



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Clínica e Cirurgia de Espécies Pecuárias

Carla Sofia do Carmo Rocha

Orientador da Universidade de Évora: Professora
Doutora Sandra Maria da Silva Branco

Orientador Externo: Dr. Nuno Alexandre Lavado
Guilherme

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Évora, 2016



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Clínica e Cirurgia de Espécies Pecuárias

Carla Sofia do Carmo Rocha

Orientador da Universidade de Évora: Professora
Doutora Sandra Maria da Silva Branco

Orientador Externo: Dr. Nuno Alexandre Lavado
Guilherme

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Évora, 2016

Agradecimentos

À Doutora Sandra Branco, pela sua sugestão na realização do estágio curricular com o Doutor Nuno Guilherme, pela sua dedicação e eficiência profissional. Obrigada por toda a paciência e disponibilidade que me dedicou.

Ao Doutor Nuno Guilherme, pela oportunidade de estagiar na sua clínica, por toda a dedicação, ensino, compreensão, amizade. Obrigada por fazer parte de muitos conhecimentos adquiridos na área da medicina veterinária. Não posso deixar de relembrar o especial agradecimento, por confiar no meu trabalho e ter-me aceitado para partilhar mais nove meses de trabalho na Vetmanos.

Um especial agradecimento ao meu fiel colega e amigo Rui Santos, agora Doutor, é com muito orgulho que agradeço a tua amizade. Obrigada pela força que me deste ao longo de todo este percurso, sem ti nada teria sido tão descomplicado, empolgante. A tua paixão por tudo o que fazes, inclusive ajudar e ensinar o próximo é insubstituível, inigualável.

Aos meus queridos pais e irmãos, sem a vossa ajuda, força, nada disto teria sido possível. Obrigada por acreditarem em mim desde o primeiro dia. A força para que tenha terminado desta forma devo-a a vós. Todos os obstáculos que passaram por nós durante esta etapa da minha vida foram ultrapassadas com sucesso e o que me fez ultrapassá-las sem abandonar este sonho foram vocês. Amo-vos!

Ao amor da minha vida, Filipe Piteira, pois este sonho adormecido despertou porque te conheci. Obrigada, pelos teus conselhos sábios, paciência, pela ajuda que me proporcionaste a cada dia que passava.

Ao Sr. Domingos Piteira e Sra. Maria Martinho, por me terem acolhido em sua casa durante este período tão importante da minha vida. Obrigada pela força que me deram, tal como o vosso filho, para não abandonar este sonho.

Resumo

O presente relatório refere-se às atividades desenvolvidas durante o estágio final do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora.

O trabalho está dividido em duas componentes. A primeira consiste na descrição das atividades desenvolvidas na área da sanidade, profilaxia e clínica médica e cirúrgica de espécies pecuárias. A área da sanidade animal foi, em termos percentuais, aquela que registou uma maior atividade.

A segunda componente visa uma revisão bibliográfica da língua azul ou febre catarral ovina, complementada pelo relato e discussão de dois surtos, um numa vacada e outro num rebanho de ovinos. A língua azul é uma doença epizootica, infecciosa, de etiologia viral, transmitida por insetos do género *Culicoides* que afeta ruminantes domésticos e silvestres.

Palavras-chave: Relatório, Língua azul, Ruminantes, Etiologia viral, *Culicoides* spp.

Clinical and Surgical of livestock species

Abstract

This report refers to the activities developed during the final stage of the Master's Degree in Veterinary Medicine of the University of Évora.

The work is divided into two components. The first is the description of the activities in the area of sanity, prophylaxis and medicine and surgery in livestock species. The area of sanity was, percentually, the one with most accounted cases.

The second component of this work aims to a literature review of bluetongue, complemented with the presentation and discussion of two outbreaks, one in a cattle herd and the other in a sheep herd. Bluetongue is a viral, epizootic and infectious disease transmitted by insects of the genus *Culicoides* which affects domestic and wild ruminants.

Keywords: Report, Bluetongue, Ruminants, Viral disease, *Culicoides* spp.

Índice de conteúdos

| | |
|--|-----|
| Índice de gráficos | V |
| Índice de tabelas | VI |
| Índice de figuras | VII |
| Lista de siglas e abreviaturas | IX |
| <i>I. Relatório de casuística</i> | 2 |
| 1. Caracterização da região de Mourão e regime de exploração | 2 |
| 2. Atividades efetuadas | 2 |
| 3. Medicina preventiva..... | 3 |
| 3.1 Ações profiláticas obrigatórias | 3 |
| 3.1.1 Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina | 4 |
| 3.1.2 Programas Nacionais Plurianuais de Vigilância e Erradicação da Leucose Enzoótica Bovina | 8 |
| 3.1.3 Programa Nacional de Erradicação da Brucelose Bovina | 9 |
| 3.1.4 Programa Nacional de Erradicação da Brucelose em Pequenos Ruminantes | 14 |
| 3.2 Ações profiláticas facultativas | 19 |
| 3.2.1 Vacinação..... | 19 |
| 3.2.2 Desparasitação | 21 |
| 4. Clínica médica e cirúrgica de espécies pecuárias | 23 |
| 4.1 Sistema digestivo | 25 |
| 4.2 Sistema respiratório | 30 |
| 4.3 Sistema reprodutor | 32 |
| 4.4 Alterações músculo-esqueléticas..... | 34 |
| 4.5 Pele e anexos..... | 36 |
| 4.6 Outras doenças | 37 |
| 4.7 Outros procedimentos | 39 |
| 4.8 Controlo reprodutivo em bovinos | 39 |
| <i>II. Monografia: Língua Azul ou Febre Catarral Ovina</i> | 44 |
| 1. Introdução e agente etiológico | 44 |
| 1.1 Estrutura e composição do vírus da LA | 44 |
| 1.2 Serotipos do vírus da LA | 46 |
| 2. História e evolução epidemiológica..... | 48 |
| 2.1 Evolução epidemiológica antes de 1998..... | 48 |
| 2.2 Evolução epidemiológica desde 1998 a 2005..... | 49 |
| 2.3 Evolução epidemiológica desde 2006..... | 51 |
| 3. Alterações climáticas..... | 52 |
| 4. Hospedeiros Vertebrados..... | 53 |
| 5. Transmissão e ecologia do vírus da LA | 54 |
| 4.1 Vetor | 55 |

| | |
|---|----|
| 4.2 Outras vias de transmissão | 61 |
| 6. Patogenia | 61 |
| 7. Sinais clínicos | 63 |
| 8. Anatomia patológica | 66 |
| 9. Diagnóstico diferencial | 67 |
| 10. Abordagem diagnóstica..... | 70 |
| 10.1 Colheita, acondicionamento e transporte de material para diagnóstico laboratorial .. | 70 |
| 10.2 Isolamento do vírus | 70 |
| 10.3 Diagnóstico molecular | 71 |
| 10.4 Testes sorológicos | 72 |
| 10.4.1 Identificação do antígeno..... | 72 |
| 10.4.2 Identificação do anticorpo | 72 |
| 11. Tratamento | 73 |
| 12. Controlo | 74 |
| 13. Profilaxia..... | 75 |
| 13.1 Obrigatoriedade Vacinal em Portugal (DGAV, 2016e): | 76 |
| 14. Relato de casos clínicos..... | 78 |
| 14.1 Ovinos | 78 |
| 14.2 Bovinos | 80 |
| 15. Discussão dos casos clínicos..... | 82 |
| 16. Conclusão..... | 85 |
| 17. Bibliografia..... | 86 |

Índice de gráficos

| | |
|--|-----------|
| Gráfico 1 – Intervenções sanitárias obrigatórias realizadas nas diferentes espécies de ruminantes, em frequência absoluta total (n= 12118) e frequência relativa (%). ----- | 4 |
| Gráfico 2 – Diferentes planos de ação profilática facultativa em bovinos em frequência absoluta total (n=6327) e frequência relativa (%). ----- | 20 |
| Gráfico 3 – Diferentes planos de ação profilática facultativa em ovinos e caprinos em frequência absoluta total (n=6778) e frequência relativa (%). ----- | 21 |
| Gráfico 4 – Distribuição das intervenções efetuadas na clínica médica e cirúrgica por espécie animal, em frequência absoluta total (n=927) e frequência relativa (%). ----- | 24 |
| Gráfico 5 – Consultas realizadas em bovinos por sistemas e áreas clínicas em frequência absoluta (n= 927). ----- | 25 |

Índice de tabelas

| | |
|--|-----------|
| Tabela 1 – Intervenções profiláticas e intervenções clínicas por espécie animal, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%). ----- | 3 |
| Tabela 2 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), das entidades clínicas ao nível do sistema digestivo em bovinos. ----- | 25 |
| Tabela 3 – Incidência dos agentes etiológicos em função das idades dos vitelos e tipo de diarreias neonatais (Adaptado de Stilwell, 2013). ----- | 27 |
| Tabela 4 – Relação do grau de desidratação com os sinais clínicos da diarreia neonatal em bezerros e valores de referência médios do equilíbrio ácido-base (Adaptado de Stilwell, 2013 & Gunn <i>et al.</i> , 2009). ----- | 28 |
| Tabela 5 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), das entidades clínicas a nível do sistema respiratório em bovinos. ----- | 30 |
| Tabela 6 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), das entidades clínicas a nível do sistema reprodutor em bovinos. ----- | 32 |
| Tabela 7 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), das entidades clínicas a nível das alterações músculo-esqueléticas em bovinos. ----- | 34 |
| Tabela 8 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), sobre as entidades clínicas a nível da pele e anexos em bovinos. ----- | 36 |
| Tabela 9 – Distribuição da casuística, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), de outras doenças em bovinos, ovinos e caprinos. ----- | 38 |
| Tabela 10 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), no controlo reprodutivo. ----- | 40 |
| Tabela 11 – Resumo das características gerais e perfil de resistência a fatores de natureza física e química do agente causal da LA (Adaptado de Vega, <i>et al.</i> , 2005). ----- | 46 |
| Tabela 12 – Zonas submetidas a restrições com indicação dos respetivos serotipos da LA, Estado-Membro e data de reconhecimento, de acordo com o artigo n.º 2 do Regulamento n.º 1266/2007 (CE) (Adaptado da Comissão Europeia, 2016). ----- | 47 |

Índice de figuras

| | |
|---|-----------|
| Figura 1 – Fluxograma dos estatutos sanitários para a tuberculose bovina (Adaptado de DGAV, 2015a). ----- | 6 |
| Figura 2 – Fluxograma dos estatutos sanitários para a brucelose bovina (Adaptado de DGAV,2015c). ----- | 12 |
| Figura 3 – Fluxograma dos estatutos sanitários para a brucelose de pequenos ruminantes (Adaptado de DGAV, 2015d). ----- | 16 |
| Figura 4 – Vacinação de um bovino (Autor). ----- | 20 |
| Figura 5 – Desparasitação de ovinos (Autor). ----- | 23 |
| Figura 6 – Diarreia causada por coccídeas em um caprino (Autor). ----- | 23 |
| Figura 7 – Fluidoterapia a um bezerro com diarreia neonatal (Autor). ----- | 29 |
| Figura 8 – Retenção das membranas fetais (Autor). ----- | 33 |
| Figura 9 – Vaca com suspeita da síndrome da vaca caída. A - vaca antes da correção do decúbito. B - o mesmo animal com o decúbito corrigido (Autor). ----- | 35 |
| Figura 10 – Bovino com ferida na zona da fossa paralombar direita (Autor). ----- | 36 |
| Figura 11 – Bovino com ferida na zona da fossa paralombar direita, após encerramento da mesma (Autor). ----- | 37 |
| Figura 12 – Lesões típicas de ectima contagioso em caprinos. A - lesão num teto de uma cabra aleitante. B - lesões bucais num cabrito (Autor). ----- | 39 |
| Figura 13 – Abordagem prática de parâmetros reprodutivos / controlo reprodutivo (Palestra, Dr. Vasco Brito Paes, 12 de abril de 2016, Reguengos de Monsaraz). ----- | 40 |
| Figura 14 – Palpação transretal num bovino para diagnóstico de gestação (Autor). ----- | 41 |
| Figura 15 – A - colheita de sémen de um touro, com recurso à eletroejaculação. B - aspiração do lavado prepucial para pesquisa de <i>Tritrichomonas foetus</i> . C - análise do ejaculado (espermograma) (Autor). ----- | 42 |
| Figura 16 – A - esponja e adaptador utilizados na sincronização de cios. B - contentor contendo palhetas com sémen de touro congelado para a IA. C - IA numa vaca (Autor). ----- | 43 |
| Figura 17 – Esquema representativo das proteínas estruturais e segmentos de dsRNA do BTV (Adaptado de Bitew <i>et al.</i> , 2013). ----- | 45 |
| Figura 18 – Identificação das zonas de restrição e respetivos serotipos estipuladas pelos Estados-Membros da União Europeia, a partir de 14 de abril de 2016 (Adaptado da Comissão Europeia, 2016). ----- | 48 |
| Figura 19 – Ciclo de transmissão do vírus da Língua azul (Adaptado de Purse <i>et al.</i> , 2005). -- | 55 |
| Figura 20 – Ciclo de vida dos <i>Culicoides</i> spp. (Adaptado de Purse <i>et al.</i> , 2005). ----- | 56 |
| Figura 21 – Possível mecanismo de hibernação do vírus da Língua Azul no hospedeiro vertebrado, na ausência do vetor (Adaptado de Purse <i>et al.</i> , 2005). ----- | 60 |

| | |
|---|-----------|
| Figura 22 – Patogenia do vírus da Língua Azul (Adaptado de Material didático e pedagógico, Fevereiro, 2012). ----- | 63 |
| Figura 23 – Ovino com edema nos lábios e erosão na mucosa nasal e bucal (Adaptado de UPSPACE, 2013b). ----- | 64 |
| Figura 24 – Ovino com edema dos lábios e cianose da língua (Adaptado de UPSPACE, 2013a).- ----- | 64 |
| Figura 25 – Ovino com congestão e petéquias do bordo coronário secundárias a coronite (Adaptado de UPSPACE, 2013c). ----- | 65 |
| Figura 26 – Hemorragia da túnica média na base da artéria pulmonar (seta) de um ovino, lesão patognomónica da língua azul (Adaptado de UPSPACE, 2013). ----- | 67 |
| Figura 27 – Lesões hemorrágicas e ulcerativas da mucosa dos pilares do rumem num ovino com língua azul (Adaptado de UPSPACE, 2013e). ----- | 67 |
| Figura 28 – A - ovino com lesões de hiperémia no lábio superior e chanfro. B - ovino com hiperémia da mucosa bucal. C - ovino com hiperémia da mucosa bucal. D - carneiro com hiperémia e edema do escroto (Autor).----- | 79 |
| Figura 29 – A - ovino com edema submandibular, sialorreia e corrimento nasal sero-mucoso. B - ovino com pleurotótano (Autor). ----- | 79 |

Lista de siglas e abreviaturas

Ac Anticorpos

ADS/OPP Agrupamento de Defesa Sanitária/Organização de Produtores Pecuários

BHV-1 *Bovine herpesvirus type 1* - Herpesvírus bovino-1

BRSV *Bovine respiratory syncytial virus* - Vírus sincicial bovino

BTV *Bluetongue virus* – Vírus da língua azul

BVD *Bovine viral diarrhoea* – Diarreia viral bovina

BVDV *Bovine viral diarrhoea virus* - Vírus da diarreia viral bovina

CID Coagulação Intravascular Disseminada

DGAV Direção Geral de Alimentação e Veterinária

DSAVR Direção de Serviços de Alimentação e Veterinária Regionais

dsRNA *Double-stranded RNA* – RNA de cadeia dupla

EC Ectima Contagioso

E.g. *Exempli gratia* – Por exemplo

ETEC *Enterotoxigenic Escherichia coli* - *Escherichia coli* enterotoxigénica

EV Estomatite Vesicular

FA Febre aftosa

FCM Febre Catarral Maligna

FCO Febre Catarral Ovina

IA Inseminação artificial

IATF Inseminação artificial a tempo fixo

IBR – *Infectious bovine rhinotracheitis* – Rinotraqueite infecciosa bovina

IBRV *Infectious bovine rhinotracheitis virus* – Vírus da Rinotraqueíte infecciosa bovina

IDT Prova da intradermotuberculinização comparada

I.e. *Id est* – Isto é

Ig Imunoglobulina

IM - Intramuscular

INIAV/LNIV Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

LA Língua Azul

LEB Leucose enzoótica bovina

MAbs *Monoclonal antibodies* - Anticorpos monoclonais

OIE *World Organisation for Animal Health* - Organização Mundial de Sanidade Animal

PI-3 *Parainfluenza-3 virus* - Vírus parainfluenza tipo 3

PIE Período de incubação extrínseco

PISA Programa Informático para a Saúde Animal

RMF Retenção de membranas fetais

SC Subcutâneo

SNIRA Sistema Nacional de Informação e
Registo Animal

SRB Síndrome respiratório bovino

TPM Teste de pré-movimentação

TRPC Tempo de retração da prega
cutânea

U.S. CEE Unidades Sensibilizadoras da
Comunidade Económica Europeia

Vs. *Versus* - Contra

Introdução

O presente relatório incide nas atividades desenvolvidas durante o estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora.

O estágio teve lugar na Clínica Veterinária Vetmanos, localizada na Vila de Mourão, sob a orientação científica do Dr. Nuno Alexandre Lavado Guilherme, no período de tempo compreendido entre 12 de outubro de 2015 a 11 de março de 2016. A orientação pela Universidade de Évora foi levada a cabo pela Professora Doutora Sandra Branco.

As funções desempenhadas englobaram essencialmente a sanidade e profilaxia animal, clínica médica e cirúrgica de espécies pecuárias. Houve também oportunidade de contactar com a clínica de outras espécies, nomeadamente suínos e animais de companhia, os quais não são futuramente discutidos, mediante a sua reduzida expressão.

Durante este período de tempo foram acompanhadas várias explorações pecuárias de bovinos, ovinos e caprinos, sendo importante destacar o exclusivo acompanhamento de explorações direcionadas para a produção de carne em grandes ruminantes (*i.e.*, bovinos) e mistas em pequenos ruminantes (*i.e.*, ovinos e caprinos). O exercício do estágio curricular teve como fim a aquisição de conhecimentos teórico-práticos relevantes para o bom desempenho da atividade profissional futura. Ao longo do estágio toda a informação adquirida resultante dos casos acompanhados contribuiu para a elaboração deste relatório.

O mesmo divide-se em duas componentes. A primeira trata os dados referentes às entidades clínicas e procedimentos assistidos/realizados no decurso do estágio. Nesta componente é ainda incluída, em cada secção, uma revisão bibliográfica de um tema de interesse e cuja importância o tenha justificado.

A segunda componente engloba a realização de uma monografia sobre a língua azul ou febre catarral ovina. Esta escolha justifica-se pela ocorrência de vários casos clínicos durante o estágio. A língua azul ou febre catarral ovina constitui um obstáculo ao comércio animal. A sua persistência interfere na movimentação dos ruminantes para as regiões autónomas e com destino ao trânsito intracomunitário e à exportação para países terceiros. Embora não seja uma zoonose, afeta de forma negativa o consumo, uma vez que é cada vez maior a informação disponível ao consumidor e o peso que o bem-estar animal e a qualidade dos produtos têm, portanto, na sociedade/consumidor.

I. Relatório de casuística

1. Caracterização da região de Mourão e regime de exploração

O presente estágio decorreu essencialmente no distrito de Évora, sendo o concelho de Mourão a sede da Clínica Veterinária Vetmanos. Mourão é uma vila alentejana pertencente ao distrito de Évora e sub-região do Alentejo Central, encontrando-se limitada a este (leste) por Espanha, a oeste por Reguengos de Monsaraz, a norte pelo concelho de Alandroal e a sul por Moura e Barrancos, ambos já no distrito de Beja.

Segundo o Instituto Nacional de Estatística (2013), o concelho ocupa uma área total de 278,63 km², com 2663 habitantes.

Esta área insere-se num clima mediterrânico, sendo os verões tipicamente quentes e secos, com períodos de precipitação irregular nos meses mais secos. Quanto à sua morfologia, o território é pouco acidentado, havendo predomínio de planícies (Câmara Municipal de Mourão, 2016).

A região de Mourão possui, como recursos hídricos, a barragem do Alqueva, com origem no rio Guadiana, sendo aquele considerado o maior lago artificial da Europa, recurso que se caracteriza como uma das principais riquezas para o desenvolvimento económico sustentado deste concelho (Câmara Municipal de Mourão, 2016).

O regime de exploração desta região é essencialmente extensivo, no que respeita a gado bovino, ovino e caprino, estando os animais maioritariamente em pastagens permanentes.

Grande parte das explorações de produção de caprinos e ovinos acompanhadas dedicam-se à produção de leite para a indústria queijeira, contrariamente às de bovinos, que se destinam unicamente para a produção de carne para a indústria de comercialização na região do Alentejo Central.

2. Atividades efetuadas

No decorrer do estágio foram recolhidos diariamente dados que serviram de base para a casuística posteriormente descrita. Esta está separada por áreas, sendo apresentada em primeiro lugar a medicina preventiva, seguida da clínica. Nesta última estão contempladas a clínica médica e cirúrgica. O motivo desta apresentação conjunta prende-se com o número reduzido de procedimentos cirúrgicos assistidos, nomeadamente um, não havendo a necessidade de uma classificação separada. Os dados são apresentados em tabelas ou gráficos, estando agrupados por espécies e/ou pela área de intervenção.

A Tabela 1 é representativa de todos os procedimentos realizados durante o estágio e demonstra o quão incidente é a prática diária da Clínica Veterinária Vetmanos na profilaxia animal, tanto facultativa, como obrigatória. As ações obrigatórias e facultativas de profilaxia são, grande parte das vezes e por motivos de facilidade de maneo, executadas em conjunto, contudo, podem ser praticadas em separado. Na referida tabela esta diferença intramodal da profilaxia não é discriminada, no entanto, no capítulo da medicina preventiva são abordadas separadamente as

ações profiláticas obrigatórias e facultativas. A profilaxia representa 98% da atividade e a clínica 2%.

A espécie com maior número de intervenções foi a bovina com 50%, seguida da ovina com 32% e posteriormente a caprina com 18%, representando as restantes espécies (*i.e.*, suínos e caninos) 0,17%.

Tabela 1 – Intervenções profiláticas e intervenções clínicas por espécie animal, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%).

| Espécie | Profilaxia | Clínica | Total (n) | FR (%) |
|---------------|------------|---------|-----------|--------|
| Bovina | 18088,00 | 771,00 | 18859,00 | 49,64 |
| Ovina | 12069,00 | 57,00 | 12126,00 | 31,92 |
| Caprina | 6841,00 | 99,00 | 6940,00 | 18,27 |
| Suína | 33,00 | 1,00 | 34,00 | 0,09 |
| Canina | 32,00 | 0,00 | 32,00 | 0,08 |
| Total | 37063,00 | 928,00 | 37991,00 | 100,00 |
| FR (%) | 97,56 | 2,44 | 100,00 | |

3. Medicina preventiva

O papel do médico veterinário é cada vez mais ativo ao nível da prevenção de doenças. O principal objetivo de uma exploração pecuária passa por garantir uma maximização da produção animal para consumo humano, tendo o médico veterinário um papel central neste mecanismo, salvaguardando a saúde pública e animal através de atos médico-preventivos.

3.1 Ações profiláticas obrigatórias

Conforme a Portaria n.º 178/2007 de 9 de fevereiro, as ações profiláticas obrigatórias executadas pela Clínica Veterinária Vetmanos fazem parte do Programa Nacional de Saúde Animal (PNSA), onde estão incluídos os planos de erradicação das doenças dos animais, designadamente bovinos, ovinos e caprinos com realização de um conjunto de ações de carácter profilático e sanitário. As ações de saneamento animal têm como objetivo a classificação de explorações e de áreas indemnes ou oficialmente indemnes das doenças e têm como entidades executoras os Agrupamentos de Defesa Sanitária (ADS) / Organização de Produtores Pecuários (OPP), subordinadas à Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV).

Na Clínica Veterinária Vetmanos, os serviços de saneamento foram efetuados sob a coordenação do ADS/OPP, de Mourão, Moura, Évora e Estremoz. Embora a área geográfica da maior parte das explorações pertença à região agrária de Mourão, alguns produtores podem optar por se associar à OPP de outra região.

Relativamente à espécie bovina, faz parte da profilaxia obrigatória o saneamento anual, que inclui a prova de intradermotuberculinação comparada (IDT) para a execução dos

programas de erradicação da tuberculose. Ainda integrados nesta profilaxia obrigatória estão os testes de pré-movimentação (TPM), as reinspeções do efetivo infetado e, por fim, o rastreio anual da brucelose, com colheita de sangue da veia coccígea mediana, ou, embora menos frequentemente, da veia jugular externa. Também parte integrante da profilaxia obrigatória são os Programas Nacionais Plurianuais de Vigilância e Erradicação da Leucose Enzoótica Bovina (LEB). Nos pequenos ruminantes apenas é realizado o rastreio da brucelose, que consiste na colheita de sangue da veia jugular externa, as reinspeções dos efetivos infetados e os TPM.

O Gráfico 1 é representativo de todas intervenções sanitárias obrigatórias realizadas durante o estágio nas diferentes espécies de ruminantes. Verifica-se que o maior número de intervenções de saneamento foram efetuadas em bovinos com um total de 46%, seguindo-se os ovinos com 30% e, por fim, os caprinos com um total de 18%. Relativamente à reinspeção de animais, estas foram somente efetuadas durante o estágio à espécie ovina, com um total de 2%. Por último e com uma percentagem de 4%, estão os TPM, somente realizados em bovinos.

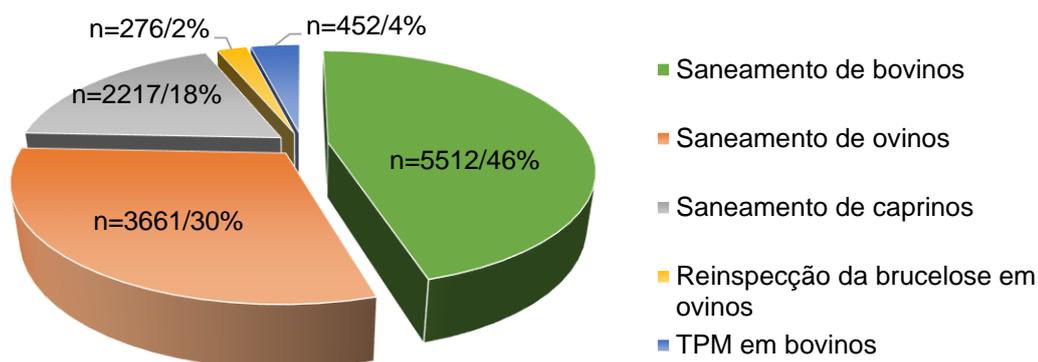


Gráfico 1 – Intervenções sanitárias obrigatórias realizadas nas diferentes espécies de ruminantes, em frequência absoluta total (n= 12118) e frequência relativa (%).

3.1.1 Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina

A tuberculose bovina é uma doença infecciosa crónica causada pelo *Mycobacterium bovis*, agente que afeta não somente bovinos, mas também animais domésticos e outras espécies selvagens (OIE, 2009).

