etiológico.....	51
3.3 Epidemiologia .....	52
3.4 Sinais clínicos e lesões .....	54
3.5 Infecções assintomáticas .....	55
3.6 Diagnóstico .....	55
3.6.1 Recomendações e limitações dos testes de diagnóstico .....	57
3.6.2 Métodos de diagnóstico emergentes .....	58
3.7 Tratamento.....	60
3.8 Como mitigar .....	61
3.9 Risco zoonótico e preocupação de saúde pública .....	61
3.10 Caso clínico .....	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	65
BIBLIOGRAFIA .....	66
Anexo 1: Processamento de material para análise histopatológica .....	a

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-</b> Distribuição das necropsias realizadas pelas diferentes espécies de animais. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021). .....	2
<b>Gráfico 2-</b> Material recolhido nas necropsias por sistema do organismo. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021). .....	3
<b>Gráfico 3-</b> Alterações microscópicas detetadas no material das necropsias. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021). .....	4
<b>Gráfico 4-</b> Alterações microscópicas encontradas nos diferentes sistemas do organismo. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021). .....	4
<b>Gráfico 5-</b> Alterações inflamatórias observadas distribuídas pelos sistemas do organismo. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021). .....	5
<b>Gráfico 6-</b> Neoplasias observadas distribuídas pelos sistemas do organismo. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021). .....	5
<b>Gráfico 7-</b> Total de serviços efetuados em cada área de atuação. Casuística do estágio na AJAM (2022). .....	20
<b>Gráfico 8-</b> Atividades efetuadas no âmbito da sanidade e prevenção. Casuística do estágio na AJAM (2022). .....	20
<b>Gráfico 9-</b> Diagnósticos de gestação efetuados em 22 animais. Casuística do estágio na AJAM (2022). .....	23
<b>Gráfico 10-</b> Animais intervencionados no âmbito da clínica médica. Casuística do estágio na AJAM (2022). .....	24
<b>Gráfico 11-</b> Sistemas de produção das lavouras visitadas no âmbito da clínica médica e os animais intervencionados. Casuística do estágio na AJAM (2022). .....	24
<b>Gráfico 12-</b> Doenças diagnosticadas nos neonatos. Casuística do estágio na AJAM (2022)...	25
<b>Gráfico 13-</b> Antibioterapia efetuada nos casos de pneumonia neonatal. Casuística do estágio na AJAM (2022) .....	26
<b>Gráfico 14-</b> Antibioterapia efetuada nas diarreias associadas a pneumonias neonatais. Casuística do estágio na AJAM (2022) .....	27
<b>Gráfico 15-</b> Doenças diagnosticadas nos novilhos e novilhas. Casuística do estágio na AJAM (2022). .....	29
<b>Gráfico 16-</b> Doenças diagnosticadas nas vacas em produção. Casuística do estágio na AJAM (2022) .....	30
<b>Gráfico 17-</b> Diagnósticos efetuados no aparelho gastrointestinal. Casuística do estágio na AJAM (2022) .....	32
<b>Gráfico 18-</b> Diagnósticos efetuados em vacas em periparto. Casuística do estágio na AJAM (2022). .....	34

<b>Gráfico 19-</b> Animais diagnosticados com pneumonia distribuídos por grupos segundo a idade e fase de produção. Casuística do estágio na AJAM (2022).....	38
<b>Gráfico 20-</b> Antibióticos administrados nos animais com pneumonia. Casuística do estágio na AJAM (2022).....	39
<b>Gráfico 21-</b> Cirurgias realizadas no estágio. A abomasopexia está dividida em dois tipos de abordagem, uma com acesso na fossa paralombar esquerda e outra na direita. Casuística do estágio na AJAM (2022) .....	43

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - agentes descritos em casos de artrite em vitelos e em jovens e adultos, adaptado de (Constable, et al., 2017). .....	41
<b>Tabela 2</b> - Lista de diagnósticos diferenciais para os principais sinais clínicos de paratuberculose (Constable, et al., 2017). .....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Tecido muscular com reação inflamatória e necrose evidente pela ausência de núcleo das células musculares e pelo aumento da sua eosinofilia (apresentam-se mais rosa). A amostra foi recolhida de cadáver de um gato encontrado encarcerado. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x) .....	10
<b>Figura 2 A:</b> Cadáver com muita gordura abdominal, a qual se apresenta de cor amarela e com consistência mais firme. <b>B:</b> Tecido adiposo que apresenta necrose, reação inflamatória (infiltrado linfocítico) e saponificação da gordura (canto inferior direito). A imagem corresponde à observação microscópica do tecido adiposo recolhido do cadáver em A. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 4x). .....	11
<b>Figura 3</b> Lipogranulomas presentes no fígado recolhido de cadáver de gato. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x). .....	12
<b>Figura 4-</b> Coroidite linfoplasmocitária. Cérebro recolhido de cadáver de gato. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 2x). .....	12
<b>Figura 5</b> Duodenite linfocítica difusa ao longo de todo o segmento. Intestino recolhido de cadáver de gato diagnosticado com doença inflamatória gastrointestinal (IBD). Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x). .....	13
<b>Figura 6</b> Inflamação mista em fígado recolhido de cadáver de gato. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x). .....	13
<b>Figura 7</b> Fibrose em redor da tríade hepática. Fígado recolhido de cadáver de gato. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 4x). .....	14
<b>Figura 8</b> Hiperplasia folicular na glândula tiroide recolhida de cadáver de gato. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 2x). .....	14
<b>Figura 9 A:</b> Quisto cutâneo junto ao dorso em cadáver de gato de 11 anos. Apresentava conteúdo gelatinoso. <b>B:</b> Tricoblastoma quístico (neoplasia benigna das células foliculares germinativas). Imagem microscópica correspondente ao quisto em A. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 4x). .....	16
<b>Figura 10 A:</b> Massa aderida ao coração de cão idoso (a massa já se encontra seccionada). <b>B:</b> Quemodectoma maligno com estroma fibrovascular. Imagem microscópica correspondente à massa vista em A. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x). .....	16
<b>Figura 11</b> Congestão no pulmão (notar a grande quantidade de eritrócitos e o ingurgitamento dos vasos) e enfizema compensatório. Recolhido de cadáver de gato com 6 meses com história de morte súbita. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 4x). .....	17
<b>Figura 12-</b> Edema pulmonar. À necropsia o fragmento pulmonar apresentou prova de docimasia negativa. Recolhido de cadáver de gato com hérnia diafragmática que incluía intestino delgado, pâncreas e baço. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 2x). .....	17
<b>Figura 13</b> Exemplo de curva de lactação nas várias fases do ciclo produtivo de uma vaca leiteira. ....	13
<b>Figura 14-</b> Lesões de papilomatose cutânea nos membros que coalescem e que sofreram traumatismo, havendo risco de infeção bacteriana secundária. Fotografia tirada em S. Miguel (2022). .....	31
<b>Figura 15-</b> Lesão localizada na terceira pálpebra excisada cirurgicamente. Fotografia tirada em S. Miguel (2022). .....	46

<b>Figura 16-</b> Massa que envolve o globo ocular fotografada durante a assepsia do local para intervenção cirúrgica. Fotografia tirada em S. Miguel (2022). .....	47
<b>Figura 17-</b> Petéquias no pericárdio de vaca leiteira necropsiada. Fotografia tirada em S. Miguel (2022). .....	49
<b>Figura 18-</b> Peritonite localizada: abscesso detetado após abertura do abdómen. No interior é visível o conteúdo seroso de cor amarela e fibrina. Fotografia gentilmente cedida por Dra. Maria Felício. ....	50

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AGID**- Teste de imunodifusão em gel (Agar Gel Immunodiffusion)  
**AJAM**- Associação de Jovens Agricultores Micaelenses  
**AMEG**- Antimicrobial Advice Ad Hoc Expert Group  
**CHMP**- Comité de Medicamentos Humanos  
**CVMP**- Comité de Medicamentos Veterinários  
**EEB**- Encefalopatia Espongiforme Bovina  
**ELISA**- Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (Enzyme-linked immunosorbent assay)  
**HEB**- Hematúria Enzoótica dos bovinos  
**LabPatVet-UP**- Laboratório de Patologia veterinária da Universidade do Porto  
**LRV**- Laboratório Regional de Veterinária  
**MAP**- Mycobacterium avium subspécie paratuberculosis  
**MIMV**- Mestrado Integrado em Medicina Veterinária  
**PCR**- Reação em cadeia pela Taq polimerase (Polymerase chain reaction)  
**QIB**- Queratoconjuntivite infecciosa bovina  
**SAU**- Superfície Agrícola Útil  
**WHO**- World Health Organisation  
**ZN**- Ziehl- Neelsen

## INTRODUÇÃO

A elaboração do presente trabalho tem como principal objetivo a conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária pela Universidade de Évora. O trabalho reúne várias questões da prática veterinária com as quais o autor contactou ao longo do estágio curricular e o seu conteúdo regista alguns dos conhecimentos apreendidos ao longo dessa experiência.

O estágio curricular a ser relatado engloba duas áreas da medicina veterinária: a patologia veterinária e a clínica e cirurgia de animais de pecuária. Cada uma delas compreende atividades diferentes e foram vivenciadas em períodos e locais distintos assim, são também abordadas em diferentes capítulos neste trabalho.

Na íntegra, o trabalho está organizado em três capítulos. O primeiro capítulo trata as atividades realizadas no âmbito da patologia veterinária, e inclui algumas bases teóricas, nas quais o estagiário se debruçou para poder aproveitar ao máximo as aprendizagens que o estágio proporcionou.

O segundo capítulo é referente à clínica e cirurgia em animais de pecuária. Inicia com uma descrição do ambiente em geral e em particular da agropecuária existente na ilha de São Miguel (Açores), seguidamente, é exposta a casuística e são descritas as atividades veterinárias realizadas na Associação de Jovens Agricultores Micaelenses (AJAM).

Por fim, no terceiro capítulo é apresentada uma monografia acerca da paratuberculose bovina que inclui o relato de um caso clínico que surgiu durante o estágio em clínica e cirurgia em animais de pecuária. O tema da monografia surgiu perante as numerosas suspeitas de paratuberculose em bovinos ao longo do estágio. Nesses casos suspeitos, era frequente o resultado da análise levar muito tempo a chegar, o que contribuiu para cultivar a curiosidade acerca do processo a que submetemos uma amostra de sangue quando a enviamos para o laboratório por suspeita de paratuberculose.

# 1.PATOLOGIA VETERINÁRIA

## 1.1. Caracterização do local de estágio

O estágio na área de patologia veterinária decorreu durante quatro meses no Departamento de Patologia e Imunologia Molecular do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS) sob orientação da Professora Doutora Patrícia Dias Pereira.

O instituto fica situado em Miragaia, na bela cidade do Porto que envolve todos no seu dinamismo. Nesta cidade, e especificamente neste instituto encontram-se pessoas que a cada palavra estimulavam a vontade de aprender e descobrir mais, não só nas ciências veterinárias, mas em tudo o que nos rodeia. Caracteriza-se, portanto, por ser um local com horizontes alargados onde cresce a vontade e o ânimo de trabalhar e aprender sem nunca descurar da vida pessoal. O instituto permitiu ainda, o acesso a literatura que em muito facilitou a compreensão das atividades práticas e a consolidação de conhecimentos.

A patologia é a área da medicina que estuda a doença, a sua causa, o seu mecanismo e os seus efeitos no organismo (Mitchell, 2013a; Rissi et al., 2019). É também o desafio de interpretar as lesões morfológicas, de seguir-lhes o rasto e encontrar a entidade que as justificam para que, em algum momento, tudo faça sentido. São os patologistas que aceitam este desafio, desempenhando um importante papel não só no diagnóstico clínico, mas também na vigilância de doenças emergentes e na investigação científica.

A patologia engloba várias vertentes, dentro das quais estão a citologia, a necropsia e a análise histopatológica *ante mortem* (biopsias) e *post mortem* (Mitchell, 2013a; Rissi et al., 2019). O estágio foi direcionado para a necropsia e análise histopatológica e por isso, são essas as vertentes que o relatório aborda.

## 1.2 Descrição das atividades desenvolvidas

No decorrer do estágio foram realizadas 98 necropsias a diferentes espécies de animais, tal como consta no gráfico 1. As espécies felina, canina e suína tiveram maior número de cadáveres necropsiados. As necropsias, na sua maioria, foram realizadas no âmbito das aulas práticas da unidade curricular de Anatomia Patológica I do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) do ICBAS. Foram ainda acompanhadas necropsias ao serviço do laboratório de Patologia Veterinária da Universidade do Porto (LabPatVet-UP), realizadas a um esquilo, um vitelo e uma égua.

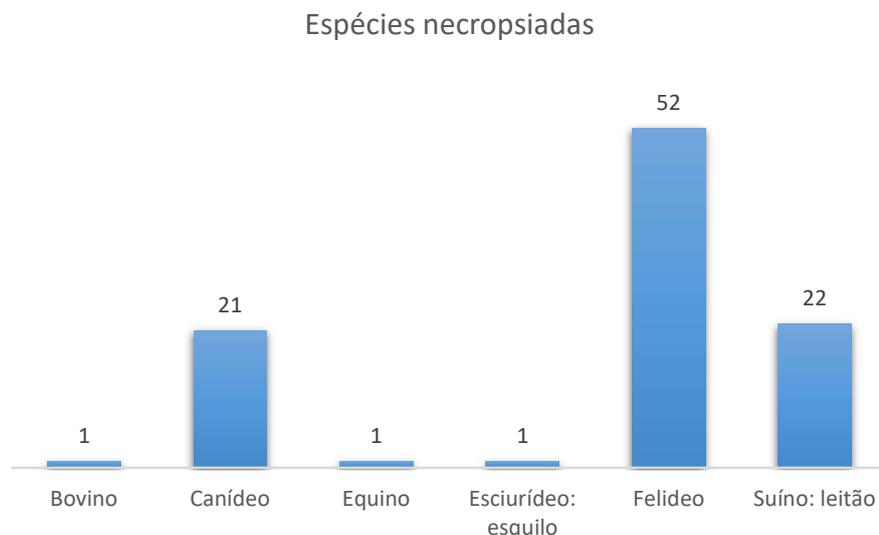


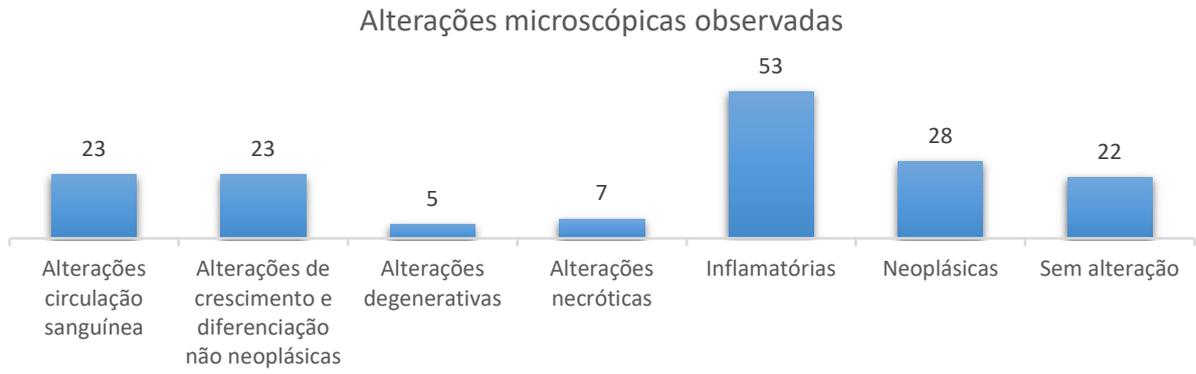
Gráfico 1- Distribuição das necropsias realizadas pelas diferentes espécies de animais. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021).

No decorrer das necropsias foram feitas com frequência recolhas de material para exames complementares. No caso do material recolhido para análise histopatológica, os estagiários ficavam responsáveis pelo seu processamento macroscópico feito no laboratório LabPatVet-UP de acordo com a sequência esquematizada no anexo 1. No gráfico 2 estão as recolhas realizadas distribuídas pelos vários sistemas do organismo a que pertencem. Os sistemas do organismo com mais material recolhido foram o digestivo e as suas glândulas anexas (representados em separado), o respiratório e o urinário. No sistema digestivo as recolhas incidiram principalmente no intestino e, nas glândulas anexas foi o fígado o órgão predominante. No sistema respiratório todas as recolhas efetuadas foram de pulmão e no sistema urinário incidiram mais no rim.



*Gráfico 2- Material recolhido nas necropsias por sistema do organismo. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021).*

Após a conclusão de todo o processamento do material recolhido era feita a observação microscópica das lâminas que dele resultaram e o diagnóstico histopatológico era discutido. No gráfico 3 estão categorizadas as principais alterações microscópicas detetadas nas lâminas provenientes do material recolhido nas necropsias. As alterações inflamatórias foram as mais frequentemente observadas, estando predominantemente presentes no sistema urinário, respiratório e glândulas anexas, tal como podemos constatar no gráfico 4. O gráfico 5 mostra-nos que os processos agudos foram predominantes e que, os processos crónicos tiveram a sua maior expressão nas glândulas anexas e no sistema urinário. Às alterações inflamatórias seguem-se as neoplásicas (gráfico 3), que foram detetadas em quase todos os sistemas do organismo, tendo maior expressão no sistema digestivo (ver novamente gráfico 4). Tendo em conta o seu comportamento biológico, foram mais vezes diagnosticadas neoplasias malignas, principalmente no sistema respiratório (ver gráfico 6).



*Gráfico 3- Alterações microscópicas observadas no material recolhido nas necropsias para análise histopatológica. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021).*

### Alterações microscópicas observadas em cada sistema

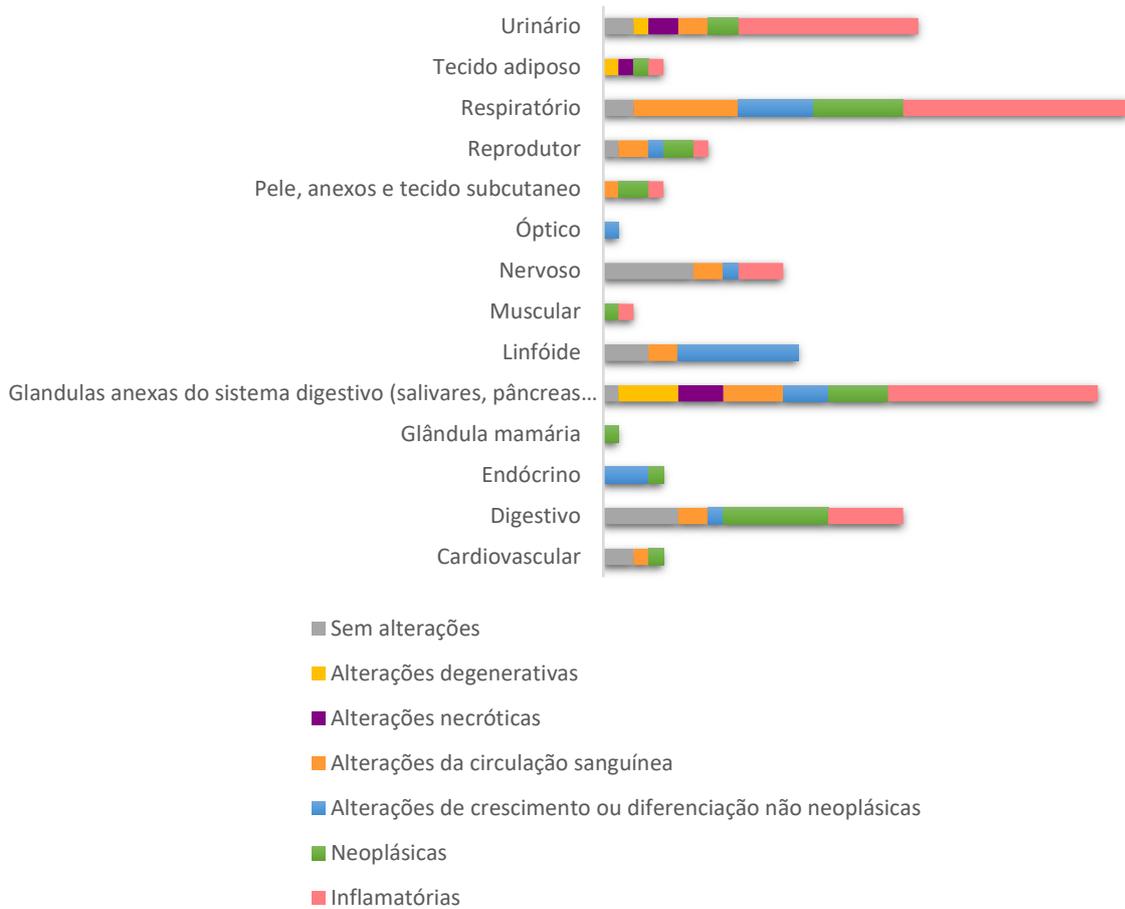


Gráfico 4- Alterações microscópicas observadas nos diferentes sistemas do organismo. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021).

### Processos inflamatórios

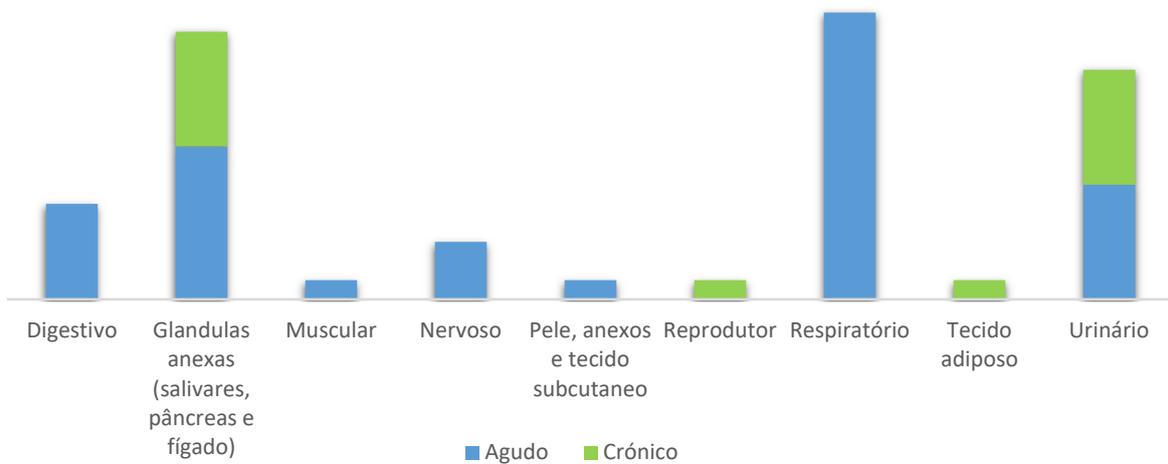


Gráfico 5- Alterações inflamatórias observadas distribuídas pelos sistemas do organismo, tendo em conta se o tipo de processo é agudo ou crônico. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021).

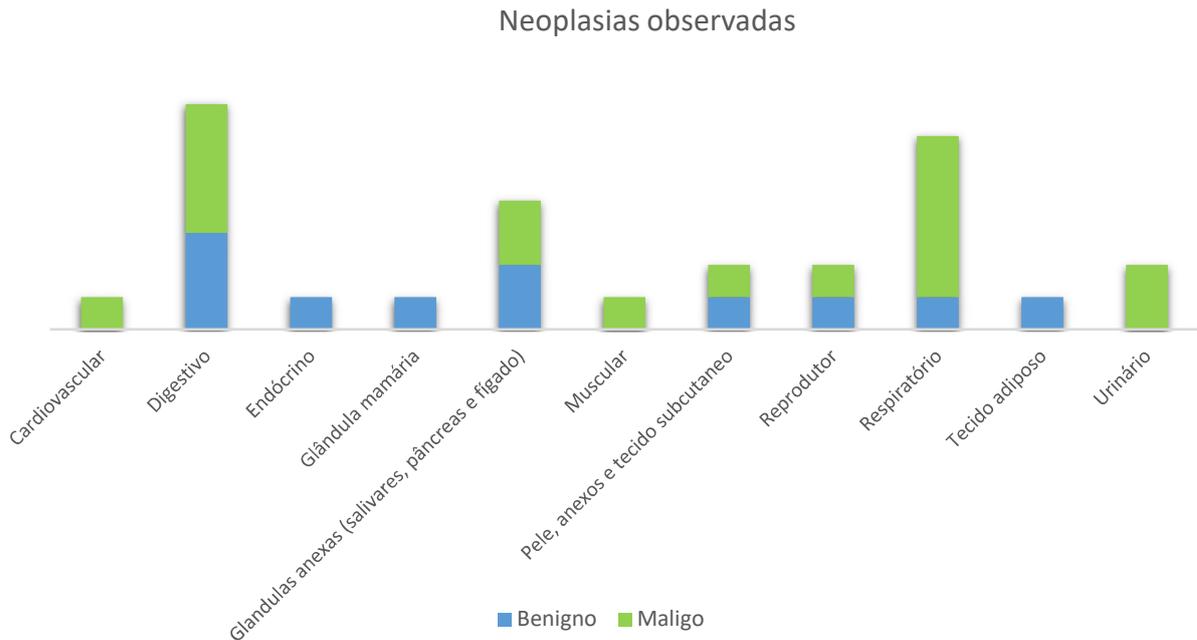


Gráfico 6- Neoplasias observadas distribuídas pelos sistemas do organismo, tendo em conta o seu comportamento biológico benigno ou maligno. Casuística do estágio realizado no ICBAS (2021).

Os estagiários tinham ainda a oportunidade de acompanhar o trabalho do LabPatVet, durante o processamento, a interpretação e o diagnóstico histopatológico dos casos de rotina. Para intensificar o treino na análise histopatológica, eram discutidos os casos do arquivo do LabPatVet-UP ao qual os estagiários tinham acesso.

### 1.2.1 Intervalo *post mortem*

Em todos os cadáveres necropsiados das espécies canina e felina, foi estimado o intervalo *post mortem*, ou seja, o intervalo de tempo decorrido desde a morte do animal até ao momento da necropsia. Em medicina veterinária, as bases científicas para a determinação do intervalo *post mortem* não são tão firmes como em medicina humana, e não existe nenhum método que indique o momento da morte com precisão (Silva, 2016; Brooks, 2016). Apesar da escassez de critérios objetivos para a estimativa do intervalo *post mortem* em veterinária, este exercício durante o estágio revelou-se muito útil para a compreensão das alterações cadavéricas e assim facilitar a distinção entre estas e as alterações patológicas que possam existir.

Em cada cadáver estimámos um intervalo de tempo, dentro do qual a morte possa ter ocorrido. Para tal eram avaliados vários parâmetros na observação macroscópica dos cadáveres, tais como: temperatura corporal, *rigor mortis*, alterações no globo ocular e estado de decomposição. Por rotina os cadáveres eram colocados em arcas refrigeradoras quando recebidos nas instalações, o que alterava a evolução expectável dos parâmetros avaliados no cadáver. A temperatura corporal era desvalorizada nos cadáveres que sofreram refrigeração e os restantes parâmetros eram avaliados tendo em consideração o atraso que a refrigeração causou.

O *rigor mortis* é uma das alterações cadavéricas e consiste no aumento de volume e endurecimento dos músculos (Munro, 2008). Geralmente, surge entre a 2ª e a 6ª hora após a morte, apresentando-se totalmente desenvolvida entre a 6ª e a 12ª hora após a morte e começa a resolver-se depois da 36ª hora (Brooks, 2016). Os músculos da face e do pescoço são os primeiros a apresentar a rigidez que se vai alastrando no sentido crâniocaudal, para a região anterior do tronco, membros torácicos, região posterior do tronco, membros pélvicos e cauda. No caso do coração, a contração do músculo cardíaco acontece mais cedo. Na necropsia, os animais saudáveis e que não

morreram de hipoxia, apresentam o ventrículo esquerdo vazio, ao passo que, o ventrículo direito contém pequenas quantidades de sangue que podem acabar por coagular. Isto acontece porque a contração do músculo do ventrículo esquerdo é mais intensa e expulsa o sangue que contém (Silva, 2016; Munro, 2008). A resolução do *rigor mortis* traduz-se no relaxamento dos músculos e ocorre no mesmo sentido (craniocaudal). O mecanismo de resolução do *rigor mortis* está fortemente relacionado com as reservas musculares de glicogénio. Assim, animais com menos reservas de glicogénio antes da morte (situações de animais magros, que estiveram em fuga ou com doenças crónicas) têm a resolução do *rigor mortis* mais cedo. A temperatura também pode alterar o ritmo do processo, sendo que animais que morreram em hipertermia (por exemplo, devido à temperatura ambiente elevada ou a pirexia) terão rigor mortis mais breve. Coerentemente, as temperaturas baixas têm o efeito oposto (Silva, 2016). Nos cadáveres refrigerados avaliados durante o estágio consideramos, de uma forma geral, que o *rigor mortis* começa a instalar-se na 4ª hora e conclui na 24ª hora após a morte. Por sua vez, o relaxamento dos músculos terá início depois da 30ª hora após a morte e na 39ª será apreciável a flacidez dos músculos da cabeça, pescoço e membros torácicos, continuando rígidos os músculos da região posterior do tronco, dos membros pélvicos e da cauda. A resolução completa do rigor mortis terá lugar depois da 48ª hora após a morte.

As alterações no globo ocular que se podem observar no cadáver resultam da perda de líquidos através da evaporação, já que o humor aquoso e o corpo vítreo têm elevado teor em água. Assim, à medida que o tempo progride a córnea torna-se turva e opaca e o globo ocular aparece mais profundo nas órbitas. Após seis a sete horas do momento da morte, se for pressionado com o dedo o globo ocular cede permanecendo a depressão mesmo se for removida a pressão (Silva, 2016; Munro, 2008).

O processo de decomposição tem início imediatamente após a morte, quando a circulação sanguínea e a respiração cessam. Estando os nossos cadáveres refrigerados precisamente para atrasar a decomposição, a sua leitura limitava-se à observação de coloração verde no abdómen dos cadáveres cuja morte ocorreu há mais de 24 horas. Esta coloração verde resulta da atividade dos microrganismos dos intestinos que pode apresentar-se reduzida quando os animais em vida estavam mal nutridos e desidratados (Silva, 2016).

## 1.2.2 Necropsia

Existem diferentes técnicas de necropsia praticadas pelos patologistas ou veterinários em geral. Durante o estágio para cada espécie necropsiada foi seguida a técnica descrita em Peleteiro (2016).

Todas as necropsias passaram pelas seguintes etapas, identificação do animal e leitura da história pregressa, exame externo e exame interno.

A primeira etapa foi muitas vezes dificultada pelo défice de informações sobre a história pregressa do animal, sendo que muitas vezes o cadáver teria sido apenas encontrado e entregue a centros veterinários.

No exame externo eram avaliados os fenómenos cadavéricos assim como a condição corporal, que dava indicações acerca do estado nutricional do animal. A magreza acentuada foi muitas vezes relacionada com a existência de doença crónica e arrastada. A determinação da posição do animal no momento da morte era feita nesta fase para facilitar, no exame interno, a distinção entre as alterações patológicas e as alterações *post mortem* que surgem devido à estase sanguínea e à força da gravidade. Assim, por exemplo, um animal que morreu em decúbito lateral esquerdo, provavelmente o rim esquerdo (ou outro órgão par) apresentará uma coloração vermelha mais escura que o direito. As aberturas corporais eram sempre inspecionadas assim como as cadeias mamárias das fêmeas e os testículos dos machos inteiros.

Ao longo da necropsia a descrição das alterações observadas e o registo fotográfico foram constantes, já que a visualização do cadáver é um evento temporário ao qual não podemos voltar.

Todos esses registos foram muito úteis, principalmente nos casos em que eram recolhidas amostras para histopatologia, permitindo o acesso à imagem macroscópica no momento de analisar a lesão ao microscópio.

### 1.2.3 Recolha de amostras para histopatologia

A recolha de amostras para histopatologia foi feita continuamente ao longo das necropsias realizadas durante o estágio. As amostras foram escolhidas quando a necropsia se mostrava inconclusiva e quando a observação macroscópica suscitava especial interesse científico e curiosidade académica. A obtenção de imagens microscópicas que permitem a completa análise das lesões e que são capazes de levar ao diagnóstico correto está dependente da forma como as amostras são recolhidas. Assim sendo, é pertinente abordar alguns cuidados tidos em conta durante o estágio.

Sendo o destino das amostras a análise histopatológica, devem ser colocadas o mais brevemente possível em solução fixadora para parar os fenómenos autolíticos. A solução fixadora utilizada foi formol a 10%, que consiste numa solução aquosa constituída por uma parte de formaldeído a 37% para nove partes de água. O volume de formol a 10% deve ser dez vezes o volume da amostra que se pretende fixar (Correia & Pissarra, 2016; Maxie & Miller, 2015; Pires, 2016).

Uma amostra representativa inclui o tecido lesionado, o tecido normal e a transição. Quando no mesmo órgão se observam lesões morfológicamente diferentes, todas devem ser recolhidas. O material necrótico, hematomas, assim como o conteúdo alimentar do sistema digestivo podem ser descartados, pois são desprovidos de informação histopatológica e prejudicam a fixação (Correia & Pissarra, 2016; Maxie & Miller, 2015; Pires, 2016).

Idealmente as amostras são seccionadas com um centímetro de espessura, para que o fixador penetre o tecido na totalidade (Correia & Pissarra, 2016; Maxie & Miller, 2015; Pires, 2016). Os órgãos homogéneos como o fígado, foram seccionados em forma de paralelepípedo, no entanto, órgãos com várias estruturas anatómicas (como acontece no rim) foram seccionados de forma a incluir todas essas estruturas na amostra. Os órgãos tubulares eram seccionados longitudinalmente para serem explorados e depois transversalmente para recolher, sendo que as amostras incluem todas as camadas da parede. Tecidos frágeis como o encéfalo eram colocados inteiros na solução fixadora durante uns dias e após adquirirem maior consistência, eram realizados cortes transversais profundos (mas sem seccionar totalmente o órgão) para concluir a penetração do fixador. No caso em que recolhemos os globos oculares, injetamos para o interior formol a 10% utilizando uma seringa acoplada a agulha.

Quando seccionamos os órgãos, o esmagamento dos tecidos tem de ser evitado, para isso devemos assegurar que os utensílios cortam bem e seccionar com o menor número de golpes possíveis. Os diferentes tipos de tecido podem ser colocados no mesmo frasco, não se levantando risco de contaminações quando os submetemos ao fixador (Correia & Pissarra, 2016; Maxie & Miller, 2015; Pires, 2016). Por uma questão de organização apenas juntamos no mesmo frasco as amostras provenientes do mesmo cadáver, o qual era identificado na face do frasco. A identificação nunca era feita na tampa do frasco pois pode levar a erros e trocas de informação quando se abrem vários frascos em simultâneo.

### 1.2.4 Observação microscópica e interpretação histopatológica

A observação microscópica e a respetiva interpretação histopatológica requerem o reconhecimento do que está a ser observado, o que torna a tarefa difícil no início quando contamos com pouca experiência e vemos as alterações pela primeira vez. Nesta fase é importante conhecer a histologia para que consigamos detetar a presença de alterações patológicas. Após a deteção das alterações patológicas é indispensável a presença de livros de patologia para alcançar o diagnóstico ou pelo menos uma lista de diagnósticos diferenciais. No entanto, o diagnóstico não passa apenas

pela observação ao microscópio, é necessário integrar desde o início a história do animal, os sinais clínicos e as lesões macroscópicas (Maxie & Miller, 2015).

A observação da lâmina começa a olho nu, pois muitas vezes é possível identificar o tecido que vai ser analisado, detetar artefactos que possam prejudicar a interpretação da lâmina ou fragmentos de tecido que se dispersaram na lâmina durante o processamento. Seguidamente, já com a lâmina devidamente colocada no microscópio, deve ser observada toda a sua extensão em baixa ampliação. As lesões focais poderão ser detetadas e as áreas para observar posteriormente em detalhe são seleccionadas. Depois das alterações patológicas serem detetadas, facilita-se a categorizarmos de acordo com as características histopatológicas que apresentam (Maxie & Miller, 2015). Para melhor compreender os mecanismos que levam às alterações observadas no microscópio, o estagiário foi organizando as mesmas nas seguintes categorias: degenerativas, necróticas, inflamatórias, alterações de crescimento e diferenciação não neoplásicas, neoplásicas e alterações da circulação sanguínea.

### A- Alterações degenerativas

A degenerescência é um processo reversível que ocorre quando a célula é submetida a um dano não letal. É detetada microscopicamente, sobretudo pela presença de vacúolos no citoplasma. Os vacúolos estão associados principalmente, à acumulação de água no retículo endoplasmático (degenerescência hidrópica) ou à acumulação de gotículas de gordura no citoplasma (degenerescência lipídica). A degenerescência hidrópica apresenta vacúolos irregulares no citoplasma e é comum nas células do parênquima visceral, devido a hipoxia ou toxicidade. Por sua vez, a degeneração lipídica apresenta vacúolos no citoplasma de maior tamanho e mais redondos que os anteriores, e é comum ocorrer nos hepatócitos devido a doenças metabólicas. As células afetadas podem, simultaneamente, apresentar coloração mais eosinofílica devido à perda de RNA citoplasmático que, quando presente retém os corantes básicos como a hematoxilina conferindo às células uma coloração mais azul. Se a lesão é grave ou persistente a degenerescência pode evoluir para necrose (Mitchell, 2013a; VinMec, 2022).

### B- Alterações necróticas

A necrose é um processo irreversível que corresponde à morte de células ou tecidos num organismo vivo e que pode ocorrer no seguimento de alterações degenerativas ou de forma aguda. O citoplasma torna-se homogéneo e muito eosinofílico devido à perda de RNA citoplasmático e à presença de proteínas desnaturadas no citoplasma que retêm a eosina (ver figura 1). A eosinofilia do citoplasma constitui a primeira alteração detetável ao microscópio, no entanto, a melhor evidência de necrose celular são as alterações nucleares que culminam com o desaparecimento total do núcleo. Os fenómenos precedentes ao desaparecimento do núcleo são a picnose, cariorexise e a cariólise. As células que sofreram necrose podem ser digeridas por enzimas e desaparecer ou podem persistir e ser substituídas por figuras de mielina que provêm das membranas citoplasmáticas danificadas. As figuras de mielina são fagocitadas ou degradadas em ácidos gordos que se ligam a sais de cálcio tornando-se, por fim, calcificadas. A necrose pode ser designada, segundo a morfologia que apresenta no tecido, em: necrose coagulativa, liquefactiva, gangrenosa, caseosa, necrose da gordura e fibrinóide (Mitchell, 2013a; VinMec, 2022).

#### Necrose coagulativa

Na necrose coagulativa, a lesão, além das proteínas estruturais, também desnatura as enzimas proteolíticas (que iriam digerir as proteínas) e assim os contornos das células e a arquitetura do tecido é preservada, o que se manifesta macroscopicamente pelo seu aspeto firme. No progresso da lesão as células mortas acabam por ser fagocitadas por leucócitos que infiltram no tecido necrosado. Este tipo de necrose ocorre geralmente em órgãos como rim, coração e glândulas adrenais devido sobretudo a situações de isquemia (Mitchell, 2013a).

### Necrose liquefativa

A necrose liquefativa, ao contrário da coagulativa, caracteriza-se pela digestão enzimática das células mortas, o que resulta macroscopicamente na transformação do tecido num material viscoso. Este tipo de necrose é observável em infeções bacterianas ou fúngicas, já que estes organismos estimulam a chamada de leucócitos que libertam enzimas para digerirem as células mortas. Também o pus consiste em material necrótico com presença de leucócitos mortos (Mitchell, 2013a).

### Necrose gangrenosa

A necrose gangrenosa é um termo frequentemente utilizado em clínica para designar a necrose coagulativa alastrada a várias camadas de tecido, por exemplo quando um membro inteiro perde a irrigação sanguínea. Se ocorrer em simultâneo a infeção por microrganismos é designada por gangrena húmida (Mitchell, 2013a).

### Necrose caseosa

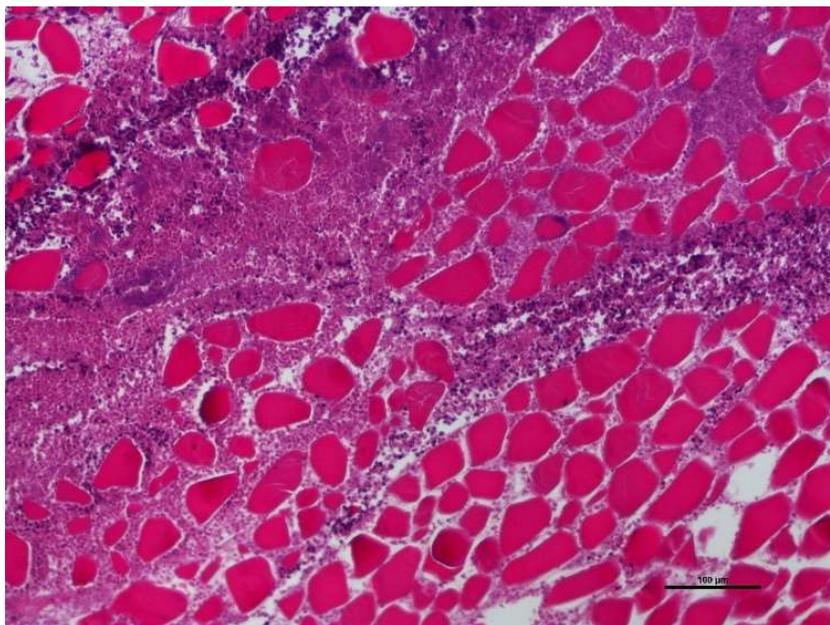
A necrose caseosa designa as lesões típicas da tuberculose. Ao microscópio observam-se focos de necrose com aspeto amórfico, granular e muito eosinofílico. Os contornos das células não são preservados e a arquitetura do tecido fica completamente destruída. Frequentemente esses focos de necrose estão delimitados por reação inflamatória (Mitchell, 2013a).

### Necrose da gordura

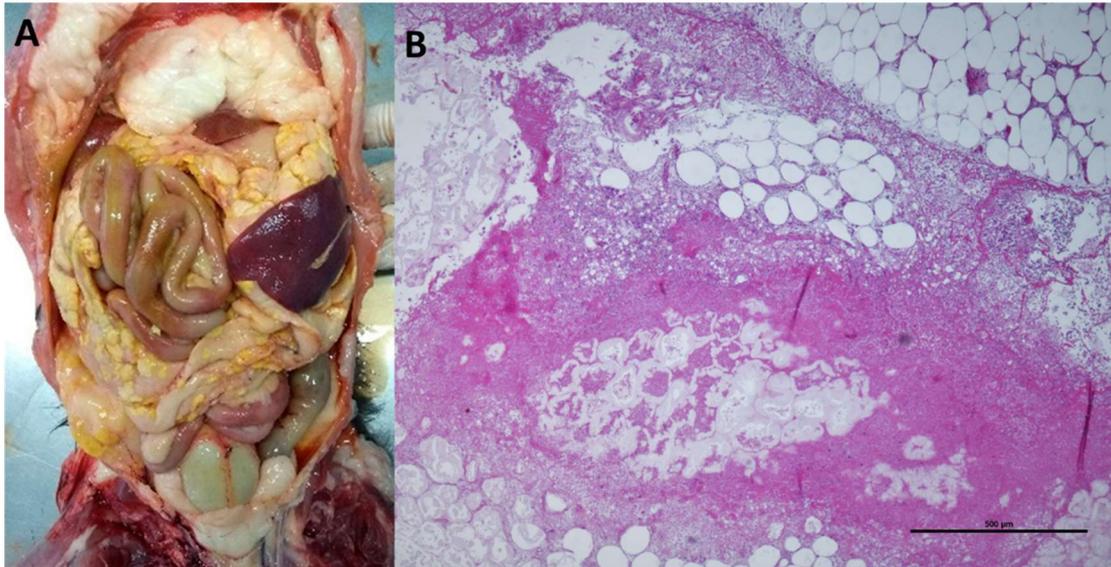
A necrose da gordura consiste na destruição do tecido lipídico que liberta ácidos gordos que se combinam com sais de cálcio resultando na saponificação da gordura. Macroscopicamente é possível detetar o aumento da firmeza da gordura e microscopicamente são visíveis focos de necrose de células lipídicas com depósitos basófilos de cálcio no seu interior (ver figura 2). Este tipo de necrose pode ser exuberante em situações de pancreatite aguda em que há libertação de lípases ativas dos ductos para o tecido circundante (Mitchell, 2013a).

### Necrose fibrinóide

A necrose fibrinóide ocorre particularmente em doenças autoimunes e só pode ser identificada ao microscópio. Consiste na deposição de complexos imunes (antigénio e anticorpo) juntamente com fibrina na parede dos vasos sanguíneos (Mitchell, 2013a).



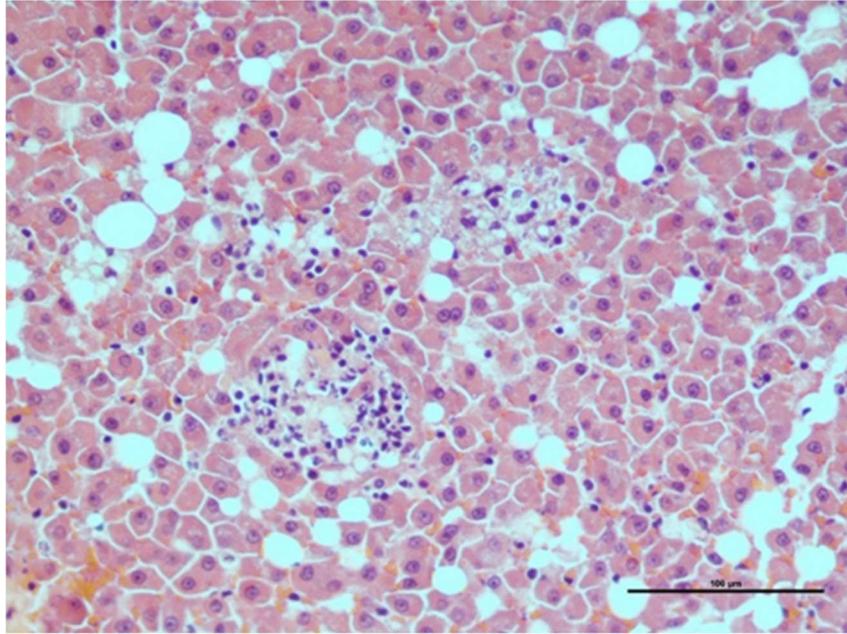
*Figura 1 Tecido muscular com reação inflamatória e necrose evidente pela ausência de núcleo das células musculares e pelo aumento da sua eosinofilia. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x)*



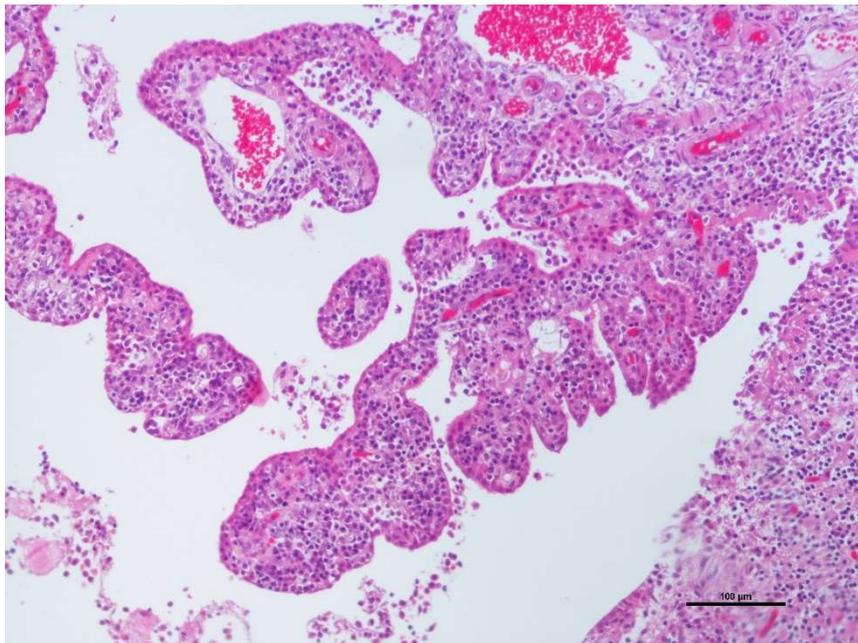
*Figura 2 A: Cadáver onde se identifica na gordura abdominal múltiplas placas amareladas, densas, secas e firmes. B: Tecido adiposo que apresenta focos de necrose com saponificação. A imagem corresponde à observação microscópica do tecido adiposo recolhido do cadáver em A. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 4x)*

### C- Alterações inflamatórias

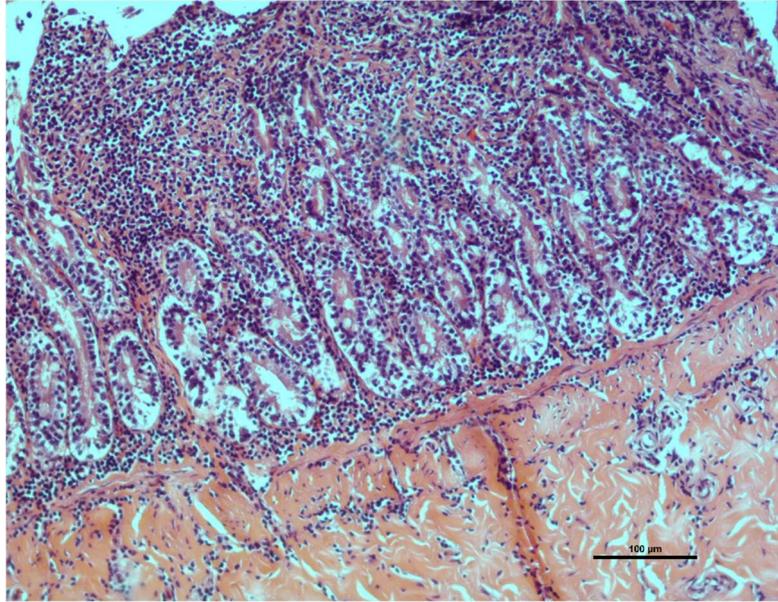
A inflamação é um mecanismo de defesa do organismo que pode ser desencadeada pela infeção, presença de corpos estranhos, tecido necrótico, traumatismos e pela resposta imune (hipersensibilidade). Neste mecanismo ocorre o recrutamento de células e moléculas de defesa presentes na circulação sanguínea para os locais onde são necessárias para eliminarem o agente etiológico. Microscopicamente, pode ser reconhecida pela presença de leucócitos, também designados por células inflamatórias, sendo eles os neutrófilos, eosinófilos, basófilos, plasmócitos, linfócitos e macrófagos. Os leucócitos predominantes na reação determinam o tipo de inflamação presente, assim temos: inflamação purulenta ou neutrofilica, piogranulomatosa, granulomatosa (figura 3), linfoplasmocitária (figura 4), linfocítica (figura 5) e mista (figura 6). Nas inflamações agudas, após a eliminação do agente etiológico, segue-se a diminuição da reação inflamatória para permitir a reparação do tecido destruído, mas quando o agente etiológico é persistente, a reação inflamatória não cessa e o processo tende para a cronicidade. Microscopicamente, nos processos agudos observa-se sobretudo neutrófilos, por sua vez, os processos crónicos caracterizam-se pela observação de plasmócitos, linfócitos, macrófagos ou células gigantes, assim como pela proliferação de novos vasos sanguíneos (angiogénese) e áreas de fibrose. A fibrose consiste na deposição de colagénio para substituir as células destruídas dos tecidos que não têm a capacidade de regenerar devido, geralmente, ao processo de inflamação crónica que sofreram. Ao microscópio as fibras de colagénio apresentam aspeto ondulado (ver figura 7) (Mitchell, 2013b).



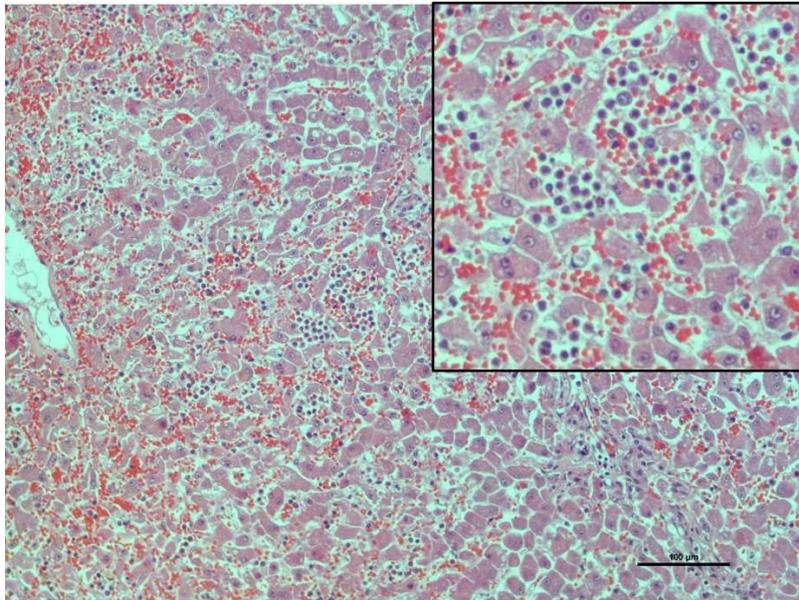
*Figura 3 Lipogranulomas presentes no fígado recolhido de cadáver de gato. Os lipogranulomas são grupos de macrófagos com vacúolos lipídicos e pigmentos no citoplasma (Sobczac- Filipiak et al., 2018). Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x).*



*Figura 4 Coroidite linfoplasmocitária. Cérebro recolhido de cadáver de gato. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x).*



*Figura 5 Duodenite linfocítica difusa ao longo de todo o segmento. Intestino recolhido de cadáver de gato diagnosticado com doença inflamatória gastrointestinal (IBD). Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x).*



*Figura 6 Inflamação mista em fígado recolhido de cadáver de gato. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x).*

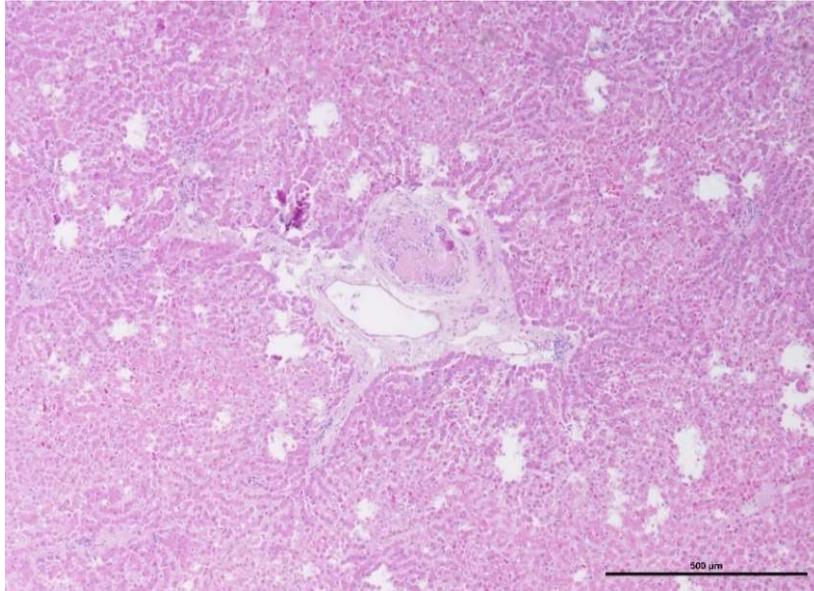


Figura 7 Fibrose em redor da triáde hepática. Fígado recolhido de cadáver de gato. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 4x).

#### D- Alterações de crescimento e diferenciação não neoplásicas

Os distúrbios de crescimento e diferenciação incluem a hipertrofia, atrofia, hiperplasia, hipoplasia, a metaplasia e neoplasia. Na hipertrofia e na hiperplasia há aumento do tamanho do órgão em consequência, no primeiro caso, do aumento do tamanho das células que o constituem e, no segundo caso, do aumento do número de células (ver figura 8). Já na atrofia e na hipoplasia ocorre a diminuição do tamanho do órgão devido à redução do tamanho ou do número de células que o constituem, respetivamente. A metaplasia é um processo reversível em que um tipo de células diferenciadas é substituído por outro (Mitchell, 2013a).

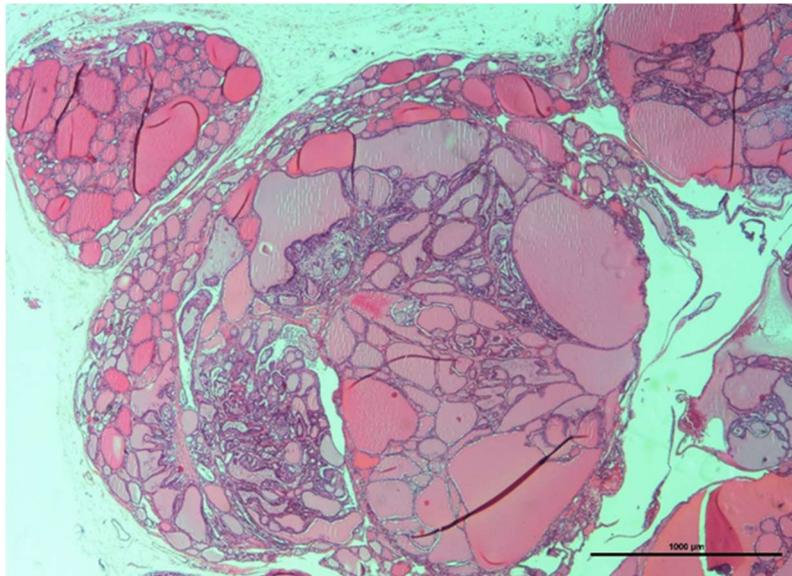


Figura 8 Hiperplasia folicular na glândula tiroide recolhida de cadáver de gato. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 2x).

#### E- Alterações neoplásicas

A neoplasia resulta do crescimento celular descontrolado, desencadeado por mutações adquiridas que afetam uma célula e os clones que dela se originam. Essas mutações conferem às

células neoplásicas vantagens de sobrevivência e crescimento, o que resulta na proliferação excessiva e independente do crescimento fisiológico. Todas as neoplasias têm dois componentes básicos: o parênquima, que consiste nas células neoplásicas e o estroma, constituído sobretudo por tecido conjuntivo e vasos sanguíneos. A classificação das neoplasias e do seu comportamento biológico é baseada primeiramente no parênquima, mas o seu crescimento e metástase estão dependentes do estroma.

Em relação ao comportamento biológico, de uma maneira geral, a neoplasia é considerada benigna quando aparenta, através do aspeto macroscópico e microscópico, que vai permanecer localizada, não sofrendo metástase e sendo passível de remoção cirúrgica (ver figura 9). Por outro lado, é considerada maligna a neoplasia capaz de invadir e destruir estruturas adjacentes e sofrer metástase, o que exige, geralmente, um tratamento sistémico (quimioterapia ou radioterapia) além da remoção cirúrgica (Maitra, 2013). A distinção entre neoplasia benigna e maligna nem sempre é fácil de realizar. Na figura 10 temos um exemplo de uma neoplasia que, apesar de não ter evidências de metástase e invasão dos tecidos circundantes (macroscopicamente e microscopicamente), foi classificado como maligna tendo em conta outros critérios, tais como: figuras de mitose numerosas, pleomorfismo celular e nuclear e presença de células gigantes (Rosol & Meuten, 2017).

Em relação às células que constituem o parênquima, as neoplasias podem ser organizadas em três categorias: epiteliais, mesenquimatosas e de células redondas. As neoplasias epiteliais podem surgir de qualquer um dos folhetos embrionários (endoderme, mesoderme e ectoderme); as neoplasias mesenquimatosas têm origem na mesoderme, de onde deriva o tecido conjuntivo do organismo; por último, a categoria das neoplasias de células redondas caracteriza-se pelo padrão citomorfológico que apresenta, podendo ter origens embriológicas diferentes. Esta categoria inclui os mastocitomas, histiocitomas, plasmocitomas, linfomas e o tumor venéreo transmissível. (Marsh, 2020).

No que concerne à nomenclatura, as neoplasias benignas são denominadas acrescentando o sufixo *-oma* ao tipo de célula do qual teve origem. As neoplasias mesenquimatosas, de uma forma geral, seguem esta regra, pelo contrário as neoplasias epiteliais apresentam variações, sendo algumas denominadas segundo o tecido de origem, outras segundo o padrão que apresentam ao microscópio (por exemplo os papilomas) e outras segundo a arquitetura macroscópica que exibem (pólipos). São ainda denominadas por adenomas as neoplasias com origem em epitélio glandular ou com origem em epitélio não glandular, mas com padrão tubular (por exemplo o adenoma renal) (Maitra, 2013). Por sua vez, as neoplasias malignas são denominadas carcinomas quando têm origem em células epiteliais e sarcomas quando derivam de células mesenquimatosas em tecido sólido. Destas últimas são separadas as neoplasias das células hematopoiéticas e do tecido linfoide, que se designam por leucemias e linfomas respetivamente (Carbone, 2020). Quando não é possível reconhecer o tecido de origem da neoplasia, deve ser designada por neoplasia maligna indiferenciada, e quando a célula neoplásica inicial sofre diferenciação divergente resultando numa neoplasia com células de aspeto diferente entre si, designa-se por neoplasia mista (Maitra, 2013).

As alterações neoplásicas estão muito presentes no trabalho de rotina dos laboratórios de histopatologia. Nestas situações, a análise é ante mortem tem como principal objetivo auxiliar o veterinário clínico na escolha da abordagem terapêutica do animal. Para isso é muito importante verificar se têm comportamento biológico benigno ou maligno, sendo que no caso de algumas neoplasias malignas é ainda avaliado o grau de malignidade. A identificação da entidade neoplásica era feita, ao longo do estágio, recorrendo aos livros “International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals”, editados pela WHO- World Health Organisation.

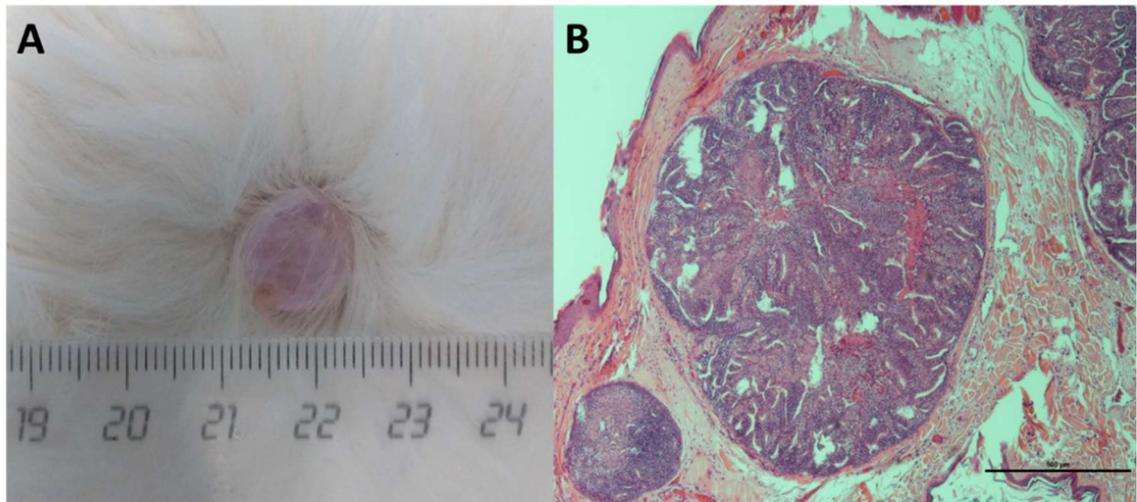


Figura 9 A: Quisto cutâneo junto ao dorso em cadáver de gato de 11 anos. Apresentava conteúdo gelatinoso. B: Tricoblastoma quístico (neoplasia benigna das células foliculares germinativas). Imagem microscópica correspondente ao quisto em A. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 4x).