É uma doença de declaração obrigatória desde 1953 e, segundo o artigo 5º do Decreto-Lei n.º 272/2000 de 8 de novembro, é expressamente proibido qualquer tratamento dessensibilizante, a imunoprofilaxia e o tratamento terapêutico da tuberculose bovina. Trata-se de uma zoonose, constituindo um problema para a saúde pública, motivo pelo qual o médico veterinário tem um papel crucial na prevenção desta doença.

Segundo indicadores epidemiológicos, até ao ano 2008 a tuberculose tinha uma prevalência de 0,111 e incidência de 0,077 em exploração e de 0,03 de prevalência em animais. Em 2009 e 2010 houve agravamento destes indicadores, chegando a atingir 0,907 de prevalência e 0,738 de incidência em exploração e 0,32 de prevalência em animais, com particular importância na região do Alentejo, algumas áreas da região Centro e do Norte, verificando-se não só a deteção em vida na exploração, como também em matadouro (DGAV, 2015a).

Face ao verificado, desde 2009 foram implementadas algumas medidas por forma a erradicar, controlar e monitorizar a doença (DGAV, 2015a):

- Execução da prova de IDT;
- Aumento da frequência da testagem de animais em vida em zonas consideradas de risco;
- Cumprimento dos prazos relativos à reinspeção dos efetivos infetados;
- Aplicação uniformizada das regras dos TPM e sua revisão;
- Vigilância e monitorização das espécies de caça maior abatidas.

O programa de erradicação da tuberculose tem, como teste oficial de diagnóstico *in vivo*, o IDT e, como prova complementar de diagnóstico, a prova do gama interferão. O diagnóstico *post-mortem* consta na realização de exames anátomo-patológicos e bacteriológicos para o isolamento das bactérias do género *Mycobacterium bovis*. A frequência e idades dos animais sujeitos à prova de IDT depende do estatuto sanitário do efetivo, bem como dos indicadores epidemiológicos da região referentes aos efetivos oficialmente indemnes, T3. Em efetivos no qual o estatuto sanitário é não oficialmente indemne, T2, estão sujeitos à prova de IDT todos os animais com mais de seis semanas, até alcançarem o estatuto indemne (DGAV, 2015a).

Segundo o Anexo A do Decreto-Lei n.º 272/2000 de 8 de novembro, os estatutos sanitários são regidos pelos serviços oficiais e cabe somente a eles a sua atribuição e alteração, estando classificados da seguinte forma:

- Efetivo bovino oficialmente indemne de tuberculose (T3);
- Efetivo bovino não oficialmente indemne de tuberculose (T2).

O estatuto oficialmente indemne, T3, pode ser suspenso, T3S, ou retirado, passando a não indemne infetado, T2.1. No que respeita às movimentações de animais, os efetivos oficialmente indemnes, T3, podem ser movimentados sem restrições. Os efetivos com estatuto não indemne, T2.1 e T2, ou efetivos com estatuto suspenso, T3S, apenas podem ser movimentados com destino ao abate, sempre sob controlo oficial. Todas estas informações terão que constar na base de dados do Sistema Nacional de Informação e Registo animal (SNIRA) e, no caso dos efetivos, T2.1 e T2 e T3S, serão acionados no SNIRA controlos periódicos de movimentos (DGAV, 2015a).

A Figura 1 esquematiza resumidamente o controlo e a classificação do estatuto sanitário das explorações referente à tuberculose bovina e condicionantes que justifiquem a sua transição.

TUBERCULOSE BOVINA – FLUXOGRAMA DE ESTATUTOS SANITÁRIOS

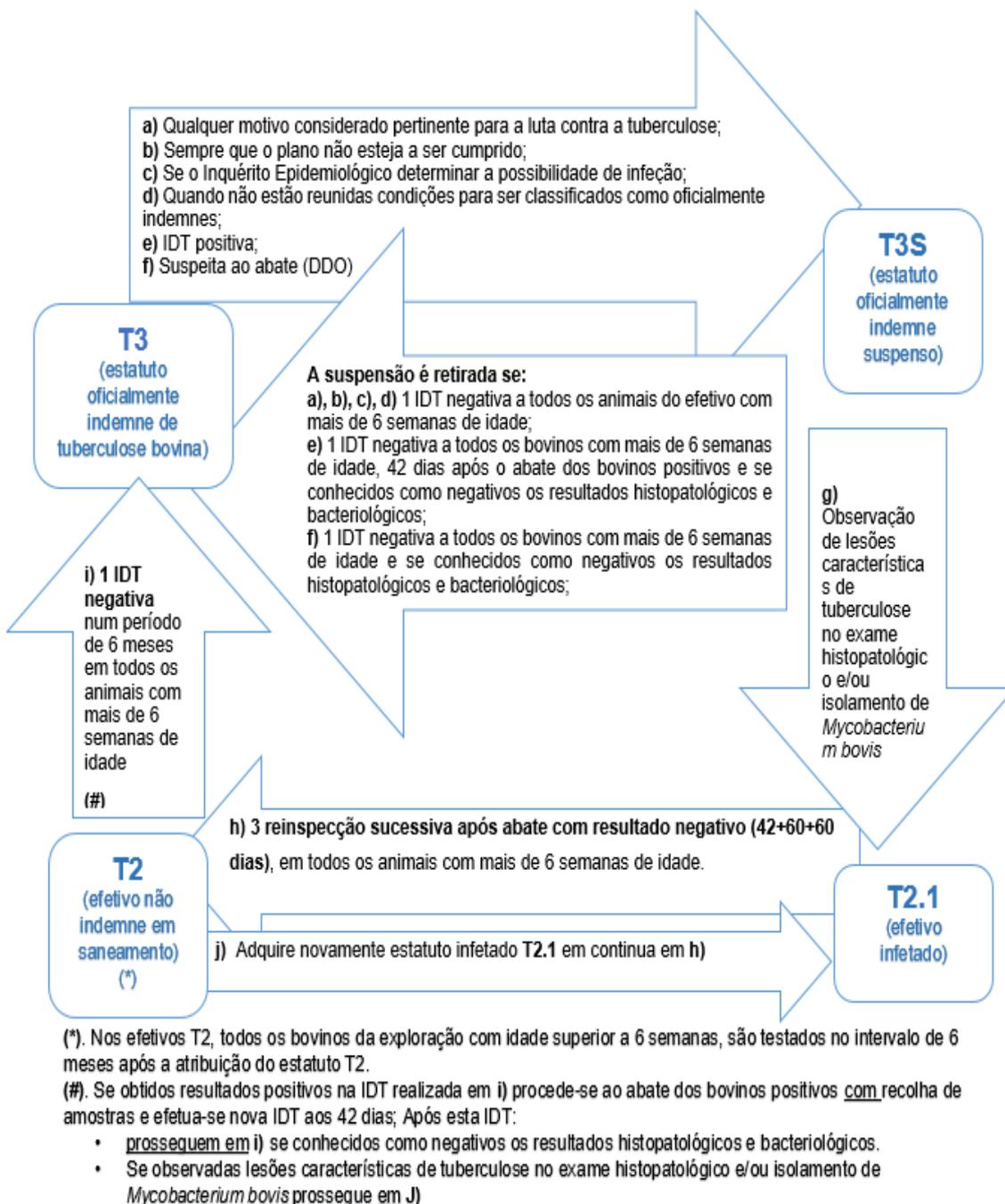


Figura 1 – Fluxograma dos estatutos sanitários para a tuberculose bovina (Adaptado de DGAV, 2015a).

O presente programa de controlo e erradicação da tuberculose bovina é realizado por um período anual, sendo abrangidos todos os bovinos machos e fêmeas com mais de seis semanas de idade das explorações de extremo risco e também de todos os bovinos machos e fêmeas reprodutores, sendo excluídos os machos com destino à engorda das explorações indemnes, cujas regiões em que os indicadores os comprovem, de acordo com a legislação nacional e comunitária (DGAV, 2015a).

Quanto à prova de IDT, ela é usada para a identificação de animais com mais de seis semanas de idade infetados com o *Mycobacterium bovis* e o teste envolve a inoculação intradérmica de tuberculina bovina e tuberculina aviária em diferentes locais, no mesmo lado do pescoço, e a medição da espessura da prega de pele no local de inoculação após 72 horas. Os resultados são caracterizados como positivos, negativos ou duvidosos. Na eventualidade de um resultado duvidoso, é efetuado novo IDT 42 dias depois para confirmação ou não do resultado. Nestes casos a positividade do animal é determinada se obtido resultado não positivo ou duvidoso na segunda prova (DGAV, 2015a).

Qualquer reação obtida nos testes oficiais, assim como a presença ou ausência de sinais clínicos, é registada pelas OPP no Programa Informático para a Saúde Animal (PISA). Posteriormente a DGAV analisa estes resultados, emitindo, quando aplicável, a decisão de validar ou suspender o estatuto sanitário da exploração em causa (DGAV, 2015a).

A prova do gama interferão é efetuada apenas nas explorações não indemnes de tuberculose bovina, T2, que apresentem animais duvidosos à prova de IDT, positividade crónica, ou em explorações em que o número de animais positivos seja muito elevado a uma única prova de IDT (DGAV, 2015a).

Todos os anos são aprovadas pela DGAV novas regras nos planos de erradicação e vigilância. Segundo a DGAV, para o ano de 2016 e em relação à tuberculose bovina, estão definidas as seguintes regras sanitárias correspondentes à área constituída pela Direção de Serviços de Alimentação e Veterinária Regionais (DSAVR) do Alentejo:

- Em explorações não indemnes, T2 ou T2.1, ou de estatuto oficialmente indemne suspenso, T3S, os animais a rastrear são todos os bovinos com mais de seis semanas de idade, não sendo aplicável a epidemiovigilância;
- Em explorações com classificação indemne, T3, a precocidade dos testes para explorações aplica-se a fêmeas e machos reprodutores com mais de seis semanas de idade;
- Nos concelhos designados de risco, no Alentejo (Avis, Castelo de Vide, Crato, Marvão, Monforte, Nisa, Portalegre, Barrancos, Moura e Serpa), e nos efetivos não indemnes, realiza-se a todos os bovinos com mais de seis semanas de idade (DGAV, 2016a).

3.1.2 Programas Nacionais Plurianuais de Vigilância e Erradicação da Leucose Enzoótica Bovina

A leucose enzoótica bovina é uma doença de declaração obrigatória de origem viral e tem como agente etiológico o vírus da leucose bovina, um *Deltaretrovirus* da família Retroviridae (DGAV, 2015b). Trata-se de uma doença crónica das células B proliferativas, sendo a maioria das infeções subclínicas, contudo, a forma clínica também existe, sendo mais vulgar em bovinos adultos. Adicionalmente, esta doença não possui potencial zoonótico (Radostits *et al.*, 2006a).

Quanto à sua epidemiologia, a ocorrência é global, no entanto, a sua prevalência varia entre países. De acordo com as Decisões da Comissão n.º 2010/188/CE de 29 de março de 2010 e 2011/675/EU de 12 de outubro de 2011, os distritos das regiões do Algarve, Alentejo e Região Autónoma dos Açores foram reconhecidos pela Comissão Europeia como oficialmente indemnes de LEB. Subsequentemente, segundo a Decisões da Comissão 2012/204/EU de 19 de abril de 2012, os restantes distritos, à exceção da Divisão de Intervenção Veterinária do Porto, foram considerados oficialmente indemnes de LEB, sendo, desta forma, necessária a continuação da implementação das medidas de vigilância para a manutenção do estatuto (DGAV, 2015b).

Segundo o Anexo do Decreto-Lei n.º 114/99, as classificações sanitárias e respetivos controlos são:

- Efetivo infetado (L2) - Controlo sorológico efetuado, no mínimo, duas vezes por ano à totalidade do efetivo com idade superior a 12 meses;
- Efetivo suspeito (não indemne) (L3) – Controlo sorológico efetuado, no mínimo, uma vez por ano à totalidade do efetivo com idade superior a 12 meses;
- Efetivo oficialmente indemne (L4) – Controlo sorológico efetuado uma vez por ano à totalidade do efetivo com idade superior a 24 meses.

Sempre que, num efetivo oficialmente indemne, L4, um ou mais animais sejam considerados positivos, não ultrapassando, no entanto, 2% de um efetivo com 50 animais ou mais, a classificação passa a suspensa, L4S. Contudo, só será novamente readquirido o estatuto oficialmente indemne, L4, após controlo sorológico negativo efetuado à totalidade dos animais com idade superior a 12 meses, pelo menos três meses após a eliminação dos positivos (Decreto-Lei n.º 114/99).

A prova oficial de diagnóstico a utilizar no rastreio da LEB é a prova sorológica de ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), para a pesquisa de anticorpos (Ac) contra o vírus da LEB. Esta prova é decisiva para a determinação de positividade de animais que previamente obtiveram resultado positivo na prova de rastreio da LEB. Cabe ao Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV/LNIV) o controlo oficial da aplicação dos procedimentos de análise de diagnóstico regional (DGAV, 2015b).

Em suma, tal como nos outros programas obrigatórios, todos os anos são aprovadas pela DGAV novas regras nos planos de erradicação e vigilância, não deixando de ser diferente

na LEB. Contudo, anualmente são sorteados concelhos do país para o controlo da doença. Segundo a DGAV, para o ano de 2016 e em relação à leucose enzoótica bovina, estão definidas as seguintes regras sanitárias correspondentes à área constituída pela Direção de Serviços de Alimentação e Veterinária Regionais (DSAVR) do Alentejo:

- Em explorações não oficialmente indemnes, L2 ou L3, e em explorações com classificação oficialmente indemne suspensa, L4S, os animais a rastrear são todos os bovinos com idade superior a 12 meses;
- Nas explorações com classificação oficialmente indemne, L4, a idade dos animais a rastrear na unidade geográfica referente são aos bovinos com mais de dois anos de idade nos concelhos de Castro Verde, Serpa, Vidigueira, Elvas, Ponte de Sor, Évora e Vila Viçosa (DGAV, 2016b).

3.1.3 Programa Nacional de Erradicação da Brucelose Bovina

A brucelose é uma doença de declaração obrigatória desde 1953 causada por bactérias do género *Brucella*. Esta doença afeta bovinos, ovinos, caprinos, suínos e humanos, sendo que, das várias espécies existentes, as que afetam os bovinos são a espécie *Brucella abortus* e ocasionalmente a *Brucella melitensis* (Radostits *et al.*, 2006b). A sua principal manifestação consta essencialmente em perdas reprodutivas nas fêmeas, tais como abortos ou recém-nascidos debilitados, enquanto nos machos as manifestações se caracterizam por orquites, epididimites e conseqüentemente infertilidade (Radostits *et al.*, 2006b).

A infeção persistente ao longo da vida é uma característica deste organismo intracelular, ocorrendo em animais de todas as idades, contudo, é mais comum em animais adultos (Radostits *et al.*, 2006b).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a brucelose é uma das zoonoses com maior importância e distribuição mundial, surtindo grande impacto económico em países em desenvolvimento que não tenham um programa nacional de erradicação da brucelose (Radostits *et al.*, 2006b).

A maioria dos casos em seres humanos ocorre em agricultores, veterinários e trabalhadores de matadouro, sendo considerada uma doença profissional (Radostits *et al.*, 2006b).

A infeção acidental no homem é o resultado da evidente disseminação da doença nos animais domésticos e da interação entre eles e o ser humano (Chand *et al.*, 2002).

Como dita o Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro, a persistência da brucelose coloca em causa a livre circulação dos animais, sendo expressamente proibido o tratamento da doença e a vacinação contra a brucelose bovina em todo o território de Portugal, bem como a comercialização do respetivo imunogénio. No entanto, a sua autorização poderá ser possível, desde que fatores de natureza sanitária o justifiquem, sob responsabilidade da autoridade sanitária nacional (*i.e.*, DGAV), ou por proposta da autoridade sanitária veterinária regional.

Quanto à epidemiologia da doença, a sua prevalência sofre variações consideráveis entre rebanhos, áreas e países (Radostits *et al.*, 2006b).

Como medidas da erradicação da brucelose estão contempladas:

- O diagnóstico em vida;
- O abate sanitário de todos os animais positivos, sob responsabilidade dos serviços oficiais;
- A indenização do proprietário face aos animais abatidos;
- A restrição de movimentação nos respetivos efetivos (DGAV, 2015c).

A prova de diagnóstico oficial de rastreio para a confirmação da positividade da doença, para efeitos de abate sanitário, é o teste rápido de aglutinação do rosa bengala e o teste da fixação do complemento (DGAV, 2015c).

A frequência de idades de bovinos sujeitos ao controlo sorológico depende do estatuto sanitário do efetivo. Nos efetivos bovinos indemnes, B3, ou oficialmente indemnes, B4, estão também abrangidas regras que vão corresponder aos indicadores epidemiológicos da região. Em efetivos bovinos não indemnes todos os animais com mais de seis meses de idade estão sujeitos a controlo sorológico até alcançarem o estatuto indemne, B3, e oficialmente indemne, B4 (DGAV, 2015c).

Das explorações existentes no território continental, são abrangidas pelo programa de erradicação da brucelose bovina todas as explorações de bovinos com aptidão reprodutiva, as explorações de recria destinadas à reprodução e também as explorações consideradas de risco. O mesmo será implementado em todo o território continental, exceto na região do Algarve, classificada como região oficialmente indemne, B4, apenas sendo realizado um programa de vigilância da brucelose bovina (DGAV, 2015c).

Segundo o Anexo I do Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro, os estatutos sanitários da brucelose estão classificados da seguinte forma:

- Efetivo oficialmente indemne de brucelose (B4);
- Efetivo indemne (B3);
- Efetivo não indemne (B2).

O estatuto B3/B4 pode ainda ser suspenso, B4S/B3S, ou retirado, passando a não indemne infetado, B2.1.

De acordo com o Anexo I do Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro, no que respeita à vacinação de bovinos para atribuição da classificação do estatuto sanitário em explorações em que o efetivo bovino se considera oficialmente indemne de brucelose, B4, não se incluem os bovinos vacinados contra a brucelose, com exceção das fêmeas vacinadas há, pelo menos, três anos. Para explorações em que o efetivo bovino seja indemne, B3, constam desta classificação: as fêmeas que tiverem sido vacinadas antes dos seis meses de idade com

uma vacina viva com a estirpe B19, ou com outra vacina aprovada de acordo com o procedimento comunitariamente previsto; as fêmeas com menos de 30 meses de idade que tenham sido vacinadas com a vacina viva com a estirpe B19, apresentando na prova de fixação do complemento um resultado inferior a 30 unidades por mililitro [unidades sensibilizadoras da Comunidade Económica Europeia (U.S. CEE)], mas somente se vacinadas há menos de 12 meses e restantes casos com resultado negativo inferior a 20 U.S. CEE/ml.

A Figura 2 esquematiza resumidamente o controlo e a classificação do estatuto sanitário das explorações referente à brucelose bovina e condicionantes que justifiquem a sua transição.

BRUCELOSE BOVINA – FLUXOGRAMA DE ESTATUTOS SANITÁRIOS

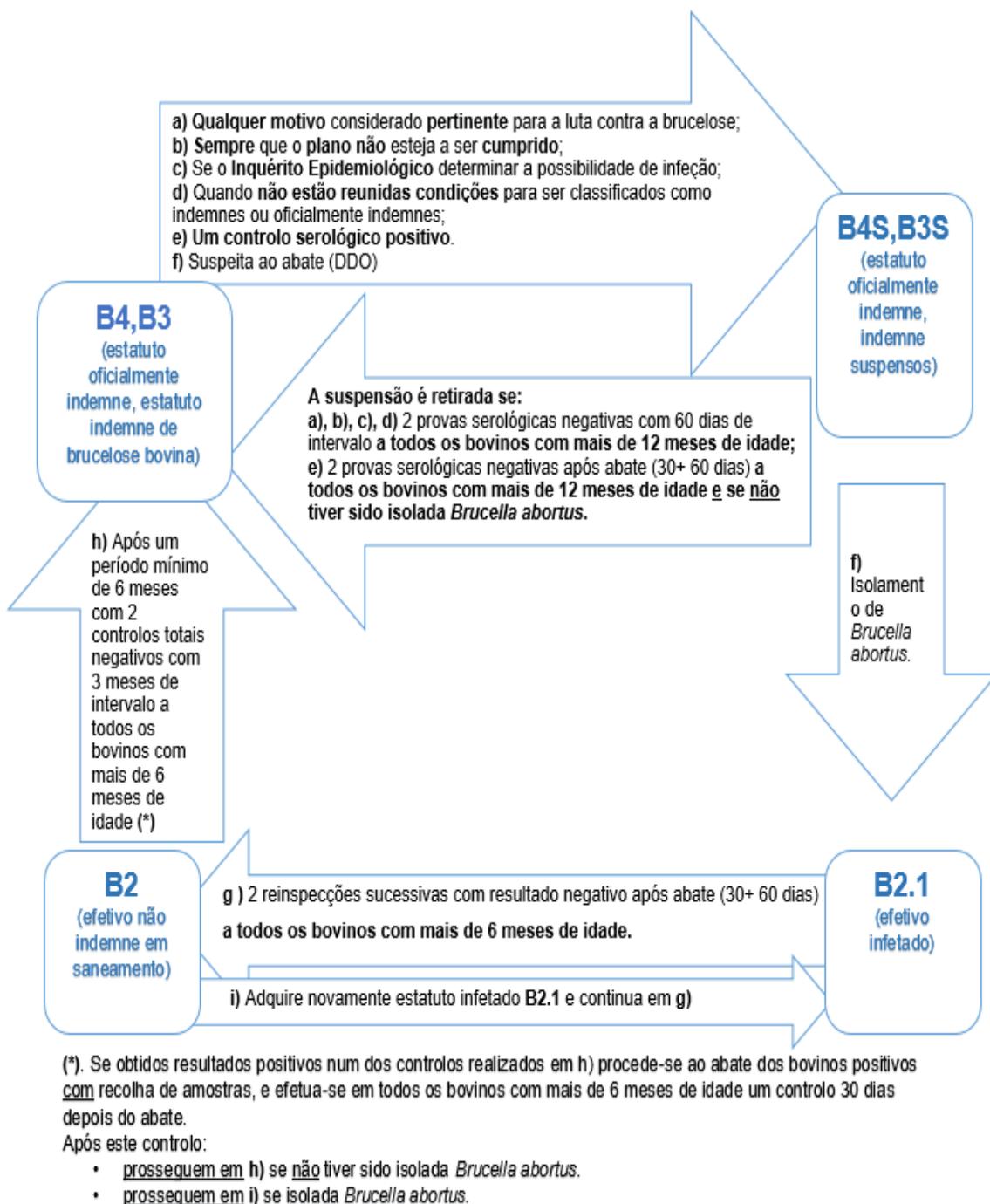


Figura 2 – Fluxograma dos estatutos sanitários para a brucelose bovina (Adaptado de DGAV,2015c).

O presente programa de controlo e erradicação da brucelose bovina é executado por um período anual, no entanto, é possível a sua alteração em zonas definidas como não indemnes de brucelose bovina, B2, ficando contemplada a frequência das provas de rotina do seguinte modo, conforme o Anexo I do Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro:

- Se a percentagem de efetivos bovinos infetados não for superior a 1%, é suficiente realizar uma prova sorológica;
- Se, pelo menos, 99,8% dos efetivos bovinos tiverem sido declarados oficialmente indemnes, B4, de brucelose durante um período mínimo de quatro anos, o intervalo entre os controlos pode ser alargado para dois anos, desde que controlados todos os animais com mais de 12 meses de idade, ou com mais de 24 meses de idade, se controlados todos os anos.

Os controlos devem ser realizados utilizando uma das provas sorológicas já anteriormente referidas.

São compreendidos no programa de controlo e erradicação da brucelose bovina, todos os machos e fêmeas com mais de 12 meses de idade para explorações classificadas como indemne, B3, ou oficialmente indemne, B4, e com mais de seis meses de idade nas explorações não indemnes, B2 (DGAV, 2015c). Nas explorações oficialmente indemnes de brucelose bovina B4 os machos deliberados à engorda serão excluídos, desde que transitem posteriormente para abate. Também não são abrangidas pelo programa, as explorações destinadas à recria e acabamento, caso tenham como destino o abate, adotando estes animais o estatuto da sua exploração de origem (DGAV, 2015c).

Sempre que um efetivo é considerado suspeito de brucelose, a autoridade sanitária veterinária regional deve tomar as medidas de profilaxia e política sanitária, conforme disposto no Artigo 10.º do Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro.

Ainda importante referir quanto à movimentação de animais, relativamente a explorações de bovinos não B3/B4 que se encontrem com movimentações restritas, estas efetuam-se somente:

- Com destino ao abate, acompanhadas por guia de circulação emitida pelos serviços veterinários;
- No caso das explorações de engorda, com uma autorização formal da DSAVR de origem e de destino, com testes prévios de avaliação de risco (TAR) controlados pela DSAVR, que emitirá também uma guia sanitária de circulação, cujo objetivo final seja o abate dos animais (DGAV, 2015c).

Animais B3/B4, podem circular da sua exploração para outra com o mesmo estatuto sanitário, cumprindo as regras dos TPM, sempre acompanhados de declaração do detentor e com posterior comunicação ao SNIRA. Todas as movimentações terão que ser comunicadas no

prazo de quatro dias. Nos efetivos B4S, B3S, B2 e B2.1 a comunicação fica a cargo da DSAVR de origem (DGAV, 2015c).

As provas a efetuar para efeitos de pré-movimentação são a prova sorológica do rosa bengala e a prova sorológica de fixação do complemento, efetuado até 30 dias antes da entrada do efetivo de destino. Estes testes são aplicados a explorações B3 ou B4, a todos os bovinos com idade superior a 12 meses que se pretenda movimentar para explorações de reprodução (DGAV, 2015c).

Tal como no programa da tuberculose bovina, para o programa de erradicação da brucelose, a atualização de estatuto sanitário no SNIRA é feita a partir do PISA.Net, aprovando e registando a suspensão ou alteração dos estatutos dos efetivos. Cabe também, de igual forma, às OPP, sempre que sejam detetadas inconformidades, participar a ocorrência à DSAVR (DGAV, 2015c).

Todos os anos são aprovadas pela DGAV novas regras nos planos de erradicação e vigilância da brucelose. Segundo a DGAV, para o ano de 2016 e em relação à brucelose bovina, estão definidas as seguintes regras sanitárias correspondentes à área constituída pela DSAVR do Alentejo:

- O rastreio nos efetivos B3/B4 é feito aos bovinos com mais de 12 meses de idade, com exceção da área da DGAV do Alentejo Litoral (Alcácer do Sal), onde é efetuado aos bovinos com mais de dois anos;
- O rastreio nos efetivos não indemnados, B2/B2.1, em função dos prazos de reinspeção habituais, é efetuado aos animais com mais de seis meses;
- Em explorações com classificação indemne suspensa, B3S, ou oficialmente indemne suspensa, B4S, a idade mínima para o rastreio é de 12 meses (DGAV, 2016c).

3.1.4 Programa Nacional de Erradicação da Brucelose em Pequenos Ruminantes

Esta seção abrange o programa de erradicação da brucelose em pequenos ruminantes, estando enunciados somente os pontos que diferem relativamente ao programa de erradicação da brucelose dos bovinos anteriormente referido.