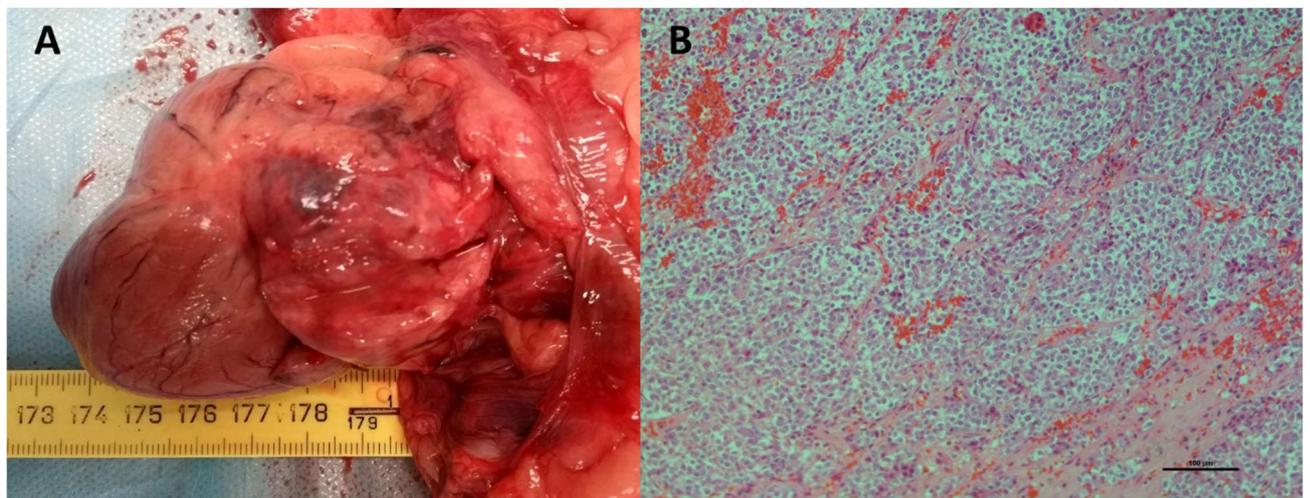


Figura 10 A: Massa aderida ao coração de cão idoso (a massa já se encontra seccionada). B: Quemodectoma (tumor com origem nas células quimiorreceptoras localizadas no corpo aórtico ou nos corpos carotídeos) maligno com estroma fibrovascular. Imagem microscópica correspondente à massa vista em A. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 10x).

## F- Alterações da circulação sanguínea

Dentro das alterações da circulação sanguínea são incluídas lesões como, congestão ativa, congestão passiva, edema, hemorragia, trombose, embolismo e enfarte. Na congestão ativa e na congestão passiva há aumento do volume de sangue num tecido, no primeiro caso devido à dilatação arteriolar em situações de inflamação ou exercício físico e no segundo caso, devido à dificuldade no retorno venoso (ver figura 11). O edema consiste na acumulação de fluido no espaço extravascular (ver figura 12). Na hemorragia ocorre uma inadequada hemóstase, permitindo que o sangue circule fora dos vasos. Pode comprometer a perfusão dos tecidos de uma região e se for intensa pode provocar hipotensão e evoluir para choque culminando na morte. Pelo contrário, a trombose é a coagulação excessiva do sangue e o embolismo a migração do coágulo formado que pode resultar na obstrução de vasos, geralmente capilares, que por sua vez poderá levar à morte celular por isquemia, o que se designa de enfarte (Mitchell, 2013c).

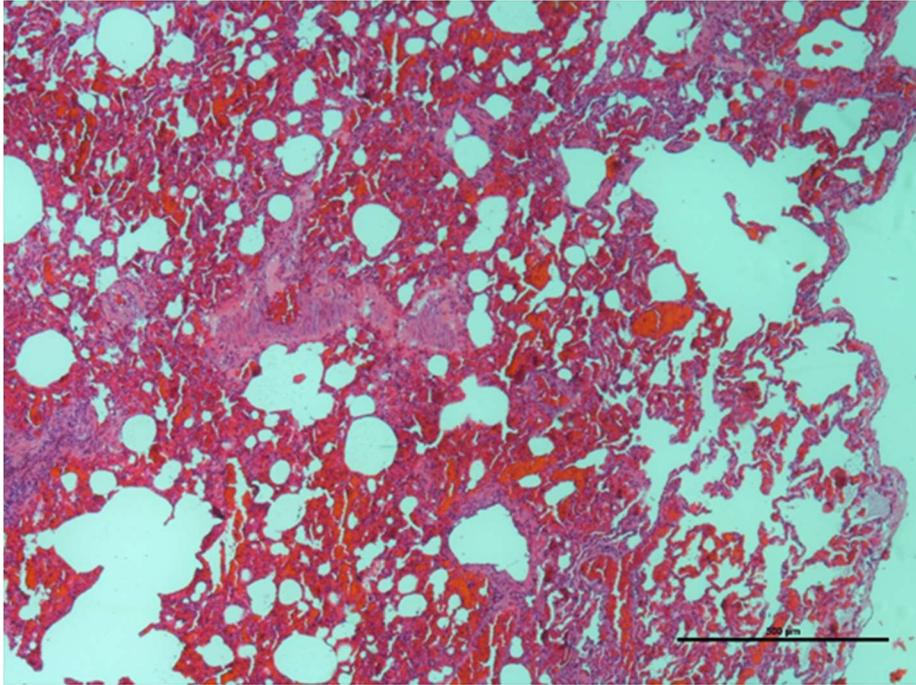


Figura 11 Congestão passiva no pulmão (notar a grande quantidade de eritrócitos e o ingurgitamento dos vasos) e enfizema compensatório. Recolhido de cadáver de gato com 6 meses com história de morte súbita. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 4x).

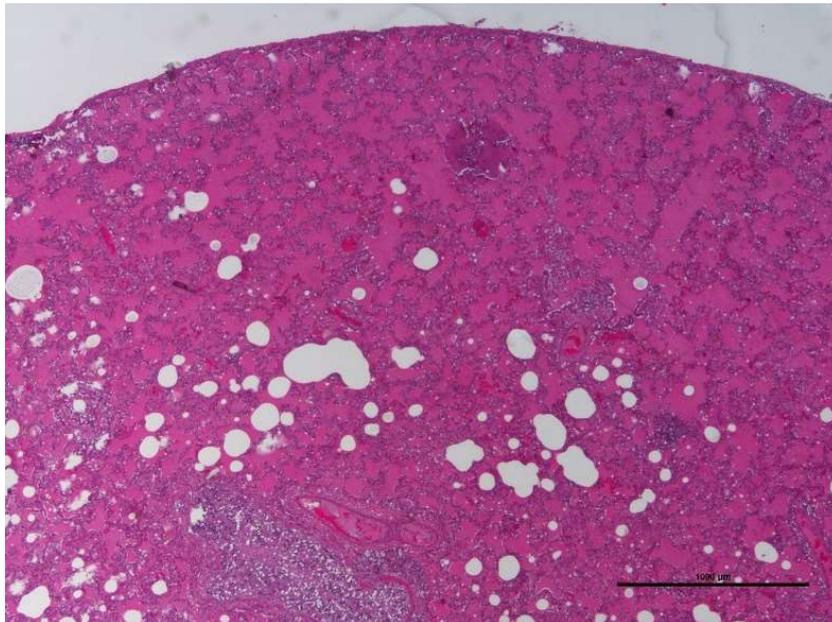


Figura 12 Edema pulmonar. À necropsia o fragmento pulmonar apresentou prova de docimasia negativa. Recolhido de cadáver de gato com hérnia diafragmática que incluía intestino delgado, pâncreas e baço. Fotografia tirada no ICBAS (2021). (Hematoxilina e eosina, 2x)

## 2. CLÍNICA E CIRURGIA DE ANIMAIS DE PECUÁRIA

### 2.1. Caracterização da instituição de acolhimento e do local de estágio

O estágio realizado na área de clínica de animais de pecuária ocorreu de janeiro a março na Associação de Jovens Agricultores Micaelenses (AJAM), localizada nas Arribanas na ilha de São Miguel do Arquipélago dos Açores.

A AJAM, instituição que acolheu o estágio e o estagiário no verdadeiro sentido da palavra, tem como principais objetivos apoiar e contribuir para a valorização técnica, empresarial e cultural dos associados. Atualmente conta com cerca de 370 sócios, pelos quais se empenha para informar, instruir e representar perante entidades e instituições oficiais no setor da agropecuária, mais especificamente na bovinicultura. Todo este esforço contribui significativamente para a evolução e inovação do setor. A própria associação gere uma exploração de leite com cerca de 85 produtoras. A importância da AJAM na comunidade assenta também na prestação de serviços de inseminação artificial de bovinos, acompanhamento técnico às explorações, qualidade do leite, assistência veterinária e sanidade. Sendo que qualquer sócio ou não sócio pode solicitar a visita de um veterinário ou técnico em qualquer ponto da ilha de São Miguel (AJAM, 2022)

A ilha de São Miguel pertence ao grupo oriental do Arquipélago dos Açores sendo, das nove ilhas que o constituem, a mais habitada e com maior superfície terrestre. O arquipélago tem origem vulcânica e localiza-se em pleno oceano Atlântico. A atividade vulcânica é frequente, tendo sido recentemente verificada em São Jorge, e justifica a presença predominante de andossolos no arquipélago. Este tipo de solo, apesar de algumas limitações é considerado dos mais produtivos do mundo devido à reserva nutritiva que tem e à facilidade com que liberta esses nutrientes. Os andossolos apresentam boa capacidade de retenção de água devido à sua baixa densidade e elevada macroporosidade, no entanto, a elevada hidratação pode aumentar a viscosidade do solo e dificultar algumas operações de mobilização de solos, ocorrendo o risco de encharcamento. A sua capacidade para reter nutrientes na forma catiónica, tais como cálcio, magnésio e potássio, depende do pH. Assim, solos com pH baixo devem ser corrigidos através da calagem para atingirem as condições de fertilidade. Apresentam ainda tendência para absorverem fosfato, o que diminui a disponibilidade do mesmo para as plantas presentes que terão de ser compensadas caso a carência nutritiva se verifique (Massot, 2015; Vicente, 2020; Pinheiro, 2013).

Em relação ao clima que encontramos no arquipélago dos Açores, é designado por temperado marítimo, o que se traduz na baixa variação térmica e na pluviosidade e humidade relativa elevadas durante todo o ano. Apesar da regularidade verificada é possível distinguir facilmente duas estações no ano, a seca e a húmida. A estação seca inicia em março e termina no final de setembro, as temperaturas são mais elevadas, a precipitação é menor e os ventos menos intensos. A estação húmida verifica-se a partir do final de setembro até meados de março, a precipitação é maior e os ventos mais intensos. São ainda evidentes os microclimas locais criados devido ao relevo montanhoso das ilhas (Vicente, 2020; Governo dos Açores, 2022).

As características edafoclimáticas apresentadas permitem o crescimento vegetal e consequentemente a produção agrícola durante todo o ano. De facto, a principal ocupação dos solos no arquipélago é a produção agrícola, sendo a superfície agrícola útil (SAU) equivalente a mais de metade do território total. A maioria da SAU é utilizada para pastagens permanentes ideais para a criação de gado, que é considerada a principal atividade económica da região (Massot, 2015).

A criação de gado presente no arquipélago é destinada maioritariamente para a obtenção de carne e leite de bovino, sendo a produção de leite a atividade com maior expressão e mais relevante para a sustentabilidade económica, sobretudo na ilha de São Miguel (Silva, 2022). De facto, durante o estágio realizado os serviços foram maioritariamente concretizados em boviniculturas. Quanto a outras espécies como caprinos, ovinos, suínos e equinos, os serviços foram esporádicos e sempre em produções familiares.

Dentro da bovinicultura, foram visitadas no estágio distintas explorações ou lavouras, tal como são rotineiramente designadas na ilha de São Miguel. Distinguem-se primeiramente pela aptidão dos animais, como sendo produção de carne ou de leite.

As lavouras de produção de carne visitadas apresentavam dois tipos de sistema: no primeiro sistema, frequentemente designado como exploração de engorda, compram-se os vitelos de raças cruzadas ou puras com aptidão de carne e procede-se à sua engorda em pastoreio ou em confinamento; no segundo sistema, as vacas progenitoras encontram-se em pastoreio e são inseminadas com sémen de touro com aptidão de carne, frequentemente das raças Aberdeen-Angus, Limousine ou Charolês. Os vitelos acompanham as mães até ao desmame, podendo depois serem vendidos para explorações de engorda ou ficar na mesma exploração para engordarem à base de pastagem e forragem. Os produtos finais destes sistemas são os vitelões e os novilhos.

Em relação às lavouras de produção de leite distinguem-se primeiramente pela presença ou não dos vitelos na exploração para engorda, podendo designar-se respetivamente por sistema misto e sistema especializado em produção de leite. No sistema misto, a produção de leite ocorre em paralelo com a produção de carne através da recria e engorda dos vitelos que nascem na exploração. Nestes casos os produtores optam por inseminar o efetivo leiteiro com sémen de raça com aptidão de carne, frequentemente de Aberdeen- Angus. No sistema especializado em produção de leite, os vitelos são colocados num vitleiro e alimentados com leite durante aproximadamente 15 dias. Depois são vendidos para engorda e algumas fêmeas selecionadas para a reposição do efetivo leiteiro. Neste tipo de sistema os produtores optam por inseminar uma parte do efetivo com sémen de raças de aptidão de carne, sendo os respetivos vitelos para venda, e outra parte com sémen de raças de aptidão leiteira e sexado para que a taxa de fêmeas seja superior, sendo selecionadas dos respetivos vitelos as fêmeas de reposição. Apesar da inseminação artificial se demonstrar ao longo do estágio, ser uma estratégia amplamente aceite e adotada na ilha, a presença do touro ocorre em algumas explorações, porque é economicamente mais interessante para alguns produtores usar a monta natural ou para colmatar os insucessos das inseminações. A raça com aptidão leiteira com mais expressão nestes sistemas é a Holstein- Frísia, sendo também verificável a presença da raça Jersey, além de animais resultantes do cruzamento de ambas as raças.

Os animais com os quais contactávamos diariamente no decorrer do estágio eram de raça Holstein- Frísia, Jersey e os seus cruzados, já que as lavouras mais frequentes na ilha de São Miguel e que mais solicitaram serviços veterinários são de produção de leite. Quanto aos sistemas de manejo que encontrámos nas visitas às diferentes lavouras podem organizar-se em três grupos: estabulação permanente, semi- estabulação e pastoreio. No sistema de estabulação permanente as vacas em fase de produção encontram-se no interior de pavilhões, geralmente com piso em cimento. Neste tipo de manejo o produtor pode mais facilmente controlar a alimentação dos animais, para que seja mais balanceada e uniforme. No sistema de semi- estabulação o produtor intercala o tempo de permanência dos animais na pastagem e no pavilhão, dependendo de variáveis como a disponibilidade de pasto e as condições climáticas. No sistema de pastoreio os animais estão permanentemente no exterior durante todo o ano, podendo existir instalações com salas de ordenha fixas ou ordenhas móveis sem qualquer outro tipo de infraestrutura. Os animais vão alternando entre parcelas da pastagem previamente dividida pelo produtor de forma a controlar o pastoreio e regular a disponibilidade de alimento durante todo o ano. Este tipo de sistema mostrou-se predominante ao longo do estágio e pode ser considerado característico da bovinicultura micalense, uma vez que apenas é possível em virtude das condições edafoclimáticas abordadas anteriormente. O pasto, em crescimento todo o ano, disponibiliza a base alimentar dos animais e permite o aproveitamento do estrume que os mesmo excretam, através da absorção pelo solo e pelas plantas. Os animais são ainda suplementados com silagem de erva e de milho. A silagem de erva é geralmente preparada pelos produtores a partir dos próprios pastos na primavera e início do verão, quando o crescimento vegetal é exuberante.

A disponibilidade de pasto durante todo o ano influencia a organização dos animais que, sem qualquer restrição a uma época de partos, estão presentes na lavoura em todas as fases de produção em qualquer momento do ano. Deste modo, no decorrer dos três meses de estágio tive oportunidade de contactar com neonatos, novilhas ou “gueixas”, termo utilizado na região, vacas em produção e em período seco. Por norma os produtores apresentam duas pastagens ocupadas, numa estão as vacas

em produção e na outra, afastada da ordenha, encontram-se as vacas em período seco e as novilhas para futura substituição. Dispõem ainda de um vitleiro que é caracteristicamente heterogéneo em consequência dos partos que ocorrem ao longo de todo o ano. Dentro do grupo dos animais em período seco, encontramos vacas no oitavo e nono mês de gestação, já no grupo das produtoras podemos ter animais gestantes e não gestantes ou, como é costume designar no campo, “cheias e vazias”. Na figura 28 está representada uma curva de lactação, na qual esta organização dos animais se sustenta. O ciclo de lactação inicia quando a vaca tem o parto, começando a produzir leite que aumenta em quantidade na fase inicial da lactação até atingir o pico da produção. Sensivelmente três meses após o parto, a mesma vaca deve estar gestante novamente se queremos atingir um intervalo entre partos de doze meses, assim, considerando que a taxa de gestação é cerca de 50%, é necessário submetê-la à primeira tentativa de inseminação artificial ou cobrição atempadamente. A partir desta fase, a produção de leite induzida pelo parto vai diminuindo enquanto o crescimento fetal progride. No décimo mês após o parto, que coincide com o sétimo mês da nova gestação, a produção de leite é já reduzida e, habitualmente os produtores procedem à secagem do leite e retiram a vaca da produção juntando-a ao grupo das vacas secas até que o novo parto inicie um novo ciclo.

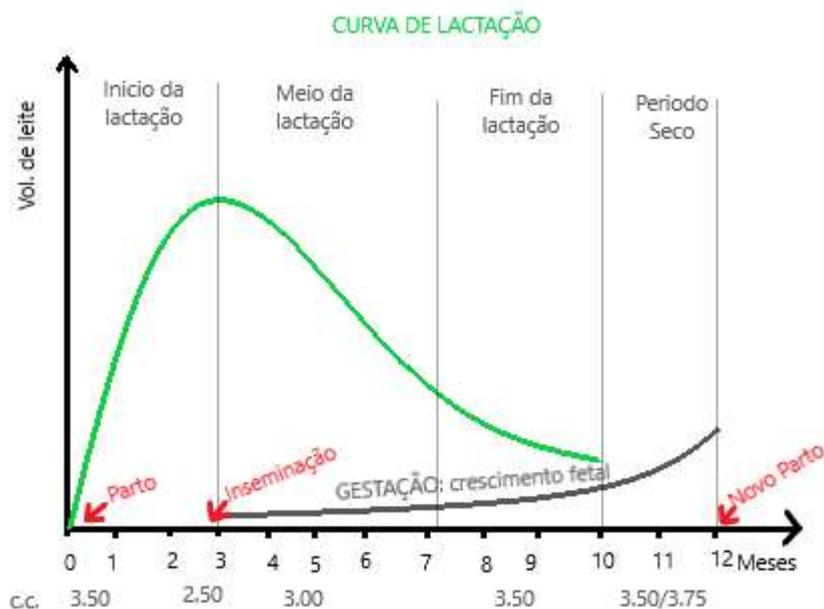


Figura 13 Exemplo de curva de lactação nas várias fases do ciclo produtivo de uma vaca leiteira.

## 2.2. Atividades desenvolvidas no estágio

O estágio consistiu no acompanhamento dos veterinários da AJAM que exercem clínica em modo ambulatório. A AJAM divide a ilha em três zonas e cada clínico fica responsável por uma de forma rotativa, passando todos os clínicos em todas as zonas.

Sendo a clínica médica e a clínica cirúrgica, que surgiu em consequência da primeira, as áreas nas quais o estagiário mais se envolveu e que preencheram o seu dia a dia, houve ainda oportunidade para acompanhar outras áreas tais como sanidade e medicina preventiva, controlo reprodutivo, correção de cascos e necropsia. O gráfico 7 é a exposição visual da realidade experienciada durante o estágio, sendo que o número de serviços coincide com o número de animais intervencionados, exceto na intradermatuberculinização para rastreio de tuberculose e na recolha de sangue para rastreio de brucelose. Nestas últimas atividades foi considerado como um serviço cada efetivo intervencionado, isto porque o procedimento além de ser repetitivo só faz sentido quando feito ao conjunto dos animais.

## Áreas de atuação

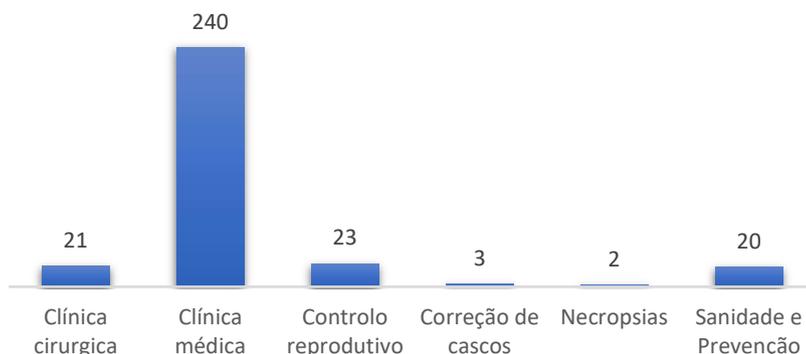


Gráfico 7- Total de serviços efetuados em cada área de atuação. Casuística do estágio na AJAM (2022).

Seguidamente estão descritas as atividades que o estagiário acompanhou em cada área de atuação.

### 2.2.1 Sanidade e Medicina Preventiva

No âmbito da sanidade e medicina preventiva foram efetuados procedimentos profiláticos de carácter obrigatório e facultativo. Dentro dos procedimentos profiláticos obrigatórios temos a recolha do tronco encefálico para pesquisa de doenças espongiformes, a recolha de sangue para pesquisa de brucelose e a intradermatuberculinização para vigilância da tuberculose. No que concerne aos procedimentos profiláticos facultativos foram feitas sobretudo vacinações para mamite e complexo respiratório bovino, e de forma mais pontual o controlo de qualidade do leite (ver gráfico 8).

## Sanidade e Prevenção

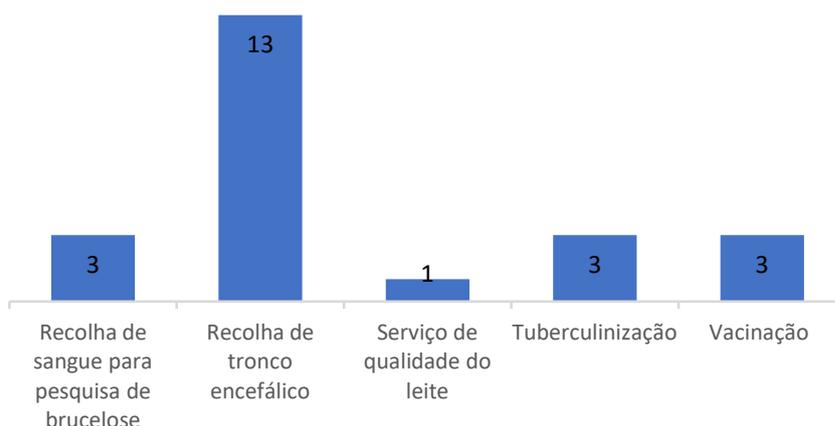


Gráfico 8- Atividades efetuadas no âmbito da sanidade e prevenção. Casuística do estágio na AJAM (2022).

### Remoção do tronco encefálico

A recolha do tronco encefálico é um procedimento que os Serviços de Desenvolvimento Agrário do Governo Regional dos Açores delegam aos veterinários das associações da ilha de São Miguel e que visa a vigilância da encefalopatia espongiforme bovina (EEB), conhecida como

“doença das vacas loucas”. Os Açores, tal como Portugal continental estão classificados como “Região de Risco Negligenciável”, que constitui o estatuto mais elevado (ASAE, n.d.; DGAV, 2021; Governo dos Açores, 2022b).

A EEB é uma doença causada pela acumulação no tecido nervoso de uma proteína celular anormal e infecciosa designada por prião. Estudos epidemiológicos e clinicopatológicos indicam que foi a transmissão deste mesmo prião ao ser humano que gerou a doença de Creutzfeldt-Jakob. O período de incubação do prião é longo podendo levar de dois a oito anos e quando os sinais surgem no animal a morte ocorre em poucos meses. Não existe tratamento nem vacina para EEB (WOAH, 2022; ASAE, n.d.).

Nos Açores o primeiro caso de EEB surgiu em 2002 e o último em 2014, num animal nascido em 1998. Nesta altura era permitido o uso de farinhas proteicas produzidas através da trituração de partes de carcaças de ruminantes não destinados a consumo humano para a alimentação bovina. Posteriormente concluiu-se que foi esta prática que levou ao surgimento da doença, diagnosticada pela primeira vez no Reino Unido em 1986, à sua transmissão e disseminação pelo mundo (Portal da Agricultura dos Açores, 2022; WOA, 2022).

Não existe nenhum método para confirmar a presença do agente em animais vivos, sendo o diagnóstico feito através do exame histopatológico do bolbo raquidiano que constitui o segmento posterior do tronco encefálico, e confirmado por imunohistoquímica e pelo teste de Western Blot (WOAH, 2022). Segundo o plano de vigilância da EEB, todos os bovinos que morrem na exploração com mais de 48 meses devem ser testados (DGAV, 2021; Governo dos Açores, 2022b). É, portanto, nestes animais que o tronco encefálico é recolhido. Após a recolha, o tronco é seccionado longitudinalmente de forma a dividi-lo em duas amostras, uma das amostras é conservada em formol e a outra é congelada. As amostras são enviadas todos os meses para o Laboratório Regional de Veterinária (LRV).

### Pesquisa de Brucelose

A brucelose é uma doença contagiosa causada pela bactéria *Brucella abortus* que pode ser transmitida a muitas espécies animais, estando o Homem incluído. Tratando-se de uma zoonose com sintomatologia grave, a brucelose, ou febre de malta como muitas vezes é designada em medicina humana, é uma preocupação de saúde pública, tendo como principais fatores de risco para o ser humano, as profissões que implicam contacto próximo com animais e a ingestão de leite cru contaminado e queijo não curado fabricado com esse leite. Para evitar a segunda via de transmissão, o leite para consumo deve ser devidamente pasteurizado assim como o leite utilizado para produção de queijo fresco ou curado (WOAH, 2022; DGAV, 2021). A região autónoma dos Açores adquiriu o estatuto de região oficialmente indemne de brucelose bovina em seis ilhas, nas quais não está incluída a ilha de São Miguel (DGAV, 2021; Governo Açores, 2022b).

Sob conduta do Programa de Erradicação Nacional, os Serviços de Desenvolvimento Agrário delegam as associações para a recolha de sangue para pesquisa de brucelose. Na AJAM existem brigadas constituídas por um técnico e um veterinário que todos os anos visitam cada exploração existente para recolher amostras de sangue de todos os animais presentes com mais de 12 meses de idade. O técnico recolhe para um tubo o sangue da veia coccígea média, estando também descritas para o efeito as veias jugular e mamária. Após a coagulação do sangue o tubo é refrigerado e enviado em menos de 72h para o Laboratório Regional de Veterinária, onde são feitos testes sorológicos.

### Intradermotuberculinização

A tuberculose bovina é uma doença contagiosa crónica que tem como agente o *Micobacterium bovis*, bactéria muito semelhante à causadora da tuberculose humana, *Mycobacterium tuberculosis*. Os bovinos são o hospedeiro preferencial de *Micobacterium bovis* no entanto, a bactéria pode ser transmitida a outras espécies domésticas e selvagens e também ao ser humano. Neste último caso, quando se verifica designa-se por tuberculose zoonótica. A transmissão ocorre através do contacto direto com animais infetados que projetam gotículas contaminadas

quando tosem. No caso do Homem, a transmissão também pode ocorrer pela ingestão de leite contaminado não pasteurizado. A evolução da doença é arrastada o que permite a transmissão a muitos outros animais antes dos primeiros sinais surgirem. Atualmente, na maioria dos países, os efetivos bovinos apresentam uma situação controlada, no entanto a eliminação completa da doença é difícil devido às infeções persistentes nos animais selvagens (DGAV, 2021; WOA, 2022).

No âmbito do Programa de Vigilância e erradicação da tuberculose bovina, todos os anos os bovinos com mais de seis semanas são testados através do teste da intradermotuberculinização comparada que consiste na comparação entre as reações celulares induzidas pela inoculação de duas tuberculinas, a mamífera e a aviária. As tuberculinas consistem num extrato de proteína purificada de *M. bovis* e de *M. avium*, respetivamente. A inoculação é feita na tábua do pescoço via intradérmica e quando os animais testados estiveram em contacto com o agente infeccioso, é desencadeada uma reação de hipersensibilidade do tipo IV que envolve macrófagos e linfócitos T<sub>H</sub> e se expressa com o aumento da espessura da pele no local da inoculação. A testagem é considerada positiva quando, 72 horas após a inoculação, a prega de pele no local da injeção da tuberculina bovina é superior 4mm ou mais que a prega de pele no local da injeção da tuberculina aviária. Também são considerados positivos animais com sinais clínicos no local de injeção da tuberculina mamífera tais como, edema difuso, lesões exsudativas, necrose, dor e linfadenopatia. Os animais positivos são isolados e enviados para abate sanitário num período inferior a 30 dias (DGAV, 2021).

Esta testagem é executada na exploração, pelo veterinário que integra cada brigada anteriormente referida, paralelamente à recolha de sangue para pesquisa de brucelose.

### Vacinação

A vacinação foi realizada a doze vitelos e a seis vacas numa mesma exploração de vacas de leite em semi estabulação. Os vitelos receberam a vacina de nome comercial HIPRABOVIS® 4, que confere imunidade aos seguintes agentes: vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), vírus da parainfluenza-3 (PI3), vírus da diarreia vírica bovina (BVD) e vírus respiratório sincicial bovino (BRSV). A aplicação desta vacina nos vitelos faz-se via intramuscular e são necessárias duas doses administradas com intervalo de três semanas. As vacas foram vacinadas com STARTVAC® para reduzir a incidência de mastites causadas por *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O plano vacinal requer três dosagens, sendo as duas primeiras antes do parto e com um mês de intervalo e a terceira dois meses após o parto.

### Controlo da qualidade do leite

O controlo da qualidade do leite foi realizado numa exploração de vacas leiteiras em regime de semi estabulação com história de mastites recorrentes. Esta atividade esteve na competência da HIPRA e dos Serviços Veterinários Associados (SVA), que trabalham em conjunto e com o apoio da AJAM, para investigarem as causas mais recorrentes de mastites na lavoura em causa e aconselharem a aplicação da vacina mais apropriada.

A atividade ocorreu durante a primeira ordenha do dia. Todas as vacas foram observadas e foi feito o Teste Californiano de Mastites (TCM) a todos os tetos, assim como a classificação da higiene e condição do úbere e a avaliação do funcionamento da máquina de ordenha. Foram recolhidas amostras de leite de todos os tetos com resultado positivo no TCM, para posterior análise microbiológica.

### 2.2.2 Controlo reprodutivo

No âmbito do controlo reprodutivo efetuou-se de forma pontual a indução de cio e, de forma mais frequente o diagnóstico de gestação por palpação retal.

### Protocolo de sincronização e inseminação a tempo fixo

A sincronização e inseminação a tempo fixo foram realizadas a uma vaca numa produção de engorda em regime de pastoreio. Os cios da vaca em questão eram muito discretos, o que dificultava a sua deteção e a determinação do momento ideal para a inseminação artificial.

Neste caso foi aplicado o protocolo Ovsynch. Administramos GnRH no dia zero para provocar a ovulação ou luteinização do folículo dominante ou dos folículos em crescimento, visto que não sabemos qual a fase do ciclo éstrico em que a vaca se encontra. Após três dias desta injeção surge uma nova onda folicular que dura entre sete a dez dias. No dia sete, à mesma hora, administramos prostaglandinas para ocorrer a lise do corpo lúteo resultante da primeira injeção de GnRH, e assim iniciar um novo ciclo éstrico. No dia 9 administramos GnRH novamente para promover a ovulação do folículo dominante e assim garantir que a inseminação feita no dia seja bem sucedida (Hopper, 2015).

### Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação foi feito em vinte e duas vacas, sendo que dezanove estavam gestantes e três não gestantes, tal como é demonstrado no gráfico 9. Os produtores solicitaram os diagnósticos de gestação em duas situações distintas, para garantirem que a inseminação artificial ou a cobrição foram bem sucedidas e para confirmarem quais as vacas que devem ser colocadas em período seco. Na primeira situação não era exigido a determinação do tempo de gestação, bastando um resultado positivo ou negativo. Na segunda situação era importante determinar a fase de gestação, pois no oitavo e nono mês de gestação os produtores retiram as vacas do grupo das produtoras para iniciarem o período seco.

Nas palpações retais utilizamos vários sinais que nos indicam a existência de gestação e o tempo de gestação, tais como: a assimetria uterina, o principal indicador nas gestações precoces; a presença de placentomas, que surgem a partir do 75º-80º dia de gestação e aumentam de tamanho ao longo da gestação; a presença de frêmito da artéria uterina que indica uma gestação de quatro meses quando único e ipsilateral ao corno grávido ou uma gestação de seis ou mais meses quando bilateral. O segundo trimestre da gestação é reconhecido quando os placentomas estão presentes e não é possível alcançar o feto uma vez que se encontra em posição descendente nesta fase. A partir do sétimo mês o feto ascende e torna-se possível palpar os membros e a cabeça.

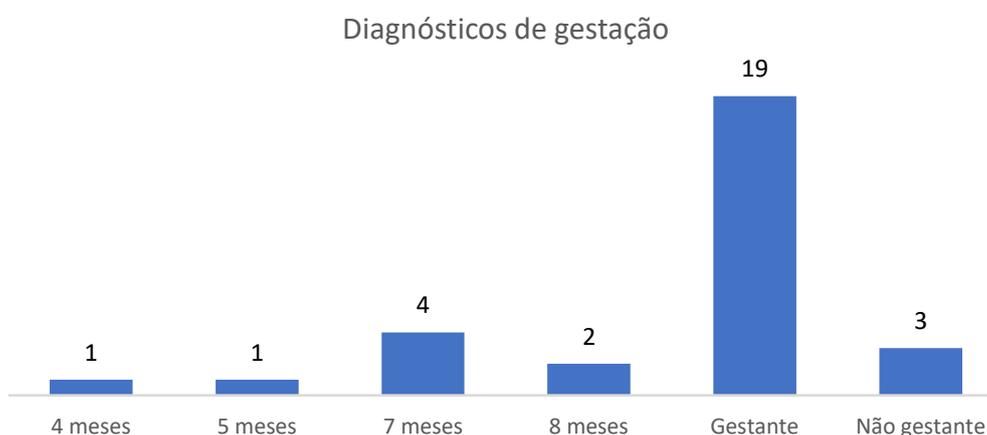


Gráfico 9- Diagnósticos de gestação efetuados em 22 animais. Os 19 “Gestantes” incluem os 8 nos quais foi possível determinar o tempo de gestação, sendo que os restantes 11 apenas têm diagnóstico positivo. Casuística do estágio na AJAM (2022)

### 2.2.3 Clínica Médica

No decorrer do estágio foram intervencionados no âmbito da clínica médica 238 animais, sendo 224 da espécie bovina, tal como constatamos no gráfico 10. Dentro do grupo das outras espécies estão a caprina, suína e equina. No que diz respeito aos bovinos, tal como está

representado no gráfico 11, foram visitadas 107 lavouras distintas, sendo que o sistema de produção mais encontrado foi o pastoreio de bovinos de leite.

Seguidamente, o trabalho está organizado por fases de produção e em cada uma são abordadas as doenças que tiveram maior expressão ou que são específicas daquele grupo de animais, como acontece por exemplo nas vacas em periparto.

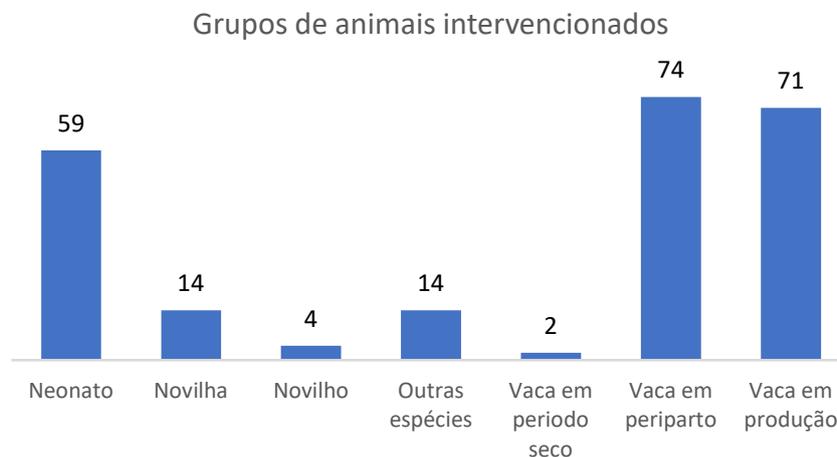


Gráfico 10- Animais intervencionados no âmbito da clínica médica. Casuística do estágio na AJAM (2022)

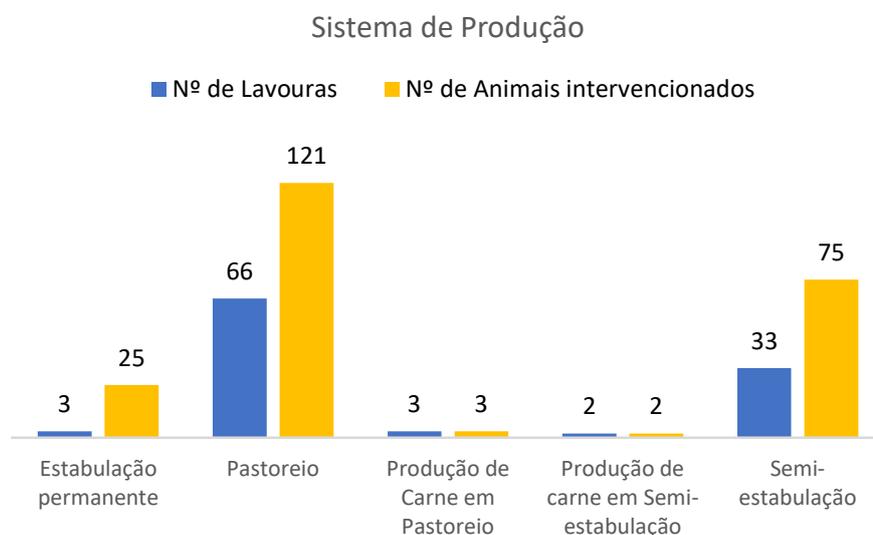


Gráfico 11- Sistemas de produção das lavouras visitadas no âmbito da clínica médica e os animais intervencionados. Casuística do estágio na AJAM (2022).

## Neonatos

Foram assistidos 59 vitelos durante o estágio e as doenças que mais apresentaram foram, como vemos no gráfico 12, pneumonia e diarreia. Nove dos animais apresentavam diarreia e pneumonia em simultâneo.

Quando nos deparamos com um neonato doente sabemos que houve um desequilíbrio entre os fatores ambientais e os fatores de defesa do animal. Os fatores ambientais estão relacionados com as condições de higiene e sanitárias, a coabitação com outros animais, agrupamento de animais de diferentes idades e condições climáticas. Os fatores de defesa do animal estão

associados ao sistema imunitário, muito condicionados pela correta ingestão do colostro, já que o tipo de placenta desta espécie (epiteliocorial) não permite a transferência de imunidade passiva durante a gestação. Após as primeiras 24 horas de vida o neonato perde a capacidade de absorver imunoglobulinas, o que implica que a ingestão de colostro ocorra antes. Idealmente o neonato deve beber dois litros nas primeiras seis horas e outros dois litros após doze horas. Além da correta ingestão do colostro é muito importante a qualidade do mesmo e o estado sanitário, nutricional e vacinal da mãe (McGuirk, 2008). A partir deste ponto as causas prováveis da doença devem ser investigadas e tem de se decidir qual o melhor tratamento a instituir, assim como apontar alternativas para as falhas que levaram à doença.

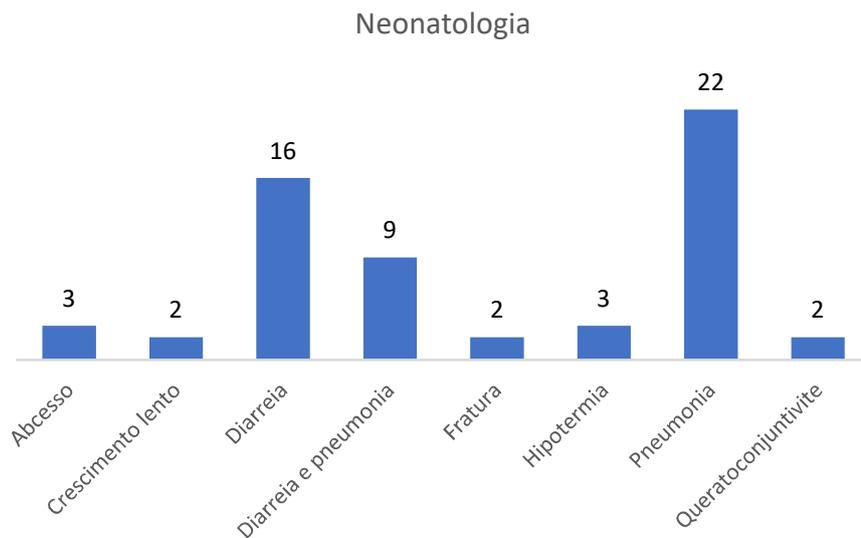


Gráfico 12- Doenças diagnosticadas nos neonatos. Casuística do estágio na AJAM (2022).

#### A- Diarreia

Foram intervencionados dezasseis vitelos com diarreia e nove com diarreia e pneumonia. A classificação etiológica das diarreias tendo em conta os sinais clínicos que o animal apresenta numa consulta a campo é difícil de realizar, no entanto o mais importante é corrigir a desidratação e a acidose provocadas por esta condição. Para isso foi instituída fluidoterapia a todos os vitelos. A fluidoterapia venosa, administrada na veia jugular, era realizada com lactato de ringer ou acetato de esterofundina, bicarbonato de sódio e uma solução com dextrose, eletrólitos aminoácidos e vitaminas do complexo B (Duphalyte®). Muitas vezes os vitelos apresentavam-se hipotérmicos por isso os recipientes dos fluidos a usar eram aquecidos previamente em banho-maria. Recorremos à fluidoterapia oral por entubação orogástrica quando a veia jugular estava inacessível devido à hipovolemia e hipotermia.

Na maioria dos casos a antibioterapia foi utilizada porque os vitelos apresentavam sinais sistémicos como prostração ou, em casos mais graves o ingurgitamento das veias da esclera e ausência do reflexo de sucção, sinais que indicam septicémia. O princípio ativo mais utilizado foi danofloxacina, uma fluoroquinolona de largo espectro, administrada duas vezes na dose 1ml/30Kg, com 48 horas de intervalo. A danofloxacina pertence à categoria B segundo a classificação dos antibióticos elaborada pelo *Antimicrobial Advice Ad Hoc Expert Group (AMEG)* e adotada pelo Comité de Medicamentos Veterinários (CVMP) e pelo Comité de Medicamentos Humanos (CHMP). Não houve condições para a realização de testes de sensibilidade aos antibióticos, tendo sido a escolha do princípio ativo baseada no historial da exploração e na experiência em campo do médico veterinário que teve como objetivo principal o tratamento clínico eficaz (sem necessidade de adotar outra substância ativa) com convalescença rápida do animal.

Quando a diarreia era líquida e sanguinolenta e por vezes com presença de fragmentos de mucosa, surgia a suspeita de coccidiose e por isso era feita a desparasitação com toltrazuril (na dose 0,4ml/Kg) ou diclazuril (na dose 1ml/2,5Kg), ambos por administração única via oral.

Quatro dos vitelos assistidos apresentaram-se alerta e com apetite. Nestes casos, sendo a principal suspeita a diarreia alimentar, foi administrado via oral uma saqueta que auxilia na reidratação e regeneração da mucosa intestinal contendo na sua formulação iões (sódio, potássio, cloreto), açúcar (dextrose) e vitaminas E e PP. O produtor era alertado para possíveis falhas a corrigir como por exemplo, se o leite era dado em excesso ao vitelo, se a qualidade do leite era garantida (caso seja leite de transição tem de ter uma composição idêntica ao leite de vaca), ou se a transição para o leite de substituição foi feita de forma gradual.

Após a primeira abordagem é importante rever o animal nos dias seguintes e repetir, se necessário a fluidoterapia pois a recuperação implica o crescimento da flora intestinal normal, e situações de morte após o tratamento não são raras. O produtor deve ser alertado para a necessidade de continuar a alimentar o vitelo com leite e de ter água constantemente disponível para manter o animal hidratado (McGuirk, 2008).

## B- Pneumonia

Foram diagnosticados 22 vitelos com pneumonia, apresentando estes sinais como ruídos respiratórios à auscultação, frequência respiratória aumentada, hipertermia, secreção ocular e nasal e tosse. Nestes casos recorreu-se à antibioterapia e administração de anti-inflamatório não esteroide (carprofeno) para controlo da febre. A escolha do antibiótico foi feita tendo em conta a idade do vitelo, a existência de tratamentos anteriores e os principais agentes microbianos envolvidos nas pneumonias em vitelos, sendo eles: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somnus* e *Mycoplasma bovis* (McGuirk, 2008). Para além destes fatores, são decisivos na escolha, o preço do fármaco e o valor que o produtor considera sensato despende no tratamento. Os antibióticos utilizados estão apresentados no gráfico 13. Todos os antibióticos utilizados pertencem à categoria C segundo AMEG. As substâncias disponíveis da categoria D foram descartadas por não serem consideradas clinicamente eficazes nas situações de infeção respiratória. Três dos vitelos tratados com tilosina (Pharmasin® na dose 1ml/20Kg durante três dias), já tinham recebido tratamento com amoxicilina e ácido clavulânico (Synulox® na dose 1ml/20Kg durante quatro dias), o qual não se mostrou eficaz para melhorar a condição dos animais.

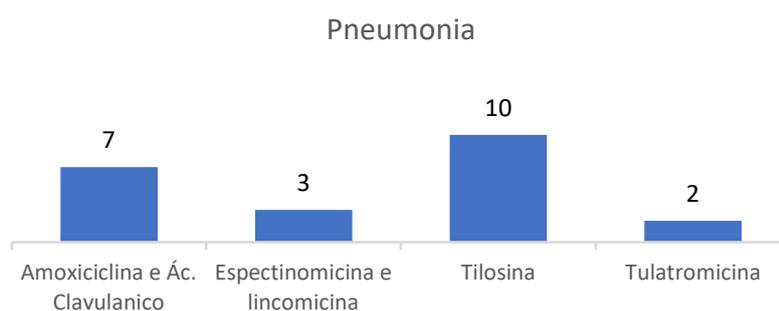


Gráfico 13- Antibioterapia efetuada nos casos de pneumonia neonatal. Casuística do estágio na AJAM (2022)

A conversa com o produtor acerca dos protocolos vacinais que existem demonstrou ser muito necessária pois, durante o estágio, visitamos várias lavouras sem qualquer protocolo vacinal para as doenças respiratórias em vitelos.

A observação das condições e manejo dos vitelos permite-nos muitas vezes perceber a origem dos problemas respiratórios e é pertinente informar o produtor sobre essas questões. Na maioria das lavouras de produção de leite visitadas não havia espaço suficiente para um vitleiro,

sendo notória a dificuldade em manter os vitelos num ambiente apropriado. Isto resulta em vitleiros sobrepovoados ou na permanência do vitelo no exterior submetido às condições atmosféricas e às suas variações repentinas (McGuirk, 2008).

### C- Pneumonia e diarreia

Nos vitelos que apresentavam diarreia e pneumonia em simultâneo foi feita fluidoterapia venosa, antibioterapia e administração de anti-inflamatório, carprofeno. A antibioterapia foi efetuada com os antibióticos apresentados no gráfico 14. Com exceção da danofloxacina, os restantes antibióticos pertencem à categoria C segundo AMEG. A danofloxacina inclui-se na categoria B e a sua utilização baseou-se na experiência em campo do médico veterinário, pois tem demonstrado resultados mais satisfatórios que as outras substâncias no tratamento de diarreias em vitelos.

O tratamento efetuado com espectinomicina combinada com lincomicina (Cenmicin® na dose 1ml/10Kg durante quatro dias) não resultou tendo sido utilizado seguidamente danofloxacina (na dose 1ml/30Kg repetindo após 48 horas). Num dos casos em que se administrou amoxicilina em combinação com ácido clavulânico (Synulox® na dose 1ml/20Kg durante quatro dias) foi necessário um segundo tratamento com tilosina (Pharmasin® na dose 1ml/20Kg durante três dias). Estas situações ressaltam a importância de reavaliar os animais após ter sido instituído o tratamento.



Gráfico 14- Antibioterapia efetuada nas diarreias associadas a pneumonias neonatais. Casuística do estágio na AJAM (2022).

### D- Hipotermia

Em três casos que acompanhamos os vitelos apresentavam-se hipotérmicos sem sinais de outras doenças, apesar da hipotermia ter sido detetada em muitos casos de diarreia. Estas situações surgiram em vitelos expostos a ambientes frios e que não ingeriram alimento suficiente para a produção de calor.

A terapêutica aplicada baseia-se na entubação para alimentação forçada com leite ou colostro aquecidos e na fluidoterapia venosa com fluidos também aquecidos e que contenham dextrose para contrariar a hipoglicemia geralmente apresentada por estes animais.

### E- Atraso no crescimento

Dois vitelos observados tinham queixa de não crescerem ao ritmo esperado pelo proprietário, no entanto ambos os animais apresentavam boa condição geral ao exame físico. Foi administrada oralmente uma bala contendo micronutrientes e minerais, incluindo selênio, após ter sido averiguada a alimentação dos animais em relação à composição e quantidade.

## F- Queratoconjuntivite

Dois vitelos do mesmo grupo apresentavam edema unilateral da conjuntiva e epífora, contudo, sem indícios de doença sistémica. Estes sinais foram atribuídos à queratoconjuntivite bovina infecciosa (QIB), condição também designada por *Pinkeye*.

O principal agente apontado para esta doença é *Moraxella bovis*, um gram-negativo transmitido entre bovinos através de vetores como as moscas. *Moraxella bovis* aloja-se na conjuntiva, narinas e vagina dos bovinos, única espécie reservatório conhecida, e são os animais assintomáticos que promovem as novas infeções e permitem a permanência da doença nas explorações. A exposição à radiação UV é associada a uma maior suscetibilidade à doença e a sinais clínicos mais severos. A doença afeta bovinos de qualquer idade, mas os mais jovens com maior frequência (Angelos, 2015). No estágio diagnóstico de QIB foi feito apenas em vitelos, no entanto deparamo-nos várias vezes com adultos que apresentavam lesões oculares que facilmente associamos à fase de recuperação desta doença, tais como a opacidade difusa da conjuntiva ou presença de manchas brancas correspondentes a cicatrizes.

Apesar de QIB ser mais frequente, há outras causas para a queratoconjuntivite tais como, traumatismo, corpo estranho, reações alérgicas e imunológicas, outras infeções bacterianas (*Listeria monocytogenes*, *Pasteurella multocida A*, *Mycoplasma bovis*), parasitárias (*Thelazia spp.*), micóticas e virais (diarreia viral bovina, febre catarral bovina, peste bovina, rinotraqueite infecciosa bovina, pneumonia viral) (Constable, et al., 2017). As infeções virais podem provocar queratoconjuntivite como lesão secundária, apresentando outros sinais clínicos relevantes ao contrário dos dois casos assistidos.

Esta doença é autolimitante, no entanto deve ser tratada para que o animal não atinja lesões oculares severas como a rotura da córnea além de infeções secundárias. Nestes animais foi aplicada antibioterapia local com oxitetraciclina (3 a 5ml de Calimicina®). A inoculação intrapalpebral de oxitetraciclina tem como vantagem o encerramento do olho através do edema palpebral provocado por este princípio ativo. Assim, mantendo o olho temporariamente fechado, a córnea e a conjuntiva ficam mais protegidas até à resolução da infeção.

## Novilhos e novilhas

Neste grupo estão inseridas fêmeas de substituição em produções de leite, desde o desmame até à primeira inseminação, e machos para engorda em produções de carne ou para substituição do touro reprodutor (situação pontual).

No que concerne às novilhas, muitas vezes estão localizadas em terrenos de maior dificuldade no acesso, mais íngremes e afastados das vacas produtoras onde o tratador se encontra durante mais tempo. Destes fatores resultam situações de queda, traumatismos e menor vigilância com deteção mais tardia dos problemas. É também habitual nas produções de leite colocar as vacas secas, mais velhas e de maior estatura, junto das novilhas que se comportam de forma mais subordinada, diminuindo por vezes, a ingestão de alimento.

Em relação aos novilhos, o mais comum é encontrarmos animais pouco habituados ao contacto humano, o que se reflete na dificuldade de aproximação para fazer o exame físico e outros procedimentos clínicos.

No gráfico 15 estão os diagnósticos efetuados neste grupo.

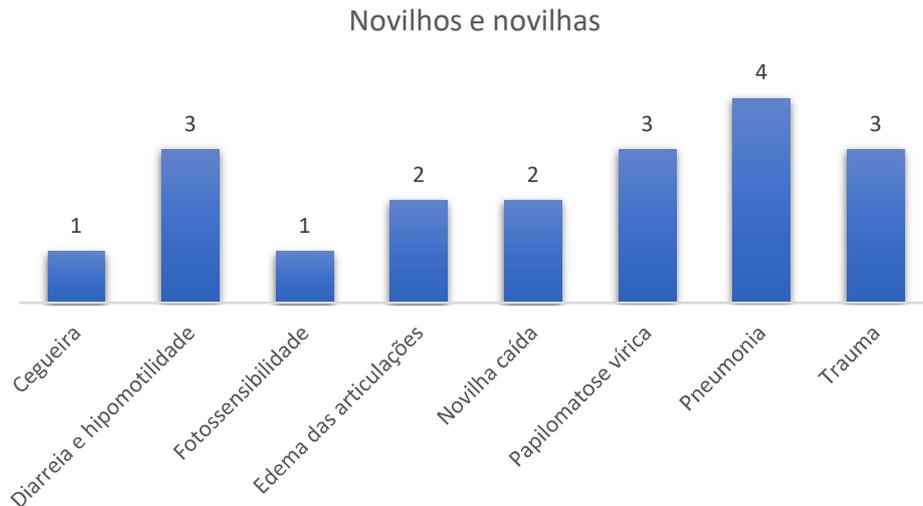


Gráfico 15- Doenças diagnosticadas nos novilhos e novilhas. Casuística do estágio na AJAM (2022).

#### A- Papilomatose cutânea

Na observação dos animais destacavam-se múltiplos nódulos cutâneos redondos na face, pescoço ventral, dorso e nos membros, onde coalesciam formando grandes placas, alguns de cor rosa-claro e outros cinzentos.

Estas lesões são facilmente atribuídas à papilomatose cutânea e correspondem à hiperplasia do epitélio pavimentoso estratificado em forma de papilas, que é, na grande maioria das situações, induzida pela infecção pelo papilomavírus. Existem vários papilomavírus e geralmente são bastantes específicos quanto ao hospedeiro. São reconhecidos treze tipos diferentes do papilomavírus capazes de infetar a espécie bovina (BPV-1 até BPV-13), e cada um mostra preferência no local e especificidades no aspeto da lesão. Os animais diagnosticados parecem ter lesões correspondentes ao BPV-2 (Jobs), no entanto um animal pode ter diferentes tipos de papilomavírus em cada lesão. A infecção é mais comum nos jovens e a transmissão ocorre por contacto direto ou através de fómites, sendo a porta de entrada abrasões cutâneas.

A infecção é auto-limitante e as lesões cutâneas regridem espontaneamente, podendo persistir até 36 meses. No entanto, foi instituída nos animais a hemoterapia, que consiste na injeção intramuscular do sangue venoso do próprio animal previamente recolhido na veia jugular. Este procedimento é efetuado uma vez por semana durante pelo menos 4 semanas. A ideia é aumentar a imunidade celular circulante responsável pela regressão dos papilomas. Na bibliografia estão também referidas vacinas autógenas produzidas a partir do tecido das lesões cutâneas (Ranjan, 2013; Constable, 2017).

Os papilomavírus estão também implicados em condições neoplásicas quando aliados à imunossupressão do animal, a hematuria enzoótica dos bovinos (HEB) é disso exemplo. A HEB é frequente nos Açores, onde os bovinos têm acesso ao *Pteridium aquilinum*, um feto que quando ingerido atua como fator de risco impedindo o sistema imunitário de neutralizar os papilomavírus. Assim, quando um animal infetado com papilomavírus ingere o feto, inicia um processo que pode induzir a transformação dos papilomas em neoplasias, que neste caso se localizam na bexiga.



Figura 14-Lesões de papilomatose cutânea nos membros que coalescem e que sofreram traumatismo, havendo risco de infecção bacteriana secundária. Fotografia tirada em S. Miguel (2022).

### Vacas em produção

Foram examinadas 71 vacas em produção, sendo as queixas mais referidas pelos tratadores os traumatismos por queda, a anorexia e mudanças no comportamento. Os diagnósticos efetuados envolvem sobretudo o aparelho gastrointestinal, os pulmões e o úbere, como podemos constatar no gráfico 16. Neste grupo é necessário ter especial atenção ao intervalo de segurança dos fármacos para informar o produtor até quando é necessário descartar o leite.



Gráfico 16- Doenças diagnosticadas nas vacas em produção. Casuística do estágio na AJAM (2022).

#### A- Doença gastrointestinal

Como podemos observar no gráfico 17 o deslocamento de abomaso foi a condição mais frequente no aparelho gastrointestinal. Cinco dos deslocamentos diagnosticados foram para o lado

esquerdo e outros cinco do lado direito. O principal sinal clínico para o deslocamento de abomaso é o som agudo metalotimpânico, designado por “ping”, audível através da auscultação abdominal em simultâneo com a percussão. Quando o “ping” é detetado no lado direito temos de considerar outros diagnósticos diferenciais tais como, íleo paralítico, obstrução intestinal, dilatação ou volvo cecal. Todas estas condições levam à presença de gás no intestino, capaz de produzir um som metálico (Andrew e Niehaus, 2008). Quatro dos deslocamentos à esquerda foram resolvidos cirurgicamente e um através do tratamento clínico. Em relação aos deslocamentos à direita, duas das vacas foram submetidas a cirurgia e três ao tratamento clínico. O tratamento clínico consistia em fluidoterapia venosa com NaCl hipertónico, administração de analgésico com base em metamizol (Vetalgin® na dose 2ml/50Kg IV), administração de menbutona (Digestosyva® na dose 1ml/10Kg IV) para estimular as secreções digestivas e entubação oral para encher o rúmen com água. O procedimento cirúrgico é abordado no capítulo “Clínica cirúrgica”. Num dos casos com “ping” à direita, a causa foi atribuída à presença de gás nos intestinos tendo sido instituído o tratamento clínico. Foi feita a reavaliação clínica no dia seguinte em todas as situações. Grande parte dos deslocamentos que tiveram tratamento clínico foram resolvidos e não foi necessário a cirurgia.

Seis animais foram diagnosticados com indigestão simples devido a desequilíbrios alimentares (excesso de concentrado, fibra de menor qualidade) ou ingestão em excesso. Os animais apresentavam anorexia, hipomotilidade ruminal e intestinal e as fezes eram escassas e apresentavam cheiro muito desagradável. A terapêutica nestes casos tem como objetivo estimular o apetite e a motilidade gastrointestinal, para isso foram utilizadas preparações em pó para adicionar à água e administrar oralmente (Indigest®) e fármacos para estimular as secreções digestivas (menbutona). É importante ainda que o animal tenha acesso a alimento fibroso de qualidade e palatável para que comece a comer rapidamente.

Os animais que apresentavam diarreia foram tratados com fluidoterapia venosa com NaCl hipertónico, esterofundina e bicarbonato e com o anti-inflamatório flunixinina meglumina (Meganyl® na dose 2ml/45Kg IV). Nos casos que requereram antibioterapia optou-se pelo bactericida de longo espectro sulfadoxina trimetopim (Gorban® na dose 3ml/50Kg repetindo 48h após a primeira administração). Nestas situações é necessário investigar em conjunto com o proprietário a qualidade da silagem ou se houve alteração na alimentação habitual. Quando o animal tinha história de episódios recorrentes de diarreia com perda de peso, mas persistência de apetite, era recolhida uma amostra de sangue para a pesquisa de anticorpos para *Mycobacterium avium paratuberculose* (MAP), agente da paratuberculose também designada por doença de Johne. Num dos casos o animal apresentava simultaneamente edema subcutâneo entre as mandíbulas.

Num dos casos o animal apresentava diarreia líquida com sangue digerido (melena) e alterações cardiovasculares como frequência cardíaca elevada e pulso da veia caudal forte. Os principais diagnósticos diferenciais para presença de melena são, úlcera abomasal e síndrome do intestino hemorrágico. Foi instituída fluidoterapia venosa com NaCl hipertónico, lactato e bicarbonato de sódio, foi administrado um anti-inflamatório corticosteroide (Vetacort® na dose 5ml/100Kg IV), um antibacteriano sulfadoxina trimetopim (Gorban® na dose 3ml/50Kg), um anti-hemorrágico (Hemosilate® 16ml IV) e um suplemento em ferro (Fercobsang® 20ml IM). O prognóstico, sempre comunicado ao proprietário, foi avaliado como reservado, tendo em conta o estado geral do animal.

## Doenças Gastrointestinais

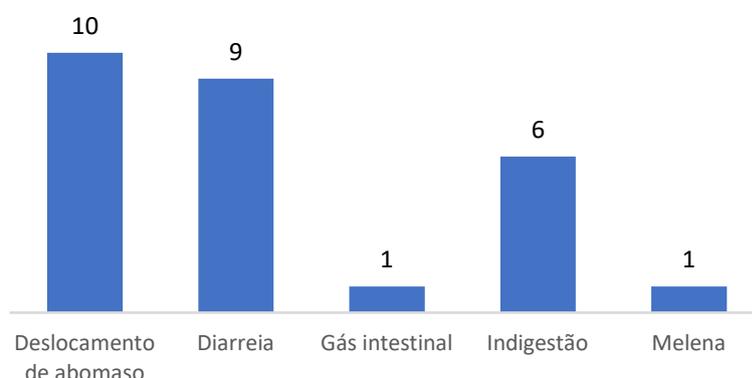


Gráfico 17- Diagnósticos efetuados no aparelho gastrointestinal. Casuística do estágio na AJAM (2022).

### B- Mastite

A mastite é uma condição recorrente nos efetivos leiteiros e muitas vezes os tratadores dos animais são capazes de a identificar através de sinais como a consistência mais firme e o aspeto congestionado do teto e do quarto mamário afetado e pela ejeção de leite viscoso e com mau cheiro. Nestes casos, o veterinário faz a visita à exploração já com a indicação para o diagnóstico, mas terá de fazer sempre uma investigação mais detalhada ao animal para descartar a existência de outros problemas. Por outro lado, alguns animais apresentam uma mastite subclínica em que o processo inflamatório não é severo o suficiente para ser detetado pela observação e as bactérias encontram-se sequestradas no tecido mamário, em equilíbrio orgânico, sem expressarem nenhum sinal de infeção. Quando o animal diminui a produção de leite sem causa aparente a existência de mastite subclínica deve ser questionada e comprovada pela contagem de células somáticas no leite através do Teste Californiano das Mastites (TCM). Quando as células somáticas estão presentes em excesso, o resultado do teste é positivo, o que indica presença de inflamação na glândula. Não são raros os produtores que têm TCM e o utilizam antes de chamarem o veterinário. Em ambas as situações, a parte mais importante é a recolha de uma amostra de leite para fazer antibiograma, ou seja, testar laboratorialmente que antibióticos têm efeito na flora microbiana que está presente na infeção da glândula. O antibiograma dá-nos informação sobre o princípio ativo mais indicado a utilizar sistemicamente (injeção intramuscular) e localmente (bisnagas intramamárias) porém pode ser necessário esperar pelo resultado um a dois dias. Quando o animal apresenta sinais mais severos é justificável, enquanto aguardamos pelo resultado do antibiograma, fazer um tratamento com um antibiótico de largo espectro, além da administração de anti-inflamatório, para aliviar o desconforto do animal e porque é sabido que a glândula afetada pode deixar de produzir leite quando não é tratada precocemente. Posteriormente, quando obtivermos o resultado do antibiograma, teremos de averiguar se é necessário alterar o princípio ativo da terapêutica para, por exemplo, um antibiótico com espectro mais estreito.

Um dos animais consultados apresentava-se em decúbito e da ejeção de um quarto mamário resultava um líquido incolor com farrapos brancos, sinais associados à envolvimento da *E. coli*, agente ambiental capaz de provocar mastite tóxica aguda. Nesta situação utilizou-se danofloxacina como primeira escolha por se saber ser eficaz contra *E. coli*. Os sinais sistémicos do animal levaram à necessidade de fazer fluidoterapia agressiva com vários soros, dentro dos quais a solução tónica à base de vitamina B12 e sorbitol (Neatox®), que está indicada para estados de intoxicação.

O agente anti-inflamatório mais utilizado no tratamento inicial da mastite foi o ácido tolfenâmico (Tolfedine® na dose 1ml/20Kg e 2ml/20Kg em situações mais severas, repetindo após 48 horas), um AINE's. Também foram utilizados a flunixinina meglumina (Meganyl® na dose 2ml/20Kg IV) e o corticosteroide dexametasona (Vetacort® na dose 5ml/100Kg). Segundo Suojala *et al.* (2013) e Breen (2017) os AINE's são os mais recomendados para as mastites, mostrando-se úteis no controle dos sinais sistêmicos e dor do animal sem terem os efeitos imunossupressores dos corticosteroides.

Nestas visitas é importante alertar para a correta higienização da máquina de ordenha, dos tetos e das mãos do ordenhador além de, sensibilizar para a observação atenta do úbere durante a ordenha para averiguar a presença de lesões que devem ser imediatamente tratadas. Estas atitudes irão ajudar a diminuir o contágio e a ocorrência de mastites no efetivo.