A brucelose em pequenos ruminantes é causada pela *Brucella melitensis* que afeta ovinos, caprinos, humanos e ocasionalmente bovinos. Existe ainda outra espécie, a *Brucella ovis*, que afeta apenas os ovinos. Provoca, tal como nos bovinos, infertilidade nos machos devido a epididimites, aborto nas fêmeas e mortes neonatais. A sua distribuição geográfica é mais restrita que a *Brucella abortus*, tendo como área primária de ocorrência a região do mediterrâneo, incluindo o sul da Europa.

A prevalência da doença varia entre países e regiões, tendo diminuído na última década, devido à utilização da Vacina REV-1 (Radostits *et al.*, 2006b).

Das três espécies, aquela mais invasiva em seres humanos é a *Brucella melitensis*, causando uma doença debilitante e de longa duração, conhecida como a febre-de-Malta (Radostits *et al.*, 2006b).

As regras do programa de controlo e erradicação da brucelose de pequenos ruminantes são regidas pelo mesmo regulamento referido para o programa dos bovinos, o Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro.

Quanto à classificação do estatuto sanitário, o procedimento é similar àquele verificado nos bovinos, havendo, todavia, algumas diferenças relativamente a regras, decisões e apreciações.

Na Figura 3 está representado resumidamente em esquema o controlo e a classificação do estatuto sanitário das explorações referente à brucelose de pequenos ruminantes e condicionantes que justifiquem a sua transição (DGAV, 2015d).

BRUCELOSE PEQUENOS RUMINANTES – FLUXOGRAMA DE ESTATUTOS SANITÁRIOS

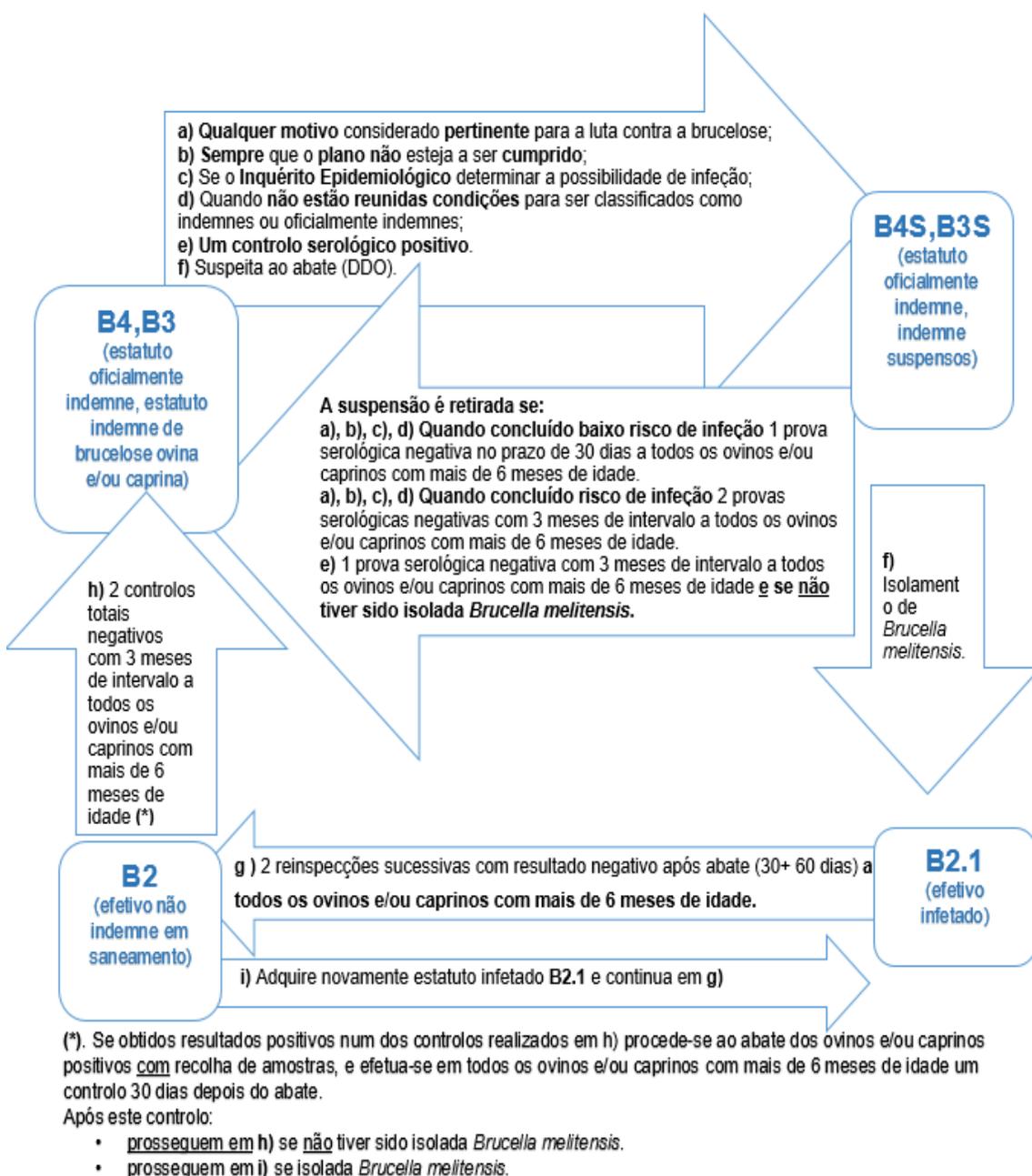


Figura 3 – Fluxograma dos estatutos sanitários para a brucelose de pequenos ruminantes
 (Adaptado de DGAV, 2015d).

Segundo o Anexo I, Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro, nos pequenos ruminantes o rastreio da brucelose pode ser efetuado por amostragem representativa do rebanho ou à totalidade, estando dependente do estatuto da exploração ou da área epidemiológica. Em explorações B3 ou B4, nas áreas correspondentes, no mínimo, a uma freguesia e, no máximo, a um conjunto de concelhos, onde 99,8% dos efetivos de pequenos ruminantes forem indemnes, B3, ou oficialmente indemnes, B4, estes efetivos podem manter o seu estatuto, desde que seja controlada uma fração representativa da população de ovinos e caprinos com idade superior a seis meses (18 meses, no caso dos vacinados), conforme abaixo se explica, com resultados negativos nos testes serológicos realizados. Em explorações B3 ou B4 que excedam os 0,2%, o rastreio é feito à totalidade do efetivo com mais de seis meses de idade.

Para explorações B2 e B2.1, o rastreio é aplicado à totalidade a animais com idade superior a seis meses, com um controlo sorológico regular, efetuado entre intervalos mínimos de três meses (DGAV, 2015d).

A amostragem de que é alvo o controlo serológico é determinada da seguinte forma (Decreto-Lei n.º 244/2000, de 27 de setembro):

- A todos os animais machos não castrados, com mais de seis meses de idade;
- A todos os animais introduzidos no efetivo desde o controlo anterior, incluindo todas as fêmeas com mais de seis meses de idade, nascidas ou não na exploração, que no rastreio anterior não estavam presentes ou estavam, mas não tinham idade elegível para o mesmo (não devendo ser contabilizadas nos 25% das fêmeas em idade reprodutiva);
- A 25% das fêmeas em idade reprodutiva, sem que esse número possa ser inferior a 50 animais por efetivo. Nos efetivos onde existem menos de 50 destas fêmeas, todas elas deverão ser controladas.

No que respeita às regras de movimentação de animais relativamente a explorações de ovinos e caprinos quando o estatuto do efetivo é B3 e B4, só é permitida quando a exploração para o qual vão ser transferidos também sejam B3 e B4 de brucelose, ficando esta movimentação dependente de regras e normas que constam de um regulamento sanitário concebido pelos serviços veterinários das regiões onde esta prática é utilizada, garantindo as seguintes regras:

- Identificação dos animais conforme a legislação em vigor;
- Animais sem sinais de outras doenças (parasitária ou infetocontagiosa);
- Animais provenientes de explorações e áreas sem restrições;
- Animais B3 ou B4, sujeitos a um controlo serológico há menos de seis meses, ou terem sido feitos TPM nos 30 dias que antecedem a mesma (DGAV, 2015d).

Para explorações de ovinos e caprinos em que o estatuto do efetivo seja B2.1, as regras de movimentação são:

- A interdição de movimentos, exceto animais seronegativos que se destinem a abate imediato, sob controlo oficial e acompanhado da guia sanitária de circulação emitida pela DSAVR (DGAV, 2015d).

Na brucelose dos pequenos ruminantes estão definidas as seguintes regras sanitárias para 2016:

- A idade mínima dos animais a rastrear é de seis meses, ou de três meses, no caso dos animais vacinados com REV-1;
- As provas a utilizar no rastreio são iguais às dos bovinos (DGAV, 2016d).

No que concerne à vacinação nas espécies ovina e caprina, esta é permitida, ao contrário dos bovinos, sendo realizada com a estirpe vacinal *Brucella melitensis* REV-1 e exigido o cumprimento de alguns requisitos, nomeadamente (Anexo I, Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro):

- Bom estado de desenvolvimento e ausência de sinais inequívocos de debilidade, designadamente parasitismo, magreza ou atividade sexual em fêmeas com idades entre três a seis meses;
- Imunização com vacina REV-1 a todas as fêmeas adultas com mais de seis meses de idade;
- Identificação por aposição de tatuagem no meio da face interna do pavilhão auricular esquerdo ou na face interna da prega da virilha esquerda (para os animais sem orelha esquerda) de todos os animais vacinados, conforme normas difundidas pela DGAV, sendo sujeitos a controlo serológico simultâneo ou efetuado há menos de 30 dias;
- Separação dos animais vacinados do restante efetivo, nomeadamente dos machos, num período de 30 dias.

A vacinação com REV-1 é efetuada em animais entre três a seis meses de idade, juntamente com uma prova serológica prévia. Estes animais passam a ser incluídos no rastreio da exploração a partir dos 18 meses de idade após a vacinação. Esta é efetuada em animais jovens por via conjuntival, estando interdita a aplicação cutânea. A deliberação do término da vacinação ficará subjugada pela DGAV e nunca antes de decorrido, pelo menos, um período de cinco anos, findados os quais serão sujeitos a reavaliação por períodos iguais. As explorações a vacinar devem ser estabelecidas anualmente pela DSAVR junto das OPP, devendo qualquer alteração posterior ser previamente aprovada pela DSAVR (DGAV, 2015d).

3.2 Ações profiláticas facultativas

As ações de rastreio facultativo que foram praticadas pela Clínica Veterinária Vetmanos durante o período de estágio foram as vacinações e as desparasitações.

As doenças são muitas vezes motivo de rastreio devido à sua grande importância na produção e bem-estar animal da exploração, podendo ser, entre outras, de origem infecciosa ou parasitária. As perdas económicas provocadas pela ocorrência destas doenças numa exploração são significativamente elevadas.

Durante o estágio grande parte dos planos de vacinação e desparasitação foram praticados e definidos em conjunto com uma série de fatores, entre eles o conhecimento das condições locais, a região, o encabeçamento, as espécies de animais residentes na exploração e a aferição dos custos vs. benefícios a determinar pelo médico veterinário e pelo produtor.

Como já foi anteriormente referido, estas ações são maioritariamente executadas em conjunto com o saneamento, no entanto, também foram executadas vacinações isoladas do saneamento, embora tenham sido em menor número.

3.2.1 Vacinação

Existem dois tipos de imunização, a passiva e ativa. A vacinação, inserida na imunização ativa, é o método mais eficaz e de baixos custos para o controlo de doenças infecciosas, sendo usual a sua administração por injeção subcutânea (SC) ou intramuscular (IM). Esta abordagem é ideal para doenças nas quais a imunidade sistémica exerce um papel significativo. Em doenças em que a imunidade local é relevante, a administração de vacinas é, porventura, mais adequada no local de porta de entrada, como o caso das vacinas intranasais, que estão disponíveis para o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (*infectious bovine rinotracheitis virus* - IBRV) (Tizard, 2013).

Existem vacinas monovalentes e polivalentes, assim denominadas mediante a capacidade de imunização contra um ou vários agentes, respetivamente. Atualmente é comum a utilização de combinações de organismos numa só vacina (as designadas polivalentes), sendo exemplo o caso das doenças respiratórias em bovinos. Quanto ao protocolo vacinal, a maioria das vacinas requer um estímulo inicial (*i.e.*, primovacinação), no qual se inicia o desenvolvimento de uma resposta imune protetora, e posteriormente as revacinações (referidas como doses de reforço), em intervalos que garantam a permanência do estado de imunidade contra o(s) agente(s) em causa (Tizard, 2013).

Os neonatos das espécies bovina, ovina e caprina estão protegidos de forma passiva pelos Ac maternos colostrais após o nascimento. Durante algumas semanas o título de Ac maternos encontra-se a um nível capaz de interferir com a vacinação, razão pela qual esta não deve ser administrada aquando do nascimento. O ideal é, portanto, vacinar a mãe nos períodos finais da gestação (Figura 4), para que altos níveis de Ac estejam presentes aquando da ingestão do colostro pelos neonatos (Tizard, 2013).

A imunização ativa (*i.e.*, vacinação) será mais eficaz na ausência de elementos conferentes de imunidade passiva, no entanto, mediante a imprevisibilidade do momento da perda de imunização materna, as etapas iniciais de vacinação exigem uma administração de múltiplas doses, como já referido anteriormente. O momento ideal para as primeiras vacinações também deve ser determinado pela pré-existência de doença, como aquelas sazonais e para as quais as vacinas devem ser administradas antes dos previsíveis e eventuais surtos (Tizard, 2013).

A revacinação anual é prática comum na maioria dos protocolos vacinais em medicina veterinária e permite a observação regular do animal pelo médico veterinário (Tizard, 2013).

No Gráfico 2, relativamente à vacinação de bovinos, estão representados os planos vacinais utilizados durante o período de estágio. São utilizadas correntemente no plano profilático dos bovinos a profilaxia das enterotoxémias (*Clostridium spp.*), agente causador de grande mortalidade em animais não vacinados e também a imunização multivalente ativa contendo todos os vírus envolvidos na síndrome respiratória bovina (SRB), a fim de reduzir os níveis de infecção e sinais clínicos causados pelo IBRV, herpesvírus bovino-1 (*bovine herpesvirus type 1 - BHV-1*), vírus parainfluenza tipo 3 (*parainfluenza-3 virus - PI-3 virus*) estirpe RLB103, vírus sincicial bovino (*Bovine respiratory syncytial virus - BRSV*) estirpe 375, leucopénia e virémia causada pelo vírus da diarreia viral bovina (*Bovine viral diarrhea virus - BVDV*), estirpe citopatogénica C-5960/não patogénica C-6309. No entanto, existem também vacinas para a imunização separada de cada doença supracitada, sendo utilizadas de acordo com os problemas de cada exploração. No que respeita às restantes vacinações, foram efetuadas consoante as necessidades de cada exploração.

Conforme o Gráfico 2, foram realizadas, no total, 6327 atos vacinais, correspondendo 91% (n=5757) à prevenção das clostridioses, devendo-se esta percentagem essencialmente ao facto desta imunização ser efetuada no momento do saneamento anual. Relativamente às restantes ações profiláticas, 8% (n=504) foram executadas com fim à prevenção do SRB e na sequência da insurgência de sinais clínicos em alguns animais e 1% (n=66) para a prevenção da língua azul ou febre catarral ovina (serotipo 1).

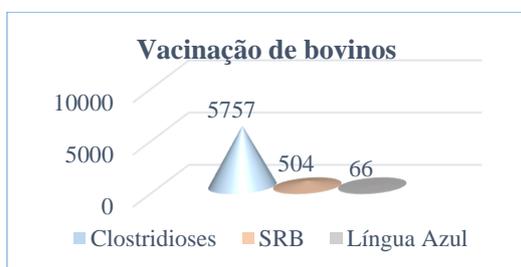


Gráfico 2 – Diferentes planos de ação profilática facultativa em bovinos em frequência absoluta total (n=6327) e frequência relativa (%).



Figura 4 – Vacinação de um bovino (Autor).

No Gráfico 3, relativamente à vacinação de ovinos e caprinos, estão representados os planos vacinais praticados durante o período de estágio. Como prática corrente no plano profilático dos ovinos e caprinos, estão a profilaxia das enterotoxémias (*Clostridium* spp.) e das pasteureloses (*Pasteurella multocida* tipo I de Roberts). As restantes vacinações, tal como na espécie bovina, foram efetuadas consoante as necessidades de cada exploração.

Foram efetuadas, no total, 6778 vacinações, correspondendo 70,67% (n=4471), aos ovinos e 36,46% (n=2307) aos caprinos. Quanto à imunização dos ovinos, para as clostridioses/pasteureloses foram realizados 3661 (81,88%) atos vacinais, 800 (17,89%) imunizações protegendo contra a espécie *Chlamydia abortus* e também contra a *Salmonella abortus ovis*, ambas responsáveis por aborto. Realizaram-se ainda 10 vacinações contra a agalaxia contagiosa (*Mycoplasma agalactiae*) correspondendo a 0,22% do total de vacinações efetuadas em ovinos. No que respeita à imunização nos caprinos, para as clostridioses/pasteureloses foram realizadas 2217 (96,10%) vacinações, 40 (1,73%) contra a infecção pela espécie *Chlamydia abortus* e a *Salmonella abortus ovis* e, por fim, 50 vacinações contra o ectima contagioso (*Parapoxvirus*), correspondentes a 2,17%.

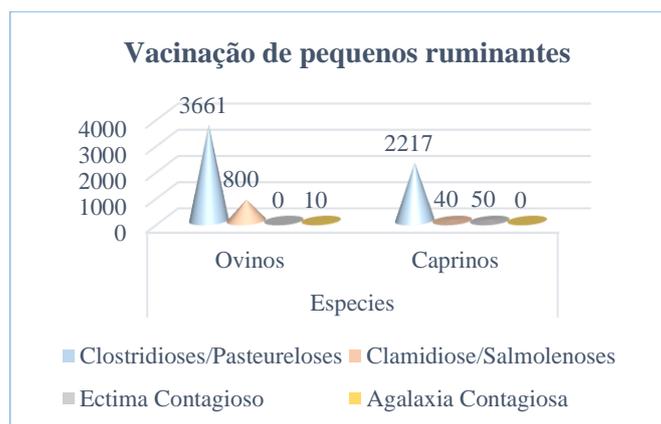


Gráfico 3 – Diferentes planos de ação profilática facultativa em ovinos e caprinos em frequência absoluta total (n=6778) e frequência relativa (%).

Por fim, foram também vacinados 33 suínos contra a doença de Aujeszky ou pseudorraiva (*Herpesvirus*) e realizadas 32 vacinações antirrábicas a canídeos.

3.2.2 Desparasitação

As doenças parasitárias estão entre as principais causas de problemas observados na sanidade dos animais de interesse zootécnico e são responsáveis por elevadas perdas económicas, atribuídas principalmente a atrasos no desenvolvimento, em animais jovens, e a baixos índices de produtividade em animais adultos. Existem alguns fatores de risco que potenciam o parasitismo, como o stresse, o estado nutricional, o manejo, a não ingestão de

colostro e o estado imunitário, havendo, desta forma, a necessidade de evitar todos estes fatores de risco, reduzindo os níveis de parasitismo (Taylor *et al.*, 2007).

As acções de desparasitação (Figura 5) são efetuadas com o objetivo de protreger contra parasitas externos e internos, adequando o desparasitante às condições da exploração e à espécie em causa. As mesmas decorreram no exercício do estágio, normalmente durante os trabalhos de rastreio obrigatório anual, salvo algumas excepções em que foram efetuadas mais do que uma desparasitação, consoante as necessidades da exploração em causa.

Durante o estágio um total de 5797 desparasitações foram efetuadas em bovinos, grande parte delas aquando do saneamento. Destas intervenções, 5268 são referentes a animais adultos e as restantes 529 a animais jovens com destino à engorda.

Os princípios ativos utilizados em bovinos de carne e de leite não lactantes foram a moxidectina, a ivermectina e a eprinomectina, todas elas lactonas macrocíclicas com ação principalmente contra nemátodes gastrointestinais, pulmonares e oculares, ácaros e piolhos. Foi também utilizado o clorsulon, com espectro abrangente aos trematodes (*Fasciola hepatica*), em associação com a ivermectina. Todos os desparasitantes utilizados em bovinos foram de administração subcutânea, à excepção da eprinomectina, sendo esta de aplicação *pour-on*, com especial interesse de utilização em bovinos em lactação, devido ao intervalo de segurança no leite ser de zero dias. Apenas em duas explorações foram aplicados desparasitantes separadamente do saneamento anual, numa em 240 animais adultos e na outra em 45 animais jovens com destino à engorda, por opção dos próprios produtores.

Durante o estágio foram efetuadas um total de 5978 desparasitações em pequenos ruminantes, 3661 realizadas em ovinos aquando do saneamento anual e 2317 em caprinos, das quais 2217 foram executadas em conjunto com o saneamento e as restantes 100 após consulta por motivos de doença.

Para os pequenos ruminantes foi utilizada a eprinomectina, apenas em fêmeas em lactação, como já anteriormente referido. Na maioria das desparasitações foi usado o mebendazol, um benzimidazol (com efeito anti-helmintico) de amplo espectro em associação com o closantel.

Numa exploração apenas, por motivo de doença, foram efetuadas desparasitações separadamente do saneamento anual (n=100). Nesta mesma exploração, após detetados pelo proprietário alguns sinais de doença, o médico veterinário foi contactado para proceder ao diagnóstico. Foram efetuadas colheitas de fezes a vários animais da espécie caprina (Figura 6), cuja história pregressa implicava fraqueza, mortalidade neonatal, anorexia, depauperamento da condição corporal, dor abdominal, hipertremia, diarreia de coloração amarela-esverdeada com vestígios de sangue (*i.e.*, hematoquésia) e desidratação. Como tal, essas colheitas foram enviadas para o Laboratório Veterinário de Montemor-o-Novo – COPRAPEC, para exames coprológicos. Os exames coprológicos utilizados para o diagnóstico foram a pesquisa por via da flutuação, pelo método qualitativo de Willis, para pesquisa de formas parasitárias leves, bem como ovos de nemátodes e cestodes e também oocistos de protozoários e pelo método

quantitativo, através da utilização da câmara de *McMaster*. Após análise, os resultados ditaram um grau de infecção moderada (≥ 500 e < 1500 OPG), de *Eimeria spp.*, sendo efetuada posteriormente uma desparasitação oral com um coccidiostático, o diclazuril. Na Figura 6 está representado um caprino da exploração em causa, com diarreia causada por coccídias. Segundo alguns autores, embora os mesmos compostos utilizados para o tratamento e controlo da coccidiose em ovinos devam ser eficazes em caprinos, poucos dados ou informação estão disponíveis sobre a eficácia desses compostos nesta última espécie (Taylor *et al.*, 2007).



Figura 5 – Desparasitação de ovinos
(Autor).



Figura 6 – Diarreia causada por coccídeos em um caprino (Autor).

4. Clínica médica e cirúrgica de espécies pecuárias

Esta secção abrange as várias intervenções realizadas na área clínica, nomeadamente, médica e cirúrgica durante o estágio. Conforme referido anteriormente, a apresentação conjunta justifica-se pelo reduzido número de procedimentos cirúrgicos, neste caso um, eliminando a necessidade de separar as duas atividades clínicas.

Foram conceptualizados cinco sistemas orgânicos nesta secção, dividindo-se em sistema digestivo, sistema respiratório, sistema reprodutor, sistema músculo-esquelético e pele e anexos. Alguns dos casos clínicos realizados, não enquadráveis em nenhuma das categorias acima referidas, foram enquadrados na categoria “outras doenças” e “outros procedimentos”. Os cinco sistemas são somente referentes à espécie bovina. Os pequenos ruminantes estão inseridos nas subsecções “outras doenças” e “outros procedimentos”, as quais não são exclusivas destas espécies, havendo também referência aos bovinos.

A categoria “outras doenças”, bem como todos os sistemas à exceção da pele e anexos estão acompanhados de uma revisão bibliográfica sobre um tema. Em quatro dos sistemas, a revisão debruça-se na entidade clínica registada como mais frequente. Os restantes não obedecem a este critério. Na pele e anexos foi abordado o tema das lacerações/traumatismos, por não haver uma grande diferença na frequência relativamente à outra afeição contemplada e adicionalmente pelo acompanhamento excepcional dos casos registados. Na subsecção relativa

a “outras doenças”, que inclui estritamente doenças infecciosas e parasitárias, o tema tratado foi o ectima contagioso. Também este não foi o mais comum, contudo, justifica-se a escolha por se tratar de uma zoonose e por ter sido a afeção mais evidente registada em caprinos.

Ainda inserido nesta secção está o controlo reprodutivo, sendo o último tema abordado. Seria espectável que este estivesse contemplado no sistema reprodutor, no entanto, assim não o é para que possa ser dado o devido destaque a esta componente médico-veterinária de elevada importância na atividade da Clínica Veterinária Vetmanos.

A subsecção referente a outros procedimentos, nomeadamente, coprológicos, serológicos e anatomopatológicos não é acompanhada de revisão, uma vez que os procedimentos em causa foram relativamente reduzidos em número e porque todos eles foram realizados em laboratório externo.

No campo a abordagem diagnóstica é usualmente efetuada através do exame físico e também com recurso a instrumentos, como o estetoscópio, termómetro, luvas de palpação, tubos para entubação nasogástrica, entre outros. A reduzida utilização de meios de diagnóstico auxiliar, nomeadamente laboratoriais, prende-se, na maioria das vezes, com os custos inerentes aos mesmos, suscitando alguma relutância por parte dos produtores e condicionando a decisão mediante o valor económico dos animais.

O Gráfico 4 ilustra todas as intervenções na clínica médica e cirúrgica por espécie animal realizadas durante o período de estágio, incluindo o controlo reprodutivo. Analisando o gráfico, verificar-se que a espécie bovina foi objeto da maior parte das intervenções efetuadas. Foram seguidos, no total, 927 casos clínicos, dos quais 771 (83%) são pertencentes aos bovinos, 57 (6%) aos ovinos e 99 (11%) pertencentes aos caprinos.

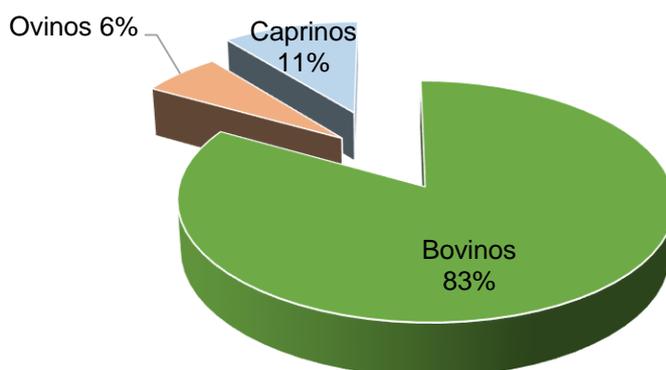


Gráfico 4 – Distribuição das intervenções efetuadas na clínica médica e cirúrgica por espécie animal, em frequência absoluta total (n=927) e frequência relativa (%).

Os bovinos foram a espécie com maior representatividade durante o estágio, quer em variedade, quer em quantidade de casos clínicos. Isto deve-se não somente ao acaso, mas também pelo fato desta espécie ter um valor comercial individual superior em relação às

restantes espécies de ruminantes e por existirem em maior número na área geográfica de atividade da Clínica Veterinária Vetmanos.

No Gráfico 5 está explicitada a distribuição por sistemas e áreas clínicas específicas em frequência absoluta (n), de todas as consultas realizadas em bovinos, ovinos e caprinos. Como se verifica, o sistema reprodutor o controlo reprodutivo e outras doenças englobam grande parte das intervenções realizadas, pertencendo 691 (75%) ao controlo reprodutivo, 194 casos referentes a outras doenças (21%) e 13 casos (1,4%) ao sistema reprodutor.

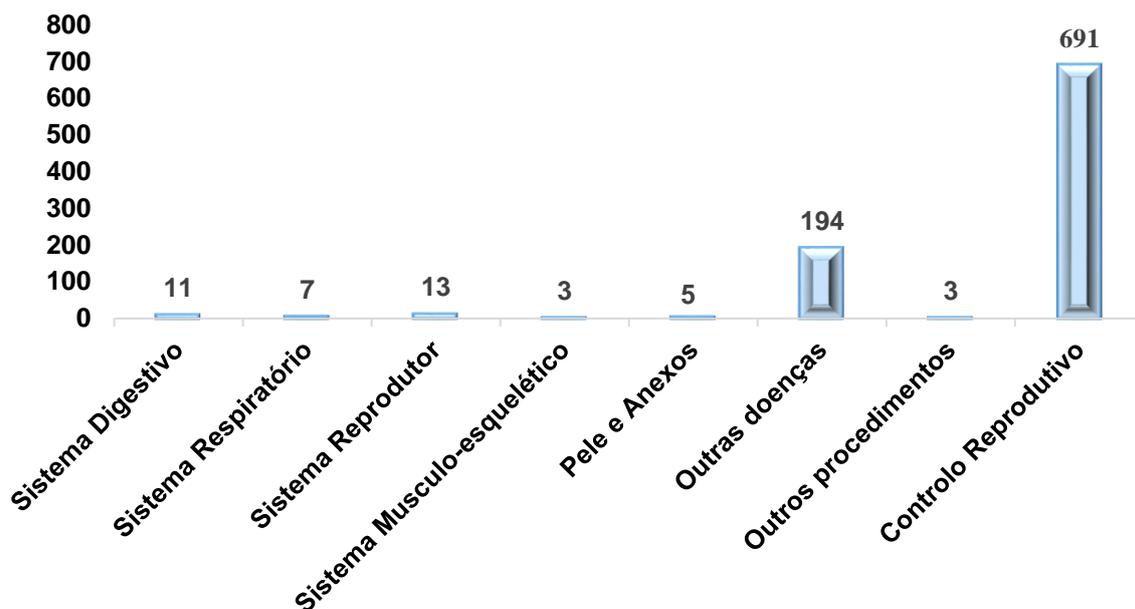


Gráfico 5 – Consultas realizadas em bovinos por sistemas e áreas clínicas em frequência absoluta (n= 927).

4.1 Sistema digestivo

Na Tabela 2 estão demonstradas as intervenções realizadas em bovinos referentes ao aparelho digestivo, podendo verificar-se que, no total, foram realizadas apenas 11 intervenções, correspondendo 73% (n=8) a diarreias neonatais, 9% (n=1) a diarreias em adultos e 18% (n=2) a indigestões.

Tabela 2 - Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), das entidades clínicas ao nível do sistema digestivo em bovinos.

| Aparelho Digestivo | Entidade clínica | N.º de casos | FR (%) |
|--------------------|-----------------------------|--------------|--------|
| | Diarreia Neonatal | 8 | 72,73 |
| | Diarreia em bovinos adultos | 1 | 9,09 |
| | Indigestão | 2 | 18,18 |
| | Total | 11 | |

A diarreia caracteriza-se pela produção frequente de fezes líquidas com conteúdo seco inferior a 10% (Millemann, 2009).

A diarreia neonatal é a doença mais importante em vitelos, resultando em grandes perdas económicas associadas ao tratamento, impacto nas performances de crescimento e com elevada mortalidade. É uma doença multifatorial que advém da combinação de vários fatores, pelo que a sobrevivência do recém-nascido depende de uma boa avaliação e gestão desses fatores de risco (Millemann, 2009).

A transferência de imunidade passiva aos neonatos é de elevada importância, devendo ser garantida a sua ocorrência. Adicionalmente e também importante é a nutrição, tanto da mãe como do neonato e uma gestão ambiental cuidada da exploração. O maneio das mães no periparto é fundamental, incluindo o seu estado vacinal, pois o recém-nascido irá beneficiar, através do colostro, dos Ac maternos, adquirindo imunidade contra os agentes contemplados nessas vacinas (House *et al.*, 2015).

A existência de doença, ou não, vai depender de fatores de defesa e de agressão a que estes animais vão estar sujeitos (Bettencourt & Romão, 2013).

A diarreia neonatal ocorre principalmente em bezerros com menos de seis semanas de idade, com maior frequência no inverno e em regime intensivo. Os bovinos adultos são responsáveis por grande parte da contaminação por estes agentes patogénicos, mas também incluindo outros animais domésticos e selvagens, razão pela qual durante o período pré-parto e pós-parto as fêmeas deverão estar separadas dos restantes, em ambientes devidamente controlados, evitando, dessa forma, alguns fatores agressivos, contribuindo para a sobrevivência do neonato (Millemann, 2009).

Os agentes etiológicos responsáveis pelas diarreias neonatais são variados, sendo os mais comuns as bactérias, principalmente a estirpe de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) e a *Salmonella* spp., parasitas como o *Cryptosporidium*, protozoário ubíquo e muito resistente no meio ambiente e, por fim, vírus, de entre os quais o rotavírus e o coronavírus, sendo o primeiro mais frequente que o segundo. Qualquer que seja o agente patogénico responsável (desde o nascimento até às três a quatro semanas de vida), a diarreia é frequentemente associada a uma toxemia e/ou septicémia, agravando o prognóstico (Millemann, 2009).

Os sinais clínicos da diarreia são normalmente de fácil diagnóstico, mas não específicos. Contudo, o aspeto da diarreia pode ajudar na apreciação da etiologia bem como a idade dos animais, pois a incidência dos agentes está fortemente ligada a esta, permitindo perceber um agente cujo envolvimento seja mais provável (House *et al.*, 2015).

Na Tabela 3 estão representados dados de referência da incidência dos agentes etiológicos em função das idades dos vitelos e o tipo de diarreia neonatal (Adaptado de Stilwell 2013).

Tabela 3 – Incidência dos agentes etiológicos em função das idades dos vitelos e tipo de diarreias neonatais (Adaptado de Stilwell, 2013).

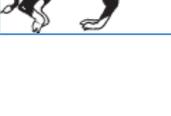
| Agentes etiológicos | Idade (dias) | Tipo de diarreia |
|------------------------------------|---------------------|--|
| <i>E. Coli</i> (ETEC) | 1-5 | Hipersecreção (toxina com efeito osmótico) |
| <i>Cryptosporidium</i> spp. | 7-21 | Má-absorção (atrofia das vilosidades) |
| Coronavírus | 7-15 | Má-absorção (atrofia das vilosidades) |
| Rotavírus | 7-21 | Má-absorção (atrofia das vilosidades) |
| <i>Salmonella</i> spp. | Variável > 7 | Mista, mas sobretudo por má-absorção |
| <i>Clostridium</i> spp. | > 15 | Hipersecretora (conteúdo hiperosmótico) |
| Alimentar | Variável | Hiperosmótica, Alérgica. |

Geralmente, qualquer que seja o mecanismo fisiológico ou o agente envolvido na diarreia, os animais afetados apresentam síndrome caracterizada por (Stilwell, 2013):

- Desidratação de 5% a 12%, sendo a mesma responsável por hipoperfusão e hipoxia dos tecidos, sobretudo ao nível do sistema nervoso central (SNC);
- Acidose metabólica, devida a perdas fecais de bicarbonato, mas principalmente pela absorção de ácido láctico (isômero D), que é produzido pela fermentação intestinal pelos lactobacilos;
- Hipoglicemia devido à diminuição da absorção intestinal;
- Hipercalemia paradoxal, porque, apesar de existirem perdas de potássio (K^+) devido à existência de acidose metabólica, há redução da atividade da bomba de sódio e consequente transporte do íon de potássio para o interior da célula.

A Tabela 4 representa a relação do grau de desidratação em conjunto com os sinais clínicos da diarreia neonatal em bezerros e valores de referência médios do equilíbrio ácido-base.

Tabela 4 – Relação do grau de desidratação com os sinais clínicos da diarreia neonatal em bezerros e valores de referência médios do equilíbrio ácido-base (Adaptado de Stilwell, 2013 & Gunn *et al.*, 2009).

| Grau de desidratação |  | Sinais clínicos | Défice de base provável (mEq/l) |
|----------------------|---|---|---------------------------------|
| < 5% |  | Em estação, ligeiramente deprimido; Fraco; Mucosas húmidas; Reflexo de sucção normal; Redução do apetite; Oligúria. | < 5 mEq/l |
| 6-8% |  | Muito deprimido; Enoftalmia discreta; Mucosas secas, prega de pele 2-3s; Relutância em levantar-se, ainda apresentando reflexo de sucção. | 5-10 mEq/l |
| 8-12% |  | Prostrado; Enoftalmia muito marcada; Mucosas secas; Extremidades frias, pouca reação a estímulos; Prega de pele >4s. | 10-15 mEq/l |
| >12% |  | Enoftalmia severa. Prega de pele > 6s. Sinais de choque e/ou morte. | 15-20 mEq/l |

A desidratação e a acidose são as principais causas de morte. A relação do grau de desidratação do bezerro com os sinais clínicos são aspetos importantes a avaliar com precisão para uma boa aplicação da terapêutica (Stilwell, 2013).

Na maioria dos casos, a intervenção pelo médico veterinário é tardia, encontrando-se a maioria dos animais com um grau de desidratação superior a 8%, em decúbito esternal, alguns em decúbito lateral, prostrados, com enoftalmia marcada, extremidades frias e anoréticos, sendo o acesso venoso difícil em muitos deles. Assim, e uma vez que a terapia inicial e essencial passa pela administração de fluidos, como forma de reversão da desidratação e efeitos secundários, a falta de acesso venoso compromete a qualidade do tratamento e, portanto, a vida do animal.

Na Clínica Veterinária Vetmanos, a abordagem utilizada para o diagnóstico e manejo da diarreia neonatal em bezerros é efetuada primeiramente pela avaliação da idade dos animais e, seguidamente, pela avaliação das constantes vitais, tais como, a temperatura ($39,6^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$), frequência cardíaca (118 ± 36 batimentos por minuto), frequência respiratória (49 ± 12 respirações por minuto), o grau de desidratação [cor e aspeto das mucosas, posição do globo ocular, elasticidade cutânea (tempo de retração da prega cutânea - TRPC) e temperatura das extremidades] e pela avaliação do equilíbrio ácido-base (capacidade do bezerro manter a sucção). Depois de todas as informações recolhidas ao exame físico, aplica-se a terapêutica mais indicada.

O tratamento inicia-se com a reidratação dos animais com fluidoterapia oral ou parenteral (Figura 7), dependendo sempre do quadro clínico do neonato, com fluidos isotônicos (Lactato de Ringer e NaCl), em associação com um soro suplementado com glicose a 2% com o objetivo de contrariar a hipovolemia, repor os desequilíbrios eletrolíticos e reverter a hipoglicemia. Em seguida, procede-se à correção da acidose metabólica, com a administração de bicarbonato de sódio por via endovenosa e também pela administração de um complexo vitamínico e mineral (Duphalyte®), para compensação de algumas perdas geradas pela diarreia, promovendo a regeneração do epitélio intestinal.

A seleção da antibioterapia aplicada nos animais com diarreia neonatal é condicionada pela idade e aspecto da diarreia, contudo na prática clínica durante o estágio, foram utilizados a enrofloxacin, devido a suspeita de *E.coli* e *Salmonella* spp., e as sulfamidas e trimetoprim para as quais a *E. coli* é sensível. Em alguns casos, foram também administrados anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), com o objetivo de promover o aumento de ingestão de comida, diminuir a inflamação e alguns sinais de dor.



Figura 7 – Fluidoterapia a um bezerro com diarreia neonatal (Autor).

O manejo dos vitelos afetados requer impreterível e posteriormente uma especial atenção, pois existe a necessidade de lhes promover condições que proporcionem algum conforto. Os animais deverão estar em local limpo e bem ventilado, camas confortáveis e quentes, devendo alternar-se frequentemente a posição e, a partir do momento em que o neonato demonstre sinais de recuperação, deverá ser-lhe oferecido leite em pequenas quantidades e de forma repartida, sempre com o especial cuidado de manter com a devida assepsia o material onde ele se alimenta, para que o mesmo possa recuperar com a maior celeridade possível (Stilwell, 2013). Porém, o mais importante para a prevenção das diarreias consiste no manejo do colostro. Os recém-nascidos estão mais suscetíveis a várias doenças aquando do nascimento, bem como todos os fatores agressivos, a transferência de imunidade passiva materna através do colostro bem como dos leites de substituição são de elevada

importância, uma vez que a placenta bovina não permite a passagem de *Ac in utero* (Stilwell, 2013).

4.2 Sistema respiratório

No que respeita ao aparelho respiratório estão representados na Tabela 5 as intervenções realizadas em bovinos referentes a afeções do trato respiratório inferior, mais concretamente pneumonias, totalizando apenas sete casos, correspondendo 71% (n=5) a pneumonias em vitelos e 29% (n=2) a pneumonia em bovinos adultos.

Como verificável, o número de casos é reduzido, sendo a maioria referente a pneumonias em vitelos, nomeadamente em animais de engorda em regime intensivo

Tabela 5 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), das entidades clínicas a nível do sistema respiratório em bovinos.

| Aparelho Respiratório | Entidade clínica | N.º de casos | FR (%) |
|-----------------------|------------------------------|--------------|--------|
| | Pneumonia em vitelos | 5 | 71,43 |
| | Pneumonia em bovinos adultos | 2 | 28,57 |
| | Total | 7 | |

As doenças respiratórias em bovinos são geralmente frequentes e com alguma gravidade mediante fatores inerentes à fisiologia da espécie e manejo da mesma. Relativamente aos fatores fisiológico, mais relevantes, constam em primeiro plano (Stilwell, 2013):

- A imperfeição da capacidade respiratória face à metabólica, motivo pelo qual resulta o elevado impacto das pequenas perdas de parênquima pulmonar funcional;
- A frequência respiratória consideravelmente elevada, simplificando o transporte de agentes agressivos pelos aerossóis;
- A defesa do pulmão acoplada à velocidade de transporte pelo aparelho muco-ciliar comparativamente mais lenta do que noutras espécies (em aproximadamente 50%), mesmo naqueles indivíduos de tamanho idêntico;
- A elevada espessura e reduzida elasticidade dos septos interalveolares, dificultando a recuperação em processos inflamatórios;
- O estreitamento acentuado da árvore brônquica, terminando os alvéolos em fundo de saco no final dos bronquíolos;
- A reduzida população de macrófagos alveolares e a suscetibilidade acrescida em relação a espécies como *Mannheimia haemolytica* (agente etiológico da febre dos transportes).

Em segundo plano, estão todos os fatores inerentes ao manejo da exploração. Estes são discutidos posteriormente.

Os sinais clínicos quase sempre presentes são a dispneia, rinorreia e tosse, não sendo exclusivos do trato respiratório. É importante para o diagnóstico distinguir as doenças que afetam somente o trato respiratório superior, inferior ou ambos. Ao exame físico é possível fazer essa diferenciação com o auxílio do estetoscópio. A distinção de corrimento nasal uni ou bilateral e do fluxo de ar é também muito importante para o diagnóstico (Stilwell, 2013).

A broncopneumonia em bezerras, também designada por pneumonia enzoótica, é a afeção típica da doença respiratória bovina, síndrome com etiologia multifatorial, envolvendo geralmente fatores que concernem o hospedeiro, o ambiente e os agentes infecciosos de origem viral e bacteriana (Woolums, 2015).

As bactérias frequentemente implicadas nesta doença são a *Mannhemia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis*, já os vírus mais frequentes, são o herpesvírus bovino 1, vírus sincicial bovino, vírus da parainfluenza 3, coronavírus e o BVDV, vírus que cumpre um papel muito marcante, causando imunodepressão em bovinos e tornando-os suscetíveis à agressão por outros agentes. Na verdade, todos eles podem atuar isoladamente, porém, as infecções mistas são geralmente frequentes (Woolums, 2015).

Esta síndrome é especialmente grave em animais de engorda, sendo responsável por mais de 70% de mortes ocorridas devido a doenças do aparelho respiratório em animais jovens (Stilwell, 2013).

O tratamento da pneumonia com antibacterianos apenas deve aplicar-se a animais que demonstrem sinais clínicos sugestivos de doença (Stilwell, 2013). Este consistiu, numa primeira abordagem, no isolamento do animal num local confortável e limpo. A antibioterapia preconizada constou de florfenicol (20 mg/kg), cujo espectro de ação abrange grande parte dos agentes implicados na doença respiratória bovina, nomeadamente *Mannhemia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis* (Plumb, 2008).

O manejo preventivo focou-se na eliminação dos fatores de risco que a ele dizem respeito. Com este fim aconselharam-se aos proprietários o controlo da ingestão do colostro pelos neonatos, a redução de fatores de stresse, desmamando os novilhos de carne alguns dias anteriores ao transporte, o qual deve ser realizado sob as condições adequadas, a redução do encabeçamento, o agrupamento por idades, uma adequada alimentação, a limpeza devida dos parques e a evicção de qualquer outro fator de stresse (Stilwell, 2013).

O tratamento com AINEs é aconselhado, mas com alguma moderação, devido à eventual imunossupressão, o que facilita o desenvolvimento da infeção (Stilwell, 2013).

A aplicação do protocolo vacinal contra a SRB faz parte de alguns estudos a título preventivo, que demonstram resultados contraditórios, aclamando a ideia de que os fatores ambientais são de verdadeira importância (Stilwell, 2013).

4.3 Sistema reprodutor

No que respeita ao aparelho reprodutor, na Tabela 6 estão representadas as intervenções realizadas em bovinos referentes a afeções do aparelho reprodutor. Verifica-se que este sistema totalizou 13 casos, correspondendo 46% (n=6) a retenção de membranas fetais, a mais frequente, 23% (n=3) a casos de distócia, 23% (n=3) a prolapso uterino e apenas 1% (n=1) a metrite.

Tabela 6 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), das entidades clínicas a nível do sistema reprodutor em bovinos.

| Aparelho Reprodutor | Entidade clínica | | N.º de casos | FR (%) |
|---------------------|------------------------------------|---------------------------------------|--------------|--------|
| | Retenção de membranas fetais (RMF) | | 6 | 46,15 |
| | Distócia | Cesariana (Torção uterina/Gigantismo) | 1 | 7,69 |
| | | Apresentação/Posição | 1 | 7,69 |
| | | Desproporção feto-maternal | 1 | 7,69 |
| | Prolapso Uterino | | 3 | 23,08 |
| | Metrite | | 1 | 7,69 |
| | Total | | 13 | |

A retenção das membranas fetais (RMF) pode caracterizar-se como a incapacidade de expulsão das membranas fetais (Zubair & Ahmad, 2014) (Figura 8). A retenção primária resulta de uma falha de despreendimento das carúnculas maternas. A retenção secundária está relacionada com fatores mecânicos, impossibilitando a sua expulsão (Eiler & Fecteau, 2007). O descolamento da placenta e a sua expulsão têm início em alterações bioquímicas e processos hormonais, podendo o distúrbio em qualquer destes processos originar a RMF (Beagley *et al.*, 2010). A expulsão fisiológica ocorre na maioria das vacas entre três a seis horas pós-parto. Se for mantida até 12 horas, caracteriza-se como o atraso da sua expulsão, e se por mais de 24 horas, como retenção das membranas fetais (Rooh *et al.*, 2013). O destacamento da placenta envolve a separação dos cotilédones fetais das carúnculas maternas sem ocorrência de soluções de continuidade nestes epitélios. Após o seu descolamento, a involução uterina é concluída em aproximadamente 39 dias em situações normais e 50 em animais com RMF (Rooh *et al.*, 2013).

Os principais fatores de risco que influenciam a RMF, interrompendo o processo normal de expulsão, são: aborto; indução do parto com PGF2 α ; distócia; cesariana; fetotomia; desequilíbrios hormonais, metabólicos e imunossupressores; gestações gemelares; partos prematuros ou tardios; causas nutricionais (carência em selénio, vitaminas E e A, β -caroteno); agentes infecciosos (BVDV); e situações de stresse (Beagley *et al.*, 2010; Rooh *et al.*, 2013; Zubair & Ahmad, 2014).

A retenção desenvolve um processo inflamatório, com acumulação de microrganismos *in utero*, resultando no posterior aumento do intervalo entre partos, diminuição da produção de leite, perdas de peso e, por vezes, em casos mais graves, no óbito (Rooh *et al.*, 2013). A metrite e a RMF estão consideravelmente correlacionadas, tendo vacas com RMF uma maior incidência (aproximadamente 53%) de metrites (Rooh *et al.*, 2013).



Figura 8 – Retenção das membranas fetais (Autor).

O objetivo do tratamento consiste em causar o descolamento precoce das membranas, reduzindo o risco de metrite, diminuir as perdas de produção de leite e diminuir a ineficiência reprodutiva (Rooh *et al.*, 2013). Existem poucas opções terapêuticas devido à sua eficácia ser questionável. Estas são baseados em evidências tradicionais, no entanto, algumas das seleções de tratamento propostas são referidas na bibliografia, como a remoção manual das membranas fetais, antibioterapia sistémica e/ou local e utilização de hormonas, não querendo isto dizer que sejam as mais recomendadas (Beagley *et al.*, 2010; Zubair & Ahmad, 2014). As hormonas usualmente preconizadas são a ocitocina e as prostaglandinas, que, embora não causem descolamento das membranas retidas, podem melhorar o desempenho reprodutivo das vacas pós-parto. (Beagley *et al.*, 2010).

O uso de antibióticos no tratamento de RMF tem revelado resultados contraditórios, contudo são utilizados para a prevenção ou tratamento de metrite (Rooh *et al.*;2013). Especulou-se que os antibióticos de uso intra-uterino (e.g., tetraciclina), controlavam o crescimento bacteriano local, todavia, através de alguns estudos conclui-se que interferem no processo normal do descolamento da placenta, com consequente libertação de metaloproteinasas, surtindo um efeito negativo sobre a fertilidade (Beagley *et al.*, 2010). O uso de antibióticos sistémicos parece ter algum benefício em casos de metrite aguda, como já discutido, caracterizada como uma das principais razões para a redução da fertilidade em vacas com RMF. Assim, em animais com metrite aguda, poderá ser administrado sistemicamente Ceftiofur, numa dose 2,2 mg/kg durante 5 dias (Beagley *et al.*, 2010).

A indução do parto com dexametasona é um fator de risco para a RMF em bovinos, com ou sem PGF2 α , ainda que o seu mecanismo não seja claro. Os glucocorticoides podem ter um efeito inibitório sobre a atividade da colagenase e inibem a síntese de PGF2 α , interferindo sobre os efeitos que esta provoca no funcionamento normal durante e pós-parto, levando a um aumento do risco da RMF (Rooh *et al.*, 2013; Beagley *et al.*, 2010). A administração de dexametasona ou cloposteroil em associação com a relaxina reduzem a incidência de RMF, devido aos efeitos da relaxina, promotores da atividade da colagenase, que vão contrariar os efeitos da dexametasona. Contudo a administração de prostaglandina em conjunto com a dexametasona reduz, mas não exclui a incidência de RMF (Beagley *et al.*, 2010).

Outra opção menos comum é a injeção de colagenase nas artérias umbilicais, que, quando aplicada 24 a 72 horas pós-parto, demonstrou causar a libertação das membranas em 85% (25 de 27 animais), no espaço de 36 horas. Esta prática é onerosa, tornando-a proibitiva (Beagley *et al.*, 2010).

A prevenção da doença é geralmente mais exequível e económica que o tratamento da mesma. As atuais recomendações para a prevenção da RMF em bovinos compreendem o bem-estar animal, limitando o stresse, e o manejo nutricional, particularmente durante o período de transição (Beagley *et al.*, 2010). A suplementação com complexos vitamínicos adequados e a utilização de mistura mineral no período pré-parto é um passo profilático muito importante para evitar a RMF (Rooh *et al.*, 2013).

4.4 Alterações músculo-esqueléticas

Relativamente às alterações músculo-esqueléticas, apenas foram contabilizados três casos nomeadamente em bovinos de carne.

Nos casos registados de síndrome da vaca caída os dois animais encontravam-se a campo, em decúbito esternal e feto abortado de tamanho considerável (gigantismo). Perante o quadro da mãe e do feto, supôs-se que a distócia secundária ao gigantismo tenha, pelo menos em parte, propiciado o aparecimento desta síndrome.

Na Tabela 7 estão representadas as três intervenções realizadas em bovinos referentes a alterações músculo-esqueléticas, correspondendo 67% (n=2) à síndrome da vaca caída e 33% (n=1) a claudicação.

Tabela 7 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), das entidades clínicas a nível das alterações músculo-esqueléticas em bovinos.

| Sistema músculo-esquelético | Entidades clínicas | N.º de casos | FR (%) |
|-----------------------------|------------------------|--------------|--------|
| | Claudicação | 1 | 33,33 |
| | Síndrome da vaca caída | 2 | 66,67 |
| | Total | 3 | |

A síndrome da vaca caída (Figura 9) resulta de lesões musculares e neurológicas devido a decúbito esternal prolongado (>6 horas). O animal apresenta incapacidade em se levantar autonomamente por conseqüentes complicações músculo-esqueléticas e neurológicas devido ao prolongamento do decúbito (decúbito primário). O decúbito primário apresenta causas variadas (e.g., hipocalcemia, hipocalémia, hipofosfatemia, paralisia do parto). A compressão prolongada dos membros poderá conduzir a lesões secundárias como miopatias (e.g., edema, isquemia e rotura muscular) e neuropatias (e.g., lesão do nervo ciático) (Stilwell, 2013).



Figura 9 – Vaca com suspeita da síndrome da vaca caída. **A** - vaca antes da correção do decúbito. **B** - o mesmo animal com o decúbito corrigido (Autor).

A terapêutica e prevenção dependem essencialmente do manejo e da persistência do proprietário, deste modo, é importante manter o animal num local confortável, em piso de terra, areia ou palha, e alternar a posição ou levantá-lo a cada seis horas, se possível, cumprindo esta a função de fisioterapia, auxiliando a circulação sanguínea e evitando algumas lesões já anteriormente abordadas. Deverão ser fornecidos alimento e água, que deverá estar sempre à disposição, garantindo que o animal está nutrido e hidratado. O controlo da higiene é também um fator essencial, de forma a evitar o aparecimento de outras doenças (Stilwell, 2013).

A utilização de tanques de água, embora não sejam uma prática muito usual, está associada a uma taxa de sucesso superior a 70% (Stilwell, 2013).