### C- Peritonite

A peritonite é a inflamação do peritoneu, a membrana serosa que reveste toda a cavidade abdominal e pélvica (peritoneu parietal) e envolve os órgãos abdominais (peritoneu visceral). Todos os animais diagnosticados com peritonite tinham história de cirurgia abdominal decorrida há menos de uma semana, ficando evidente que a peritonite, apesar de ter muitas causas possíveis, é o grande risco das cirurgias abdominais em bovinos. Durante as cirurgias o veterinário trabalha em condições que não pode controlar, principalmente quando ocorrem ao ar livre. O vento, a chuva, as poeiras, tudo pode prejudicar o sucesso de uma cirurgia devido à infecção. Posto isto, é importante encontrar o local mais abrigado, limpo e calmo, dentro do possível.

O principal meio para o diagnóstico foi o sinal de peritonite detetado à palpação retal e que se caracteriza pela sensação de que as paredes do reto aderem à luva, permitindo fazer movimentos circulares mais amplos na cavidade abdominal. Os animais apresentavam outros sinais como a anorexia, hipomotilidade ruminal e diminuição da quantidade de fezes. A febre nem sempre estava presente provavelmente porque era atenuada pelos anti-inflamatórios administrados após a cirurgia.

O tratamento passou pela administração de antibiótico, anti-inflamatório e fluidoterapia agressiva. Os testes de suscetibilidade antimicrobiana não foram realizados devido à necessidade de instituir imediatamente o tratamento. Os antibióticos utilizados foram a oxitetraciclina em dois dos casos (Calimicina® na dose 1ml/10Kg, administração única IM) e amoxiciclina com ácido clavulânico (Synulox® na dose 1ml/20Kg durante três dias, IM). O anti-inflamatório utilizado foi ácido tolfenâmico (Tolfedin® na dose 1ml/20Kg com segunda administração após 48 horas) em todos os casos e a fluidoterapia instituída foi à base de NaCl hipertônico e Neatox®.

### Vacas em Periparto

Estão incluídas neste grupo as vacas gestantes a três semanas do parto e as vacas até três semanas após parto. Este grupo foi o mais intervencionado durante o estágio e o que incluiu maior número de urgência veterinária.

Os diagnósticos efetuados estão apresentados no gráfico 18 e muitos deles são exclusivos das vacas em periparto, estando por isso descritos seguidamente.



Gráfico 18- Diagnósticos efetuados em vacas em periparto, sendo: DM- Doença Metabólica; DA- Deslocamento de Abomaso; PA- Pneumonia Aguda; PU- Prolapso Uterino; RMF- Retenção de Membranas Fetais; VC- Vaca Caída; TU- Torção Uterina. Casuística do estágio na AJAM (2022).

#### A- Desequilíbrio metabólico

As vacas nas quais foram detetados desequilíbrios metabólicos tinham tido parto no próprio dia ou no dia anterior. Os animais apresentavam incoordenação motora ao que, o tratador descrevia geralmente como “vaca bêbeda”.

A abordagem terapêutica consistiu na administração via intravenosa de soluções de cálcio e glicose e pela suplementação com complexos multivitamínicos contendo, butafosfan, vitaminas do complexo B 12, glucoheptoglucano de cálcio e hipofosfito de magnésio (Catosal® e Frecosol®). Nas vacas a partir da terceira gestação ou nas vacas que apresentavam condição corporal superior ao desejável no momento do parto administrávamos ainda um estimulante das células hepáticas contendo, ácidos gordos, hepatoprotetores e promotores da digestão lipídica (Ornipural®).

#### B- Síndrome de vaca caída

A síndrome de vaca caída é considerada uma urgência veterinária já que, o decúbito prolongado destes animais é capaz de provocar lesões neuro musculares devido à pressão exercida pelo peso do próprio corpo. A partir da sexta hora de decúbito surgem miopatias que ao longo do tempo podem evoluir para situações com prognóstico muito reservado. Apesar desta síndrome não ser exclusiva de nenhuma fase, catorze das dezasseis vacas estavam no período pós-parto enquanto uma estava no pré-parto e outra no momento do parto que evoluiu para distócia.

As causas que podem levar à síndrome de vaca caída são várias, mas neste grupo de animais passam geralmente por paralisia obstétrica, traumatismo durante o parto que geralmente afeta o nervo ciático, doenças metabólicas (hipocalcemia ou fígado gordo) e toxemia.

A terapêutica tem de ir ao encontro das necessidades de cada animal. Em muitas situações, a administração venosa de cálcio suprimiu as necessidades do animal que se levantou logo de seguida. Nestes animais foram também utilizadas bolus de cálcio que promovem uma absorção mais lenta e mais prolongada pelo organismo. Noutras situações foi necessário a administração intravenosa de glicose, protetores hepáticos (Ornipural®) e soluções de magnésio e cálcio (Frecosol®). Quando havia suspeita de lesão nervosa devido a traumatismo durante o parto ou devido ao decúbito prolongado, era administrado dexametasona, um anti-inflamatório corticosteroide, e vitaminas do complexo B1 que atuam como neuroprotetores.

O objetivo foi sempre terminar a consulta com a vaca em estação e muitas vezes utilizámos a pinça e o trator para levantar o animal e mantê-lo em pé até se restabelecer e conseguir suportar o seu peso nos quatro membros. Nas situações mais severas, com lesões graves devido a decúbitos mais prolongados a vaca era posicionada numa cama confortável em decúbito esternal para permitir a eructação e o produtor era aconselhado a levantar a vaca com a pinça em vários momentos do dia e, a fazer a ordenha manual duas vezes por dia para evitar mastites.

### C- Distócia

As distócias também são urgências veterinárias e foram surgindo de forma constante ao longo do estágio.

O mau posicionamento do feto foi a causa de três das distócias e a desproporção fetopélvica das restantes. Quatro dos fetos, sendo dois deles gêmeos, encontravam-se mortos quando iniciamos as manobras obstétricas. Outros quatro nasceram vivos, tendo um deles morrido após várias tentativas de reanimação. A vaca sobreviveu nas nove distócias, sendo geralmente essa a prioridade dos produtores nas explorações de vacas leiteiras.

Apenas numa distócia foi necessário recorrer a cesariana, tendo sido as restantes resolvidas através de manobras obstétricas manuais com o auxílio de macaco, cordas obstétricas e gel lubrificante.

Num outro caso o cérvix apresentava-se ainda fechado (sendo apenas possível a introdução de três dedos) e o feto encontrava-se profundo ventralmente à palpação retal, indicando que ainda não era o momento de expulsão do feto, o qual corresponde ao estado II do parto. É necessário saber distinguir quando temos de intervir e quando devemos esperar e atenuar a ansiedade do tratador. O estado I do parto caracteriza-se pelo relaxamento do ligamento pélvico, da vulva e do cérvix, assim como pela ocorrência de contrações uterinas para posicionar o feto e apenas se considera terminado quando o saco amniótico é visível na vulva. Nesta fase, a vaca não deve ser deslocada e requer muita vigia. Se o intervalo até à fase de expulsão do feto se estiver a prolongar o exame obstétrico é efetuado para detetar possíveis complicações, como por exemplo a torção uterina.

Após a resolução da distócia e da reanimação do feto, era feita a palpação vaginal para detetar possíveis lacerações que devessem ser suturadas. Foi instituída fluidoterapia em três vacas, utilizou-se solução de cálcio nas vacas que demonstraram fraqueza muscular durante o parto, solução contendo butafosfan e vitamina B12 (Catosal®) nas distócias com nados mortos em que o risco de septicémia aumenta, e solução contendo hepatoprotetores (Ornipural®) e glucose a 30% nas vacas com condição corporal elevada ou com mais de três gestações. Em quatro vacas foi administrada oxitocina (10ml de Facilpart®) para estimular a expulsão do conteúdo uterino e, em duas metamizol (Vetalgin® na dose 4ml/50Kg dose única) para controlo de dor após a intensa manipulação. Numa das distócias recorreu-se à anestesia epidural caudal baixa, com procaína (7ml de Pronestestic®) para diminuir as contrações uterinas que dificultavam a reposição do feto. A procaína foi administrada no espaço epidural entre o sacro e a primeira vértebra coccígea.

### D- Metrite

Todas as vacas diagnosticadas com metrite estavam no pós-parto, uma delas com história de prolapso uterino, outra de distocia e outra de retenção de placenta. Seis metrites foram classificadas como sendo de primeiro grau, três de segundo grau e uma de terceiro grau. Segundo Sheldon *et al.* (2009), nas metrites de primeiro grau o útero apresenta-se aumentado, com corrimento purulento e sem sinais sistémicos; no segundo grau o cheiro do conteúdo é intenso e há sinais sistémicos como a diminuição da produção de leite, apatia, hipertermia e dorso arqueado por ser uma condição dolorosa; no terceiro grau há sinais de toxemia tais como, anorexia, extremidades frias e depressão.

O tratamento instituído passou pela antibioterapia, administração de anti-inflamatório, análogo sintético da prostaglandina e, no caso da metrite de terceiro grau, fluidoterapia e analgésico

(Vetalgin® na dose 3ml/50Kg). Em relação à antibioterapia, a amoxicilina em associação com o ácido clavulânico (Synulox® na dose 1ml/20Kg durante três dias) foi o antibiótico sistémico mais utilizado, seguindo-se a ampicilina na dose 15mg/kg (Albipen® via IM, repetindo a administração após 48 horas) e o ceftiofur (Naxcel® na dose 1ml/50Kg, via SC durante quatro dias). Numa das metrites de primeiro grau optou-se pela antibioterapia local com cefapiridina em comprimidos uterinos (Metricure intrauterino®). O anti-inflamatório utilizado foi a flunixin meglumina (Meganyl® na dose 2ml/45Kg via IV repetindo no dia seguinte). O análogo sintético da prostaglandina administrado foi o cloprostenol (2ml de Estrumate® via IM), tendo a sua utilização o intuito de estimular a contração uterina. A fluidoterapia, quando instituída, teve como objetivo diminuir o risco de ocorrer choque séptico após a antibioterapia em metrites com muita carga bacteriana.

A metrite clínica surge quando os microrganismos aderem à mucosa uterina e colonizam o epitélio sendo que, o processo inflamatório afeta o endométrio, o miométrio e a serosa. Geralmente ocorre nas primeiras duas semanas pós-parto e tem como fatores de risco o recurso de manobras obstétricas aquando do parto, problemas metabólicos no pré-parto e retenção de placenta no pós-parto. Quando a inflamação uterina está presente três semanas após o parto, passa a designar-se por endometrite e tem como consequência a redução do desempenho reprodutivo do animal (Dubuc, et al., 2010).

### E- Prolapso uterino

Foram assistidas duas vacas com prolapso uterino, ambas com parto há menos de quatro horas. Os animais foram assistidos com urgência, já que a exposição do útero leva a infeções que podem evoluir para septicemia, além de haver risco de laceração dos tecidos e comprometimento do sistema vascular. O prolapso uterino, designado habitualmente por “madre de fora” é várias vezes confundido pelos tratadores com a placenta, o que aumenta o tempo até a chamada de assistência veterinária e, consequentemente a conspurcação do tecido e os riscos para o animal.

No primeiro caso o útero estava totalmente exteriorizado. Para resolver o prolapso, a vaca foi colocada em posição de “rã” (decúbito esternal com membros posteriores em extensão caudal) com o auxílio de cordas, e o útero mantido sobre uma rede de metal que impediu o contacto com o chão. O órgão foi lavado com água e iodopovidona, uma laceração detetada foi suturada (sutura de eversão) com fio absorvível (catgut®) e depois introduzido o órgão manualmente na sua posição anatómica. Foram ainda colocados alfinetes na vulva.

No segundo caso, o útero ainda não estava exteriorizado, no entanto já estava visível na vulva e as contrações abdominais eram fortes e frequentes. Procedeu-se à epidural caudal com procaína (Pronestestic®) para diminuir as contrações e foram colocados alfinetes na vulva.

O prognóstico foi favorável em ambos os casos, visto que não havia lesões graves, nomeadamente necrose. São conhecidos vários fatores que predispõem para o prolapso uterino pós-parto, tais como hipocalcemia, distocia prolongada, inércia uterina, tamanho elevado do feto, tração fetal excessiva, retenção de membranas fetais, má nutrição, doenças crónicas e tenesmo (Simões e Stilwell, 2021).

### F- Retenção das membranas fetais

É considerada retenção das membranas fetais (RMF) a não expulsão ou a expulsão incompleta da placenta entre as doze e as vinte e quatro horas após o parto (Imhof, et al., 2019) no entanto, em vacas mais velhas e já com várias gestações, iniciávamos a abordagem terapêutica a partir das seis a oito horas após o parto se a expulsão ainda não estava completa.

A abordagem inicial passava pela tentativa de tração manual da placenta, tendo o cuidado de não provocar o corte da mesma com força excessiva. A suspensão da placenta no exterior pode facilitar a sua total expulsão através da força da gravidade. Em todos os casos foi feito tratamento hormonal com prostaglandinas (administração IM de 2ml de Estrumate®) para promover a contração e involução uterina. Quando era detetada a presença de metrite, através do cheiro fétido ou de

conteúdo intrauterino, era instituída antibioterapia com ampicilina (Albipen® na dose 15mg/Kg repetindo após 48 horas) ou ceftiofur (Ceftionil® na dose 1ml/50Kg durante quatro dias).

A separação dos cotilédones fetais das carúnculas maternas ao nível dos placentomas e a total expulsão da placenta é um processo que inicia com as alterações hormonais e bioquímicas do pré-parto assim sendo, todas as interferências a partir daí ocorridas são possíveis de provocar a retenção das membranas fetais. Alguns fatores de risco são, a idade avançada do animal, duração prolongada da gestação, indução hormonal do parto, anasarca fetal, prolapso uterino e fetotomia. A imunossupressão do animal aparenta ter um papel decisivo na retenção de membranas fetais e fatores como deficiência em vitamina E, selênio e carotenos, balanço energético negativo e agentes infecciosos (infecção pelo vírus da diarreia viral bovina) deprimem o sistema imunitário, culminando na RMF. A administração de flunixin meglumina (anti-inflamatório não esteroide) é evitada nestas situações, mesmo no caso de cesarianas, pois a sua ação inibidora do ciclo oxigenase reduz a síntese de prostaglandinas que são importantes na expulsão da placenta (Beagley, et al., 2010).

### G- Torção uterina

Durante o estágio foram diagnosticadas quatro torções uterinas. O sentido das torções foi identificado através da palpação vaginal, todas elas se apresentavam para a esquerda, ou seja, a mão que progride ao longo do canal de parto roda no sentido contrário dos ponteiros do relógio.

As torções uterinas em bovinos ocorrem mais frequentemente para a esquerda, o que se relaciona com a maior proporção de gestações em que o corno grávido é o direito, pois geralmente o corno grávido faz rotação sobre o corno não grávido. As torções uterinas podem ocorrer, por exemplo, quando as vacas gestantes se levantam, pois neste processo os membros posteriores do animal ficam em extensão primeiro, ficando o útero em posição quase vertical no abdómen, o que facilita a sua rotação em torno do seu eixo. Isto acontece mais facilmente se o abdómen da vaca é profundo e se o feto é pesado (Ghuman, 2010; Simões & Stilwell, 2021). Fatores ambientais também poderão promover esta rotação, como por exemplo o declive íngreme observável em várias pastagens nos Açores.

Para colocar o útero em posição anatómica procedemos à rotação da vaca, já que um corno uterino gravido nesta fase da gestação é demasiado pesado e difícil de rodar manualmente dentro do abdómen da vaca. A rotação da vaca é feita no sentido da torção, tendo sido previamente colocada em decúbito lateral esquerdo. Em duas situações era possível o acesso ao feto, tendo sido utilizados os seus membros anteriores presos às cordas obstétricas para fixar o útero antes da rotação da vaca. O parto ocorreu logo após a correção da posição do útero em ambos os casos. No final de cada rotação é feita a confirmação da posição do útero com a vaca em estação e num dos casos foi necessário rodar a vaca uma segunda vez.

### Vacas em período seco

Neste grupo estão as vacas a partir dos 7 meses de gestação até serem transferidas, três semanas antes do parto, para o grupo de vacas em periparto.

O período seco, apesar de não ser cumprido em todas as explorações, é vastamente reconhecido pelos produtores como um fator importante na saúde do úbere das vacas leiteiras. Na verdade, mais que um fator importante, este período é crucial para a eliminação de infeções existentes e para a prevenção de novas, assim como na diminuição de complicações no periparto se for aproveitado para equilibrar parâmetros nutricionais e metabólicos dos animais (Dingwell, 2003).

Durante o período seco é recomendado o afastamento dos animais da máquina de ordenha e das vacas em produção, de forma a eliminar o estímulo de ordenha, assim como fazer a antibioterapia intramamária em todos os quartos com as bisnagas de secagem.

Este grupo foi o menos intervencionado durante o estágio. Apenas ocorreram dois casos, ambos relacionados com doenças gastrointestinais que já foram abordadas anteriormente nas

vacas em produção. Novamente, tal como acontece com as novilhas, a menor vigilância deste grupo pelos tratadores que se encontram mais tempo com as vacas produtoras poderá ser uma razão para o número reduzido de animais intervencionados.

## Outras doenças

### A- Pneumonia em adultos

A pneumonia foi frequentemente diagnosticada durante o estágio e apesar de já ter sido desenvolvida nos neonatos, o seu impacto nos bovinos adultos é justificação suficiente para ser novamente abordada. No gráfico 19 está claro que as vacas em produção foram o grupo mais afetado. Por um lado, a energia destes animais está direcionada para a produção de leite, ficando o sistema imunitário em desvantagem, e por outro lado o volume de leite produzido por cada vaca em lactação é um bom indicador de doença, sendo que muitas vezes o veterinário é chamado porque a produção está abaixo do expectável pelo produtor.

Houve casos de pneumonia aguda e pneumonia crónica. Na pneumonia aguda os animais apresentavam sinais como: dispneia, tosse, corrimento nasal, frequência respiratória aumentada e sons aumentados na auscultação pulmonar acompanhados por febre (40-41°). Em alguns casos os animais estavam deprimidos e com anorexia. Na pneumonia crónica havia sons pulmonares aumentados e frequência respiratória aumentada mas sem febre.

A causa e os agentes responsáveis pelas pneumonias são vastos e difíceis de determinar para cada caso. Geralmente estão envolvidas bactérias, mas também há casos de infeções virais ou ainda ambas as entidades em sinergia (Pancieria e Confer, 2010).

O tratamento efetuado baseou-se na administração de antibiótico e anti-inflamatório não esteroide. O antibiótico foi escolhido segundo a informação disponível acerca da produção, dos tratamentos efetuados anteriormente e da experiência do médico veterinário. Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos não foram realizados pois os produtores não asseguraram o custo dos mesmos. No gráfico 20 são apresentadas as substâncias ativas utilizadas. O antibiótico mais assíduo foi a amoxicilina em combinação com ácido clavulânico (Synulox® na dose 1ml/20Kg durante três dias). Seguiu-se o ceftiofur que apresenta intervalo de segurança para leite de zero dias, o que previne o descarte do leite produzido pelo animal. O anti-inflamatório escolhido foi sempre não esteroide e tinha como principal objetivo o alívio da febre e o rápido retorno à ingestão de alimento e água pelo animal.

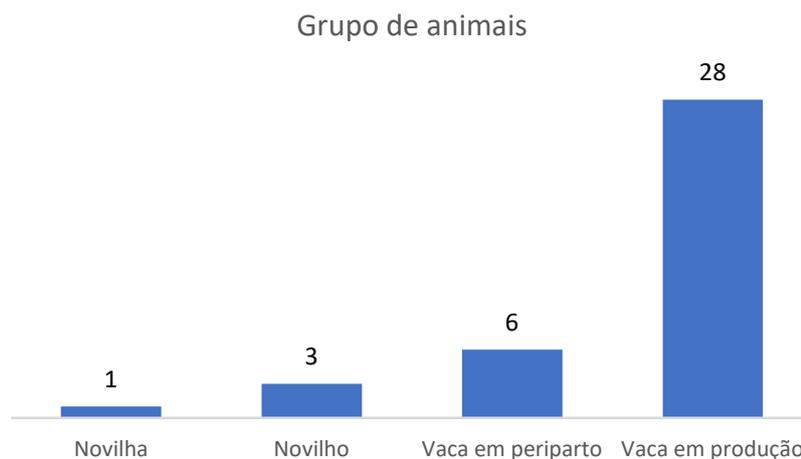
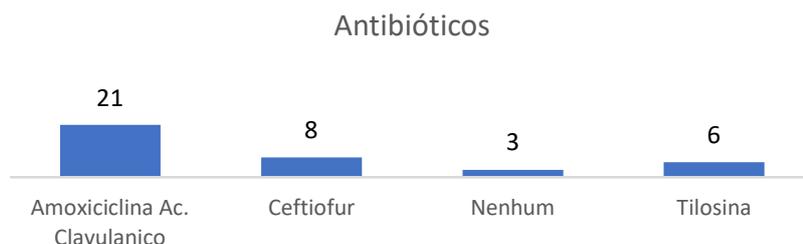


Gráfico 19- Animais diagnosticados com pneumonia distribuídos por grupos segundo a idade e fase de produção. Casuística do estágio na AJAM (2022).



*Gráfico 20- Antibióticos administrados nos animais com pneumonia. Casuística do estágio na AJAM (2022).*

## B- Abscessos subcutâneos

A maioria dos abscessos subcutâneos estavam presentes em vitelos e localizados na face junto ao nariz. Apenas um dos abscessos tratados estava num animal adulto, uma vaca em lactação, localizado na coxa.

Os abscessos foram perfurados com uma agulha estéril e drenados. Eram bem encapsulados e continham material purulento. Em alguns casos fez-se a incisão da cápsula com o bisturi para facilitar a drenagem. Foram injetados com uma seringa para o interior iodopovidona, soro fisiológico e benzilpenicilina procaína combinada com dihidroestreptomicina (Pendistrep®). Nos abscessos de maiores dimensões e com mais conteúdo foi administrado antibiótico sistêmico (o mesmo utilizado localmente), devido ao risco de toxemia.

## C- Lesões traumáticas e fraturas

As lesões traumáticas ocorreram em novilhas e vacas em produção, em situações de queda, que resultaram sobretudo em feridas abertas. Num caso isolado, uma vaca em produção sofreu traqueíte após a administração oral pelo tratador de um bolus com um aplicador improvisado. Em geral, nestes casos foi administrado dexametasona (Vetacort®) para diminuir a inflamação e para controlo de dor, geralmente durante três dias. As feridas eram lavadas e desinfetadas.

Uma vaca com história de distócia, no qual foi utilizada uma carrinha para puxar o feto com a força de tração, apresentava edema num dos membros posteriores e laceração na vulva. Foi administrado dexametasona (Vetacort® durante três dias), vitaminas do complexo B (Bê-complex®) e antibiótico (Pendistrep® na dose 1,5ml/50Kg durante quatro dias). A laceração foi suturada com fio absorvível (catgut®). O produtor foi advertido pela utilização do veículo que traz sempre resultados negativos para o feto, para a vaca e para a exploração em geral.

Quanto aos neonatos, as lesões consistiram em fraturas ósseas fechadas no metacarpo, que ocorreram no momento do parto quando eram aplicadas forças de tração para remoção do feto. As fraturas foram externamente reduzidas e imobilizadas através da colocação de gesso.

## D- Cegueira

No decorrer do estágio foram consultados dois animais com queixa de cegueira. No primeiro caso, o animal afetado tratava-se de uma novilha que, subitamente demonstrou incapacidade de se desviar de obstáculos. A condição foi avaliada como sendo bilateral e a observação de ambos os globos oculares não permitiu a deteção de qualquer lesão. O exame físico geral não revelou outras anomalias. A realização de um diagnóstico definitivo mostrou-se difícil devido à existência de várias doenças que apresentam a cegueira como sinal clínico e pela demora que se verifica na obtenção de resultados nos testes laboratoriais. Foi administrado dexametasona (Vetacort®) via endovenosa, para descartar lesão do nervo óptico. No segundo caso, tratava-se de uma vaca em produção, na terceira lactação. O globo ocular afetado apresentava-se com a esclera hiperémica. Tal como no

caso anterior, não foi possível atingir o diagnóstico definitivo, apesar da suspeita recair para a infecção pelo vírus da rinotraqueíte bovina (IBR). A abordagem terapêutica consistiu na administração de cetoprofeno (Kelaprofeno®) via intramuscular e ceftiofur via subcutânea (Ceftionil® na dose 1ml/50Kg durante 3 dias). O antibiótico teve como objetivo controlar a infecção secundária por bactérias e a escolha do princípio ativo recaiu no ceftiofur por não implicar descartar o leite produzido pelo animal.

A capacidade visual dos animais é avaliada através da facilidade com que se movimentam num trajeto desconhecido, pelo reflexo pupilar à luz e pela resposta à ameaça. Na cegueira central, em que há lesão no encéfalo, o reflexo pupilar mantém-se já que, nos grandes animais não necessita da integridade do córtex cerebral. Em relação à resposta à ameaça, na cegueira central pode apresentar-se diminuída. Por sua vez, quando a cegueira é periférica, tanto o reflexo pupilar como a resposta à ameaça ficam ausentes (Constable, et al., 2017). Os diagnósticos diferenciais para a cegueira podem incluir: doença da órbita (queratoconjuntivite, cataratas), doenças da retina (malformações congénitas devido à infecção intrauterina pelo vírus da diarreia viral bovina), hipovitaminose A, isquemia do córtex cerebral, lesões parasitárias (*Thelazia spp.*), toxemia de gestação, indigestão aguda por carboidratos, distúrbio hêpato-cerebral por excesso de material nitrogenado na alimentação, encefalopatia espongiiforme, intoxicação por plantas, chumbo e selênio (Constable, et al., 2017; Kang, et al., 2017; Jordan e Rafyi, 1971).

## E- Fotossensibilidade

Uma novilha em regime de pastoreio foi diagnosticada com fotossensibilidade dérmica, designada na região por “doença de pele”. As lesões dérmicas estavam localizadas no dorso do animal nas zonas brancas da pelagem. O animal apresentava-se bastante debilitado, sem se conseguir levantar, o que indica que provavelmente estariam a decorrer lesões neuromusculares concorrentes. Foi feita a eutanásia do animal com pentobarbital de sódio (Exagon®).

A fotossensibilidade ocorre quando estão depositados na pele pigmentos fotodinâmicos que absorvem a energia da radiação ultravioleta e da luz visível quando expostos à luz solar, resultando na lesão das células dérmicas. Os pigmentos atingem a pele através da circulação sistémica ou, mais raramente, através da absorção cutânea por contacto direto. Existem três categorias de fotossensibilidade de acordo com a fonte dos pigmentos fotodinâmicos:

Tipo I ou fotossensibilidade primária, ocorre quando os animais ingerem e absorvem diretamente os agentes fotodinâmicos. Frequentemente, os agentes fotodinâmicos já se encontram formados em plantas ou por contaminação com fungos, no entanto também podem ser metabólitos fotodinâmicos resultantes da biotransformação dos seus precursores (Hussain, et al., 2018; Mauldin & Kennedy, 2015; Smith & O’Hara, 1978;).

Tipo II, quando o grupo heme, necessário para a produção de eritrócitos, não é corretamente metabolizado, originando hematoporfirina, uma substância fotodinâmica (Hussain, et al., 2018). A presença de hematoporfirina no plasma em grandes quantidades resulta na fotossensibilização que geralmente, se manifesta em idade precoce, sendo as lesões características a coloração castanha dos ossos e os dentes cor-de-rosa com fluorescência na luz ultravioleta (Smith e O’Hara, 1978).

Tipo III ou fotossensibilidade secundária, ocorre quando o fígado, por ser imaturo ou por estar lesionado, é incapaz de eliminar a filioeritrina, uma substância fotodinâmica que resulta da degradação da clorofila das plantas, presente em maiores quantidades na forragem verde. A disfunção hepática inicial causa uma estase biliar que leva à passagem da filioeritrina, assim como outros pigmentos, para a corrente sanguínea e a sua acumulação nos vários tecidos incluindo a pele. Este tipo de fotossensibilidade é o mais frequente e mais importante em ruminantes (Hussain, et al., 2018; Mauldin & Kennedy, 2015; Smith & O’Hara, 1978;).

Todos os tipos de fotossensibilidade ocorrem em animais com baixa imunidade ou com deficiências nutricionais que podem dever-se, por exemplo, ao sobrepastoreio de uma pastagem que contenha plantas quimicamente implicadas. Geralmente, as zonas do corpo do animal afetadas são as mais expostas à luz solar e as não pigmentadas. As lesões dérmicas são iguais para todos os tipos de fotossensibilidade, sendo necessário para realizar o diagnóstico a análise da pastagem,

a contagem de esporos e a investigação de disfunção hepática. Laboratorialmente, o comprometimento hepático e da eliminação biliar pode ser avaliado através das transaminase glutâmica oxalacética, transaminase glutâmica pirúvica transaminase e bilirrubina total e a faixa de glutamil transferase (Hussain, et al., 2018).

A bordagem terapêutica recomendada para situações de fotossensibilidade passa, primeiramente, pela proteção do animal da luz solar e pela providencia de uma alimentação equilibrada, podendo ser suplementada durante as primeiras semanas. Para favorecer a cicatrização das lesões cutâneas pode-se recorrer à administração de óxido de zinco, assim como outros minerais e complexos vitamínicos com vitaminas dos grupos B e A. Nos casos em que há disfunção hepática, a regeneração do fígado deve ser promovida com a administração de protetores hepáticos à base de metionina. Em animais que manifestam prurido, deve ser administrado anti-inflamatório corticosteroides em preferência dos anti-histamínicos, e aplicados cremes hidratantes nas lesões como coadjuvantes (Bonnefoi & Sauvagnac, 1988; Smith & O'Hara, 1978).

#### F- Edema das articulações

Foram consultados dois animais que apresentavam articulações edematosas. No primeiro caso, tratava-se de um novilho com ambos os membros posteriores afetados na articulação do tarso. No segundo caso, tratava-se de uma novilha com os dois membros anteriores afetados na região das articulações metacarpofalangicas. Em ambos os casos, foi administrado dexametasona (Vetacort®) para controlar a inflamação e a dor. O novilho, que seria o touro de substituição na exploração leiteira, não recebeu nenhum tratamento adicional, já que o produtor decidiu refugar o animal. A novilha recebeu ainda, por se suspeitar de artrite séptica, antibioterapia com oxitetraciclina (Calimicina® na dose de 1ml/10Kg repetindo após três dias) via intramuscular.

Em animais de produção a ocorrência de artrite séptica é muito provável, e na tabela 4 estão descritos alguns agentes que podem estar envolvidos. A artrite séptica, se não for tratada, pode ter consequências irreversíveis na função da articulação. É uma doença dolorosa que exige uma abordagem terapêutica rápida. A infecção articular pode ser consequência direta de uma lesão traumática ou pode resultar da disseminação de outro processo infeccioso através da circulação sanguínea. Os antibióticos descritos como os que mais facilmente penetram nas articulações são as penicilinas naturais e sintéticas, cefalosporinas, tetraciclina, sulfadoxina trimetopim, neomicina, gentamicina, canamicina e ampicacina (Constable, et al., 2017; Desrochers & Francoz, 2014; Desrochers & Francoz, 2014).

Tabela 1- Agentes descritos em casos de artrite em vitelos e em jovens e adultos, adaptado de (Constable, et al., 2017).

Vitelos	Novilhos e adultos
- <i>Trueperella pyogenes</i> , <i>Fusobacterium necrophorum</i> , <i>Staphylococcus</i> spp. (associados a onfaloflebites antecedentes)	- <i>Histophilus somni</i>
- <i>Erysipelotrix rhusiopathiae</i>	- <i>Mycoplasma agalactia</i> var. <i>bovis</i>
- <i>Salmonella dublin</i>	- <i>Mycoplasma bovigenitalium</i>
- <i>Salmonella typhimurium</i>	- <i>Mycoplasma micoides</i>
- <i>Mycoplasma bovis</i>	- <i>Brucella abortus</i>
	-Virus da BVD
	- <i>Trueperella pyogenes</i> (associado a lesões perfurantes)

## G- Listeriose

Foi assistida uma vaca em fase de produção sendo a principal queixa do tratador o excesso de saliva que o animal apresentava quando comia, sinal que resultava da incapacidade do animal de engolir a mesma. Durante a observação à distância detetamos uma assimetria da face, estando o lado direito imóvel e o lado esquerdo da boca em mastigação. Na inspeção da cavidade oral não foi possível identificar nenhuma lesão. A silagem fazia parte da alimentação do animal.