O tratamento médico, sendo de menor importância, quando aplicado, deve incluir anti-inflamatórios (esteroides ou não), diuréticos e antioxidantes. A analgesia é também importante, não só pelo bem-estar do animal, mas porque, aliviando a dor, existe maior probabilidade em o animal se levantar, ou mudar o decúbito. As lesões mais frequentes são: isquemia associadas a congestão venosa e lesões nervosas devido à compressão dos nervos, sendo mais comum nos membros posteriores (Stilwell, 2013).

4.5 Pele e anexos

Através da análise da Tabela 8, que apresenta os casos clínicos referentes à pele e anexos em bovinos, verifica-se que foram executadas cinco intervenções, correspondendo 40% (n=2) a feridas/traumatismos e 60% (n=3) a abscessos.

Tabela 8 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), sobre as entidades clínicas a nível da pele e anexos em bovinos.

| Pele e anexos | Entidade clínica | N.º de casos | FR (%) |
|---------------|-----------------------|--------------|--------|
| | Laceração/Traumatismo | 2 | 40,00 |
| | Abcesso | 3 | 60,00 |
| | Total | 5 | |

Um dos casos de laceração/traumatismo ocorreu num bovino de carne que se encontrava, juntamente com o respetivo rebanho, encerrados num parque. No mesmo encontrava-se um trator com reboque e com a caixa aberta. O animal em causa fez o traumatismo num dos feixes do canto da caixa do reboque. O bovino apresentava-se com uma ferida aberta na zona da fossa paralombar direita de aproximadamente 40 cm, com exposição das cavidades pélvica e abdominal (Figura 10).



Figura 10 – Bovino com ferida na zona da fossa paralombar direita (Autor).

O tratamento consistiu, em primeiro lugar, na lavagem do local com uma solução antisséptica e tricotomia regional. Após estes procedimentos, realizou-se o bloqueio local por infiltração do anestésico (*i.e.*, cloridrato de lidocaína 2%) em volta do campo operatório com o objetivo de se proceder ao encerramento da mesma. O encerramento foi efetuado em três camadas (Figura 11), a primeira contemplou a sutura do músculo e respetiva fáscia (sutura simples contínua), a segunda o tecido subcutâneo (sutura intradérmica interrompida) e a terceira a pele (sutura contínua fixa/ancorada). Antes do encerramento foi incorporado antibiótico nos

tecidos inflamados e, depois de suturado foi lavado assepticamente o local e colocado antibiótico local em *spray*.



Figura 11 – Bovino com ferida na zona da fossa paralombar direita, após encerramento da mesma (Autor).

Como terapêutica pós-cirúrgica foram administrados dois antibióticos para proteção de largo espectro, com indicação de continuação durante 10 dias e limpeza da ferida com antissépticos durante 15 dias.

Após a primeira semana da pequena cirurgia, procedeu-se à remoção dos pontos da pele. A recuperação foi muito rápida e de elevado sucesso.

4.6 Outras doenças

Nesta subsecção foi contemplada a casuística de caráter infeccioso e parasitário (n=194). Estão incluídos nesta, 58 casos (30%) referentes à língua azul, 25 em ovinos através de diagnóstico presuntivo (baseado apenas em sinais clínicos) e os restantes 33 correspondentes a bezeros de engorda, os quais foram identificados com a doença, não por demonstrarem sinais clínicos, mas através de testes laboratoriais obrigatórios efetuados aquando de uma pré-movimentação intracomunitária para uma região indemne em Espanha. Foram também intervencionados 26 caprinos com ectima contagioso (13%), 72 animais com suspeita de clamidiose (37%), correspondendo 32 dos casos a ovinos e 40 a caprinos. Contabilizaram-se ainda sete animais com suspeita de enterotoxémia (4%), correspondendo dois casos a caprinos e os restantes cinco a bovinos e, por fim, 31 casos de coccidioses (16%) em caprinos de leite explorados em regime intensivo (Tabela 9).

O ectima contagioso, conhecido como dermatite pustular contagiosa, é uma doença viral causada por um *Parapoxvirus*. As infeções por este vírus são observadas principalmente em ovinos e caprinos, mas também tem sido descrito noutros ruminantes selvagens e domésticos, bem como em humanos. A sua morbilidade é de aproximadamente 100% e a taxa de mortalidade não ultrapassa habitualmente 1%. A morte nos animais advém de infeções secundárias, tais

como as pneumonias ou da dificuldade em o animal se alimentar, situação inteiramente ligada às lesões presentes. A sua transmissão pode ser por contacto direto, fomites, ou indiretamente pelo contacto com o solo contaminado, visto que o vírus pode persistir no mesmo durante anos (Scott, 2007; Pugh & Baird, 2012).

Tabela 9 – Distribuição da casuística, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), de outras doenças em bovinos, ovinos e caprinos.

| Outras doenças | Entidade clínica | N.º de casos | FR (%) |
|----------------|-------------------|--------------|--------|
| | Língua Azul | 58 | 29,90 |
| | Ectima Contagioso | 26 | 13,40 |
| | Clamidiose | 72 | 37,11 |
| | Enterotoxémias | 7 | 3,61 |
| | Coccidioses | 31 | 15,98 |
| | Total | 194 | |

Os surtos da doença tendem a ocorrer nas alturas do parto e em animais jovens, sendo as lesões cutâneas as portas de entrada, explicando, desta forma, a elevada prevalência nos jovens (comportamentos de socialização). O vírus tem um período de incubação entre três a catorze dias (Scott, 2007; Pugh & Baird, 2012).

Esta é uma doença zoonótica de pele em ovinos e caprinos com lesões de acentuado grau de dor. Os veterinários e produtores deverão tomar as devidas precauções evitando a sua exposição (Scott, 2007; Pugh & Baird, 2012).

As lesões encontram-se principalmente nos lábios, fossas nasais, úbere e tetos, sendo os sinais clínicos caracterizados pelo aparecimento inicial de pápulas, com evolução para lesões vesiculares e pustulares, as quais, após rotura, originam crostas (Figura 12). Estas caem em aproximadamente uma a quatro semanas. As lesões nos tetos são habituais e decorrentes da sucção por parte dos cabritos ou borregos afetados. Também existem relatos de lesões no pavilhão auricular e região periorbital, escroto, região perineal e extremidades. O stresse, por vezes, pode exacerbar os sinais clínicos. O diagnóstico é, por norma, presuntivo e através dos sinais clínicos. Como diagnósticos diferenciais desta doença estão contemplados a língua azul, dermatose ulcerativa, a varíola ovina e a febre aftosa. Outros testes laboratoriais como a biópsia de pele e exame histopatológico podem confirmar o diagnóstico (Pugh & Baird, 2012; Scott, 2007).

O tratamento do ectima contagioso raramente é aplicado, devido ao carácter auto-limitante da doença, resolvendo-se dentro de aproximadamente três semanas. Deve ter-se especial atenção aquando do destacamento das crostas, as quais, ao caírem para o solo, o contaminam. A título preventivo, pode ser aplicado spray de oxitetraciclina nas lesões por três a sete dias consecutivos, ou sistemicamente oxitetraciclina (30 mg/kg) em dose única, IM de modo

a combater lesões secundárias. Após a resolução das lesões, pode desenvolver-se uma imunização que dura até dois a três anos (Scott, 2007; Pugh & Baird, 2012).



Figura 12 – Lesões típicas de ectima contagioso em caprinos. **A** - lesão num teto de uma cabra aleitante. **B** - lesões bucais num cabrito (Autor).

4.7 Outros procedimentos

No decorrer do estágio foram realizadas três necrópsias, todas elas na mesma exploração, em curto espaço de tempo, duas delas em vitelos com uma semana de vida e a outra a uma vaca adulta. A causa da morte em todos os casos, foi a septicémia.

Nos “outros procedimentos” estão também inseridos exames coprológicos, com identificação de coccídias. Estes resultados foram verificados num rebanho de caprinos de leite que se encontravam confinados num parque, em que todos eles apresentavam sinais clínicos, como caquexia, desidratação, diarreia, diminuição do apetite e diminuição da produção de leite.

A realização de testes sorológicos também fizeram parte dos procedimentos efetuados para pesquisa de alguns doenças. Estes testes consistiram na pesquisa de Ac específicos anti-*Coxiella burnetii* (febre Q), pesquisa de Ac anti-*Chlamydophyla abortus* e pesquisa de Ac anti-*Toxoplasma gondii*, com resultados positivos a *Chlamydophyla abortus*. Estes testes foram efetuados num rebanho de ovelhas, que se encontravam com sinais clínicos do foro reprodutivo (*i.e.*, abortos).

4.8 Controlo reprodutivo em bovinos

O sistema de manejo reprodutivo representa grande parte dos serviços prestados pela Clínica Veterinária Vetmanos. O objetivo da sua execução centra-se no aumento da produtividade/rentabilidade da exploração, minimizando todos os problemas que a possam afetar. Em Portugal, as explorações especializadas para a produção de carne estão direcionadas essencialmente para a venda dos vitelos, dependendo da eficiência dos mesmos, que está diretamente relacionada com o controlo reprodutivo (Costa, 2008).

Durante o estágio foram totalizados 691 casos nesta área, correspondendo 1% (n=7) a exames andrológicos, 79% (n=546) representando os diagnósticos de gestação, 10% (n=69) correspondentes à sincronização de cios e 10% (n=69) à inseminação artificial (IA) (Tabela 10).

Tabela 10 – Intervenções realizadas, em frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), no controlo reprodutivo.

| Controlo Reprodutivo | Intervenções | N.º de casos | FR (%) |
|----------------------|-----------------------------|--------------|--------|
| | Exame Andrológico | 7 | 1,01 |
| | Diagnóstico de Gestação | 546 | 79,02 |
| | Sincronização de Cios | 69 | 9,99 |
| | Inseminação Artificial (IA) | 69 | 9,99 |
| | Total | 691 | |

Foram acompanhadas três explorações de bovinos de carne no controlo reprodutivo. O objetivo da Clínica Veterinária Vetmanos, ao exercer o controlo reprodutivo, centra-se em garantir a rentabilidade da vacada.

A abordagem praticada engloba vários parâmetros determinantes para que todo o processo tenha resultados com elevado sucesso (Figura 13).

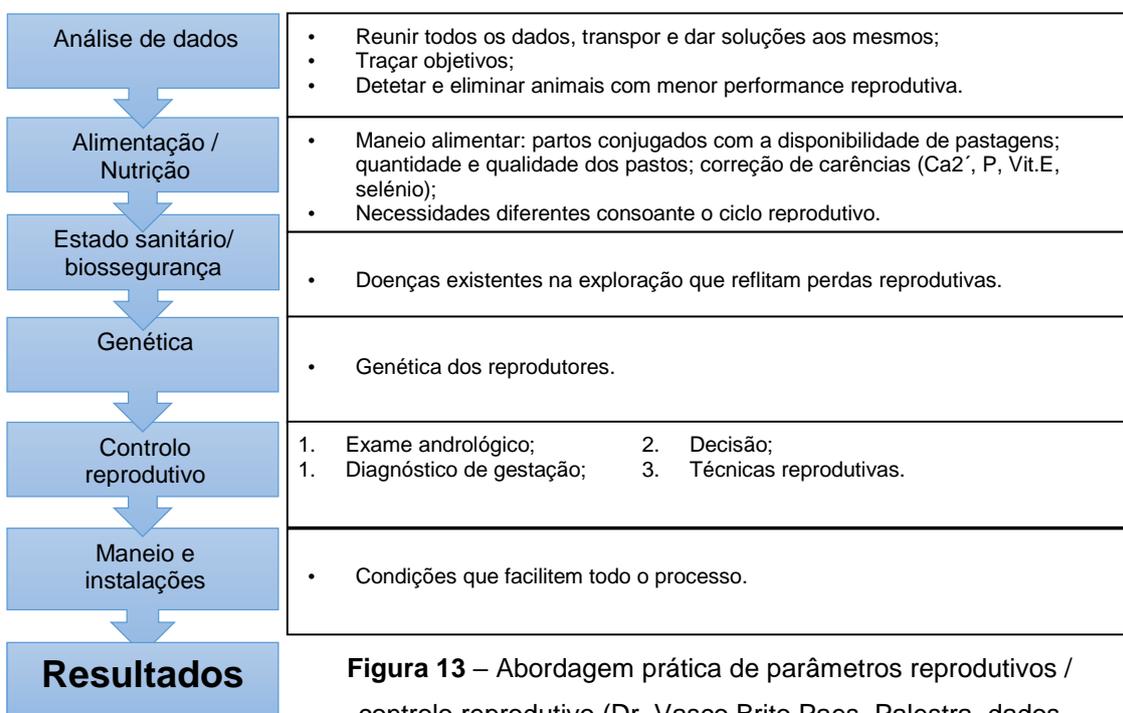


Figura 13 – Abordagem prática de parâmetros reprodutivos / controlo reprodutivo (Dr. Vasco Brito Paes, Palestra, dados pessoais, 12 de abril de 2016, Reguengos de Monsaraz).

O diagnóstico de gestação foi efetuado pelos métodos clínicos de palpação transretal e ultrassonografia (Figura 14). Como se observa pelos resultados apresentados, esta foi a intervenção realizada em maior número, considerada uma prática cada vez mais solicitada por parte dos proprietários da exploração, devido aos resultados positivos.

O diagnóstico precoce da gestação é essencial tanto para o manejo reprodutivo, como para a rentabilidade económica da exploração. Este método de diagnóstico permite perceber mais precocemente quais as fêmeas vazias ou cheias após estas terem sido beneficiadas pela inseminação artificial ou pelo macho, uma vez que, posterior à IA, as fêmeas são colocadas em contacto com o macho. Isto garante uma redução nas perdas produtivas por infertilidade, adequando, se necessário, o tratamento ou mesmo refugio do animal (Hafez & Hafez, 2004).

Na prática clínica durante o estágio o modo de atuação aplicado na elaboração do diagnóstico de gestação para fêmeas em que se realizou a IA variou. Numa fase inicial, anterior à IA, todas as fêmeas foram sujeitas à ecografia, de forma a apurar quais as vazias, cheias ou eventuais problemas existentes. Posteriormente, quando já ocorrida a tomada de decisão perante os resultados, aos animais em que se optou por realizar a inseminação artificial a tempo fixo (IATF) foram executados os seguintes procedimentos: IA no dia zero; novo diagnóstico de gestação aproximadamente 45 dias após a IA. Se a fêmea estiver cheia o embrião já será visível à ecografia ao 45º dia.



Figura 14 – Palpação transretal num bovino para diagnóstico de gestação (Autor).

O exame andrológico é já uma prática bastante usada atualmente no controlo reprodutivo de bovinos. O exame de função reprodutiva requer algumas exigências rigorosas de forma a evitar que animais com problemas de fertilidade sejam comprados, vendidos ou utilizados. Este deverá incluir, o exame clínico (*i.e.*, anamnese e exame de estado geral e o exame do aparelho genital), a pesquisa de agentes infecciosos causadores de infertilidade, tanto no macho como na fêmea e a recolha de um ou mais ejaculados para a realização de espermograma (Figura 15). O

exame do aparelho genital inclui a medição do perímetro escrotal (biometria testicular), verificação da presença dos testículos na bolsa escrotal, tamanho, forma, posição, consistência e simetria testicular, mobilidade intra-escrotal, temperatura e sensibilidade testicular. O espermograma abrange o volume, aspeto, mobilidade massal e individual, concentração e morfologia. Estes parâmetros são determinados a olho nu, com microscópio ótico, platina térmica, lâminas e lamelas, banho-maria, termómetro, soro fisiológico, pipetas, câmaras de contagem e corante (eosina-negrosina) (Figura 15) (Silva & Costa, 2010).



Figura 15 – **A** - colheita de sêmen de um touro, com recurso à eletroejaculação. **B** - aspiração do lavado prepucial para pesquisa de *Tritrichomonas foetus*. **C** - análise do ejaculado (espermograma) (Autor).

A sincronização de cios foi utilizada com o objetivo de se proceder à inseminação artificial a tempo fixo (IATF). O protocolo de sincronização de cios consistiu na colocação intravaginal de esponjas que permitem a libertação controlada de fármacos (*controlled internal drug release* - CIDR), cujo princípio ativo é a progesterona. Concomitantemente administra-se a hormona que estimula a libertação das gonadotropinas (*Gonadotropin-releasing hormone* - GnRH) por via IM. A progesterona inibe a produção de hormona foliculo estimulante (*Follicle-stimulating hormone* - FSH) e hormona luteinizante (*Luteinizing hormone* - LH) ao nível do eixo hipotálamo-hipofisário, por *feedback* negativo. A GnRH produzida pelo hipotálamo vai estimular a libertação das hormonas FSH e LH pela hipófise, que atuam ao nível dos ovários, iniciando-se um novo ciclo éstrico. Sete dias após a colocação das esponjas, estas são removidas (Figura 16). Posteriormente administrou-se uma PGF2 α , com finalidade de promover a ovulação e 48 horas depois procedeu-se à IA (Hafez & Hafez, 2004).

A IA é a técnica mais importante para o melhoramento genético (Figura 16). Quando usada corretamente existem muitas vantagens na sua aplicação. Esta tornou-se mais exequível com os programas de sincronização de cios. É necessário contar com pessoal especializado e dispor de boas condições de manejo, além da correta deteção do cio (Hafez & Hafez, 2004).



Figura 16 – **A** - esponja e adaptador utilizados na sincronização de cios. **B** – contenedor contendo palhetas com sémen de touro congelado para a IA. **C** - IA numa vaca (Autor).

II. Monografia: Língua Azul ou Febre Catarral Ovina

1. Introdução e agente etiológico

A língua azul (LA) ou Febre Catarral Ovina (FCO) é uma doença vírica, infecciosa, não contagiosa, transmitida por insetos do género *Culicoides* que afeta ruminantes domésticos e silvestres (Maclachlan, 2011). Esta doença faz parte da lista da Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE) e também da lista de doenças de declaração obrigatória nacional desde 1956 (DGAV, 2014; DGAV, 2016e). A LA é principalmente uma doença de ovinos e de certas espécies de ruminantes selvagens não autóctones de África (Maclachlan, 2011).

As manifestações da doença estão dependentes, entre outros fatores, do serotipo e estirpe do vírus, raça e idade do animal infetado. Os sinais clínicos são detetados geralmente em ovinos de lã fina e em veados de cauda branca (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Esta doença é mais prevalente durante os meses de verão e mais grave em estações húmidas (Maclachlan, 2011).

É uma doença enzoótica em todas as regiões tropicais e temperadas do mundo, no entanto, na Europa, desde 1998, tem sofrido alterações regionais drásticas na sua distribuição global (DGAV, 2014).

Os prejuízos sócio-económicos associados à LA são significativos e envolvem elevada morbidade, mortalidade, abortos e perdas produtivas. Outras perdas, embora indiretas, incluem a imposição de restrições ao comércio internacional de animais e produtos de origem animal, sémen e soro fetal bovino, custos associados a programas de vacinação e vigilância, controlo de vetores e tratamento dos animais clinicamente afetados (Coetzee *et al.*, 2012; Bitew *et al.*, 2013).

1.1 Estrutura e composição do vírus da LA

O vírus da LA pertence ao género *Orbivirus* (globalmente compreende, pelo menos, 20 espécies) da família Reoviridae (Wilson & Mellor, 2009; Bitew *et al.*, 2013). Morfologicamente é semelhante a outros *Orbivirus*, como o vírus da doença hemorrágica epizoótica dos cervídeos e da peste equina africana. É um vírus sem envelope, com cápside proteica icosaédrica em tripla camada e com um diâmetro de 90 nm. O seu genoma é constituído por 10 segmentos de cadeia dupla de RNA (*double-stranded RNA* - dsRNA) linear responsável pela replicação viral. O conjunto de segmentos genómicos codifica sete proteínas estruturais (VP1 a VP7) (Figura 17) e quatro proteínas não estruturais (NS1 a NS3 e NS3A) (Wilson & Mellor, 2009; Sperlova & Zendulkova, 2011; Bitew *et al.*, 2013).

A constituição da camada exterior da cápside envolve duas proteínas principais, a VP2 e a VP5 (Figura 17), ambas responsáveis pela entrada do vírus no meio intracelular e o estabelecimento da infeção no hospedeiro. O serotipo do vírus está subordinado a variações na proteína VP2. Esta proteína é responsável pela ligação do vírus aos recetores, assim também como pelo processo de hemaglutinação e indução da produção de Ac específicos pelo

hospedeiro, uma vez que contém a maioria dos epítomos aos quais estes se ligam (Wilson & Mellor, 2009; Maan *et al.*, 2011; Sperlova & Zendulkova, 2011; Bitew *et al.*, 2013).

A camada intermédia (*core*) é constituída pela proteína VP7 (Figura 17), principal responsável pela especificidade do serogrupo, que contém antígenos transversais aos diferentes serotipos do vírus da língua azul (BTV), apresentando epítomos que permitem, através do teste de ELISA, a deteção de Ac contra esses mesmos antígenos. A camada mais interna da cápside (*subcore*), que está envolvida na transcrição e replicação do RNA viral (Figura 17), é maioritariamente composta pela proteína VP3 e por três pequenas proteínas estruturais, a VP1, VP4 e VP6 (Figura 17) (Maclachlan, 2011; Sperlova & Zendulkova, 2011; Bitew *et al.*, 2013).

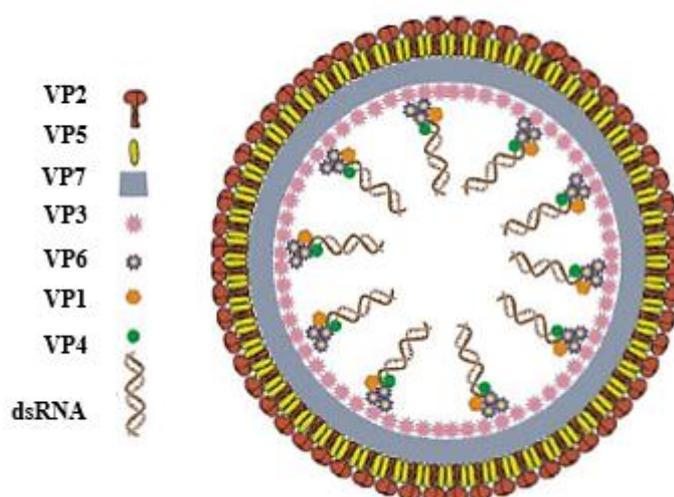


Figura 17 – Esquema representativo das proteínas estruturais e segmentos de dsRNA do BTV (Adaptado de Bitew *et al.*, 2013).

Estudos recentes indicam, embora ainda que de forma pouco clara, que o papel da proteína não estrutural NS1 se relaciona com a morfogénese do vírus. A proteína NS2 consta como a principal componente dos corpos de inclusão do vírus, participando também no recrutamento do mRNA para a replicação viral. A proteína NS3 atua como uma viroporina, proteína envolvida em várias funções do vírus, de entre as quais a promoção de uma maior permeabilidade das membranas citoplasmáticas das células infetadas, com consequente libertação de partículas virais pelas mesmas. A NS3 permite ainda, através de um mecanismo de *budding*, que as partículas do vírus se libertem das células hospedeiras (Maclachlan, 2011; Sperlova & Zendulkova, 2011; Bitew *et al.*, 2013).

Aquando da infeção concomitante de uma célula hospedeira por mais do que um serotipo/estirpe, fica favorecida a permuta de informação genómica entre vários vírus (*reassortment*). Esta capacidade é conferida pela natureza segmentada do material genómico do vírus, característica já anteriormente referida. Participando este mecanismo na aquisição e

diversidade viral, o mesmo torna-se um passo importante da biologia do vírus, propiciando a sua adaptação e maior estabilidade a condições adversas do meio (e.g., temperatura, presença de compostos orgânicos e inorgânicos), assim como alterações na sua virulência (Maclachlan, 2011; Sperlova & Zendulkova, 2011).

Até ao momento foram reconhecidos 27 serotipos diferentes (Wilson & Mellor, 2009; Maan *et al.*, 2011). Recentemente foi identificado o 25º serotipo do BTV, o denominado “Toggenburg *Orbivirus*”, tendo sido detetado em dois rebanhos de caprinos na Suíça em 2008; o 26º serotipo do BTV em países árabes, detetado em ovinos e caprinos em 2010, sendo designado de Kuwait (Maclachlan, 2011; Sperlova & Zendulkova, 2011, Bitew *et al.*, 2013); e o 27º serotipo do BTV, em 2014 (Jenckel *et al.*, 2015).

Na tabela 11 estão representadas resumidamente as características do agente causal da LA, bem como a sua resistência a fatores físicos e químicos (Vega, *et al.*, 2005).

Tabela 11 – Resumo das características gerais e perfil de resistência a fatores de natureza física e química do agente causal da LA (Adaptado de Vega, *et al.*, 2005).

| ETIOLOGIA | |
|-------------|---|
| Língua Azul | Classificação do agente causal <ul style="list-style-type: none"> • Família Reoviridae, género <i>Orbivirus</i> • Identificados 27 serotipos |
| | Resistência à ação química e física <ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: inativado a 50°C/3h ou 60°C/15min. • pH: sensível a pH<6 e pH>8 • Produtos químicos: inativado por β-propiolactona. • Desinfetantes: inativado por iodóforos e compostos fenólicos. • Sobrevivência: muito estável na presença de material proteico. |

1.2 Serotipos do vírus da LA

Em muitas espécies de microrganismos (e.g., vírus e bactérias) existem grupos subespecíficos que podem ser estabelecidos mediante a presença de diferentes antigénios à superfície, antigénios esses que estimulam a produção de anticorpos específicos por parte do hospedeiro infetado. A um grupo de microrganismos que apresentem o mesmo antigénio ou conjunto de antigénios superficiais dá-se o nome de serotipo, podendo haver vários serotipos dentro da mesma espécie. (Purse *et al.*, 2005; CDC, 2016).

Como já anteriormente referido, foram reconhecidos, até ao momento, 27 serotipos diferentes. O serotipo do vírus está dependente de variações na proteína VP2 (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Devido à existência de vários serotipos do vírus da LA e da sua diferente distribuição, foram estabelecidas pelos Estados-Membros áreas geográficas onde são aplicadas diversas e distintas condições de circulação de animais a partir ou através dessas zonas com fim à sua proteção e vigilância. Adicionalmente, não só fatores geográficos regem esta demarcação de

zonas, mas também fatores ecológicos, epizoológicos e administrativos. Estas zonas são denominadas como “submetidas a restrições”. A cada uma delas corresponde uma letra indicativa do ou dos serotipos detetados.

Na Tabela 12 estão mencionadas as zonas submetidas a restrições do vírus da LA na Europa com o(s) respetivo(s) serotipo(s), países abrangidos pelas mesmas e data do seu reconhecimento, de acordo com o artigo n.º 2 do Regulamento n.º 1266/2007 (CE). A Figura 18 indica a delimitação geográfica das zonas submetidas a restrições, assim como os serotipos a elas confinados.

Tabela 12 – Zonas submetidas a restrições com indicação dos respetivos serotipos da LA, Estado-Membro e data de reconhecimento, de acordo com o artigo n.º 2 do Regulamento n.º 1266/2007 (CE) (Adaptado da Comissão Europeia, 2016).

| Zonas de restrição | Serotipo(s) da LA | Estado membro | Data |
|--------------------|-------------------|---------------------------------|------------|
| Zona F | 8 | França | 14/04/2016 |
| Zona G | 1,2,4,16 | Itália | 21/01/2016 |
| Zona H | Não especificado | Malta | 23/05/2007 |
| Zona I | 1,4 | Croácia | 22/09/2015 |
| Zona I | 1,4 | Portugal (Região do Algarve) | 07/11/2013 |
| Zona I | 1,4 | Espanha | 04/02/2016 |
| Zona I | 1,4 | Itália | 21/01/2016 |
| Zona J | 1 | Itália | 21/01/2016 |
| Zona J | 1 | Portugal (exclusão Zona I) | 07/11/2013 |
| Zona T | 1,2,4,8,16 | França | 16/04/2009 |
| Zona X | 4,16 | Chipre | 25/11/2011 |
| Zona X | 4,16 | Grécia | 06/03/2013 |
| Zona Z | 1,16 | Itália | 21/01/2016 |
| Zona A3 | 4 | Grécia | 06/10/2014 |
| Zona A3 | 4 | Bulgária | 13/08/2014 |
| Zona A3 | 4 | Romania | 10/10/2014 |
| Zona A3 | 4 | Hungria | 23/11/2015 |
| Zona A3 | 4 | Eslováquia | 23/11/2014 |
| Zona A3 | 4 | Croácia | 25/11/2014 |
| Zona A3 | 4 | Espanha | 04/06/2016 |
| Zona A3 | 4 | Áustria | 20/11/2015 |
| Zona A4 | 4 | Eslovénia | 27/11/2015 |
| Zona A4 | 1,4,8,16 | Grécia | 08/09/2009 |
| Zona A6 | 1,4,16 | Itália | 21/01/2016 |

Como se pode verificar na Figura 18, o serotipo 1 do vírus da LA está disseminado em todo o território Português. O serotipo 4 está apenas concentrado na Região do Algarve. As zonas mais afetadas estão contempladas no sul da Europa e os serotipos que existem em maior escala são os serotipos 1, 4 e 16.

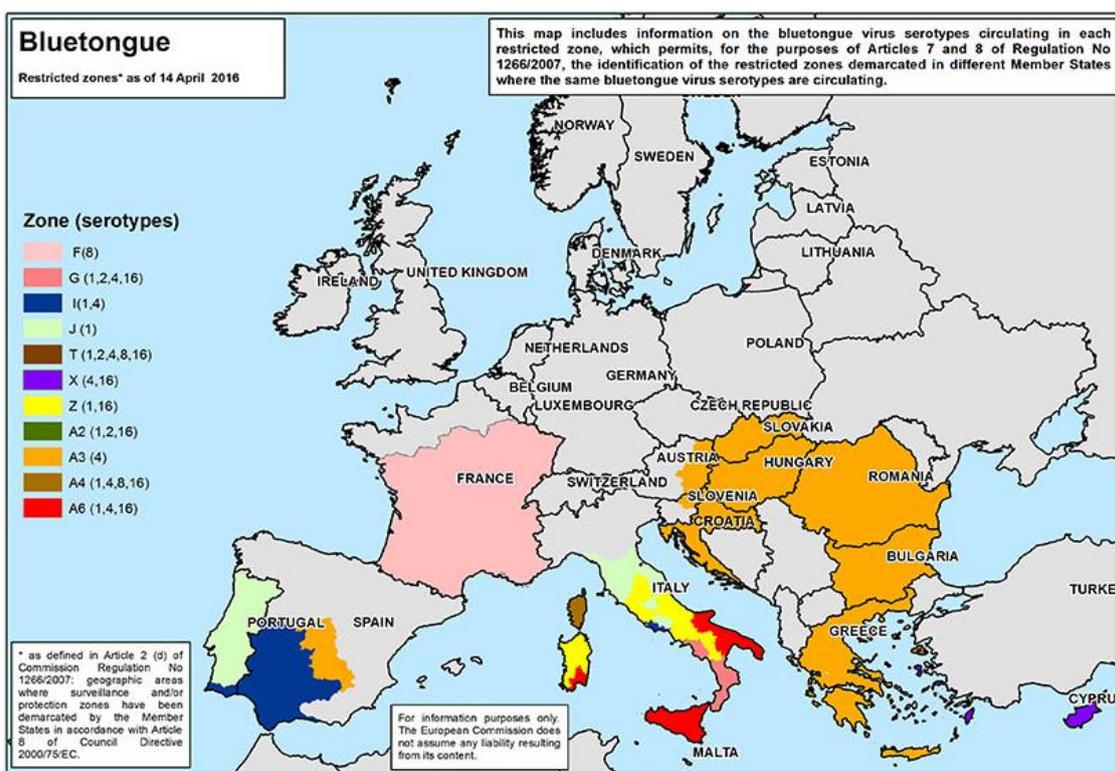


Figura 18 – Identificação das zonas de restrição e respetivos serotipos estipuladas pelos Estados-Membros da União Europeia, a partir de 14 de abril de 2016 (Adaptado da Comissão Europeia, 2016).

2. História e evolução epidemiológica

2.1 Evolução epidemiológica antes de 1998

A LA ou FCO foi descrita pela primeira vez na África do Sul, na sequência da importação de ovinos de raça Merino provenientes da Europa no final do século XVIII, tratando-se de uma doença provavelmente endémica em ruminantes silvestres desde a antiguidade (Vega *et al.*, 2005; Coetzee *et al.*, 2012).

A doença foi inicialmente designada de “febre” ou “epizootia catarral”, mais tarde chamada de “febre catarral da malária dos ovinos” e, por fim, renomeada “febre catarral dos ovinos”, como referência a algumas lesões de cianose observadas na língua de ovelhas infetadas (Coetzee *et al.*, 2012).

Sir Arnold Theiler mostrou em 1906, pela primeira vez, que o agente causal da LA era um vírus filtrável (Sperlova & Zendulkova, 2011). Também ele introduziu a primeira vacina contra a LA. Entre 1907 e 1943, o seu uso foi interrompido, pela clara confirmação de que esta vacina monovalente não conferia imunidade contra os vários serotipos do vírus que circulavam na África do Sul (Maclachlan, 2011).

Em 1933 a LA foi diagnosticada pela primeira vez em bovinos e, pelo fato dos sinais clínicos identificados serem semelhantes aos da febre aftosa, foi designada por pseudo febre aftosa (*pseudo-foot-and-mouth disease*) (Sperlova & Zendulkova, 2011).

No início da década de 1940 considerou-se que a doença estava confinada à África do Sul, mas em 1943 foi reconhecido o primeiro surto em ovinos fora do continente africano, tendo sido descrita a sua presença no Chipre. Em 1943/1944 a LA foi reportada em Israel e em 1948 no Texas (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Na Península Ibérica, em meados de 1950, um surto de LA de larga escala destacou a ameaça que este poderia representar para as nações livres da doença na Europa e Austrália (Vega *et al.*; 2005; Coetzee *et al.*, 2012).

Na Europa, entre 1956 e 1960, um marcado surto de BTV-10 causou a morte de quase 180.000 animais em populações de ovinos em Espanha e Portugal. Dezanove anos mais tarde na Grécia, em 1979, um surto de BTV-4 também causou um grande impacto económico, embora, em comparação com o surto ocorrido anteriormente na Europa, se tenha verificado em menor grau (Wilson & Mellor, 2009).

Na Austrália apareceu inicialmente em 1977 e na América do Sul o primeiro relato ocorreu na década de 1980 (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Desde a sua descoberta, o vírus tem tido um grande impacto sobre os criadores de ovinos na África do Sul e tem sido um dos principais focos de investigação no Instituto de Investigação Veterinária Onderstepoort em Pretoria. É atualmente reconhecido que a LA é endémica em grande parte da África do Sul e 22 dos 27 serotipos conhecidos foram já detetados na região (Coetzee *et al.*, 2012).

2.2 Evolução epidemiológica desde 1998 a 2005

Desde 1998 múltiplos serotipos de BTV invadiram a Europa. A partir de 1998 a LA sofreu alterações na sua distribuição, difundindo-se a países do noroeste da Europa e Escandinávia. Os motivos da sua difusão devem-se parcialmente aos efeitos das mudanças climáticas globais e à disseminação do principal vetor do BTV, o *Culicoides imicola* (Sperlova & Zendulkova; 2011; Coetzee *et al.*, 2012). Devido à distribuição paleártica do vetor, considera-se que a Europa está sob risco contínuo de surtos de LA, podendo ocorrer a introdução de novas variedades e serotipos (Purse *et al.*, 2005; Coetzee *et al.*, 2012).

Em 1998 o BTV foi detetado em várias ilhas gregas (BTV-9), difundindo-se durante os três anos seguintes a norte e oeste através da Grécia continental, seguido de incursões de BTV-4 e 16 em 1999 e BTV-1 em 2001 na Grécia. A introdução dos serotipos 1, 9 e 16 foram atribuíveis essencialmente às rotas comerciais de ruminantes, "*Eurasian Ruminant Street*", rota que liga a Europa e norte de África ao oeste da Ásia e Índia (Purse *et al.*, 2005; Wilson & Mellor, 2009). A propagação do BTV-9 no norte da Europa, onde o vetor *C. imicola* estava ausente, proclamou um marco na epidemiologia do BTV na Europa, comprovando de forma pioneira que

a transmissão a campo de espécies paleárticas era possível em larga escala, mesmo fora da distribuição do *C. imicola* (Wilson & Mellor, 2009). A disseminação do vírus da LA pelos *Culicoides* spp. infetados, em particular sobre corpos de água, considera-se a fonte mais provável de infeções por BTV (Wilson & Mellor, 2009).

No ano de 2000 surgiu na Tunísia o BTV-2, serotipo comum na África Ocidental, podendo a sua introdução no norte de África dever-se à circulação ilegal de animais para a região do Magreb (Purse *et al.*, 2005; Wilson & Mellor, 2009).

De 2003 a 2005 o BTV-4 difundiu-se do norte de África para Espanha, Portugal e Córsega. O padrão destes surtos sugere que a sua origem esteja associada a uma de duas hipóteses: pela movimentação do vírus através do estreito de Gibraltar, quer através de movimento de gado ou pela introdução aérea de *Culicoides* spp. infetados ou pela movimentação do vírus através do estreito da Sicília, desde a Tunísia até à Sicília, provavelmente através de introdução aérea (Wilson & Mellor, 2009). Assim, após o surto que teve início em 1956 em Portugal e em Espanha, o vírus da LA só voltou a ser reportado 48 anos depois em outubro de 2004, sendo o serotipo identificado o BTV-4. Os animais onde este foram inicialmente isolados foram somente ovinos, pertencentes a explorações localizadas perto da fronteira com Espanha (Barros *et al.*, 2007). O surto teve origem a partir de Espanha, mais propriamente, das comunidades da Estremadura e Andaluzia (DGAV, 2014).

Em julho de 2005 foi isolado o BTV-2 a partir de sangue de um bovino assintomático, numa exploração localizada no sudoeste de Portugal, Grândola. A estirpe vacinal do BTV-2 usada na Itália e em Espanha pode ter sido a origem da introdução em Portugal, através da importação de animais virémicos, ou por dispersão aérea de *Culicoides* spp. infetados (Barros *et al.*, 2007).

O padrão de atividade do BTV na Europa antes de 2006 indica que a maioria dos surtos europeus ocorreram após a introdução de novas estirpes do vírus da LA pelo movimento de animais infetados ou pela introdução de moscas infetadas transportadas pelo vento, existindo ainda, provavelmente, outros fatores (Wilson & Mellor, 2009).

Até ao final do século XX, a distribuição conhecida do vírus sofreu uma expansão dramática, apresentando uma marcada regionalização. A ampla faixa de distribuição percorre o globo na área geográfica entre as latitudes 35° sul e 40° norte. Em algumas regiões, incluindo a Ásia e América do Norte ocidental e mais recentemente o norte da Europa, devido a variações locais de acordo com as condições climáticas e ambientais, a infeção pelo BTV foi detetada a 50° norte (Wilson & Mellor, 2009; Maclachlan, 2011; Bitew *et al.*, 2013). No entanto, a distribuição do vetor difere notavelmente em todo o mundo (Maclachlan, 2011).

Com a recente propagação da doença em regiões anteriormente não afetadas no norte da Europa, a LA foi novamente destacada como uma das doenças de elevada importância do século XXI (Coetzee *et al.*, 2012).

2.3 Evolução epidemiológica desde 2006

Em 2006 o Instituto Holandês Central de Controlo de doenças dos animais confirmou o primeiro caso de infeção pelo BTV na Europa Ocidental, primeiro na Holanda e pouco depois na Bélgica, Alemanha e norte da França. O serotipo responsável pelo surto foi o BTV-8, nunca antes relatado na Europa, sendo mais comum no Quênia, Sudão, Malawi, Sul de África, Índia, América Central e Caraíbas (Wilson & Mellor, 2009; Sperlova & Zendulkova, 2011; Bitew *et al.*, 2013). Existem diversas teorias que tentam explicar a sua introdução, como a importação de animais infetados numa fase virémica da doença, sémen ou embriões infetados e pela introdução de moscas, quer pelo auxílio do vento, quer pelo próprio voo (Sperlova & Zendulkova, 2011). Atendendo aos efeitos da temperatura, é relevante destacar as temperaturas excecionalmente elevadas no verão e outono de 2006, quando comparadas com anos anteriores (Wilson & Mellor, 2009). Ainda em 2006 e após um período de aproximadamente dois anos, foi confirmado um foco de BTV-4 em Portugal, mais precisamente no concelho de Alenquer, sem que tenha havido a existência de sinais clínicos (DGAV, 2014).

Em 2006 ocorreu um surto de BTV-1, pela primeira vez, com origem em vários países do Magreb, espalhando-se para o sul de Espanha, onde foi confirmado no verão de 2007. Com a larga expansão do BTV-1 em setembro de 2007, este foi detetado em Portugal e no sudoeste de França no mês de novembro (Wilson & Mellor, 2009). Em Portugal foi detetado na região do Alentejo, mais precisamente no concelho de Barrancos (DGAV, 2014).

No ano de 2008 foi confirmada a presença de novos serotipos do vírus da LA na Europa Ocidental, o BTV-6 identificado na Alemanha e Holanda e o BTV-11 na Bélgica. Estes serotipos pareciam estar intimamente relacionados com o vírus vivo atenuado, estirpe da vacina produzida na África do Sul, tendo provavelmente sido introduzidos na Europa através da sua utilização ilegal (Wilson & Mellor, 2009; Sperlova & Zendulkova, 2011).

A 8 de janeiro de 2008, na Cantábria, norte de Espanha, surgiu com uma expansão considerável o primeiro novo caso de BTV-8, demonstrando-se, pela primeira vez, que a transmissão vertical e horizontal (oral) deste serotipo poderia ser possível (Wilson & Mellor, 2009). Ainda em 2008 novos surtos de BTV-8 surgiram no norte da Europa, sendo esta estirpe caracterizada como altamente virulenta, não apenas em ovinos, mas também em bovinos e camelídeos sul-americanos. Destaca-se o facto de este vírus atravessar a placenta, o que era, até então, considerado atípico das estirpes de campo (Sperlova & Zendulkova, 2011). Em 2008, na Europa, mais de 27 000 explorações foram afetadas pelo BTV-8 e mais de 6000 pelo BTV-1 (Wilson & Mellor, 2009).

Desde a primeira identificação de focos de BTV-1 em Portugal, até ao ano de 2012, foram sempre reportados novos focos de BTV-1 em território português (DGAV, 2014).

O BTV rapidamente se espalhou por extensas áreas da Europa, onde a espécie *C. imicola* não existia, suspeitando-se da existência de novas espécies do género *Culicoides* como

vetores. Até agora os serotipos 1,2,4,9 e 16 foram isolados na região do sul da Europa (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Em 2004 haviam sido relatados na Córsega focos de BTV (Wilson & Mellor, 2009). A 2 de setembro de 2013 foram reportados novos casos de BTV-1 no sul de Córsega, expandindo-se nas semanas seguintes por toda a ilha, tendo sido identificados 169 surtos de BTV em 2014 (Zientara *et al.*, 2014).

Em 2014 relatou-se a detecção do 27º serotipo (BTV-n) na Córsega. A presença da infecção foi detetada durante uma campanha de vacinação e programa de monitorização (Jenckel *et al.*, 2015). No entanto, de acordo com os critérios de Maan *et al.* (2011), este não pode ser definido como um novo serotipo, pois parece assemelhar-se, segundo alguns resultados, com o BTV-25 e 26. No entanto, segundo Zientara *et al.* (2014), com base nos resultados obtidos através de testes RT-PCR em tempo real, a estirpe BTV-n recém detetada pode ser um novo serotipo (*i.e.*, 27) (Zientara *et al.*, 2014; Jenckel *et al.*, 2015).

Em setembro de 2015 em Portugal foram detetados focos de infecção do serotipo 1 do vírus da LA, localizados em diversos concelhos da região do Alentejo e Algarve (DGAV, 2016e).

Em suma, desde os primeiros isolamentos em 2004 que são reportados casos de LA em Portugal. Dos 27 serotipos conhecidos, foram já identificados os serotipos 1, 2 e 4, nas espécies ovina e bovina. Entre 2004 e 2006 foram identificados focos de BTV-4 nos distritos de Évora (Alandroal), Beja (Barrancos), Portalegre (Campo Maior) e Lisboa (Alenquer) (Barros *et al.*, 2007), em 2005 foi isolado o BTV-2 num bovino, numa exploração localizada no sudoeste de Portugal (Grândola) e em 2007 também os primeiros focos de BTV-1 no concelho de Barrancos (Barros *et al.*, 2007; DGAV, 2014).

3. Alterações climáticas

A distribuição geográfica dos Arbovirus na atualidade tem sido alvo de alguma preocupação a nível mundial. Após vários eventos de emergência dramática, este vírus tem deixado o alerta, merecendo considerável atenção (Samy & Peterson, 2016).

Diversos estudos com foco essencialmente nas condições climáticas futuras, revelam a potencialidade no alargamento da distribuição do BTV, em especial na África Central, Estados Unidos e Rússia Ocidental (Samy & Peterson, 2016).

No norte da Europa as mudanças de temperatura (tendencialmente mais elevadas) têm propiciado a persistência do BTV, principalmente durante o inverno, assim como a expansão do vetor, ampliando geograficamente a distribuição do BTV com consequente aumento do risco de infecção pelo mesmo (Purse *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011).

A combinação de vários fatores, como o clima e a presença de vetores e hospedeiros vertebrados suscetíveis, demarca áreas onde a doença pode circular por períodos longos (Samy & Peterson, 2016). Com base em dados de estudos anteriores a 2016, já havia sido compilada

a informação por forma a mapear o potencial risco do BTV a nível global (Samy & Peterson, 2016).

Recentemente, em março de 2016, foi publicado um estudo (Samy & Peterson, 2016), sobre o papel que as alterações climáticas atuais e futuras, a nível global, representam para o BTV. O modelo utilizado para a estimativa das condições futuras utilizado neste estudo revelou um padrão semelhante ao utilizado anteriormente para estudar as condições climáticas atuais, no entanto, aquele (o mais recente) previu uma distribuição consideravelmente mais ampla, incluindo zonas identificadas atualmente como não adequadas. Os resultados obtidos revelaram, através do padrão das ocorrências, que o BTV tem ampla distribuição geográfica, essencialmente na Europa, onde a introdução do agente foi mais recente. Os registos quanto às espécies de *Culicoides* spp., demonstraram que existem seis espécies de vetores mais frequentes, nomeadamente o *C. Imicola*, com larga distribuição, estendendo-se do leste da Ásia para a África Ocidental, o *C. sonorensis* e o *C. variipennis*, limitados ao Norte e América Central, o *C. insignis* ao Norte e Sul da América, o *C. brevitarsis* ao leste da Ásia e Austrália e o *C. occidentalis* ao Sul dos Estados Unidos e da América Central. Sob a condições climáticas atuais, a potencial distribuição do BTV apresenta alta adequabilidade no sul da Europa, Austrália e subcontinente Indiano, bem como no norte e sul da África. As zonas de ocorrência demonstradas foram em zonas climáticas temperadas, tropicais e subtropicais (Samy & Peterson, 2016).

O clima tem sido apontado como um dos principais motores da distribuição do BTV. Pensa-se que os surtos europeus sejam uma consequência do aquecimento climático (Samy & Peterson, 2016). A precipitação média anual e o número de dias em que esta se verifica têm vindo a aumentar no norte da Europa e a diminuir no sul. Dados relativos a níveis de humidade na Europa, demonstram a sua elevada responsabilidade pela propagação do *C. imicola* no norte. As temperaturas nos últimos 100 anos aumentaram em cerca de 1 a 2 °C (Purse *et al.*, 2005).

A origem da doença, portanto, tem três explicações possíveis (Samy & Peterson, 2016):

- O BTV estava presente tanto em África como na Europa, mas não foi documentado devido ao erro de identificação ou ferramentas de diagnóstico pobres;
- O BTV originou-se na África do Sul e dispersou-se para a Europa;
- O BTV originou-se na Europa e dispersou-se para a África do Sul.

Segundo análises filogenéticas, as estirpes responsáveis pelos novos surtos de LA, são semelhantes às que circularam durante décadas nos primeiros locais onde foram identificadas epidemias (Samy & Peterson, 2016).

4. Hospedeiros Vertebrados

O BTV pode infetar quaisquer espécies de ruminantes, nomeadamente bovinos, ovinos, caprinos, antílopes, lamas e camelídeos (Sperlova & Zendulkova, 2011; Bitew *et al.*, 2013). A

susceptibilidade à infecção está dependente de vários fatores, como fatores hereditários e ambientais (Purse *et al.*, 2005).

Das espécies domésticas que o BTV afeta, os ovinos são a espécie clinicamente mais afetada. Os bovinos são o principal reservatório do BTV, uma vez que são infetados geralmente de forma subclínica e por vezes desenvolvem virémia prolongada, com 60 a 100 dias de duração, adquirindo importância epidemiológica. Desta forma os bovinos podem considerar-se como espécies amplificadoras da doença (Purse *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011).

A persistência do vírus, a sobrevivência prolongada que alguns insetos demonstram durante os meses mais frios e a persistência em hospedeiros reservatório, tais como bovinos ou ruminantes selvagens, também são de elevada relevância na amplificação do BTV (Maclachlan, 2011). A particularidade do *C. imicola* em alimentar-se principalmente de bovinos, ovinos e equinos também demonstra elevada importância na sua amplificação, bem como o *C. pulicaris* e o *C. obsoletus*, que apresentam um papel importante na transmissão do BTV demonstrando preferência pela alimentação a partir de bovinos (Sperlova & Zendulkova, 2011).

5. Transmissão e ecologia do vírus da LA

O principal modo de transmissão do vírus da LA ocorre por ação de vetores biológicos (Figura 19), nomeadamente *Culicoides* spp.. Estando a atividade destes vetores sujeita às condições ambientais, a principal via de transmissão do vírus fica também subordinada às mesmas condições, ou seja, há uma íntima relação entre a transmissão vetorial do vírus e os fatores abióticos, como a temperatura, precipitação e humidade relativa. Porém, também os fatores bióticos podem ter peso na permanência e transmissão do agente, designadamente e a título de exemplo, variáveis como a presença de hospedeiros definitivos e reservatório, evolução e *reassortment* do vírus e o seu período de “hibernação/dormência” (Wilson & Mellor, 2009, Sperlova & Zendulkova, 2011).

A ocorrência de surtos depende da presença de insetos vetores da doença e de ruminantes suscetíveis (Sperlova & Zendulkova, 2011). O vírus da LA é transmitido entre os vários hospedeiros vertebrados essencialmente através da atividade do vetor biológico. Este necessita do cumprimento do período de incubação extrínseco (PIE - 4 a 20 dias) para adquirir a capacidade de infetar outros hospedeiros vertebrados. Porém, o vetor biológico pode também transmitir o vírus de forma mecânica por contaminação da probóscide aquando da alimentação de sangue (Wilson & Mellor, 2009).

A infecção congénita tem sido descrita como um mecanismo adotado em resposta ao inverno rigoroso, embora não hajam evidências concretas. A transmissão natural por via oral “perinatal” em bezerros leiteiros após a ingestão de colostro foi também já reportada, nomeadamente na Califórnia. A infecção ocorre também em animais não-herbívoros, como canídeos, leões e lincos que se alimentam de fetos abortados (BTV-8). A importância epidemiológica destas duas constatações é incerta, mas significativa (Maclachlan, 2011).

Como já anteriormente referido, a principal forma de transmissão do vírus da LA é através da picada do inseto fêmea, que deverá alimentar-se dos hospedeiros virêmicos e ingerir uma quantidade de sangue com carga viral suficiente para permitir a transmissão a outros hospedeiros (Figura 19). É de especial importância a sobrevivência do vetor após a refeição, após ao PIE e ao intervalo até à aproxima refeição (Purse *et al.*, 2005).

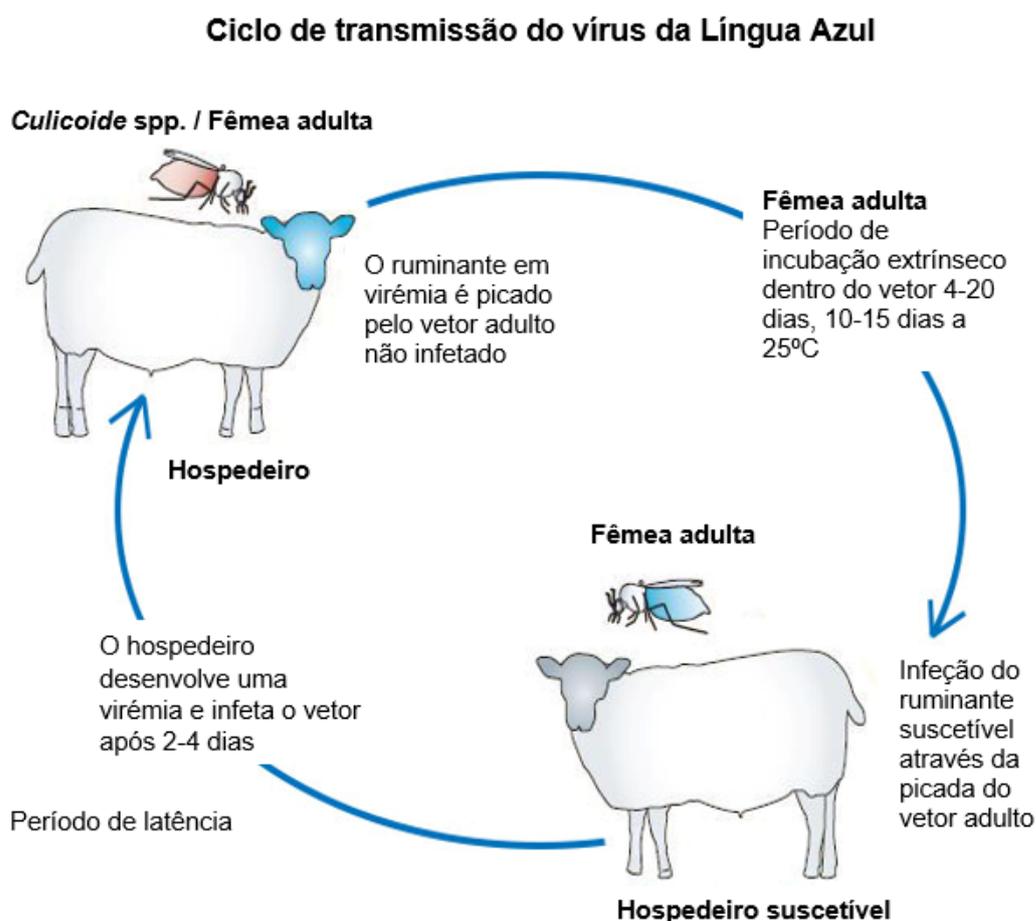


Figura 19 – Ciclo de transmissão do vírus da Língua azul (Adaptado de Purse *et al.*, 2005).