Foram sugeridos como diagnósticos diferenciais a listeriose, actinomicose (*Actinomyces bovis*) e actinobacilose (*Actinobacillus lignieresii*), mostrando-se mais provável o primeiro. O tratamento instituído foi a administração intramuscular de benzilpenicilina procaína (1ml/25Kg de Pendistrep® durante cinco dias), indicado para os agentes dos três diagnósticos diferenciais e suplementação com várias vitaminas (Bê-complex®, Polivit® e Selepherol®).

A listeriose pode ter esta apresentação clínica devido à inflamação, geralmente local, do encéfalo ou das membranas meníngeas que o agente da infeção provoca no animal (Constable, et al., 2017).

O produtor foi aconselhado a investigar a integridade da silagem oferecida aos animais, já que a listeriose está associada ao crescimento elevado de *Listeria monocytogenes* na silagem mal fermentada ou que sofreu deterioração pelo oxigénio.

## H- Reticulo-pericardite traumática

Foi consultada uma vaca em regime de pastoreio com sinais de dor, taquicardia e sons anormais na cavidade torácica que podem ser descritos como sons de respingar ou borbulhar. A reticulo-pericardite traumática (RPT) foi a principal suspeita do veterinário.

A RPT ocorre quando o saco pericárdico é perfurado por um corpo estranho que ficou alojado no retículo após ter sido ingerido pelo animal. Muitas vezes o corpo estranho são arames ou pregos presentes no pasto. Além dos sinais apresentados anteriormente podem estar presentes nestes casos, febre, ingurgitamento das veias jugulares, anasarca, hidrotórax e ascite (Braun, 2009).

Ao animal foi administrado metamizol para efeito analgésico (Vetalgin®) e introduzido um ímã no retículo de forma a atrair os objetos metálicos. O ímã demonstra pouco efeito terapêutico, principalmente na fase em que o animal em questão se encontrava, sendo a sua utilização mais indicada para a prevenção destas situações.

## Outras espécies

Dentro da clínica médica foram intervencionadas outras espécies para além da bovina tais como, suína, equina e caprina.

Nos suínos surgiram casos de doença pulmonar aguda, intoxicação e distocia. A doença pulmonar aguda foi tratada através da administração intramuscular de marbofloxacina, antibiótico do grupo das fluoroquinolonas (Marbosyva Forcyl® na dose 1ml/50Kg durante três dias) e de cetoprofeno, um anti-inflamatório não esteroide (Dinalgen® na dose 1ml/50Kg, administração única). A intoxicação teve como causa mais provável a ingestão excessiva de sal. O animal encontrava-se gestante e apresentava-se em decúbito lateral com sinais de incoordenação motora quando em estação. Foi administrado dexametasona (Vetacort® na dose 5ml/50Kg) e furosemida (Lasix® via oral), um diurético de alça que inibe a reabsorção de sódio, cloro e água. A distocia foi abordada com a administração de oxitocina (4 ml de Facilpart®) e remoção manual dos fetos no canal de parto. Foi um processo demorado que ocorreu ao longo de todo o dia. O primeiro feto removido apresentava-se em posição transversal, o que provocou atraso na expulsão dos fetos e na consequente morte dos mesmos. A porca apresentava condição corporal demasiado elevada, o que constitui um fator de risco para as distocias. Os fetos estavam todos mortos e cada vez mais edemaciados, dificultando a sua remoção. No final o canal de parto apresentava lacerações com possível continuidade para o abdómen, o que leva a um prognóstico reservado para o animal.

Em equinos foi intervencionada uma poldra com lacerações no chanfro e na axila devido a traumatismo. Efetuou-se a lavagem, tricotomia e desinfecção do local lesionado. A laceração do chanfro foi suturada após a anestesia local com procaína (Pronestestic®) e a administração de analgésico via intravenosa (Vetalgin® na dose 2ml/50Kg).

Na espécie caprina foram intervencionados dez animais, nove fêmeas e um macho. Seis caprinos, incluindo o macho, foram diagnosticados com doença pulmonar aguda. A abordagem terapêutica consistiu na administração de penicilina (Pendistrep® na dose 1,5ml/25Kg durante quatro dias) e de anti-inflamatório não esteroide. Os anti-inflamatórios usados foram carprofeno (Rimadyl® na dose 1ml/35Kg, repetindo com um dia de intervalo) e flunixinina meglumina (Meganyl® na dose 2ml/45Kg repetindo no dia seguinte). Duas fêmeas tinham história de distocia no dia anterior. No primeiro caso a cabra era primípara e foi expulso um nado morto, no segundo caso a cabra era múltipara e expulsou três nados mortos. Em ambos os casos, foi instituída antibioterapia com penicilina (Pendistrep® na dose 1,5ml/25Kg durante três dias) e administrado analgésico (Vetalgin®). Por fim, duas fêmeas apresentavam-se com mamite e foi-lhes administrado penicilina (Pendistrep® na dose 1,5ml/Kg durante 4 dias) e carprofeno (Rimadyl® na dose 1ml/35Kg).

## 2.2.4 Clínica cirúrgica

Na área de cirurgia clínica foram realizados quatro procedimentos diferentes tal como consta no gráfico 21.

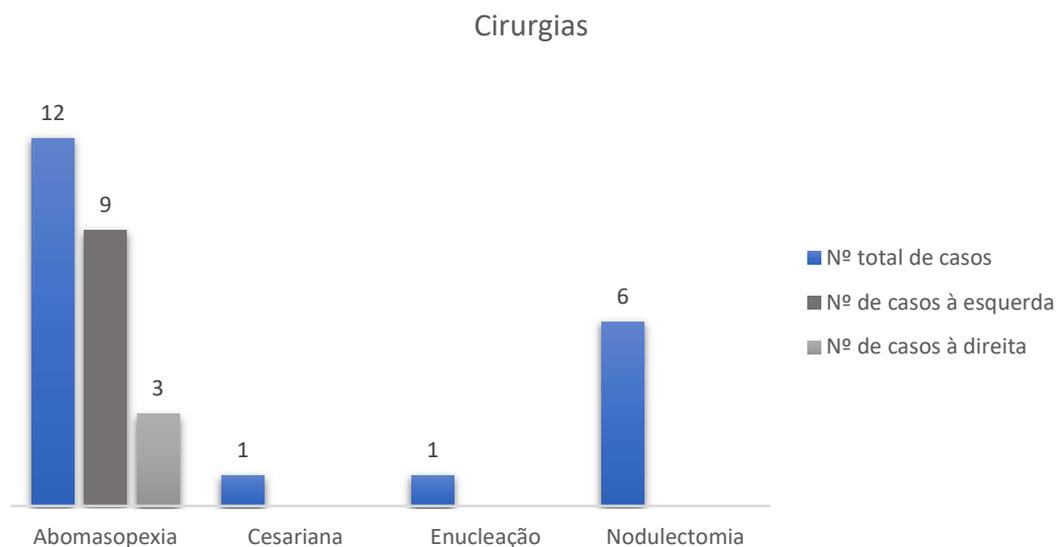


Figura 21- Cirurgias realizadas no estágio. A abomasiopéxia encontra-se dividida em dois tipos de abordagem cirúrgica, uma com acesso na fossa paralombar esquerda e outra na fossa palombar direita. Casuística do estágio na AJAM (2022).

## Cesariana

No decorrer de uma distocia de uma vaca de raça Holstein- Frísia, devido ao tamanho elevado do feto, após a tentativa falhada de remoção do mesmo com manobras obstétricas optou-se pela cesariana. Este procedimento cirúrgico foi realizado com o animal em estação, utilizando como acesso a fossa paralombar esquerda e passando pelas seguintes etapas:

1º Preparação da área de acesso através da sua lavagem com detergente e água, seguida de tricotomia e desinfecção com álcool e iodopovidona.

2º Sedação leve do animal com xilazina (Nerfasin®), por via intravenosa (não ultrapassar a dose 0,0075-0,05mg/Kg para manter o animal em estação).

3º Anestesia local com procaína (Pronestestic®). O bloqueio foi em linha vertical sobre o peritoneu, camadas musculares e tecido subcutâneo (inoculação em leque).

4º Incisão com o bisturi, primeiramente na pele, de seguida no músculo oblíquo externo mais a fáscia (fibras em sentido crâniocaudal), depois no músculo oblíquo interno (fibras no sentido caudocranial) e por fim, no musculo transverso e peritoneu.

5º Exteriorização do útero puxando através dos membros do feto.

6º Incisão linear na curvatura maior do corno uterino grávido, evitando os placentomas.

7º Remoção do feto para o exterior.

8º Suturar o útero e possíveis lacerações com fio absorvível (Catgut®), utilizando uma sutura de inversão contínua. Neste caso utilizamos a sutura de Utrecht e reforçamos com a sutura de Lembert.

9º Lavar a parede do útero com solução salina (NaCl 0,9%) e remoção dos coágulos sanguíneos. Reintroduzir o útero na cavidade abdominal na sua topografia normal.

10º Encerramento da parede abdominal em três camadas: a primeira, inclui o peritoneu e o músculo transverso, que são suturados com fio absorvível (Catgut®) no padrão simples contínuo; a segunda, inclui o músculo oblíquo interno e externo, e utilizam-se o mesmo fio e padrão da sutura anterior; a terceira, corresponde à pele que é suturada com fio não absorvível (Supramida®) no padrão contínuo ancorado. Entre cada camada muscular e no interior da cavidade peritoneal colocou-se antibiótico (Pendistrep®).

11º Administração de antibiótico de amplo espectro de ação para prevenir a peritonite e a bacteremia, neste caso optou-se pela marbofloxacina (Marbosyva®) porque se considerou ter ocorrido grande contaminação do peritoneu durante a cirurgia. Para a analgesia optou-se pela administração de um anti-inflamatório não esteroide, a flunixinina meglumina (Meganyl® na dose 2,2mg/Kg), via endovenosa para ter ação imediata.

## Abomasopexia

A abomasopexia foi realizada para corrigir os deslocamentos de abomaso. A cirurgia foi feita com o animal em estação, utilizando como acesso a fossa paralombar do mesmo lado que o deslocamento. As primeiras quatro etapas são idênticas às descritas anteriormente na cesariana, seguindo-se:

5º Identificação do abomaso e perfuração do mesmo com uma agulha acoplada a um tubo de fluidoterapia para permitir a exteriorização do gás.

6º Fazer sutura cega na superfície do abomaso. Exteriorizar as duas pontas do fio de sutura utilizado, perfurando a parede abdominal lateral e cranialmente ao umbigo de forma a reposicionar o abomaso na sua posição anatómica. Nesta etapa devemos ter o cuidado de evitar as veias mamárias. Já no exterior, passar as pontas do fio por uma tampa com dois furos feitos previamente. Fazer vários nós cirúrgicos sucessivos.

7º Confirmar no interior do abdómen a correta posição do abomaso.

8º Proceder ao encerramento da parede abdominal como está descrito na 10º etapa da cesariana.

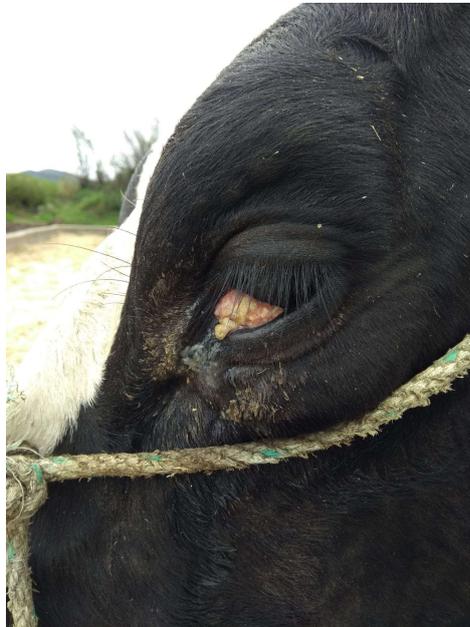
9º No pós cirúrgico administrávamos metamizol (Vetalgin®) para controlo de dor e antibiótico para prevenir peritonite e bacteremia. Foram utilizados dois protocolos distintos de antibioterapia, o primeiro com administração local (interior do abdómen e entre as camadas musculares suturadas) de benzilpenicilina procaína (Pendistrep®) e administração intravenosa de marbofloxacina (Marbosyva®); o segundo com administração local e intramuscular de oxitetraciclina (Calimicina®).

10º Fluidoterapia intravenosa com NaCl, e solução constituída por eletrólitos na proporção do lactato de ringer, vitamina B12 e sorbitol (Neatox®).

## Nodulectomia

As nodulectomias efetuadas no estágio consistiram na remoção cirúrgica de lesões precursoras do carcinoma das células escamosas. É o tumor mais frequente nos bovinos e um dos que acarreta perdas económicas mais significativas. Na ilha de São Miguel, é a segunda neoplasia que mais frequentemente leva à rejeição no matadouro, sendo a primeira os tumores da bexiga (Carvalho, et al. 2005). O tumor cutâneo pode localizar-se na esclera, na membrana nictante (terceira pálpebra), como é exemplo a figura 16, ou na pálpebra inferior. Histologicamente, pode ser bem ou mal diferenciado e o grau de invasão é variável, podendo ocorrer metástase, especialmente no linfonodo parotídeo (Tsuji e Plummer, 2010; Carvalho, et al. 2005).

O procedimento cirúrgico foi realizado com o animal em estação e só foram submetidos a sedação os animais mais nervosos, nestes casos foi administrada xilasina (Nerfasin®) via intravenosa. Foi feita a administração local de procaína (Pronestestic®) para anestesia e antibiótico (ceftiofur) para controlo de infeção. O princípio ativo do antibiótico foi escolhido de forma a não ser necessário o produtor descartar o leite do animal. A lesão era isolada utilizando uma pinça hemostática colocada com a maior margem possível e depois seccionada com o bisturi. Todos os materiais utilizados eram previamente esterilizados com álcool e iodopovidona. A recidiva tem-se mostrado comum.



*Figura 15- Lesão localizada na terceira pálpebra excisada cirurgicamente. Fotografia tirada em S. Miguel (2022).*

## Enucleação

A enucleação, total remoção do globo ocular, foi realizada apenas uma vez num animal com lesão invasiva de grandes dimensões que envolvia todo o olho (ver figura 17), sugestivo de se poder tratar de carcinoma das células escamosas.

O animal foi sedado com xilazina (Nerfasin®) administrada via intravenosa em dose baixa o suficiente para o animal se manter em estação durante todo o procedimento. Foi feita a assepsia do local com lavagem, tricotomia e desinfeção. Para a anestesia local fez-se a administração de procaína (Pronestestic®) na superfície do globo ocular e nos tecidos adjacentes. Para diminuir o risco de hemorragia durante a cirurgia foi ainda administrado etamsilato (Hemosilate®) via intravenosa. A incisão inicial foi feita à volta das pálpebras e todos os tecidos foram removidos. A sutura das camadas musculares foi feita com fio absorvível (Catgut®) e a pele com fio não absorvível.



Figura 16- Lesão, possivelmente neoplásica, envolvendo o globo ocular fotografada durante a assepsia do local para intervenção cirúrgica. Fotografia tirada em S. Miguel (2022).

### Herniorrafia umbilical técnica fechada

Uma vitela diagnosticada com hérnia umbilical foi submetida a intervenção cirúrgica que passou pelas seguintes etapas:

1º Administração intramuscular de xilazina (Nerfasin®) para atuar como sedativo, relaxante muscular e analgésico. Também é possível administrar via endovenosa, no entanto quando intramuscular, apesar de levar mais tempo a iniciar, o efeito é mais prolongado.

2º Posicionar o animal em decúbito dorsal, colocando duas sacas, parcialmente cheias, nas laterais ao longo do corpo do animal e os membros posteriores imobilizados e em extensão recorrendo a uma corda.

3º Assepsia da área abdominal: usamos detergente e água, seguida de tricotomia e desinfecção com iodopovidona. Todos os instrumentos cirúrgicos foram esterilizados com álcool e durante a cirurgia imersos em iodopovidona.

4º Anestesia local com procaína (Pronestestic®), bloqueio ao redor do umbigo.

5º Com o bisturi fez-se incisão ao redor da base da hérnia, tendo o cuidado de deixar tecido suficiente para o encerramento da pele no final.

6º Dissecar os tecidos subcutâneos até destacar o saco da hérnia e o anel da hérnia.

7º Introduzir o saco da hérnia na cavidade abdominal e encerrar o anel da hérnia com fio absorvível (Catgut®) no padrão de colchoeiro contínuo.

8º Aplicar antibiótico local (Pendistrep®) e suturar o tecido subcutâneo com fio absorvível (Catgut®) no padrão simples contínuo.

9º Suturar a pele com fio não absorvível no padrão contínuo ancorado.

10º Aplicar *spray* protetor e cicatrizante ao longo da sutura.

### 2.2.5 Correção de cascos

Foram assistidas três vacas para correção de cascos. Os técnicos responsáveis pelo procedimento utilizaram um tronco de contenção transportável que mantinha a vaca em estação e permitia o levantamento de cada membro do animal. Os materiais utilizados para a correção foram as facas de casco, tenaz de casco, rebarbadora e tacos ortopédicos.

Todos os cascos intervencionados eram dos membros posteriores. Uma das afeições podais detetadas foi a úlcera de sola.

Inicialmente fez-se a limpeza do casco com jatos de água, removendo toda a sujidade e permitindo a observação total do casco. Com as facas de casco foram removidas todas as erosões e tecidos necróticos e com a tenaz fez-se o corte da pinça quando se apresentava em sobrecrecimento. Aplicou-se ainda os tacos ortopédicos com cola de cascos na unha contralateral da afeção para que possa aliviar o peso sobre a unha afetada. O taco é removido sensivelmente após um mês de utilização. Por fim foi feita uma bandagem a envolver o casco e o taco com o objetivo de manter um ambiente seco que não promova o crescimento microbiológico.

## 2.2.6 Necropsia

No decorrer do estágio foram realizadas duas necropsias, a primeira solicitada pelo produtor e a segunda por iniciativa do veterinário e com autorização do produtor.

A primeira necropsia foi efetuada numa vaca de produção de leite, de raça Holstein- Frísia numa produção em pastoreio. A vaca tinha tido o primeiro parto há dois dias, ocorreu durante a noite e sem assistência. O bezerro era muito grande e a vaca apresentava na manhã seguinte a vulva edemaciada e congestionada. O animal foi submetido a uma consulta veterinária nesse dia, na qual foi diagnosticada pneumonia além das lesões localizadas na vulva. Foi instituído tratamento com anti-inflamatório corticosteroide, dexametasona (Vetacort®), e antibiótico, amoxicilina com ácido clavulânico (Synulox®). Após dois dias o tratador encontrou o animal morto no pasto.

Foi observado o seguinte durante a necropsia:

-Exame externo: No chão estavam fezes muito escuras devido à alimentação de pastagens, para distinguir de melena podemos usar água oxigenada que reage com o sangue formando espuma; Vulva estava sem edema e sem lesões visíveis.

-Abertura da cavidade torácica: A traqueia apresentava na sua porção mais proximal líquido verde, que correspondia a conteúdo gástrico. Os pulmões apresentavam zonas de congestão e zonas de atelectasia e ao nível dos brônquios estava presente espuma.

-Coração: o pericárdio apresentava petéquias castanho escuro assim como no miocárdio.

-Abertura da cavidade abdominal: os reservatórios gástricos (rúmen, retículo, omaso e abomaso) apresentavam-se na topografia anatómica e o conteúdo alimentar estava presente até ao terço mais proximal do esófago.

-Aparelho reprodutor: o útero apresentava-se intacto e sem conteúdo. As carúnculas do corno uterino que esteve grávido estavam amarelas e pequenas.

Assim pode-se concluir que a morte não esteve diretamente relacionada com o parto nem com o tratamento instituído, visto que o aparelho reprodutor se apresentou sem alterações no geral, e o útero em particular estava em condições plenas para completar a sua involução. Foi sugerido como causa de morte provável, a má posição de decúbito, que impediu o animal de fazer a eructação corretamente. Quando o gás resultante da fermentação não é libertado, acumula-se no rúmen e torna-o distendido. À medida que a pressão no rúmen aumenta, o diafragma deixa de poder expandir e criar a pressão negativa nos pulmões necessária para a insuflação, o que pode culminar na morte do animal por asfixia (Yirdachew e Mekonnen, 2022).

As petéquias no pericárdio e miocárdio ilustradas na figura 18, resultam do aumento da resistência dos vasos periféricos enquanto o coração contrai vigorosamente na fase terminal da vida do animal, estes achados não estão associados a nenhuma causa de morte específica, podendo verificar-se em várias situações, principalmente em grandes animais (King, et al., 2013).



*Figura 17- Petéquias no pericárdio de vaca leiteira necropsiada. Massa que envolve o globo ocular fotografada durante a assepsia do local para intervenção cirúrgica. Fotografia tirada em S. Miguel (2022).*

A segunda necropsia foi efetuada numa vaca leiteira de raça Holstein- Frísia, em fase de produção. Tinha feito cirurgia abdominal há duas semanas devido a deslocamento do abomaso à esquerda. O animal não demonstrou sinais de recuperação após cirurgia e após reavaliação veterinária foi diagnosticada peritonite. Ao dia da necropsia, o produtor relatou que o animal deixou de comer e passava muito tempo em decúbito. Foi feita a eutanásia do animal com pentobarbital de sódio (Exagon®) imediatamente antes da necropsia.

Na necropsia foi observado o seguinte:

-Exame externo: o animal apresentava-se magro e com alguma atrofia muscular nos membros; o tecido cutâneo na zona da sutura feita na cirurgia estava em bom estado de cicatrização.

-Abertura da cavidade abdominal: apresentava uma formação cavitária encapsulada de grandes dimensões (ver figura 19); no local de fixação do abomaso havia alguma aderência fibrinosa tal como é pretendido após a cirurgia.

As alterações observadas na cavidade abdominal são concordantes com peritonite crónica localizada com formação de abscesso.

Os bovinos têm elevada capacidade para isolar os focos sépticos que ocorrem dentro da cavidade peritoneal, através da formação de abscessos que impedem a difusão da infeção. Esses abscessos podem atingir grandes dimensões e mantêm a infeção localizada (Uzal et al., 2015).



*Figura 18- Peritonite localizada: abscesso detetado após abertura do abdômen. No interior é visível o conteúdo seroso de cor amarela e fibrina. Fotografia gentilmente cedida por Dra. Maria Felício.*

### 3. PARATUBERCULOSE: O DESAFIO DE DIAGNOSTICAR EM CLÍNICA DE BOVINOS

#### Objetivos

- ✓ Perceber a origem dos sinais clínicos e dos animais assintomáticos;
- ✓ Reunir os avanços da comunidade científica acerca da paratuberculose;
- ✓ Perceber quais os melhores testes de diagnóstico;
- ✓ Conhecer as medidas mais apropriadas para mitigar a doença;
- ✓ Perceber se a paratuberculose é um risco para a saúde pública.

#### 3.1 Caracterização da doença

A paratuberculose é uma enterite crónica infecciosa que afeta bovinos e outros ruminantes. Também é conhecida por doença de Johne, designação que deriva Dr. Heinrich Albert Johne (Professor de Patologia) que, juntamente com o Dr. Langdon Frothingham, demonstrou em 1895, na Alemanha, a associação entre a enterite de uma vaca com a presença de um microrganismo ácido-álcool resistente na mucosa intestinal. Considerando as semelhanças das lesões macroscópicas e histológicas com a tuberculose, propuseram designar a doença “*pseudotuberculosis enteritis*”. Logo após a publicação do caso, vários veterinários de diferentes países europeus começaram a reportar surtos da misteriosa doença intestinal entre vacas leiteiras. Em 1908, pela primeira vez nos Estados Unidos, Dr. Leonard Pearson reportou o caso de uma vaca que aparentava ter a doença descrita previamente por Johne. Apenas em 1912 na Inglaterra, Twort foi capaz de isolar o agente etiológico da doença de Johne. A bactéria foi oficialmente designada por *Mycobacterium paratuberculosis*, atualmente denominada por *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculosis* (MAP) segundo os novos métodos taxonómicos (Li, et al., 2016; Collins, 2022)

Os sinais clínicos da paratuberculose bovina incluem diarreia profusa não responsiva ao tratamento e perda significativa de peso apesar de o animal manter o apetite. Uma vez estabelecidos os sinais clínicos, a doença caracteriza-se pela emaciação crónica até à morte do animal. A Paratuberculose implica perdas económicas nas explorações principalmente, pela diminuição da produção de leite dos animais infetados, pelo aumento da taxa de substituição e pela desvalorização das carcaças no matadouro (Rasmussen, et al., 2021; Britton, et al., 2016; Windsor e Whittington, 2010). Em Portugal o impacto económico para os produtores e para o país ainda não foi estimado, o que contribui para a subvalorização da doença apesar de ter sido identificada nas explorações portuguesas (Oliveira, 2016).

Atualmente não há tratamento eficaz contra a Paratuberculose, e as estratégias praticadas são direcionadas para o controlo e prevenção da doença. No entanto, o controlo da paratuberculose é dificultada pela ausência de testes de diagnósticos suficientemente sensíveis para detetar a infeção precocemente, quando os animais infetados disseminam a micobactéria para o ambiente apesar de não apresentarem sinais de doença. Assim, fica evidente a importância de desenvolver e validar outras técnicas mais rápidas e sensíveis para identificar os animais disseminadores e controlar a propagação da infeção (Park e Yoo, 2020; Ashouri e Nourani, 2021).

O agente etiológico, MAP, tem sido associado há mais de um século à doença de Crohn nos humanos e apesar de vários estudos realizados ao longo do tempo, ainda não há consenso acerca do seu risco zoonótico (Li, et al., 2016; Dow e Alvarez, 2022).

#### 3.2 Caracterização do agente etiológico

*Mycobacterium avium* subspécie *paratuberculosis*, MAP, é uma bactéria bacilus, gram-positiva intracelular obrigatória. Apesar de não ser capaz de se replicar no ambiente, as características da sua parede celular permitem a sobrevivência de MAP por longos períodos fora do

seu hospedeiro, o que facilita a sua transmissão por contacto indireto. Foram já descritos períodos de sobrevivência superiores a um ano em ambientes exteriores com sombra (Hassen e Rossiter, 2000; Windsor e Whittington, 2010; McAloon, et al., 2019).

Pertence ao género *Mycobacterium* que se caracteriza pelos bacilos gram-positivos com parede celular rica em lípidos e ácido-resistente. Este género inclui outras espécies patogénicas importantes como *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. bovis* e *M. avium*. Por sua vez, *M. avium* está dividido em três subespécies diferentes, *M. avium* subsp. *avium* (MAA), *M. avium* subsp. *silvaticum* (MAS) e *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). MAP distingue-se das restantes subespécies pela presença de sequências de inserção que são exclusivas do seu genoma, sendo a mais utilizada para testes de deteção a IS900. Fenotipicamente, também é diferenciada ao nível da subespécie pelas suas características biológicas únicas. Apresenta um crescimento extremamente lento, podendo demorar até seis meses de incubação para desenvolver uma colónia visível a olho nu. E o seu crescimento *in vitro* depende da adição de micobactina exógena, já que que MAP não é capaz de a produzir. A micobactina é um quelante de ferro que é essencial para a sua replicação, assim é considerado um parasita obrigatório das células de mamíferos, onde há disponibilidade de ferro. (Hassen e Rossiter, 2000; Li, et al., 2016; Britton, et al., 2016; Oliveira, 2016).

Análises filogenéticas evidenciaram uma evolução bifásica de MAP a partir do ancestral comum, *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis*, que deu origem a duas estirpes designadas por tipo S e tipo C, de acordo com a espécie onde foram isoladas pela primeira vez (S de “sheep” e C de “cattle”). Apesar da designação, sabe-se que ambas as estirpes podem ser isoladas em várias espécies de hospedeiros. Dentro destes dois grupos foram identificados por métodos de genotipagem outros subtipos: o subtipo III, incluído no tipo S e o subtipo B/ Bison incluído no tipo C. No subtipo B foram detetadas diferenças genéticas em organismos isolados de animais da Índia em relação a animais dos EUA, dividindo-o em duas sub-linhagens: tipo USA B e tipo Indian B. (McAloon, et al., 2019). Em relação às sequências de inserção, não há evidências que existam diferenças capazes de distinguir as duas estirpes (Oliveira, 2016) no entanto, Lim et al. (2021) afirma ter desenvolvido, através da análise do pangenoma (conjunto de genes presentes em todas as estirpes) de MAP, uma técnica de PCR em tempo real capaz de distinguir as estirpes S, B e C.

Quando presente no interior do hospedeiro, MAP invade preferencialmente os macrófagos e interfere na resposta destas células para sobreviver. A infeção por MAP afeta o sistema de sinalização de citocinas, atenua o sistema de apresentação de antígenos, impede a maturação do fagossoma dos macrófagos. Altera ainda a resposta do complemento, o que lhe permite sobreviver quando se encontra no exterior das células. Tudo isto evita a deteção da bactéria pelo sistema imunitário, o que resulta numa infeção silenciosa por um longo período até surgirem os primeiros sinais clínicos (Marino, et al., 2017).

### 3.3 Epidemiologia

Atualmente, a paratuberculose é considerada uma das doenças mais disseminadas pelo mundo, estando presente em todos os continentes, principalmente em áreas temperadas e húmidas. Os estudos epidemiológicos, necessários para monitorizar e controlar a doença, são difíceis de aplicar principalmente porque a maioria dos animais nas explorações estão na fase pré-clínica, dita silenciosa, e a infeção apenas é detetada pelos testes utilizados quando há sinais clínicos. Assim, a verdadeira prevalência do agente continua desconhecida, no entanto pode-se afirmar que não foi encontrado nenhum país ou região livre desta doença (Ashouri e Nourani, 2021; Sajiki, et al., 2018; Marino, et al., 2017; Rossels e Huygen, 2008).

Rasmussen, et al., (2021) afirma que é provável que a prevalência da infeção por MAP, na maioria dos países com expressão significativa de indústrias de leite, exceda os 50% em cada exploração leiteira. Nos Estados Unidos o agente, MAP, foi encontrado em cerca de 70% das explorações leiteiras (Martcheva, et al., 2015).

Em Portugal o número de estudos de prevalência da paratuberculose efetuados é reduzido, encontrando-se provavelmente subdiagnosticada (Oliveira, 2016). No estudo de Oliveira (2016) é

feita a caracterização da população de MAP que circula na ilha de S. Miguel, Açores. Os microrganismos foram isolados das fezes de 72 bovinos com sinais clínicos suspeitos de Paratuberculose oriundos de explorações localizadas em diferentes freguesias. O estudo revelou que a maioria dos isolados pertence à mesma linhagem clonal, sugerindo a existência de uma fonte de infecção comum para os animais, podendo ser a água, vegetação ou ração contaminados por MAP. No mesmo estudo, foram ainda isolados MAP das fezes de 23 bovinos de explorações localizadas em Portugal Continental, sem apresentarem qualquer sinal clínico sugestivo de MAP. Apesar da amostragem ser pequena é possível concluir que a paratuberculose está presente nas explorações portuguesas e a sua transmissão é feita por animais assintomáticos.

Apesar de ser associada à indústria pecuária e aos ruminantes domésticos (bovinos, ovinos e caprinos), onde tem mais impacto económico, a paratuberculose é endémica no mundo selvagem (Ashouri e Nourani, 2021; Sajiki, et al., 2018). MAP já foi isolado em vários animais selvagens ruminantes e não ruminantes, incluindo veados, cabra da montanha, alces, antílope, cavalo, coelhos, raposas, arminhos e doninhas, assim como em humanos e primatas não humanos (McAloon, et al., 2019; Hansen e Rossiter, 2000).

Em explorações de bovinos, sabe-se que o fator de risco mais significativo para o desenvolvimento da doença é a exposição de jovens vitelos a doses infetantes do agente, MAP. Existem evidências suficientes para concluir que a suscetibilidade à infecção difere em função da idade do animal. Quando expostos ao agente, os vitelos com menos de seis meses têm maior probabilidade de desenvolverem infecção em relação aos vitelos com seis a doze meses de idade e, por sua vez, os adultos são menos propensos a contrair a infecção em relação a ambos os grupos de vitelos (Windsor e Whittington, 2010). Possivelmente, esta diferença na suscetibilidade resulta da capacidade limitada dos animais mais jovens controlarem os microrganismos intracelulares (Marino, et al., 2017). Apesar de já terem sido infetados animais adultos em estudos realizados, a dose infetante utilizada foi bastante elevada e é pouco provável que os animais, em condições normais de produção, estejam expostos à mesma quantidade de MAP, o que significa que uma vaca leiteira infetada dificilmente transmite a infecção às vacas que com ela co-habitam (Hansen e Rossiter, 2000).