4.1 Vetor

O vetor da LA pertence ao reino Animalia, filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Diptera, família Ceratopogonidae, género *Culicoides*. Conhecem-se atualmente cerca de 1500 espécies pertencentes a este género. São geralmente insetos pequenos de aproximadamente 3 mm de comprimento e ubiqüitários, subsistindo em todos os continentes habitados. Estes insetos reproduzem-se numa ampla variedade de locais semi-aquáticos, incluindo orifícios de árvores, vegetação em decomposição, margens palustres, solos húmidos e matéria fecal. É frequente encontrar este tipo de condições em torno das explorações agrícolas e conseqüentemente uma elevada concentração destes dípteros (Wilson & Mellor, 2009; Sperlova & Zendulkova, 2011). As

horas de maior atividade do vetor são no período compreendido entre a aurora e o crepúsculo (aproximadamente uma hora antes do nascer do sol e até uma hora após o pôr do sol) (Sperlova & Zendulkova, 2011).

A duração do ciclo de vida contempla um período de duas a seis semanas. O ciclo (Figura 20) inicia-se com a eclosão dos ovos, resultando na libertação de larvas que eventualmente originam pupas, atingindo, mais tarde, o estado adulto. O ciclo culmina com a nova deposição de ovos. O período de sobrevivência das formas adultas é variável. Quando em condições normais, estas podem sobreviver entre 10 a 20 dias, no entanto, quando sujeitas a temperaturas mais baixas, esse período de sobrevivência pode alargar-se até aos 90 dias (Sperlova & Zendulkova, 2011).

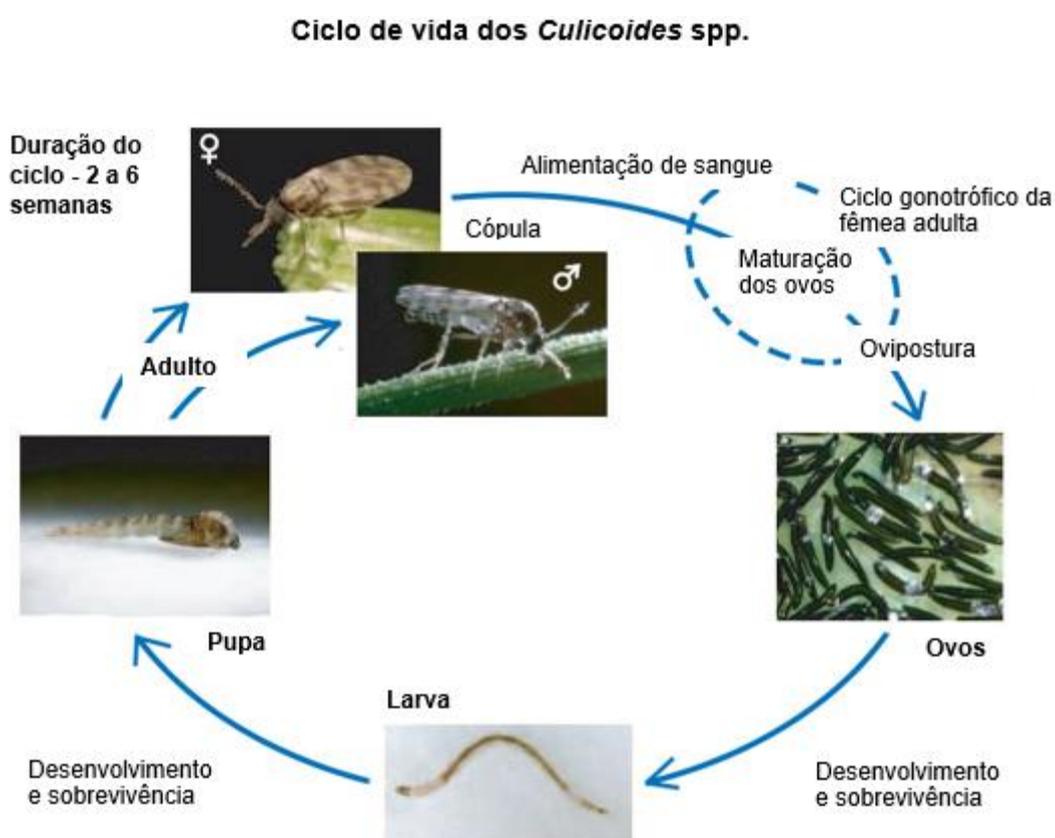


Figura 20 – Ciclo de vida dos *Culicoides* spp. (Adaptado de Purse *et al.*, 2005).

Tanto o macho como a fêmea alimentam-se de plantas, contudo a hematofagia também é praticada, sendo esta limitada somente às fêmeas durante o período que precede a fertilização, uma vez que necessitam de proteínas para a produção e maturação dos ovos. O vetor tem que sobreviver após a refeição, após ao PIE e ao intervalo até à aproxima refeição, como já referido anteriormente (Wilson & Mellor, 2009; Sperlova & Zendulkova, 2011). Ainda relativamente à hematofagia, as fêmeas adultas que a praticam são exofílicas e exofágicas, ou seja, têm,

respetivamente, preferência por locais exteriores e alimentam-se de animais presentes nestes locais. Todavia e como consequência da descida da temperatura, algumas espécies, como o *C. dewulfi* e o *C. obsoletus*, apresentam uma subversão deste comportamento, sendo ele endofágico (*i.e.*, alimentação a partir de animais confinados ao interior de habitações) (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Uma vez que são insetos de tamanho reduzido e com asas com comprimento também reduzido, as distâncias percorridas pelas formas adultas são da ordem dos 2 km. Não obstante, devido à ação dos ventos, estas formas podem ser passivamente transportadas até 700 km, mantendo a sua viabilidade (Sperlova & Zendulkova, 2011).

O tempo requerido para o mosquito ingerir uma refeição de sangue é reduzida a temperaturas elevadas, aumentando dessa forma a sua frequência. Muitos *Culicoides* spp., como o *C. imicola*, a uma temperatura de 15°C, requerem várias semanas para completar o PIE, enquanto que a uma temperatura de aproximadamente 30°C poderão completar a incubação em apenas alguns dias, demonstrando a sua natureza termófila. Ao nível da Europa estas espécies têm maior atividade nas regiões a sul. As temperaturas abaixo dos 12°C inativam a replicação do vírus, embora este possa persistir em moscas infetadas, retomando a sua replicação assim que as condições ambientais o permitam. Entenda-se então que as temperaturas elevadas, especialmente mediante o seu agravamento pelo aquecimento global, têm tido impacto cada vez maior na transmissão do vírus para os hospedeiros vertebrados, por meio da redução da duração das refeições do vetor, encurtando também o PIE. Contudo, alguns efeitos são deletérios, como o aumento da mortalidade do vetor (Wilson & Mellor, 2009; Sperlova & Zendulkova, 2011).

Apesar de muitas espécies do género *Culicoides* serem termófilas, existem outras que têm natureza psicrófila, ou seja, têm afinidade para temperaturas mais baixas, como o *C. obsoletus* e o *C. pulicaris*, figurando-se estes como potenciais vetores nas regiões do centro e norte da Europa. Comparativamente o *C. pulicaris* apresenta um papel mais importante que o *C. obsoletus* na transmissão do BTV, demonstrando ambas as espécies uma preferência pela alimentação em bovinos (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Devido à existência de sistemas de barreira, somente cerca de 50 das 1500 espécies de *Culicoides* spp. conhecidas são consideradas potenciais vetores de LA. Entenda-se como sistemas de barreira o facto de muitos *Culicoides* spp. não terem a capacidade de desenvolver uma infeção disseminada do vírus da LA, como tal, não são capazes de o transmitir a outros hospedeiros vertebrados. Na atualidade, vários fatores ambientais e mecanismos na patogenia da infeção dos vetores pelo vírus da LA foram já propostos, na tentativa de justificar estes sistemas de barreira. Dois desses mecanismos implicam a incapacidade da iniciação da infeção e a não disseminação do vírus após a infeção nas células do trato digestivo (Wilson & Mellor, 2009).

Para aqueles que conseguem transmitir o vírus é necessário que eles se alimentem total ou principalmente de um grande número de hospedeiros vertebrados. Dentro das espécies de *Culicoides* spp. considerados potenciais vetores de LA capazes de atuar no campo incluem o *C.*

imicola, principal vetor na África, Médio Oriente, grande parte do Sudeste da Ásia e algumas zonas da Europa do Sul, *C. sonorensis*, principal vetor da América do Norte e *C. brevitarsis*, principal vetor da Austrália (Wilson & Mellor, 2009). O *C. imicola* alimenta-se principalmente em bovinos, ovinos e equinos (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Os *Culicoides* spp. são vetores biológicos e, como tal, após a ingestão do vírus, as células intestinais do intestino médio dos insetos são as primeiras a ser infetadas, havendo replicação nas mesmas. Posteriormente à replicação nas células intestinais, o vírus migra pela cavidade corporal do inseto (hemocele), infetando as glândulas salivares, voltando a replicar-se e aí permanecendo até o vetor se alimentar. Uma vez infetado, o vetor sê-lo-á para o resto da vida (Wilson & Mellor, 2009; Sperlova & Zendulkova, 2011).

O tempo necessário desde a infeção do vetor até que este esteja apto a transmitir o vírus recebe o nome de PIE. A sua duração ronda os 10 a 15 dias a 25°C (Figura 20) estando depende da taxa de atividade da enzima RNA polimerase do vírus, inteiramente ligada à temperatura ambiente (Wilson & Mellor, 2009; Sperlova & Zendulkova, 2011).

Nas zonas de clima temperado o vírus apresenta alguma sazonalidade, uma vez que, o *Culicoides* spp. adulto persiste nos meses mais quentes. Esta clássica transmissão do BTV é interrompida nos meses mais frios, havendo tendencialmente picos de atividade na primavera e no outono (Wilson & Mellor, 2009; Sperlova & Zendulkova, 2011). Nestas zonas pode ocorrer um prolongamento do período de baixas temperaturas, o que pode resultar na ocorrência de surtos, retomando o vetor a atividade com períodos de duração atípica. A esta capacidade de resiliência a períodos de baixas temperaturas dá-se o nome de “hibernação”. Estas modificações secundárias podem ser consideradas responsáveis pela elevada transmissão do BTV durante o inverno no noroeste da Europa (Wilson & Mellor, 2009).

Em relação ao mecanismo pelo qual o vetor atua nas diferentes estações em regiões temperadas do mundo, como a África do Sul, Califórnia e Europa, tem havido alguma discordância considerável. Atentando à duração do período inter-sazonal tipicamente superior a seis meses, o termo “hibernação” torna-se inapropriado. Este período inter-sazonal contempla o inverno, primavera e início do verão (Maclachlan, 2011). Nevill (1971) sugeriu cinco explicações para o processo de hibernação:

- A possível transmissão transovárica do BTV nos insetos *Culicoides* spp., apesar de tal processo não ter sido ainda descrito;
- A existência de um ciclo de hibernação complexo, envolvendo hospedeiros reservatórios não identificados, possivelmente roedores ou pequenos mamíferos, reptéis, etc. Contudo, também este mecanismo não foi identificado até à data;
- A persistência do vírus em insetos *Culicoides* spp. adultos que sobrevivam ao Inverno, considerando a sobrevivência prolongada que alguns insetos demonstram durante os meses mais frios;

- A persistência do vírus em hospedeiros reservatórios de grande porte, tais como bovinos ou ruminantes selvagens, havendo inclusive estudos que confirmam estes períodos prolongados de BTV em ruminantes;
- O ciclo de hibernação (Inverno) seria o prolongamento do ciclo de verão, mas com baixos níveis de transmissão entre ruminantes e *Culicoides* spp. adultos, uma vez que, durante os meses mais frios, existem *Culicoides* spp. em menor número, sendo também a sua atividade reduzida ou temporariamente ausente.

A Figura 21 explica esquematicamente o mecanismo de hibernação do vírus da língua azul na ausência do vetor (Purse *et al.*, 2005).

Como já referido anteriormente, um período prolongado de baixas temperaturas pode resultar na ocorrência de novos surtos de LA, uma vez que o vírus tem capacidade de sobrevivência nessas condições. A resiliência que o vírus adquire perante essas condições adversas define-se como um possível mecanismo de hibernação, o qual ocorre na ausência do vetor (Figura 21). O ciclo de hibernação inicia-se pela picada do hospedeiro vertebrado pelo vetor adulto infetado com o vírus da LA (Figura 21, alínea A). Decorrente da infecção dos hospedeiros vertebrados, existem dois possíveis fins, nomeadamente a morte ou a sobrevivência. Nos animais que sobrevivem o vírus estabelece uma infecção persistente nas células $\gamma\delta$ T (Figura 21, alínea B). O vírus persiste nestas células infetadas durante os meses frios de inverno, período este livre de vetores (Figura 21, alínea C). Após o mesmo, já na primavera, surgem novos vetores, que irão alimentar-se de hospedeiros persistentemente infetados (Figura 21, alínea D). Os vetores, ao picarem os hospedeiros vertebrados, irão despoletar uma inflamação cutânea local, com conseqüente recrutamento de células inflamatórias (incluindo células $\gamma\delta$ T infetadas) para essas áreas inflamadas (Figura 21, alínea E). Na pele inflamada irá ocorrer interação entre os fibroblastos e as células $\gamma\delta$ T, com conseqüente reativação da atividade viral nas células $\gamma\delta$ T infetadas e modificação da infecção, passando esta de persistente a produtiva. A infecção produtiva resulta na replicação do vírus da LA, morte celular e libertação das partículas virais na pele em locais acessíveis à picada do vetor adulto (Figura 21, alínea F). O vírus, ao ser libertado, é ingerido pelo vetor adulto, infetando-o (Figura 21, alínea G). Com a infecção do *Culicoides* spp. adulto inicia-se um novo ciclo de transmissão do vírus (Figura 21, alínea H) (Purse *et al.*, 2005).

Possível mecanismo de hibernação do vírus da Língua Azul no hospedeiro vertebrado e na ausência do vetor

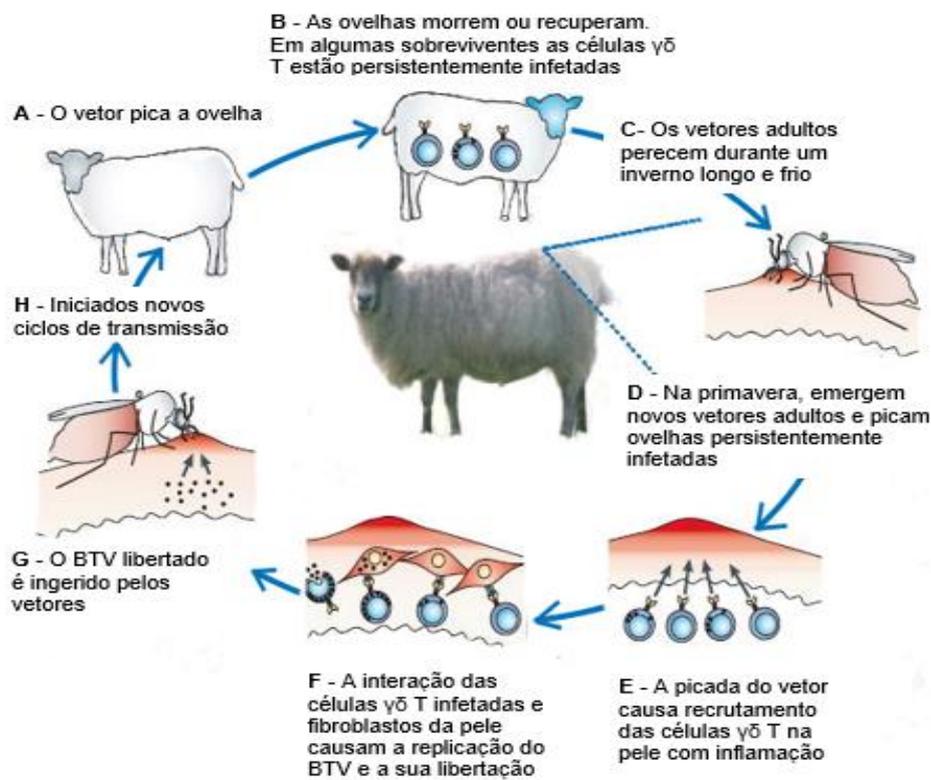


Figura 21 - Possível mecanismo de hibernação do vírus da Língua Azul no hospedeiro vertebrado, na ausência do vetor (Adaptado de Purse *et al.*, 2005).

A primeira indicação de que as espécies paleárticas de *Culicoides* spp. poderiam ser capazes de transmitir o BTV no campo foi pelo isolamento do BTV-4 a partir de um grupo de fêmeas de *C. obsoletus* durante um surto no Chipre. Mais tarde, pelo isolamento do vírus da peste equina Africana (AHSV), intimamente relacionado com o BTV, a partir de um conjunto misto de fêmeas *C. obsoletus* e *C. pulicaris* em Espanha (Wilson & Mellor, 2009).

Os diferentes vetores que transmitem o BTV diferem entre regiões (Maclachlan, 2011). As diferentes espécies de *Culicoides* spp. possuem diferentes tolerâncias ambientais. Espécies afro-asiáticas, tais como o *C. imicola*, são diferentes das espécies paleárticas, como o *C. obsoletus* e o *C. pulicaris*. As alterações ambientais a longo prazo poderão gerar alterações na adaptação do vetor de determinada região geográfica.

No sul da Europa acredita-se que a distribuição do *C. imicola* nos últimos anos terá ganho a sua expansividade devido ao resultado das temperaturas mais elevadas e de baixas precipitações (Wilson & Mellor, 2009).

4.2 Outras vias de transmissão

A LA não é considerada uma doença contagiosa, uma vez que as secreções e excreções dos animais infetados exibem uma carga viral muito reduzida e também pelo fato dos animais sensíveis serem pouco recetivos a outras vias de infeção, que não a inoculação efetuada pelo *Culicoides* spp. (Vega *et al.*, 2005).

Apesar do *Culicoides* spp. ser o vetor convencional da LA existem outros artrópodes que desempenham o mesmo papel (*e.g.*, piolhos, alguns ixodídeos e argasídeos e mosquitos), não tendo, contudo, um peso significativo na epidemiologia da LA (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Segundo Vega *et al.*, (2005), até à data, a transmissão por via oral ou aerógena e contato com tecidos dos animais infetados com BTV não são considerados como uma fonte de infeção.

Outras vias incluem a transmissão venérea do vírus pelo sémen contaminado, durante o período de virémia (monta natural ou inseminação artificial) (Vega *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011). Também a transmissão transplacentária é considerada uma via de infeção do vírus, quer nos ovinos, quer nos bovinos, especialmente por estirpes incluídas em vacinas atenuadas. Nos animais vacinados com este tipo de vacinas e dependendo da fase gestacional em que a mesma é aplicada, poderão ocorrer abortos e nascimento de animais não viáveis com deformidades graves no sistema nervoso central. A estirpe BTV-8, que recentemente se disseminou por toda a Europa, demonstrou ter a capacidade de transmissão transplacentária, causando infeções fetais com elevada frequência (Coetzee *et al.*, 2012; Saegerman *et al.*, 2011; (Sperlova & Zendulkova, 2011; Santman-Berends *et al.*, 2010);).

A transmissão por contato direto através da ingestão da placenta, conteúdo fetal (Menzies *et al.*, 2008) e colostro foram já adicionalmente descritas (Mayo *et al.*, 2010).

6. Patogenia

Após a inoculação do vírus pelo vetor, aquele infeta as células dendríticas presentes na pele do hospedeiro vertebrado. Seguidamente estas células migram para os linfonodos regionais, local onde se inicia a replicação viral. Subsequentemente, o vírus atinge a corrente sanguínea, iniciando, por sua vez, uma fase primária de virémia. O vírus apresenta tropismo para as células endoteliais e mononucleadas (*i.e.*, macrófagos e linfócitos), onde continua o processo de replicação. Atendendo a este facto, encontram-se entre os seus órgãos alvo, o baço, pulmão e linfonodos, locais onde há grande predominância destas populações celulares (Figura 22) (Sperlova & Zendulkova, 2011; Sánchez-Córdon *et al.*, 2010).

A invasão do vírus nos macrófagos resulta na produção de citocinas, tais como o fator de necrose tumoral (TNF), com conseqüente aumento da permeabilidade das células endoteliais. A infeção das células dendríticas, plaquetas e macrófagos resulta na produção de mediadores vasoativos que, atuando no citoesqueleto e nas junções das células endoteliais, propiciam o aumento da permeabilidade vascular, levando ao extravasamento de fluido intravascular com

consequente choque hipovolêmico, responsável pela mortalidade em grande parte dos casos de infecções por BTV (Figura 22) (Sperlova & Zendulkova, 2011; Drew *et al.*, 2010). No entanto, o estudo *in vitro* de Drew *et al.* (2010), demonstrou que o aumento da permeabilidade, que ocorre em culturas de células endoteliais de ruminantes infetados com o BTV, é uma consequência da morte das células infetadas pelo vírus.

Aquando da virémia, na sua fase inicial, todos os elementos do sangue estão infetados, todavia, na fase final, unicamente os eritrócitos estão envolvidos. Estas células estão inclusive relacionadas com um dos mecanismos de defesa adotado pelo vírus, que consiste no aprisionamento do agente em invaginações da membrana citoplasmática destas células, resultando na capacidade evasiva do BTV aos Ac neutralizantes em circulação. Justifica-se a virémia prolongada devido a este fenómeno. Por esta razão a duração da virémia está subordinada à longevidade dos eritrócitos, bem como a raça e espécie do animal infetado, sendo a espécie bovina aquela onde usualmente a virémia é mais prolongada (Sperlova & Zendulkova, 2011).

O período de virémia pode ser tão longo como 14 a 54 dias em ovinos, 19 a 54 dias em caprinos e 60 a 100 dias em bovinos, hospedeiro este que ganha, por isso, importância epidemiológica (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Os Ac neutralizantes anteriormente referidos são responsáveis pela conferência de imunidade contra a infecção de estirpes homologas de um determinado serotipo. A produção destes Ac é induzida essencialmente pela presença da proteína VP2 e, em menor grau, pela VP5 (Sperlova & Zendulkova, 2011).

A lesão direta ao endotélio, mediada pelo vírus, resulta em isquémia, necrose tecidual e hemorragia, que se manifestam, entre outros, como um sinal clínico não patognomónico, mas característico da doença, nomeadamente a cianose da língua, lesão responsável pelo nome da doença (Coetzee *et al.*, 2012; Maclachlan, 2011).

Particularmente nos bovinos o período de virémia é prolongado, propiciando a persistência do vírus no meio ambiente, assim como a transmissão a outros hospedeiros. Todavia, há também relatos de casos nesta espécie de infecção por BTV que resultaram em doença clínica, sendo exemplo o surto de BTV-8 relatado na Europa Ocidental e Central em 2006 (Sperlova & Zendulkova, 2011).

A imunidade celular tem um papel preponderante na evolução da doença, nomeadamente pelo efeito citotóxico das células CD8+. Contudo, apesar de este mecanismo conseguir reduzir a disseminação da infecção no organismo, o mesmo não consegue eliminá-lo (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Patogenia do vírus da Língua Azul

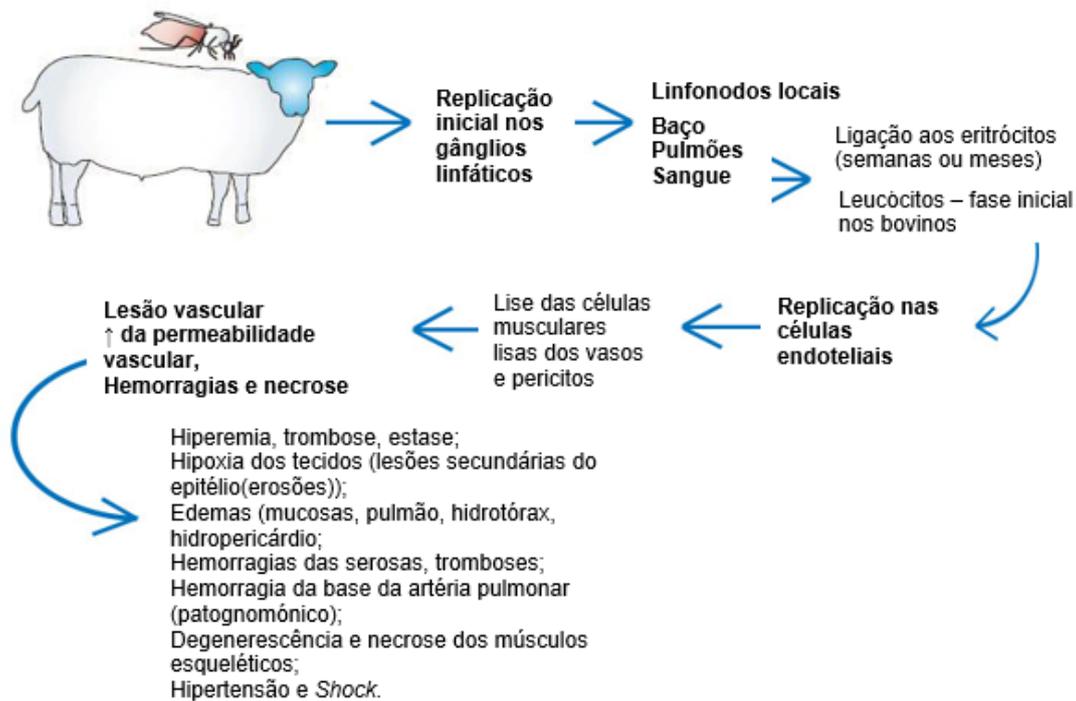


Figura 22 – Patogenia do vírus da Língua Azul (Adaptado de Material didático e pedagógico, Fevereiro, 2012)

7. Sinais clínicos

A infecção pelo vírus da LA pode resultar numa variedade de sinais clínicos, alternando a sua ocorrência e gravidade consoante a forma clínica apresentada, nomeadamente se aguda ou hiperaguda (ovinos), subaguda (ovinos e bovinos), ou crónica. Contudo, existe também um quadro subclínico, particularmente em bovinos e caprinos. Tendencialmente o quadro apresentado varia consoante a espécie (Vega *et al.*, 2005; Wilson & Mellor, 2009; Sperlova & Zendulkova, 2011).

A mortalidade varia geralmente entre 2 a 30%, podendo alcançar os 40-50%, em casos em que existam más condições de manejo e de higiene das instalações e nos casos em que surjam infecções secundárias. O período de incubação do vírus no hospedeiro vertebrado dura geralmente sete dias, no entanto, os primeiros sinais clínicos poderão ser observados aos 15 dias após infecção. O desenvolvimento severo da doença só é observado em certas raças de ovinos, especialmente europeias, e em alguns ruminantes silvestres, como os veados, no entanto, podem ocorrer, embora com menor frequência, infecções subclínicas em ambas as espécies (Vega *et al.*, 2005).