O principal mecanismo para transferir MAP de uma geração para a seguinte é a transmissão fecal-oral. Esta pode ser feita através da ingestão de material fecal de animais infetados que pode estar a contaminar os tetos, o pasto, a água, o leite, suplementos alimentares ou a feno-silagem. A transmissão também pode ocorrer através da ingestão de colostro ou leite de animais infetados e ainda via intrauterina em vacas que apresentam doença avançada (Windsor e Whittington, 2010). Windsor e Whittington (2010) reportaram a existência de vacas com infecção subclínica com cultura positiva para MAP nos linfonodos supramamários e no leite. No entanto a quantidade de MAP disseminado por esta via tem-se mostrado baixa e variável ao longo das fases de lactação, com níveis mais elevados nos primeiros 60 dias e níveis negligenciáveis durante as fases média e final (McAloon, et al., 2019).

Os animais que libertam MAP para o ambiente são geralmente designados por disseminadores e podem ser agrupados em função da quantidade de MAP que libertam nas fezes. Em estudos realizados foram detetados disseminadores de baixo, médio e alto nível, e ainda os super-disseminadores que libertam mais de 107 cfu MAP/g de fezes. Foram ainda identificados dois padrões diferentes de disseminação, a progressiva e a não progressiva ou intermitente. No primeiro padrão os animais libertam a MAP de forma contínua, iniciando com níveis baixos de disseminação e progredindo para níveis altos. No segundo padrão, os animais libertam a bactéria a níveis baixos de forma intermitente e a resposta imune humoral (com anticorpos) não é detetável. Nas infeções naturais os animais têm demonstrado ser predominantemente disseminadores intermitentes de baixo nível (McAloon, et al., 2019).

A transmissão de vitelo para vitelo é considerada e os programas de controlo têm reconhecido esta rota, aconselhando os vitleiros individuais. Mortier et al. (2015) refere que os animais com mais de um ano, além de continuarem suscetíveis à infecção também são potenciais fontes de infecção para outros vitelos. Os benefícios do vitleiro individual não são exclusivos para a paratuberculose, tendo particular interesse nas diarreias infecciosas. No entanto o alojamento de

vitelos em grupo ou em pares tem demonstrado melhorias na ingestão inicial, no ganho de peso, na cognição e na redução da resposta de medo. Além disso, é recomendado que um vitelo tenha contacto visual e corporal no mínimo com outro vitelo (McAloon, et al., 2019). Em relação à introdução da Paratuberculose nas explorações inicialmente livres, ocorre frequentemente após a introdução de novos animais infetados que possivelmente estão assintomáticos (McAloon, et al., 2019).

O fenómeno do iceberg tem sido aplicado no contexto da Paratuberculose para dar alusão à grande prevalência de animais com infeção subclínica não diagnosticados (McAloon, et al., 2019; Dow e Alvarez, 2022).

### 3.4 Sinais clínicos e lesões

A infeção é de natureza lenta e progressiva, o que possibilita que animais infetados não apresentem nenhum sinal clínico durante anos. Quando surgem, os sinais clínicos incluem episódios intermitentes de diarreia, que poderá tornar-se crónica e perda de peso na presença de bom apetite. Geralmente os animais não apresentam febre. Os sinais podem surgir nos momentos de maior stresse como por exemplo o parto, alterações alimentares ou na realocação do animal e podem ser confundidos com muitas outras doenças. Na tabela 6 são apresentados os diferentes diagnósticos diferenciais para os principais sinais clínicos de paratuberculose. A fase subclínica caracteriza-se principalmente pela diminuição da produção de leite na última lactação antes do animal ser encaminhado para abate por parecer dispendioso para a exploração (Marino, et al., 2017; Ashouri e Nourani, 2021; Hansen e Rossiter, 2000).

Tabela 2- Lista de diagnósticos diferenciais para os principais sinais clínicos de paratuberculose (Constable, et a., 2017).

Lista de diagnósticos diferenciais	
Diarreia em adultos	Emaciação em adultos
<ul style="list-style-type: none"> <li>-Parasitismo intestinal (ostertagiose)</li> <li>-Salmonelose</li> <li>-Deficiência em cobre (sinal secundário)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Reticuloperitonite traumática crónica</li> <li>-Má nutrição</li> <li>-Pielonefrite</li> <li>-Linfossarcoma</li> <li>-Amiloidose</li> </ul>

Ao nível do organismo, MAP invade a parede do intestino delgado (íleo) sendo a sua porta de entrada as células M, células especializadas localizadas em GALT (tecido linfoide associado ao intestino) que absorvem e apresentam a bactéria aos macrófagos e linfócitos. Porém, Marino et al. (2017) afirma que foi demonstrado que MAP invade a parede intestinal em áreas sem GALT, sugerindo os enterócitos como uma segunda porta de entrada. O sistema imunitário reage à invasão recrutando mais macrófagos e linfócitos ao local. Os linfócitos Th (T helper) libertam citocinas, tal como o gama interferão, que ativam os macrófagos tornando-os capazes de destruir a bactéria intracelular. Os macrófagos acabam por se fundir e formar células gigantes que, juntamente com os linfócitos se infiltram nos tecidos causando o espessamento intestinal granulomatoso. Este espessamento do tecido intestinal prejudica a absorção dos nutrientes, especialmente da proteína, o que resulta na perda de massa muscular, baixa produção de leite e formação de edema entre as mandíbulas (sinal de hipoproteinemia). É provável que alguns animais expostos ao agente sejam capazes de eliminar a infeção, no entanto, na maioria dos infetados MAP persiste dentro dos macrófagos. Em fases mais avançadas da resposta imunitária, a bactéria sai do interior dos macrófagos para o lúmen intestinal e os animais começam a libertar MAP nas fezes. Pode também escapar para o sistema vascular estimulando a produção de anticorpos. Contudo, esta resposta humoral não será muito útil para estratégias de controlo de MAP devido à sua localização intracelular. (Ashouri e Nourani, 2021; Marino, et al., 2017; Martcheva, et al., 2015).

As lesões macroscópicas de bovinos com paratuberculose podem incluir o espessamento e pregueamento da parede intestinal, dilatação dos vasos linfáticos e aumento dos linfonodos

mesentéricos. No exame histopatológico devem ser coradas com hematoxilina e eosina secções do íleo e dos linfonodos associados para evidenciar a inflamação granulomatosa, e pelo método de Ziehl Neelsen (ZN) para visualizar as bactérias. Em animais jovens as alterações patológicas precoces são difíceis de identificar. (Britton, et al., 2016; Marino, et al., 2017).

Ao nível da exploração, a existência de paratuberculose é suspeita na presença de animais com sinais clínicos que, estando na fase terminal da infeção é provável apresentarem resultado positivo nos testes de diagnóstico (Hassen, Rossiter, 2000). Contudo, nas explorações em que nenhum animal expressa sinais clínicos, mas há queixa de improdutividade, a testagem para paratuberculose dos animais menos produtivos deve ser incluída na busca da causa (Hassen, Rossiter, 2000; Ashouri e Nourani, 2021).

### 3.5 Infeções assintomáticas

Para melhor compreensão da existência de animais assintomáticos, a infeção por MAP é tipicamente descrita em quatro fases. Na fase I o animal infetado não apresenta nenhum sinal de doença durante dois a quatro anos. A bactéria é excretada pelas fezes em baixa quantidade e de forma intermitente, o que não permite a sua deteção através dos meios de diagnóstico. Na fase II a infeção progride, mas o animal continua sem apresentar sinais clínicos, contudo está a excretar a bactéria para o ambiente permitindo a sua transmissão indireta para outros animais. Nesta fase é possível que a quantidade de bactéria excretada seja suficiente para a sua deteção pela cultura fecal, no entanto a disseminação é intermitente. Os anticorpos dificilmente serão detetados pela sorologia. Na fase III os primeiros sinais clínicos surgem e vários testes de diagnóstico são capazes de detetar a infeção. Ocorre frequentemente após o primeiro ou segundo parto. Na fase IV os sinais de doença avançada são evidentes, a infeção encontra-se em fase terminal e pode ser detetada na maioria dos testes de diagnóstico. Nas explorações com paratuberculose estão presentes animais em todas as fases e, dependendo do grau de infeção e disseminação, é estimado que por cada animal sintomático na fase IV, existem de cinco a 15 assintomáticos nas restantes fases (Hansen e Rossiter, 2000; Rossels, 2008).

Nas infeções assintomáticas incluem-se ainda os animais com padrão de disseminação intermitente que, após já terem libertado MAP no ambiente, apresentam longos períodos de infeção latente sem qualquer sinal clínico e com cultura fecal negativa. Os mecanismos envolvidos nesta fase de latência não são completamente conhecidos, mas provavelmente a infeção emerge em situações de stresse do animal infetado (Martcheva, et al., 2015; McAloon, et al., 2019; Ashouri e Nourani, 2021).

### 3.6 Diagnóstico

Apesar de os sinais clínicos serem facilmente reconhecidos e associados à paratuberculose, as exigências de crescimento *in vitro* de MAP, o longo período de incubação *in vivo* e a resposta imunitária humoral com pouca expressão tornam o diagnóstico desafiante em muitas situações (Sweeney, et al., 2012).

Segundo a Direção Geral de Veterinária (2005), para se proceder ao diagnóstico laboratorial é mais frequente recolher sangue para a deteção de anticorpos, que é normalmente efetuada através do ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e do teste de imunodifusão em gel de ágar (AGID). Os testes ELISA apresentam maior sensibilidade e os AGID maior especificidade. O método de referência para o diagnóstico definitivo da paratuberculose é a identificação de MAP por isolamento bacteriológico o que, devido ao crescimento extremamente lento de MAP em meios de cultura artificiais, poderá levar cerca de seis meses para se obterem colónias visíveis. Em alternativa faz-se a identificação genética de MAP por PCR a partir das fezes ou órgãos (Oliveira, 2016; Direção Geral de Veterinária, 2005).

De uma forma geral, estão disponíveis para o diagnóstico de paratuberculose bovina, métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos pesquisam a presença do agente e incluem a cultura de MAP e a deteção de DNA de MAP por PCR. Os métodos indiretos pesquisam a resposta do hospedeiro à presença de MAP e incluem testes ELISA, AGID, teste intradérmico com johnina e o teste do interferon gama (Sweeney, et al., 2012; Li, et al., 2016).

### Método de cultura do agente:

A cultura de fezes ou tecidos para detecção de MAP é considerado o teste de referência para o diagnóstico de paratuberculose (Li, et al., 2016). A sensibilidade da cultura fecal é 70% em bovinos clinicamente afetados e apenas 23-29% em bovinos com infecção subclínica, que podem disseminar MAP através das fezes de forma intermitente e em baixas quantidades. A cultura a partir de amostras do tecido gastrointestinal é mais sensível uma vez que é possível detetar os bovinos que não disseminam MAP, mas que estão infetados (Brintton, et al., 2016).

A cultura fecal permite, através do número de colónias formadas (em meios de cultura sólido) ou pelo tempo até a detecção (em meio líquido), a quantificação dos níveis de disseminação de MAP nas fezes para que o risco de transmissão de MAP nas explorações possa ser avaliado. Assim como permite a utilização de MAP viável na tipagem das estirpes em estudos epidemiológicos moleculares (Sweeney, et al., 2012; Li, et al., 2016; Britton, et al., 2016).

A especificidade da detecção de MAP por cultura é próxima de 100%, mas podem ocorrer falsos positivos devido à possível passagem do organismo através do trato digestivo após ingestão recente e não há infecção do tecido intestinal. Por isso, as amostras positivas com nível muito baixo devem ser interpretadas com cuidado quando são recolhidas de um animal proveniente de uma exploração com elevada contaminação ambiental de MAP (Sweeney, et al., 2012; Li, et al., 2016; Britton, et al., 2016).

O longo período de incubação e a necessidade de adição de micobactina ao meio de cultura são desvantagens deste método. A incubação em meio de cultura líquido pode levar quatro a oito semanas e em meio sólido oito a dezasseis semanas (Sweeney, et al., 2012; Li, et al., 2016).

A cultura fecal pode ser realizada em amostras individuais ou agrupadas, assim como em amostras do ambiente (Sweeney, et al., 2012).

### Métodos moleculares de PCR:

As técnicas de PCR são aplicadas para detecção direta do DNA de MAP presente em amostras fecais, e permitem a avaliação rápida e económica da presença de MAP em amostras de fezes, tecidos e leite.

A sensibilidade e especificidade variam segundo o método utilizado, sendo que o PCR em tempo real (qPCR) demonstra ter sensibilidade e especificidade semelhantes à cultura. A detecção de MAP por PCR não confirma a presença de organismos viáveis e não permite a diferenciação das estirpes (Sweeney, et al., 2012). O método de PCR em tempo real (qPCR) permite a quantificação de MAP na amostra e assim avaliar o nível de disseminação fecal. Por ser um método de etapa única, qPCR apresenta menor risco de contaminação em relação ao PCR convencional, resultando na menor ocorrência de falsos positivos (Sweeney, et al., 2012; Li, et al., 2016; Britton, et al., 2016).

### ELISA:

Testes ELISA detetam os anticorpos anti- MAP e podem ser aplicados em amostras de soro, amostras individuais de leite e amostras de leite do tanque. São alternativas mais baratas que a cultura de MAP e oferecem resultados mais rápidos (Sweeney, et al., 2012; Li, et al., 2016).

A sensibilidade destes testes depende da fase da doença em que o animal se encontra e varia de 15% a 87% quando comparada com a cultura fecal. Os testes ELISA não permitem distinguir os disseminadores de alto e baixo nível porque a quantidade de anticorpos não tem relação linear com os níveis de disseminação de MAP pelos bovinos infetados (Sweeney, et al., 2012; Li, et al., 2016). A primeira fase da infecção dificilmente é detetada pelos testes ELISA. O aparecimento de anticorpos detetáveis neste tipo de testes está associado à progressão da doença com aumento da infecciosidade e de lesões histológicas. (Britton, et al., 2016).

A detecção de anticorpos para MAP é considerada um indicador de infecção altamente específico, com menos de 2% de resultados falsos positivos (Cutler, et al., 2021). São apontados como fatores que interferem na especificidade destes testes a exposição ambiental à bactéria, a possível infecção concomitante com *Mycobacteria bovis*, a realização prévia do teste intradérmico

para a tuberculose e a vacinação para MAP (Britton, et al., 2016). Cutler et al. (2021) afirma que, apesar da preocupação acerca da influência que o derivado de proteína purificada utilizado no teste de tuberculina comparativa intradérmica bovina exerce nos resultados dos testes de anticorpos anti-MAP, está longe de ser comprovado que aumenta os falsos positivos. Contudo, recomenda um intervalo entre os dois testes de pelo menos 42 dias.

#### AGID:

Os testes AGID são pouco utilizados, havendo preferência pela utilização de testes ELISA devido ao melhor desempenho destes últimos, sobretudo em amostras de bovinos infetados. Para os bovinos clinicamente afetados a sensibilidade é semelhante aos testes ELISA (Sweeney, et al., 2012). Este teste é geralmente realizado em lâminas de vidro ou placas de Petri, onde é colocado o gel agarose. Por sua vez, são realizados alguns orifícios no gel agarose, um no centro e os restantes ao redor. No orifício central é colocado o antígeno, e nos restantes as amostras a testar. Após 24 a 48 horas de incubação, se a amostra for positiva, observa-se a formação de um precipitado (Leão, et. al, 2013).

#### Deteção da resposta celular:

A resposta imunitária celular é predominante nas fases iniciais da infeção por MAP e os métodos que avaliam essa resposta são úteis para o diagnóstico precoce da doença, durante a fase subclínica antes de serem detetáveis os anticorpos ou a bactéria nas fezes. Estes métodos incluem o teste intradérmico com johnina e o teste do interferon gama (Sweeney, et al., 2012; Li, et al., 2016).

O teste intradérmico com johnina consiste na inoculação intradérmica de um derivado de proteína purificado para a paratuberculose, e na deteção de reações de hipersensibilidade de tipo retardado no local de injeção. A espessura da pele é mensurada antes e após 72 horas da injeção, e é considerada reação positiva quando ocorre um aumento na espessura da pele de mais de dois milímetros. Estes testes não têm elevada especificidade e podem demonstrar reações cruzadas com outras micobactérias (Salem, et. al, 2013; Leão, et. al, 2013).

O teste do interferon gama consiste no doseamento *in vitro* do interferon gama libertado por linfócitos ao serem estimulados com um extrato da micobactéria, sendo que os linfócitos provêm de animais suspeitos. Este teste indica a exposição ao agente por isso, quando aplicado em explorações não distingue os animais infetados dos animais expostos (Mortier, et al., 2015). A sensibilidade e a especificidade reportadas variam bastante e podem ser influenciadas pela idade, exposição ambiental à micobactéria, critérios de interpretação e o derivado proteico purificado utilizado como estimulante antigénico (Sweeney, et al., 2012; Li, et al., 2016).

Por causa do custo e do desempenho variável, nenhum destes métodos é recomendado atualmente (Sweeney, et al., 2012; Li, et al., 2016).

### 3.6.1 Recomendações e limitações dos testes de diagnóstico

Selecionar o teste de diagnóstico mais útil e interpretar corretamente o seu resultado pode tornar uma tarefa complexa, principalmente porque não é fácil extrair os dados obtidos nos estudos já realizados. Contudo, é importante definir primeiramente qual a fase da doença que pretendemos testar e se o diagnóstico pretendido se direciona para um animal individual ou para o grupo (Britton, et al., 2016; Fecteau, 2018).

Quando um bovino apresenta sinais clínicos compatíveis com paratuberculose, os testes de anticorpos, a cultura fecal e PCR fecal têm sensibilidades semelhantes (superior a 90%). No entanto, para obter o resultado mais rapidamente é recomendado optar por métodos como o PCR ou ELISA. Nas explorações com prevalência da infeção reduzida, o valor preditivo dos resultados positivos pelo teste ELISA é baixo, assim, se a paratuberculose nunca foi diagnosticada anteriormente na exploração, é preferível a confirmação do diagnóstico através da deteção do organismo como acontece no método PCR (Sweeney, et al., 2012; Fecteau, 2018).

O diagnóstico de animais sem sinais clínicos com os testes de diagnóstico utilizados atualmente é difícil, especialmente em animais com menos de 36 meses de idade que, na sua maioria se encontram na fase de incubação e não disseminam MAP nas fezes nem têm níveis de produção de anticorpos detetáveis. Em situações de compra de animais de substituição o produtor deve ser aconselhado a adquirir informação acerca do estado da paratuberculose na exploração de origem dos animais (Sweeney, et al., 2012; Fecteau, 2018).

Para determinar se uma exploração que nunca foi testada anteriormente apresenta animais infetados, o procedimento mais económico é a testagem do ambiente. Pode ser realizada a partir de amostras de fezes recolhidas nas várias áreas de cruzamento dos animais e submetidas a testes que detetam o organismo tal como, o PCR e a cultura. A sensibilidade deste tipo de testagem pode atingir os 70% se forem recolhidas amostras de seis áreas diferentes (Gschaider, et al., 2021). Também podem ser feitos testes PCR e cultura fecal para amostras fecais de grupos de animais e para animais individuais, assim como testes ELISA para animais individuais (soro ou leite) ou em amostras de leite do tanque. Os testes individuais podem ser feitos a todos os animais da exploração ou, para reduzir custos, nos animais previamente selecionados com base na idade ou suspeita de doença. O teste ELISA aplicado em amostras de leite do tanque apresenta valores de sensibilidade variáveis e a sua utilização não é recomendada atualmente por serem necessários mais testes de validação (Sweeney, et al., 2012; Fecteau, 2018). Em 2013 foi sugerida a recolha de amostras em botas para esfregaço para estabelecer o estado da exploração. Este método requer percorrer as várias áreas da exploração com as botas para esfregaço e posteriormente, o material absorvido pelas botas para esfregaço é utilizado para deteção de MAP por PCR ou cultura. A sensibilidade reportada para este método é baixa em relação aos outros. No estudo de Gschaider et al. (2021) foi demonstrado que só é atingível uma sensibilidade de 50% no método das botas para esfregaço em explorações com uma prevalência de pelo menos 2,39%.

A testagem individual de todo o efetivo mostra-se útil nos planos de controlo da doença numa exploração que se sabe infetada. Os resultados podem auxiliar na seleção do colostro a utilizar nos neonatos, no agrupamento das vacas no momento do parto e na seleção dos animais para refugio (Sweeney, et al., 2012; Fecteau, 2018). Para a testagem individual de explorações com prevalência superior a 5%, os testes ELISA podem ser úteis, no entanto é importante que as decisões sejam tomadas com base na magnitude dos resultados e não apenas com o seu valor qualitativo (negativo ou positivo). Por exemplo, decidir limitar o acesso à área de parto ou usar o colostro apenas das vacas com teste ELISA negativo e selecionar para refugio as vacas com resultado positivo forte. Ou, no caso dos testes ELISA serem aplicados em amostras individuais de leite, as vacas que testam repetitivamente positivo (Meyer et al. 2018). Nas explorações com prevalência menor que 5%, são recomendados os testes que fazem a deteção do organismo (Sweeney, et al., 2012).

### 3.6.2 Métodos de diagnóstico emergentes

Toda a bibliografia utilizada no presente trabalho refere a incapacidade dos testes de diagnóstico utilizados atualmente para reconhecerem a infeção em todas as suas fases, o que dificulta o diagnóstico e o controlo da doença. O teste ELISA é o método indireto mais utilizado para a paratuberculose. Atualmente é o método mais barato e rápido, no entanto não é apropriado para detetar a fase inicial da infeção por MAP nem os períodos de latência da doença (Gschaider, et al., 2021; Ashouri e Nourani, 2021). Assim, é evidente a necessidade de novos meios de diagnóstico para a paratuberculose. Nesse âmbito, vários estudos foram realizados recentemente e muitos outros estão a decorrer atualmente para que essa necessidade seja suprimida.

Vários autores referem que os testes de diagnóstico atuais podem ser otimizados se forem utilizados novos antigénios. Os antigénios devem ser específicos de MAP e capazes de induzir uma resposta imunitária pronunciada e persistente na fase inicial da infeção. Leroy et al. (2007) apresenta um teste ELISA produzido a partir de três antigénios de MAP que melhorou a identificação de vacas infetadas com MAP em relação aos testes ELISA comerciais. Mon et al. (2012) também produziu um teste ELISA a partir de sete antigénios de MAP, que maximizou a deteção de anticorpos

anti-MAP, não teve reações cruzadas com bovinos saudáveis e apresentou baixa reatividade cruzada em bovinos com tuberculose.

Brintton et al. (2016) aponta a possível aplicação de testes com bacteriófagos para complementar e potencializar o diagnóstico de infecção por MAP, referindo que são reproduzíveis, econômicos, rápidos e capazes de quantificar o número de MAP viável presente nas amostras. Neste método são adicionados bacteriófagos específicos para MAP (células-alvo) às amostras a testar, para que infetem as células-alvo caso estejam presentes. Seguidamente, é adicionado um viricida de forma a garantir que apenas sobrevivem na amostra os bacteriófagos envolvidos no processo de infecção e que, por essa razão se encontram no meio intracelular. Após a neutralização do viricida, é adicionada à amostra uma bactéria igualmente suscetível ao bacteriófago, mas com crescimento mais rápido que MAP. Por fim, a amostra é colocada em meio de cultura agar e, após a incubação, no caso de MAP estar presente na amostra, podem ser observadas zonas de lise ou placas que se formam em consequência da atividade dos bacteriófagos que, após a lise da célula-alvo são libertados e infetam também as bactérias circundantes que tinham sido adicionadas à amostra. O número de placas corresponde diretamente ao número de células-alvo detetadas na amostra (Brintton, et al., 2016; Schmelcher e Loessner, 2014). As variações do método podem ser aplicadas em amostras de leite, fezes, queijo e sangue. Podem surgir falsos positivos se a amostra for contaminada por outras micobactérias. A escolha do agente viricida é crucial pois a permanência de bacteriófagos extracelulares prejudicará a precisão do teste. No entanto, a utilização de agentes viricidas pode ser dispensada quando se aplicam técnicas de separação imunomagnéticas. Os falsos negativos podem surgir se a amostra contém um número reduzido de MAP, o que diminui as oportunidades do bacteriófago encontrar o seu alvo (Britton, et al., 2016).

Foddai e Grant (2020) desenvolveram um bacteriófago revestido com partículas magnéticas, capazes de capturar e concentrar MAP em amostras de leite. As células MAP viáveis são infetadas e lisadas pelo bacteriófago. O DNA libertado na lise de MAP viável é posteriormente aplicado no qPCR (em tempo real), o que torna este método mais rápido comparativamente ao que foi descrito anteriormente. No total, o procedimento laboratorial leva cerca de sete horas. Neste estudo foram demonstradas a elevada sensibilidade e especificidade do método assim como o seu potencial para ser aplicado nos planos de vigilância e no diagnóstico de paratuberculose com amostras de leite.

Park e Yoo (2020) apresenta uma revisão de todos os biomarcadores identificados para infecções por micobactérias nos bovinos (tuberculose e paratuberculose). Os biomarcadores são indicadores presentes nos fluidos biológicos que refletem o estado de um indivíduo durante a progressão de uma doença específica e podem derivar da resposta do hospedeiro à doença ou do agente patogénico em doenças infecciosas. As técnicas de diagnóstico com biomarcadores têm a vantagem da deteção da doença em fases subclínicas, além de serem métodos não invasivos e que permitem o processamento de várias amostras em simultâneo. Atualmente são considerados uma ferramenta promissora para o diagnóstico de várias doenças. Em medicina humana são já utilizados para doenças oncológicas, autoimunes e infecciosas. Para diagnosticar a paratuberculose bovina foram apresentados biomarcadores presentes no soro, sangue total, leite, fezes e no vapor da respiração. Os biomarcadores derivados do hospedeiro que foram identificados nos vários estudos demonstram expressão diferente nos vários animais infetados e podem ser indicadores de inflamação ou infecção não específicos para a paratuberculose. Assim sendo, são necessários mais estudos que avaliem a resposta do hospedeiro à estimulação com antigénios específicos de MAP. Os biomarcadores derivados do agente patogénico podem ser específicos para a paratuberculose bovina. No entanto, a sua maioria requer aplicação de testes ELISA, o que obriga a que o procedimento seja laboratorial. Como o objetivo é usar os biomarcadores como um meio de diagnóstico clínico aplicável diretamente no campo, terão de ser estudados outros métodos.

Ashouri e Nourani (2021), fizeram uma avaliação que compara a prestação de vários métodos no diagnóstico da paratuberculose na fase latente, entre eles: teste intradérmico comparativo com tuberculina aviária, histopatologia, imunohistoquímica, métodos moleculares como PCR e qPCR.

Os animais utilizados no estudo foram expostos naturalmente a MAP e tinham história de teste ELISA positivo. Nenhum apresentava sinais clínicos (há mais de seis meses), nem MAP nas fezes e não foram detetadas lesões macroscópicas na inspeção *post mortem* das carcaças, o que confirma a fase de latência da doença. A infecção dos animais foi confirmada por qPCR em amostras do tecido intestinal e linfonodos mesentéricos. O estudo conclui que na análise histopatológica a única lesão na fase latente da doença é a presença de granulomas focais. A distribuição dos granulomas no tecido e a determinação do local de recolha da amostra (não são visíveis macroscopicamente), dificulta o método e pode impedir a identificação da lesão na análise histopatológica. Em nenhuma das amostras foi identificada a bactéria pelo método de ZN, o que demonstra que este método não é útil no diagnóstico da fase latente da doença. Os resultados obtidos por imunohistoquímica apresentaram uma concordância quase total com o qPCR aplicado nas amostras de intestino e linfonodos mesentéricos, demonstrando ser um método confiável para o diagnóstico da fase latente. Em relação ao teste intradérmico comparativo com a tuberculina aviária, os resultados foram satisfatórios no diagnóstico da fase latente em explorações com história prévia de paratuberculose. Os autores sugerem a sua aplicação na seleção inicial dos animais que se encontram em fase latente, nos países onde estão a decorrer programas de controlo da tuberculose. Neste teste, são considerados suspeitos os animais que apresentam uma diferença na espessura da pele igual ou superior a 2 milímetros entre o local de injeção da tuberculina aviária e da bovina.

### 3.7 Tratamento

Atualmente não há cura para a paratuberculose. O tratamento tem como objetivo a redução dos sinais clínicos de perda de peso e diarreia, mas não previne a disseminação de MAP nem o elimina dos tecidos do hospedeiro. Assim, quando o tratamento é instituído sem outras medidas de biossegurança, o risco de contaminação ambiental e transmissão de MAP pode aumentar, porque estamos a prolongar o tempo de vida de um animal aparentemente saudável, mas que dissemina MAP (Sweeney, et al., 2012).

No passado foram administrados para o tratamento de paratuberculose fármacos utilizados para outras infeções por micobactérias, tal como a tuberculose ou leprose em humanos. Isoniazina, rifampicina e clofazimina são exemplos desses fármacos, e apesar dos sucessos clínicos reportados, os testes *in vitro* não comprovam a suscetibilidade de MAP. Nos testes de suscetibilidade *in vitro*, têm ação sobre MAP a azitromicina, amikacina e monensina. Este último fármaco, a monensina, tem demonstrado ser dos mais promissores para o tratamento da paratuberculose clínica. É relativamente económico e não tóxico quando administrado nos níveis recomendados. Na América do Norte está aprovado o uso em animais de pecuária para a prevenção de coccidioses em caprinos e bovinos de carne e para o aumento da eficiência na produção de leite em vacas leiteiras. No Canadá, o uso de monensina está aprovado para explorações leiteiras como uma medida integrada num programa multicompetente de controlo da paratuberculose (Sweeney, et al., 2012).

Sajiki et al. (2018) estuda o potencial terapêutico da combinação de inibidores da COX-2 com bloqueadores da PD-1/ PD-L1 (programmed death ligand 1). A COX-2 está envolvida na produção de prostaglandinas pelo hospedeiro. As prostaglandinas são mediadores da inflamação e têm atividade supressora nas células T, células natural killer, células dendríticas e macrófagos. Em simultâneo também ativam o ciclo AMP(cAMP)/ proteína quinase, o que induz a expressão de genes anti- inflamatórios e imunossupressores. Este estudo sugere que a infeção por MAP progride para a fase subclínica porque as prostaglandinas do hospedeiro suprimem a resposta inicial com as células T e ativam a produção de IL-10 (interleuquina), o que permite o crescimento da bactéria e o surgimento de lesões nos intestinos. Assim, os inibidores da COX-2 vão diminuir a produção de prostaglandinas, permitindo que os antígenos de MAP continuem a estimular a proliferação de células T e a produção de citocinas Th1, capazes de produzir interferon gama. Sendo que, os macrófagos ativados pelo interferon gama tornam-se capazes de destruir a micobactéria intracelular.

### 3.8 Como mitigar

Os principais objetivos dos programas de controlo da paratuberculose são a redução da exposição dos vitelos a MAP, a diminuição da pressão da infeção na exploração e a implementação da testagem regular dos bovinos com mais de 36 meses. A transmissão da doença ocorre sobretudo via fecal-oral e nas explorações infetadas é provável que os vitelos fiquem em contacto com MAP que é disseminado pelas vacas adultas através das fezes e que contamina a água, comida e leite. Tal como vários estudos defendem, a maioria dos animais é infetada quando muito jovem, tornando-se mais resistentes à infeção com a idade. Assim, são particularmente importantes as estratégias de manejo que previnem o contacto dos vitelos com as fezes dos adultos (Mortier, et al., 2015). Para isso, os programas de controlo existentes recomendam a utilização de áreas distintas para os partos das vacas positivas e negativas para MAP e a separação dos vitelos logo após o nascimento (Windsor e Whittington, 2010; Sweeney, et al., 2012; Fecteau, 2018). A transmissão através do colostro e leite também deve ser prevenida, alimentando os vitelos apenas com colostro de vacas comprovadamente MAP-negativas. Durante a recria os riscos são semelhantes por isso é sugerido a colocação dos vitelos distantes dos adultos e alimentá-los com leite de substituição ou pasteurizado (Sweeney, et al., 2012; Fecteau, 2018).

Em relação ao manejo os animais infetados, a sua identificação e refugo da exploração são recomendados. Dependendo da prevalência na exploração e dos objetivos do produtor (erradicação ou diminuição da prevalência), o abate pode incluir todos os animais positivos ou limitar-se aos animais mais infecciosos. A identificação destes animais também é útil para selecionar o colostro a administrar nos vitelos da exploração (Sweeney, et al., 2012; Fecteau, 2018).

Na Áustria, segundo o programa de controlo implementado no país, a paratuberculose é uma doença de declaração obrigatória e as vacas têm de ser abatidas até três dias após a confirmação do diagnóstico (Gschaider, et al., 2021). Na Holanda, um modelo de simulação demonstrou que um sistema de manejo de vitelos bem construído, tem melhor resultado na diminuição da prevalência de paratuberculose em relação às estratégias que contemplam apenas o abate dos animais positivos (Li, et al., 2016). Kunzler, et al. (2014) faz uma avaliação dos fatores de risco presentes em explorações de bovinos de leite e carne da Suíça, onde há maior expressão de pequenas explorações. A contaminação da área das novilhas e da área de partos demonstrou ser um importante fator de risco, o que evidencia a necessidade de evitar o contacto com as fezes dos adultos, não só dos vitelos, mas também dos animais de substituição. O conhecimento do produtor acerca da paratuberculose, o qual mostrou ser reduzido mesmo em explorações infetadas, foi também considerado um fator de risco na transmissão de MAP. Em relação à transmissão entre explorações, a compra de novos animais foi o fator mais importante, aumentando significativamente a probabilidade de uma exploração se tornar infetada.

Apesar de os programas de controlo correntes reduzirem a prevalência de MAP nas explorações, não são capazes de eliminar ou impedir novas infeções, nem tão pouco erradicar a doença (Rosseels e Huygen, 2008; Mortier, et al., 2015). Rosseels e Huygen (2008) afirmam que no futuro a combinação de testes de diagnóstico sensíveis com uma vacina marcada pode ser uma eficiente profilaxia para a paratuberculose.

As vacinas existentes atualmente são capazes de adiar e reduzir a severidade dos sinais clínicos, mas não conferem proteção contra a infeção. Os animais vacinados desenvolvem anticorpos que interferem com os testes sorológicos de diagnóstico da paratuberculose, assim como com os testes intradérmicos realizados no controlo da tuberculose (Rosseels e Huygen, 2008). Em Portugal a vacinação para Paratuberculose está proibida (Direção Geral de Veterinária, 2005). A vacina ideal deve gerar imunidade específica para MAP, eliminar a disseminação fecal e deve ser marcada para distinguir os animais vacinados dos infetados, o que requer a identificação dos antígenos de MAP e a discriminação dos que têm potencial para os testes de diagnóstico indirectos (Rosseels e Huygen, 2008).

### 3.9 Risco zoonótico e preocupação em saúde pública

MAP tem sido associado a diversas doenças humanas autoimunes, em particular a Doença de Crohn (DC), que partilha múltiplas semelhanças com a Paratuberculose bovina. Ambas são enterites crónicas que afetam sobretudo o íleo. Em relação às lesões, caracterizam-se pela inflamação granulomatosa difusa sem caseificação da parede intestinal (Britton, et al., 2016;

Sweeney, et al., 2012; Hansen e Rossiter, 2000). O cenário clínico típico da DC inclui dor abdominal, diarreia crônica, perda de peso e cansaço. Os sintomas surgem de forma recorrente em pacientes jovens. É uma doença progressiva que leva ao dano do tecido intestinal e pode acarretar complicações ao longo do tempo como por exemplo estreitamento, fistulas ou abscessos intestinais que culminam na necessidade de cirurgia. Atualmente a causa de DC é explicada pela alteração da resposta imunitária da mucosa intestinal e pelo comprometimento funcional da barreira epitelial, que possivelmente resultam da interação entre suscetibilidade genética, fatores ambientais e microflora intestinal (Torres, et al., 2016). No entanto, o evento desencadeador da doença permanece desconhecido e MAP é um agente suspeito, assim como outras bactérias e componentes alérgicos que integram a atividade intestinal normal (Sweeney, et al., 2012; Hansen e Rossiter, 2000).

Apesar dos inúmeros estudos realizados, a relação entre MAP e a DC é controversa. Vários cientistas defendem que se trata de uma zoonose que está a ser negligenciada. Dow e Alvarez (2022) além de responsabilizarem MAP pela DC, associam ao agente etiológico da paratuberculose outras doenças humanas como, diabetes tipo I, esclerose múltipla e artrite reumatoide. As evidências científicas que suportam MAP como agente etiológico de DC incluem, além da sua versatilidade que lhe permite infectar diversas espécies, o isolamento de MAP de tecidos de vários pacientes com DC. MAP também foi isolado em amostras de humanos saudáveis, no entanto com uma frequência significativamente menor (Sweeney, et al., 2012; McNees, et al., 2015; Marino, et al., 2017). Assim, MAP poderá ser o agente etiológico de DC, um co-fator no desenvolvimento da doença ou mais prevalente em doentes com DC devido à disfunção imunitária associada à doença (Marino, et al., 2017). Outra evidência referida é a exposição humana a MAP através dos alimentos derivados de animais infetados. Nas fases adiantadas da paratuberculose, a infeção torna-se sistêmica e MAP já foi recolhido de linfonodos e órgãos distantes do trato gastrointestinal, fetos de fêmeas gestantes e nos músculos de animais infetados. Apesar de MAP ser primeiramente excretado pelas fezes, também o é, em menor quantidade, através do colostro e do leite. A contaminação *post-mortem* das carcaças no matadouro ou do leite durante a ordenha através do contacto com fezes também são plausíveis. Assim a possibilidade de produtos como carne crua, leite, iogurte e queijo estarem contaminados com MAP é forte. Os laticínios são considerados como a principal fonte de infeção humana, uma vez que a pasteurização comercial apenas reduz a carga de MAP presente no leite. McAloon et al. (2019) afirma que nem a pasteurização combinada com a secagem do leite que ocorre na preparação de fórmulas infantis, é capaz de eliminar MAP (Britton, et al., 2016; McAloon, et al., 2019; Dow, Alvarez, 2022; Sweeney, et al., 2012).

Apesar das evidências serem consideradas fortes e a associação entre MAP e DC ser cada vez mais inevitável, a paratuberculose não é considerada uma zoonose e tal como Sweeney et al. (2012) e McNees et al. (2015) referem, associação não deve ser confundida com a causa.

### 3.10 Caso clínico

#### História clínica:

Uma vaca Holstein Frísia com quatro anos de idade, em fase de produção, parida há um mês e duas semanas, numa exploração em sistema de pastoreio, foi consultada pelo médico veterinário, na ilha de São Miguel. De acordo com o produtor, o animal apresentava produtividade reduzida naquela lactação, pois não estava a corresponder ao aumento do volume de leite produzido diariamente que era espectável na fase em que se encontrava.

Ao exame físico o animal demonstrou estado de alerta, condição corporal 2/5, 39,7 graus de temperatura retal e sons respiratórios aumentados à auscultação. Durante a consulta foi possível visualizar a diarreia aquosa, castanha escura que o animal excretou.

#### Abordagem terapêutica:

Foi instituída fluidoterapia endovenosa à base de Esterofundina®, para compensar a perda de líquidos através da diarreia detetada em consulta, e antibioterapia com o objetivo de resolver a afeção do aparelho respiratório e possível enterite. Recorreu-se a oxitetraciclina (Calimicina®) em dose única de 50 ml via intramuscular. O intervalo de segurança do tratamento é cinco dias para leite e 22 dias para carne.

Dois dias depois o produtor notificou que a vaca não melhorou. Na visita do veterinário constatou-se a degradação do estado geral do animal. A emaciação do animal estava mais proeminente e os olhos encontravam-se afundados na órbita, indicando o estado de desidratação do animal devido à diarreia que não respondeu ao tratamento. O animal excretava agora diarreia em jato, na qual era possível detetar fragmentos de mucosa intestinal.

Foi instituída fluidoterapia novamente e procedeu-se à recolha de sangue para fazer o teste sorológico da Paratuberculose.

Antes de chegar o resultado do laboratório, com resultado positivo para paratuberculose, o produtor pediu a eutanásia do animal.

## Discussão:

Com base no estado de emaciação do animal na segunda consulta, na história de diarreia não responsiva ao tratamento e, por fim na deteção dos anticorpos anti-MAP no sangue, a vaca em questão pode ser classificada na fase clínica severa da paratuberculose. Nesta fase é esperado que o animal dissemine grandes quantidades de MAP no ambiente.

A emaciação cada vez mais proeminente levou o produtor a optar pela eutanásia do animal, mesmo antes da chegada do resultado do laboratório. Quando questionado pelo médico veterinário, o produtor referiu que a vaca manteve sempre o apetite. Ao nível da exploração o produtor não tinha detetado mais nenhum animal com sinais semelhantes. No entanto, sendo a paratuberculose uma doença que afeta toda a exploração mesmo quando apenas um animal dá o alerta, o produtor foi informado da provável existência de mais animais afetados, os quais teriam a sua produtividade prejudicada e poderiam mais tarde expressar sinais de doença.

A sensibilização para a necessidade de evitar a transmissão da infeção para as gerações mais novas é muito importante para conseguirmos evitar a continuidade da doença na exploração. O aspeto mais importante para o controlo da prevalência da paratuberculose dentro da exploração é impedir que os animais mais jovens contactem com as fezes dos adultos, mesmo indiretamente através de comida, água ou leite contaminados. A alimentação providenciada aos vitelos deve ser de fonte segura visto que, o agente etiológico da paratuberculose também pode ser disseminado no leite e colostro. Apesar de todos os cuidados na cria e recria, a transmissão pode ocorrer durante ou logo após o parto, pelo que a separação imediata do vitelo da mãe pode ser benéfica nas explorações infetadas.

Durante o estágio surgiram vários casos diferentes de suspeita de paratuberculose. Num desses casos a vaca apresentava todos os sinais descritos na literatura para paratuberculose: baixa produção de leite, apetite aumentado com condição corporal baixa, edema submandibular e história de episódios intermitentes de diarreia aquosa. Muitas vezes, os animais suspeitos de paratuberculose não eram o motivo principal para a visita do veterinário à exploração. No final de uma distocia ou de um prolapso uterino, o produtor pedia ao veterinário para consultar outro animal que não teve problemas no parto e come bem, mas não produz leite na quantidade que devia. Contudo, o caso apresentado foi o primeiro e o mais difícil de reconhecer a paratuberculose. O animal em questão demonstrou sinais de afeção respiratória, possivelmente crónica, na primeira consulta. Esse facto relembra que, por vezes várias entidades patológicas se reúnem num animal só e assim sendo, a deteção de uma não exclui a presença de outras.

## Conclusão

O maior desafio da paratuberculose é o diagnóstico precoce dos animais infetados visto que, os sinais clínicos e as lesões macroscópicas *post-mortem* da fase clínica severa são facilmente reconhecíveis.

A aparente prevalência da paratuberculose no mundo e em particular em Portugal, não corresponde à realidade. Os casos de paratuberculose reportados são resultado do empenho do produtor e do veterinário em pesquisar a doença na exploração e estão diretamente limitados à capacidade dos laboratórios detetarem a infeção. Assim a verdadeira prevalência é desconhecida. Contudo, os estudos consultados para a elaboração da presente monografia suscitam a ideia de que, onde se procura encontra-se paratuberculose. Adicionalmente, mesmo representando a Paratuberculose um problema do efetivo inteiro, o diagnóstico realizado é habitualmente limitado a um animal por exploração que apresenta sinais de doença. O rastreio do efetivo ou a pesquisa ambiental do agente etiológico são práticas pouco comuns.

O impacto económico da paratuberculose nas explorações leiteiras portuguesas, não está estimado. Talvez o desconhecimento desse valor justifique, em parte os reduzidos esforços para

controlar a doença. Os programas de controlo da paratuberculose encontram-se em curso em poucos países, entre eles o Canadá, Irlanda, Áustria, Austrália. Na maioria dos países, apesar de terem recomendação para refugar os animais infetados, não se assumem medidas mais rigorosas de controlo.

Não havendo apoio governamental para a testagem dos efetivos, os produtores não suportam esses custos, sobretudo enquanto os testes de diagnóstico utilizados não têm sensibilidade suficiente para detetar todos os animais infetados. Assim, a rentabilidade das explorações continuará abaixo do que poderia ser, mas sem impacto suficiente para motivar uma ação. Os custos de carregar a paratuberculose numa exploração vão-se sentindo de forma discreta, incluem os gastos na alimentação, os refugos precoces e mais frequentes, a desvalorização no matadouro da carcaça magra e as vacas que produzem pouco leite. Contudo, as vacas continuam a produzir leite e isso tem sido suficiente para adiar a questão.

Apesar dos inúmeros estudos publicados, a associação causal entre MAP e DC não é oficialmente aceite nem rejeitada e as organizações de saúde não oferecem diretrizes concretas de como lidar com a Paratuberculose. Organizações como World Health Organization (WHO), World Organization for Animal Health (OIE) e Food and Agriculture Organization (FAO) , têm-se empenhado bastante na fomentação da perspetiva One health, a qual integra o ambiente, os animais e os humanos no conceito de saúde e que defende que um fator que afeta uma das partes integrantes tem impacto sobre as restantes. Tais organizações têm um papel fundamental na informação das pessoas acerca dos perigos para a saúde, pois a população em geral reconhece e confia nas suas recomendações. Infelizmente, no que toca à paratuberculose, nenhuma diretriz e recomendações são produzidas, aparentando a ausência de riscos.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi em setembro de 2021 que a aventura começou. Recordando hoje todo o percurso, vejo que foi longo e por vezes cansativo. Contudo, não encontro nenhum atalho possível, já que não há nenhuma parte menos importante que qualquer outra. Mesmo assim, estou pronta para atravessar a meta e motivada para iniciar outro ciclo.

Foram muitas as aptidões que fui adquirindo ao longo do estágio que, incluiu as duas áreas da veterinária que me interessam particularmente e decorreu exatamente nas instituições que eu pretendia. No final concluo que essas áreas ainda me cativam mais depois do contacto que tive nesta experiência. A patologia que sempre me impressiona pelo entendimento profundo que nos dá acerca do que se passa a nível celular no decorrer de uma doença que, muitas vezes em clínica só conseguimos visualizar as suas consequências mais superficiais. Por sua vez, a clínica de animais de pecuária dá muita dinâmica aos nossos dias e estimula o nosso sentido de detetive pois, tudo à nossa volta pode ser uma pista quando estamos em trabalho de campo e não temos acesso a muitos meios de diagnóstico.

Dentro das aptidões apreendidas ao longo do estágio, destaco a capacidade de descrição das lesões, que tem importância reconhecida na patologia, mas também considero muito útil em várias situações na prática de clínica veterinária por exemplo, facilita a simples partilha de um caso com colegas. Destaco ainda que o estágio me permitiu criar uma perspetiva sistémica em relação à doença. Ao longo do curso, para facilitar a organização, fomos estudando cada doença por sistemas do organismo, mas, quando abrimos um cadáver numa necropsia ou consultamos um animal percebemos rapidamente que tudo está interligado e pode ser afetado.

Ao longo do estágio e na escrita deste trabalho, nomeadamente da monografia, ficou evidente que o papel do médico veterinário nas explorações vai para além de tratar o animal doente. É muito importante conseguir detetar as falhas no manejo e na gestão da exploração, que são a causa da maioria dos diagnósticos efetuados. E se a causa se mantém, as mesmas doenças vão passar de geração em geração.

Refiro ainda que estou muito satisfeita por ter passado por São Miguel no meu percurso, é uma ilha em que todo o contexto, a bovinicultura e até as pessoas têm as suas peculiaridades que as distingue e caracteriza. Surpreendeu-me por exemplo, ter-me deparado com vacas leiteiras na 6ª e 7ª gestação e ter acompanhado consultas em que o produtor chamou o veterinário porque notou que a vaca “hoje anda tristonha”. Por outro lado, foram visíveis alguns pontos que podem ser melhorados, dentro dos quais a ausência de sistema de eliminação de cadáveres na ilha. Quando um animal morre na exploração (morte natural ou eutanásia), cabe ao produtor eliminar o cadáver, acabando por enterrá-lo onde conseguir. Esta situação acarreta riscos, basta pensarmos nos agentes patogénicos que não são devidamente destruídos além de que, a longo prazo torna-se difícil para o produtor gerir o espaço que tem.

Por fim, sabendo que a aprendizagem nunca termina e continuará a ser a motivação do meu trabalho diário, sinto que aproveitei ao máximo todas as experiências que tive e todas as pessoas que aceitaram ensinar-me, o que me permitiu avançar bastante nesse processo.

## BIBLIOGRAFIA

- AJAM- Associação dos Jovens Agricultores Micaelenses. (2022, junho 22). *Ponta Delgada: açorespro*. [www.ajamcja.com/](http://www.ajamcja.com/)
- Andrew J. Niehaus (2008). *Surgery of the Abomasum*. 24(2), 0–358. doi:10.1016/j.cvfa.2008.02.012
- Angelos, J. A. (2015). Infectious bovine keratoconjunctivitis (pinkeye). *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 31(1), 61-79.
- ASAE- Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. (2022, julho 7). *BSE em Portugal*. [www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/bse/bse-em-portugal.aspx](http://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/bse/bse-em-portugal.aspx)
- Ashouri, M., e Nourani, H. (2021). Pathology, immunohistochemistry and molecular study of cattle screened by comparative tuberculin test for diagnosis latent form of Johne's disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 239, 110304.
- Bonnefoi, M., & Sauvagnac, P. (1988). Eczema facial des ruminants et sporidesmines. In *Annales de Recherches Vétérinaires* (Vol. 19, No. 2, pp. 91-106).
- Braun, U. (2009). Traumatic pericarditis in cattle: clinical, radiographic and ultrasonographic findings. *The Veterinary Journal*, 182(2), 176-186.
- Breen, J. (2017). The importance of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in mastitis therapeutics. *Livestock*, 22(4), 182-185
- Beagley, J. C., Whitman, K. J., Baptiste, K. E., e Scherzer, J. (2010). Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *Journal of veterinary internal medicine*, 24(2), 261-268
- Britton, L. E., Cassidy, J. P., O'Donovan, J., Gordon, S. V. e Markey, B. (2016). Potential application of emerging diagnostic techniques to the diagnosis of bovine Johne's disease (paratuberculosis). *The Veterinary Journal*, volume 209, páginas 32-39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.10.033>
- Brooks, J. W. (2016). Postmortem changes in animal carcasses and estimation of the postmortem interval. *Veterinary pathology*, 53(5), 929-940.
- Carbone, A. (2020). Cancer classification at the crossroads. *Cancers*, 12(4), 980. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers12040980>
- Carvalho, T., Vala, H., Pinto, C., Pinho, M., & Peleteiro, M. C. (2005). Immunohistochemical studies of epithelial cell proliferation and p53 mutation in bovine ocular squamous cell carcinoma. *Veterinary pathology*, 42(1), 66-73
- Collins, T. M. (2022, outubro 10). The story of Johne's disease for non- experts. Johne's disease information center. University of Wisconsin- Madison School of veterinary medicine. <https://johnes.org/johnes-disease-a-to-z/>
- Constable, P.D.; Hinchcliff, K. W.; Done, S.H.; Grunberg, W. (2017). *Veterinary Medicine* (11.<sup>a</sup> ed.). Elsevier ISBN 9780702070570.
- Cutler, K., Taylor, B., Boyes, G., Todd, D., e Reader, A. (2021). Changes to Johne's disease testing regime. *Veterinary Record*, 188(11), 438-438. DOI: 10.1002/vetr.621
- Desrochers, A., & Francoz, D. (2014). Clinical management of septic arthritis in cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 30(1), 177-203.
- DGAV- Departamento Geral de Alimentação e Veterinária. (2022, julho 7). *Encefalopatia Espongiforme bovina*. [www.dgav.pt/animais/conteudo/animais-de-producao/bovinos/saude-animal-em-bovinos/doencas-dos-bovinos/encefalopatia-espongiforme-bovina/eeb-bse-em-portugal/](http://www.dgav.pt/animais/conteudo/animais-de-producao/bovinos/saude-animal-em-bovinos/doencas-dos-bovinos/encefalopatia-espongiforme-bovina/eeb-bse-em-portugal/)
- Direção Geral de Veterinária. (2005). Manual técnico sobre Paratuberculose. DGV.
- Dingwell, R. T., Kelton, D. F., e Leslie, K. E. (2003) Management of the dry cow in control of peripartum disease and mastitis. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*.
- Dow, C. T., e Alvarez, B. L. (2022). Mycobacterium paratuberculosis zoonosis is a One Health emergency. *EcoHealth*, 1-11. DOI: 10.1007/s10393-022-01602-x
- Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S. e LeBlanc, S. J. (2010). Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(12), 5764-5771.
- Fecteau, M.E. (2018). Paratuberculosis in Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 34(1), 209–222. DOI:10.1016/j.cvfa.2017.10.011

- Foddai A.C.G., Grant I.R. (2020) A novel one-day phage-based test for rapid detection and enumeration of viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cows' milk. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020 Nov;104(21):9399-9412. doi: 10.1007/s00253-020-10909-0.
- Ghuman, S. P. S. (2010). Uterine torsion in bovines: a review. *Indian Journal of Animal Sciences*, 80(4), 289.
- Governo dos Açores. (2022a, junho 22). *Clima e alterações climáticas*. Portal do Governo dos Açores. <http://rea.azores.gov.pt/reaa/9/clima-e-alteracoes-climaticas/442/caraterizacao>.
- Governo dos Açores. (2022b, julho 7). *Portal da Agricultura dos Açores*. <https://agricultura.azores.gov.pt/apresentacao-e-organica/direcao-regional-da-agricultura/saude-animal/>
- Gschaider, S., Köchler, J., Spargser, J., Tichy, A., Mader, C., Vill, M., ... e Khol, J. L. (2021). Individual faecal and boot swab sampling to determine John's disease status in small cattle herds. *Veterinaria Italiana*. DOI: 10.12834/VetIt.1389.7584.2
- Hansen, D. e Rossiter, C. (2000). Clinical description and epidemiology of Johne's disease in cattle. NJWG, a subcommittee of the Johne's Disease Committee of the USAHA. URL: <http://www.vetmed.wisc.edu/pbs/johnes/>
- Hopper, R. M. (2015). *Bovine Reproduction* (1.<sup>a</sup> ed.) Richard McRae Hopper ISBN 9781118470831.
- Hussain, S. M., Herling, V. R., Rodrigues, P. H. M., Naz, I., Khan, H., & Khan, M. T. (2018). Mini review on photosensitization by plants in grazing herbivores. *Tropical animal health and production*, 50(5), 925-935.
- Imhof, S., Luternauer, M., Hüsler, J., Steiner, A., e Hirsbrunner, G. (2019). Therapy of retained fetal membranes in cattle: comparison of two treatment protocols. *Animal reproduction science*, 206, 11-16.
- Jordan, W.J.; Rafyi, A. (1971). *Blindness in Friesian Cows in Iran*. *British Veterinary Journal*, 127(3), 101–104. doi:10.1016/s0007-1935(17)37681-9
- Kang, S., Park, C., & Seo, K. (2017). Ocular abnormalities associated with hypovitaminosis A in Hanwoo calves: a report of two cases. *Journal of Veterinary Medical Science*, 79(10), 1753-1756.
- King, J.M., Johnson, L.R., Dodd, D.C., Newsom, M.E. (2013). *The necropsy book* (7.<sup>a</sup> ed.) Cornell University <http://hdl.handle.net/1813/37948>
- Künzler, R., Torgerson, P., Keller, S., Wittenbrink, M., Stephan, R., Knubben-Schweizer, G., Berchtold, B. e Meylan, M. (2014). Observed management practices in relation to the risk of infection with paratuberculosis and to the spread of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Swiss dairy and beef herds. *BMC Veterinary Research*, 10:132. <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/10/132>
- Leão C, Inácio J, Botelho A. (2013). Highlights on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: a fastidious yet insidious microorganism. *Port Soc Microbiol Mag* 2nd year, n. 3.
- Leroy, B., Roupie, V., Noël-Georis, I., Rosseels, V., Walravens, K., Govaerts, M., Huygen, K., Wattiez, R., 2007. Antigen discovery: a postgenomic approach to paratuberculosis diagnosis. *Proteomics*, 1164-1176.
- Li; Lingling; Katani; Robab; Schilling; Megan; Kapur; Vivek. (2016). Molecular Epidemiology of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in *Dairy Farms*. *Annual Review of Animal Biosciences*, 4(1), 155–176. DOI:10.1146/annurev-animal-021815-111304
- Lim, J., Park, H., T., Ko, S., Park, H., E., Lee, G., Kim, S., Shin, M., K., Yoo, H., S., Kim, D. (2021). Genomic diversity of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: pangenomic approach for highlighting unique genomic features with newly constructed complete genomes. *Veterinary Research*. doi:10.1186/s13567-021-00905-1
- Maitra, A. (2013). Neoplasia. In Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. (Ed). *Robbins basic pathology* (9th ed., pp. 161-213). Elsevier.

- Marino, R., Capoferri, R., Panelli, S., Minozzi, G., Strozzi, F., Trevisi, E., ..., e Williams, J. L. (2017). Johne's disease in cattle: an in vitro model to study early response to infection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* using RNA-seq. *Molecular Immunology*, 91, 259-271.
- Marsh, N. (2020, janeiro 27). Types of tumours. *Vet Times*. <https://www.vettimes.co.uk/types-of-tumour/>
- Martcheva, M., Lenhart, S., Eda, S., Klinkenberg, D., Momotani, E., e Stabel, J. (2015). An immuno-epidemiological model for Johne's disease in cattle. *Veterinary Research*, 46(1), 1-13.
- Massot, A. (2015). Agricultura e desenvolvimento rural: A agricultura do arquipélago dos Açores. [www.europarl.europa.eu/studies](http://www.europarl.europa.eu/studies). ISBN 9789282382622.
- Mauldin, E.A. & Kennedy, J.P. (2015). Integumentary System. In M. Grant Maxie (Ed). *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 1*. 6th ed., pp.577-579). Elsevier.
- Maxie, M. G. & Miller, M. A. (2015). Introduction to the diagnostic process. In M. Grant Maxie (Ed). *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 1*. (6th ed., pp.1-15). Elsevier.
- McGuirk, S. M. (2008). Disease management of dairy calves and heifers. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 139-153.
- McNees, A. L., Markesich, D., Zayyani, N. R., e Graham, D. Y. (2015). *Mycobacterium paratuberculosis* as a cause of Crohn's disease. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 9(12), 1523-1534.
- Meyer, A., Bond, K., Van Winden, S., Green, M., e Guitian, J. (2018). A probabilistic approach to the interpretation of milk antibody results for diagnosis of Johne's disease in dairy cattle. *Preventive veterinary medicine*. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.11.016>
- Mitchell, R.N. (2013a). Cell injury, cell death and adaptations. In Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. (Ed). *Robbins basic pathology* (9th ed., pp. 1-28). Elsevier.
- Mitchell, R.N. (2013b). Inflammation and repair. In Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. (Ed). *Robbins basic pathology* (9th ed., pp. 29-73). Elsevier.
- Mitchell, R.N. (2013c). Hemodynamic disorders, thromboembolism, and shock. In Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. (Ed). *Robbins basic pathology* (9th ed., pp. 29-73). Elsevier.
- Mortier, R. A. R., Barkema, H. W., e De Buck, J. (2015). Susceptibility to and diagnosis of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in dairy calves: A review. *Preventive Veterinary Medicine*, 121(3-4), 189–198. DOI:10.1016/j.prevetmed.2015.08.011
- Mon, M.L., Viale, M., Baschetti, G., Pinedo, F.A., Gioffre, A., Travería, G., Willemsen, P., Bakker, D., Romano, M.I., (2012). Search for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* antigens for the diagnosis of *paratuberculosis*. *Veterinary Medicine International 2012*.
- Munro, R.; Munro, H.M.C. (2008). *Animal Abuse and Unlawful Killing: Forensic Veterinary Pathology*. (1.<sup>a</sup> ed.). Saunders Ltd. ISBN 9780702028786.
- Oliveira, A. J. A. D. (2016). Detecção e tipificação moleculares de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em amostras de fezes (Dissertação de mestrado, FC- Repositório da Universidade de Lisboa). <http://hdl.handle.net/10451/27317>
- Panciera, R. J., & Confer, A. W. (2010). Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 26(2), 191-214.
- Park, H.E. e Yoo, H.S. (2020). Biomarkers as diagnostic tools for mycobacterial infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1466252320000195>
- Peleteiro, M.C. (2016). *Manual de Necropsia Veterinária*. (1.<sup>a</sup> ed.). Lidel ISBN 9789897521966
- Peter, D.C., Kenneth, W.H., Stanley, H.D., Walter, G. (2017). *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. (11.<sup>a</sup>ed.) Elsevier ISBN 9780702052460.
- Pinheiro, J.; Madruga, J.; Madeira, M. (2013). Solos dos Açores: Aspectos gerais. *Pingo de Lava*.
- Pugh, D.G., Baird, A.N. (2002). *Sheep and goat medicine*. (2.<sup>a</sup> ed.) Elsevier ISBN9781437723533.

- Ranjan, R., Ghumman, S. P. S., Bhatt, G. R., e Singh, R. S. (2013). Efficacy of autogenous vaccine and auto-hemotherapy in bovine cutaneous papillomatosis. *Intas Polivet*.
- Rasmussen, P., Barkema, H. W., Mason, S., Beaulieu, E., e Hall, D. C. (2021). Economic losses due to Johne's disease (paratuberculosis) in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 104(3), 3123-3143. DOI: 10.3168/jds.2020-19381
- Rissi, D., Barros, C.S.L. e Williams, B.H. (2019). Opening Pandora's Box: Gross description and interpretation in veterinary pathology (1st ed.) Daniel Rissi and Claudio S.L. Barros.
- Rosol, T.J., Meuten, D.J. (2017). Tumors of the endocrine glands. In Meuten, D.J. (Ed). *Tumors in domestic animals* (5th ed., pp.828-833). Wiley Blackwell.
- Windsor, P. A., e Whittington, R. J. (2010). Evidence for age susceptibility of cattle to Johne's disease. *The Veterinary Journal*, 184(1), 37-44. DOI: 10.1016/j.tvjl.2009.01.007
- WOAH- World Organisation for Animal Health. (2022, julho 7). [www.woah.org/fr/accueil/](http://www.woah.org/fr/accueil/)
- World Health Organization. (2013). International classification of diseases for oncology (ICD-O)–3rd edition, 1st revision.
- Salem, M., Heydel, C., El-Sayed, A., Ahmed, S. A., Zschöck, M., e Baljer, G. (2013). Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis: an insidious problem for the ruminant industry. *Tropical animal health and production*, 45(2), 351-366.
- Sajiki, Y., Konnai, S., Okagawa, T., Nishimori, A., Maekawa, N., Goto, S. e Ohashi, K. (2018). Prostaglandin E2 induction suppresses the Th1 immune responses in cattle with Johne's disease. *Infection and immunity*, 86(5), 910-17. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00910-17>
- Schmelcher, M. e Martin, M. J. (2014) Application of bacteriophages for detection of foodborne pathogens, *Bacteriophage*, 4:2, DOI: 10.4161/bact.28137
- Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G. e Schuberth, H. J. (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of reproduction*, 81(6), 1025-1032.
- Silva, J.F. (2016) Alterações cadavéricas ou post mortem. In Peleteiro, M.C., *Manual de necropsia veterinária*. (1.ª ed.) Lidel. ISBN 9789897521966.
- Silva, E.; Mendes, A.B. (2022). Um modelo para a produção de leite nos açores.
- Simões, J.; Stilwell, G. (2021). *Calving Management and Newborn Calf Care*. (1.ª ed.). Springer ISBN 9783030681685.
- Smith, B. L., e O'Hara, P. J. (1978). Bovine photosensitization in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 26(1-2), 2-5.
- Suojala, L., Kaartinen, L., e Pyorala, S. (2013). Treatment for bovine Escherichia coli mastitis: an evidence based approach. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 36(6), 521-531
- Sweeney, R. W., Collins, M. T., Koets, A. P., McGuirk, S. M., e Roussel, A. J. (2012). Paratuberculosis (Johne's disease) in cattle and other susceptible species. *Journal of veterinary internal medicine*, 26(6), 1239-1250.
- Tsujita, H., & Plummer, C. E. (2010). Bovine ocular squamous cell carcinoma. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 26(3), 511-529. doi:10.1016/j.cvfa.2010.08.003
- Uzal, F.A., Plattner, B.L., Hastetter, J.M. (2015). Alimentary System. In M. Grant Maxie (Ed). *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 2*. (6th ed., pp.249-252). Elsevier.
- Vicente, J. P. M. A. (2020). Caracterização das Explorações Agro-pecuárias em São Miguel, Açores (Dissertação de doutoramento, Instituto Politecnico de Braganca).
- VinMec International Hospital (2022, dezembro 14). Cell degeneration and necrosis. <https://www.vinmec.com/en/news/health-news/cell-degeneration-and-necrosis/>
- Yirdachew, T., e Mekonnen, G. (2022). Review on Bloat in Cattle. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Sciences*.

ANEXO 1:

PROCESSAMENTO DE MATERIAL PARA ANÁLISE HISTOLÓGICA