Nas formas agudas, após um período de incubação de quatro a oito dias, o primeiro sinal clínico observado em ovinos é a pirexia, que em 48h poderá alcançar os 41 a 42°C, podendo perdurar até seis a oito dias em função da evolução da infecção. Aproximadamente 24 a 48 horas após o desenvolvimento de febre, observa-se um quadro de hiperémia nas mucosas nasal, bucal, conjuntival e pavilhão auricular (Figura 23). Estas lesões poderão conduzir, por sua vez, a hipersialia, lacrimejamento e corrimento nasal, inicialmente sero-mucoso e só depois mucopurulento (aquando da ocorrência de infecções secundárias), podendo ainda, em caso de comprometimento da integridade vascular, ser hemorrágico. As secreções nasais, numa fase mais tardia, após sofrerem desidratação, evoluem para a formação de crostas na periferia das narinas com conseqüente dificuldade respiratória. A esta fase segue-se o aparecimento de edema da língua, lábios (Figura 23 e 24), pálpebras, pavilhão auricular e zona submandibular, estendendo-se à região cervical (Vega *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011; Pugh & Baird, 2012; Smith, 2015).



Figura 23 – Ovino com edema nos lábios e erosão na mucosa nasal e bucal (Adaptado de UPSpace, 2013b).



Figura 24 – Ovino com edema dos lábios e cianose da língua (Adaptado de UPSpace, 2013a).

Em casos mais graves da doença, as lesões nas mucosas progridem e convertem-se em úlceras, sendo mais afetadas a língua e mucosa gengival na proximidade dos molares. Em conseqüência do aparecimento das lesões secundárias, ocorrem fenômenos de necrose, provocando dor acentuada (*i.e.*, hiperalgesia) e dificuldades na deglutição (*i.e.*, disfagia). Em alguns animais pode ser observado o comportamento de submersão da boca em água durante longos períodos de tempo na tentativa de diminuir o estímulo doloroso. Nesta fase os animais apresentam relutância em alimentar-se, não só pelas lesões, mas também pelo edema na língua, processo que se estende ao exterior da cavidade bucal (Vega *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011).

Na fase final de pirexia poderão ocorrer ainda claudicações em um ou mais membros acompanhados de hiperémia do bordo coronário e petéquias (decorrente de laminite e coronite)

(Figura 25), mais frequentes nos membros posteriores, parésia e necrose dos músculos estriados e, como consequência, cifose e relutância em se movimentarem. O pleurotórtono e as dermatites também incluem o quadro clínico observado nos ovinos. A hiperémia e as petéquias no bordo coronário poderão levar, por sua vez, à queda do casco em três a quatro meses com posterior substituição do mesmo. Estas lesões podais podem conduzir os animais a adotar posturas e posições antiálgicas (Vega *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011).



Figura 25 – Ovino com congestão e petéquias do bordo coronário secundárias a coronite
(Adaptado de UPSpace, 2013c).

A exposição solar, em particular nas áreas lesionadas desprotegidas de lã, exacerba os fenômenos de hiperémia, levando à perda de lã, três a seis semanas depois do início dos sinais. Em casos de traumatismos ou ligeiras abrasões, poderão surgir extensas hemorragias cutâneas (Vega *et al.*, 2005).

Em consequência dos edemas e das hemorragias que se desenvolveram no tecido muscular esquelético, poderão surgir miosites e pontos de calcificação (Vega *et al.*, 2005). Em alguns casos poderá adicionalmente ocorrer dispneia, diarreia hemorrágica profusa ou mesmo vômito, que poderá levar a pneumonia por aspiração. (Maclachlan, 2011; Sperlova & Zendulkova, 2011; Coetzee *et al.*, 2012).

Nas fêmeas ovinas gestantes as lesões causadas pela infecção do BTV poderão levar a aborto, mumificação fetal e animais debilitados ao nascimento, com potenciais defeitos congénitos, bem como hidrocefalia, quistos com localização cerebral e displasia da retina (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Os ovinos que recuperam da doença exibem um período de convalescença prolongado, traduzindo-se em perdas produtivas substancialmente elevadas (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Ovinos com afeção severa desenvolvem geralmente coagulopatias e hemorragias extensas, no entanto, não desenvolvem coagulação intravascular disseminada (CID), como algumas espécies de ungulados selvagens (Maclachlan, 2011).

O quadro clínico agrava-se progressivamente, podendo o animal apresentar-se letárgico, com disfagia, estase ruminal e, menos frequentemente, diarreia hemorrágica que precede a morte (Vega *et al.*, 2005).

O quadro clínico nos bovinos e caprinos é normalmente subclínico, embora possa esporadicamente ocorrer infecções agudas em populações com animais imunologicamente deprimidos em regiões indemnes (Coetzee *et al.*, 2012; Bitew *et al.*, 2013).

Nos bovinos e caprinos as lesões e os sinais clínicos supracitados não são observados com frequência elevada, no entanto, se presentes, são comparáveis aos dos ovinos (Vega *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011).

A doença clínica nos bovinos é rara, salvo a exceção da infecção causada pelo serotipo BTV-8, em que os sinais clínicos se manifestam num grande número de animais do mesmo efetivo. (Vega *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011; Bitew *et al.*, 2013). Inicialmente estes sinais clínicos consistem em febre, apatia e depressão, com posterior erosão e necrose da mucosa oral, corrimento nasal, sialorreia, conjuntivite, claudicação (corinite), dermatite ulcerativa e diarreia com ou sem sangue (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Posteriormente pode ocorrer, durante o primeiro terço de gestação, abortos, reabsorção do embrião, malformações, cegueira, surdez, artrogripose e ainda morte fetal. Os fetos de vacas gestantes que sobrevivam à infecção pelo vírus da LA, quando infetados entre os 70 a 130 dias de gestação, poderão desenvolver malformações do SNC, como hidrocefalia e outros defeitos cerebrais, enquanto os fetos infetados somente no último terço da gestação apresentam potencialmente e apenas uma leve encefalite (Sperlova & Zendulkova, 2011; Bitew *et al.*, 2013). Estes sinais clínicos são, em parte, decorrentes de reações de hipersensibilidade do tipo I (*i.e.*, mediada pela produção de imunoglobulina E) que implica a libertação de mediadores inflamatórios (*e.g.*, histamina, prostaglandinas e leucotrienos) principalmente por mastócitos, mas também por basófilos. Para que este mecanismo ocorra, é necessária a reinfeção ou contato prévio com outros vírus filogeneticamente semelhantes ao BTV (Vega *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011; Bitew *et al.*, 2013).

8. Anatomia patológica

As lesões *post-mortem* incluem mucosas hiperémicas, hemorragia e necrose da mucosa do trato gastrointestinal, da cavidade oral, língua, lábios e bochechas, edema e hemorragia dos linfonodos, hemorragia e edema subcutâneo, hemorragia pleural e pericárdica, edema pulmonar, edema facial e dos músculos abdominais, hemorragia na camada média da artéria aorta e/ou base da artéria pulmonar (Figura 26) e ainda a necrose segmentar do miocárdio e músculos esqueléticos (Maclachlan, 2011; Smith, 2015).

Pode observar-se hiperémia e/ou lesões ulcerativas dos pilares ruminais e pregas reticulares (Figura 27). O baço, linfonodos e amígdalas podem estar hemorrágicos e aumentados de tamanho e com petéquias esporádicas. Estas podem também estar presentes na base da

língua, pericárdio, rim, tecido subcutâneo e intestinos, nomeadamente na junção ileocecal. Ainda poderão ser encontrados, embora ocasionalmente, cianose da mucosa oral com petéquias e equimoses. O músculo esquelético e cardíaco pode apresentar áreas de necrose (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Histologicamente pode-se verificar a hipertrofia de capilares endoteliais, edema perivascular e congestão, infiltração do músculo esquelético e cardíaco com macrófagos e linfócitos, com conseqüente enfarte do tecido, levando à hipoxia. Em casos agudos, os achados histológicos constam da presença de hemorragias, necrose do músculo cardíaco e músculos esqueléticos que, por sua vez, em casos crônicos, resultam em fibrose acompanhada de infiltração por células mononucleadas (Sperlova & Zendulkova, 2011).

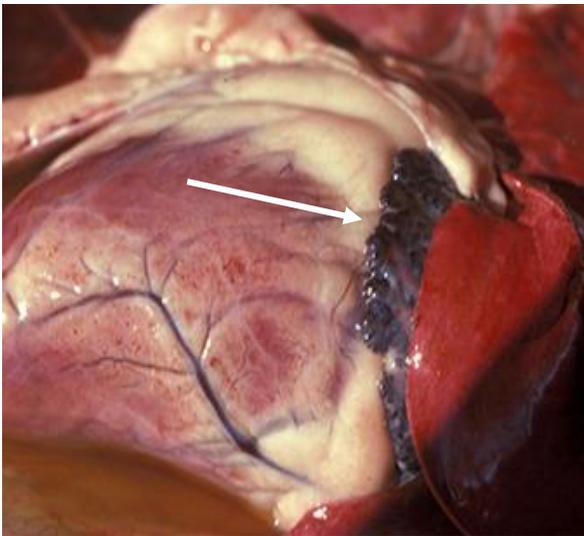


Figura 26 – Hemorragia na base da artéria pulmonar (seta) de um ovino, lesão patognomónica da língua azul (Adaptado de UPSpace, 2013d).



Figura 27 – Lesões hemorrágicas e ulcerativas da mucosa dos pilares do rumem num ovino com língua azul (Adaptado de UPSpace, 2013e).

9. Diagnóstico diferencial

Os diagnósticos diferenciais (DD) da LA estão relacionados com doenças em que o quadro clínico e respetivas lesões são similares (Vega *et al.*, 2005). As doenças que constituem diagnósticos diferenciais da LA são, entre outros, a febre aftosa, ectima contagioso, febre catarral maligna, estomatite vesicular, estomatite papular bovina, peeira, BVD, peste dos pequenos ruminantes e bovina, fotossensibilização aguda, rinotraqueíte infecciosa bovina (*Infectious bovine rinotracheitis* - IBR), doença hemorrágica epizootica, dermatite pustulosa contagiosa, pneumonia, intoxicação por plantas, varíola ovina, hemoncose ovina aguda, oestrose ovina e a

salmonelose (Vega *et al.*, 2005; Savini *et al.*, 2011; Sperlova & Zendulkova, 2011; Smith, 2015). Segue uma breve revisão dos DD de maior importância e ou frequência.

A febre aftosa (FA) é uma doença viral (*Aphthovirus*) muito contagiosa que afeta todos os animais biungulados (Scott, 2007; Pugh & Baird, 2012; Bettencourt & Romão, 2013).

Os bovinos são os ruminantes mais afetados. Os ovinos apresentam frequentemente uma síndrome clínica leve e, como tal, podem atuar como fonte de disseminação do vírus (Pugh & Baird, 2012). Na eventualidade da presença de lesões, estas localizam-se predominantemente nas extremidades dos membros, sendo a localização oral mais invulgar, caracterizando-se a doença como tendo uma rápida cicatrização em pequenos ruminantes (Bettencourt & Romão, 2013). Esta é na generalidade das espécies afetadas uma doença de disseminação rápida (Pugh & Baird, 2012; Bettencourt & Romão, 2013).

A FA em bovinos cursa com febres altas, lesões vesiculares na cavidade oral, espelho, úbere e úngulas, claudicação, corrimento nasal e sialorreia (Bettencourt & Romão, 2013; Smith, 2015). Aquando da rutura das vesículas, há um agravamento do quadro clínico, evoluindo aquelas para lesões erosivas ou ulcerativas. Caso estas lesões se localizem nas extremidades dos membros (anteriores e/ou posteriores), os animais apresentam sinais de claudicação (Bettencourt & Romão, 2013). Também a presença de hiperémia interdigital, edema e vesículas no bordo coronário são vulgares na FA (Scott, 2007). Esta doença é caracterizada por uma taxa de morbilidade elevada e mortalidade baixa, contudo, nos animais jovens a doença pode provocar elevada mortalidade secundária a miocardite necrótica (Bettencourt & Romão, 2013; Smith, 2015). Atualmente esta doença não existe em Portugal. A febre aftosa pode ser confundida com a LA, pois esta também cursa com febres elevadas, lesões na cavidade oral (nomeadamente erosivas e ulcerativas), claudicação, corrimento nasal e sialorreia. Contudo, na LA e contrariamente à FA, as erosões e ulcerações verificadas são resultantes da evolução de lesões com fenómenos de hiperémia e não de vesículas (Vega *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011; Bettencourt & Romão, 2013).

O ectima contagioso (EC), causado também por um vírus (*Parapoxvirus*), ocorre principalmente em ovinos e caprinos e menos frequentemente noutros ungulados, sendo transmissível ao homem. Esta afeção manifesta-se, nos pequenos ruminantes, sob a forma de lesões proliferativas (*i.e.*, pápulas e pústulas) nas junções mucocutâneas das cavidades oral e nasal e bordo coronário com posterior formação de crostas (Scott, 2007; Pugh & Baird, 2012; Bettencourt & Romão, 2013). O vírus do EC afeta essencialmente animais jovens, podendo os mais velhos estar também afetados, nos quais se podem observar lesões no esófago, rúmen, conjuntiva, espaço interdigital e órgãos genitais externos. As lesões no úbere são também frequentes, bem como infeções secundárias (Bettencourt & Romão, 2013). O EC é uma doença autolimitante com resolução em aproximadamente três a seis semanas (Pugh & Baird, 2012). Comparativamente, a LA e o EC têm um período de recuperação prolongado, elevada morbilidade e baixa mortalidade. As lesões na mucosa bucal, nasal e bordo coronário são comuns a ambas, embora sejam de natureza mais erosiva e ulcerativa na LA, enquanto no EC

são proliferativas e com formação de crostas, como já referido. O EC, como o nome indica, é uma doença contagiosa, com disseminação da doença através do contato entre animais, contrastando com a LA, que não se caracteriza como uma doença contagiosa (Vega *et al.*, 2005; Scott, 2007; Pugh & Baird, 2012; Bettencourt & Romão, 2013; Smith, 2015).

A febre catarral maligna (FCM) é uma doença de etiologia viral (*Herpesvírus*) que afeta ruminantes domésticos e selvagens. De entre os ruminantes, os mais afetados são os bovinos, sendo os caprinos e ovinos geralmente portadores da mesma. É uma doença de elevada mortalidade que afeta animais de todas as idades e sexo. Nos bovinos a doença cursa com o aparecimento de pirexia e algumas das lesões e sinais clínicos observados caracterizam-se pela presença de erosões essencialmente na cabeça e olhos. Observa-se também corrimento nasal espesso e abundante, hiperémia, úlceras e necrose das mucosas nasal e oral, conjuntivite e adenopatia generalizada, opacidade de córnea, fotofobia e blefarospasmo (indicativos de desconforto ocular), tremores e depressão. Também as lesões cutâneas podem ocorrer, tendendo estas a ter localização essencialmente interdigital, bem como na vulva e úbere (Stilwell, 2013). Tanto na LA como na FCM, após a acumulação e desidratação das secreções nasais, ocorre a formação de crostas nas narinas, causando obstrução à passagem de ar, com consequente dificuldade respiratória. As lesões cutâneas são comuns em ambas, contudo, na FCM estas localizam-se como já referido, essencialmente no espaço interdigital, vulva e úbere. Também na LA podem estar presentes lesões oculares, todavia, estas são mais frequentes na FCM. A mortalidade na LA, como já referido, é baixa, com recuperação prolongada dos animais que sobrevivem à doença, enquanto na FCM a mortalidade abrange quase 100% dos animais afetados. Como referido acima, os ovinos são apenas portadores da doença, enquanto na LA estes são a espécie mais afetada (Vega *et al.*, 2005; Stilwell, 2013).

A estomatite vesicular (EV) é também uma doença de etiologia viral (*Vesiculovirus*) que pode ser transmitida por vetores, de recuperação rápida (dois a 21 dias) e que ocorre em humanos e biungulados. As lesões nos bovinos caracterizam-se pelo aparecimento de vesículas na cavidade oral, úbere e úngulas, geralmente pouco visíveis, mas que rapidamente evoluem para lesões de necrose (Smith, 2015). Nos ovinos a infeção natural a campo é rara, logo quando surge, é normalmente de natureza experimental. Os ovinos, quando infetados, não demonstram sinais clínicos de estomatite vesicular (Pugh & Baird, 2012).

Na LA, tal como na EV, são frequentes as lesões na cavidade oral, no entanto, na primeira as lesões nas úngulas e úbere são menos frequentes. Em ambas as afeções as lesões são de carácter erosivo. Contudo, contrariamente à LA, na EV as erosões têm origem na rutura de vesículas, possuindo a doença uma recuperação rápida, que contrasta com a prolongada convalescença verificada em animais com LA (Vega *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova 2011; Smith, 2015).

10. Abordagem diagnóstica

O diagnóstico da LA é fundamentado a título presuntivo pelos sinais clínicos, achados *post-mortem* e avaliação epidemiológica (anteriormente referidos), sendo a confirmação alcançada mediante a elaboração de exames laboratoriais (Sperlova & Zendulkova, 2011; Bitew *et al.*, 2013).

Segundo a DGAV, os testes de diagnóstico utilizados, que constam no programa de Vigilância Controlo e Erradicação da Língua Azul de 2014 para Portugal são:

10.1 Colheita, acondicionamento e transporte de material para diagnóstico laboratorial

As amostras em laboratório a ser analisadas incluem (Sperlova & Zendulkova, 2011; OIE, 2014):

- Sangue em EDTA colhido no período de virémia, evitando a hemólise, pois a lise dos eritrócitos provoca a libertação do vírus e a sua neutralização por Ac;
- Soro de animais com afeção congénita que não tenham ingerido o colostro;
- Amostras de tecidos *post-mortem*, como o baço, linfonodos, pulmões, fígado, medula óssea, coração e músculos esqueléticos, para isolamento viral;
- Tecido cerebral recolhido em fetos.

As amostras a ser transportadas, deverão cumprir uma série de regras definidas, como (Sperlova & Zendulkova, 2011; OIE, 2014):

- Amostras de soro deverão ser congeladas a -20°C;
- Amostras de sangue total poderão ser armazenadas a 4°C, durante um longo período de tempo;
- Elementos figurados do sangue, armazenados a -70°C, em solução solvente, nomeadamente dimetilsulfóxido (DMSO) a 10%;
- Amostras de tecidos recolhidos *post-mortem*, deverão ser mantidas em gelo.

10.2 Isolamento do vírus

O vírus da LA pode ser isolado em ovos de galinha embrionados (nove a doze dias de idade), em cultura de células e em infeções experimentais dos ovinos, embora este último método não seja rotineiramente utilizado (OIE, 2014). A via de inoculação mais sensível nos ovos embrionados é a via intravenosa. Esta via é considerada 100 a 1000 vezes mais sensível que a da inoculação no saco vitelino, contudo, requer muita experiência (Sperlova & Zendulkova, 2011).

O material recolhido a partir de ovos embrionados, pode ser utilizado em culturas celulares ou diretamente em métodos moleculares (PCR ou Hibridização *in situ*) (Sperlova & Zendulkova, 2011).

O vírus da LA pode ainda ser isolado em culturas de células de mamíferos, como o BHK-2 (*Baby Hamster Kidney*) e Vero (*African Green Monkey Kidney*) e ainda em linhas celulares de insetos, como o *C. sonorensis* e o *Aedes albopictus*. O efeito citopático só se verifica em células de mamíferos (Sperlova & Zendulkova, 2011).

10.3 Diagnóstico molecular

De entre os testes utilizados para a identificação direta do vírus da LA, é de importante referência o da reação em cadeia com transcrição reversa (RT-PCR), que permite a rápida detecção do serogrupo e serotipo, podendo detetar o RNA do BTV em amostras até seis meses após a infeção e em amostras reduzidas, devido à sua elevada sensibilidade. A detecção do RNA viral por este método observa-se inclusive quando o vírus perdeu já a sua viabilidade, pelo que a sua interpretação deverá ser cautelosa, uma vez que um resultado positivo pode não representar a presença de vírus com capacidade infetante. A presença de falsos positivos pode ser justificada pela presença de amostras contaminadas com outro material genómico que não o que se pretende detetar ou com outros reagentes, como, por exemplo, outros *primers* utilizados no exercício da atividade laboratorial. Também falsos negativos poderão ser encontrados, devido essencialmente a amostras pobres ou *primers* inadequados (OIE, 2014).

O *nested*-PCR é um método que tem como objetivo, tal como todos os outros métodos baseados no PCR, a amplificação de uma região alvo de DNA. Este implica a adição de dois conjuntos de *primers*. O primeiro par (iniciador) é utilizado na primeira reação, obtendo-se uma amostra amplificada. O produto da primeira reação é então usado como molde para a segunda reação de amplificação, na qual se adiciona um novo conjunto de *primers* (complementares a uma região mais interna da porção alvo de DNA). Este teste é utilizado para aumentar a especificidade do produto final ou para aumentar a sensibilidade da técnica, no entanto, os riscos de contaminação dos materiais do teste aumentam o risco de ocorrência de falsos-positivos, restringindo as suas possíveis vantagens. Por este motivo a sua utilização é reduzida, quando comparada com o RT-PCR em tempo real (Maclachlan & Dubovi, 2011).

O RT-PCR em tempo real (RT- qPCR – *quantitative* RT-PCR) possibilita uma avaliação rápida e sensível do vírus da LA com a vantagem de ser, relativamente ao PCR convencional, ainda mais rápido e sujeito a uma menor ocorrência de falsos positivos/negativos por contaminação da amostra. Tão ou mais importante é a capacidade que esta técnica tem de quantificar a carga viral numa amostra, característica não partilhada com o método convencional. Este método foi testado em vários laboratórios do mundo, sendo considerado um dos meios preferenciais de diagnóstico para identificação do agente etiológico, uma vez que excede a sensibilidade do *nested*-PCR, sendo capaz de identificar todos os serotipos do vírus da LA atualmente conhecidos, assim como as estirpes em circulação (Sperlova & Zendulkova, 2011; OIE, 2014).

10.4 Testes sorológicos

10.4.1 Identificação do antígeno

Com fim à identificação do antígeno (Ag) podem ser utilizados testes ELISA, nomeadamente o ELISA *Sandwich*. Contudo e apesar da alta especificidade destes testes, a sua aplicabilidade no diagnóstico clínico-laboratorial da LA é reduzida, uma vez que a sensibilidade é baixa, requerendo-se, para a obtenção de um resultado positivo, amostras com grande quantidade de antígeno (Bitew *et al.*, 2013).

O teste de imunofluorescência direta pode também ser utilizado para identificar o antígeno. Este teste é aplicado em linhas celulares infetadas (*i.e.*, BHK e células Vero) onde se verifique efeito citopático. Os antígenos virais são detetados com recurso a soros anti-BTV ou Ac monoclonais (*monoclonal antibodies* - MAbs) específicos para o vírus da LA (Bitew *et al.*, 2013).

10.4.2 Identificação do anticorpo

Um dos testes usualmente utilizados para a pesquisa de Ac do vírus da LA sem deteção de reações cruzadas é o teste de ELISA de competição. Estes Ac são específicos para a proteína VP7, responsável pelo serogrupo (Mars *et al.*, 2010; Sperlova & Zendulkova, 2011). O princípio deste método baseia-se na competição, pela proteína VP7, do Ac que se quer pesquisar (presente no soro ou plasma dos animais a serem testados) com MAbs comerciais. Posteriormente adiciona-se uma imunoglobulina (Ig) G conjugada com uma enzima, que se liga aos MAbs. Como tal, a intensidade da cor obtida está negativamente correlacionada com a quantidade de Ac anti-VP7 a ser pesquisado. Este método é caracterizado pela sua rapidez, permitindo a determinação do Ac no soro ou plasma, tão cedo quanto o sexto dia após a infeção (Sperlova & Zendulkova, 2011).

Mais recentemente foram comercializados *kits* de ELISA indireto desenvolvidos para deteção de Ac em amostras de leite individuais ou em massa. Os Ac presentes na amostra ligam-se à proteína VP7, que é detetada pela adição de uma IgG conjugada com uma enzima, finalizando-se o teste com adição do substrato dessa enzima. A intensidade da coloração está positivamente correlacionada com a quantidade de Ac na amostra (Mars *et al.*, 2010; Sperlova & Zendulkova, 2011). Estes testes mostram-se úteis para fins de epidemiovigilância (OIE, 2014). Estudos de avaliação sobre a utilização deste método ainda não foram publicados, no entanto, os seus resultados promissores foram apresentados no simpósio *EPIZONE Bluetongue* em 2007 (Mars *et al.*, 2010; Sperlova & Zendulkova, 2011).

Para a identificação de Ac específicos do serogrupo pode ainda ser utilizado o teste de imunodifusão em gel (*Agar Gel Immunodifusion* - AGID), no entanto, existem indicações de algumas reações cruzadas com outros *Orbivirus*. É um teste considerado de fácil execução. Desde 1982 que era um dos procedimentos teste padrão para a movimentação intracomunitária de ruminantes, presentemente já considerado pouco preciso (OIE, 2014).

O teste de fixação do complemento tem sido usado para identificação de Ac do vírus da LA e ainda na detecção do aumento do título de Ac específicos após a infecção. Segundo o princípio em que este teste se baseia, se o soro do animal a ser testado possuir Ac anti-BTV, haverá a formação de complexos Ag/Ac após a adição do Ag comercial. Desta forma, o complemento liga-se a estes complexos, ficando indisponível para se ligar aos complexos eritrócito/Ac anti-eritrócito posteriormente adicionados. Isto resulta numa resposta considerada positiva em que não ocorre hemólise. Na eventualidade do animal testado não possuir Ac anti-BTV, o complemento liga-se ao único complexo disponível, nomeadamente, eritrócito/Ac anti-eritrócito, verificando-se o fenómeno de hemólise, equivalente a uma resposta negativa. No entanto, este teste só é eficaz durante um período relativamente curto após a infecção, motivo pelo qual tem sido largamente substituído pelo teste de ELISA (Bitew *et al.*, 2013).

O teste sorológico de neutralização do vírus, método também utilizado para o diagnóstico da LA, tem a capacidade de identificar os Ac neutralizantes específicos do serotipo, assim como o seu título. É um teste importante usado em áreas endémicas onde existe a probabilidade da circulação de vários serotipos. A sua capacidade de identificar o serotipo num determinado surto é essencial para pôr em prática medidas de controlo da doença, tais como o ajustamento da vacinação aos animais. É ainda de grande utilidade para a vigilância epidemiológica, estudos de transmissão da doença e para determinação da resposta com produção de Ac imunizantes mediante a vacinação (OIE, 2014).

11. Tratamento

O tratamento da LA é inespecífico e destinado a tratamento de suporte e enfermagem. A forma clínica da LA não responde habitualmente ao tratamento (Smith, 2015). Normalmente é necessário recorrer-se a medidas de manejo adequado, proteção contra a exposição solar e ajustamento da alimentação dos animais. Estas estratégias poderão diminuir a intensidade dos sinais clínicos e lesões apresentadas pelos animais (Vega *et al.*, 2005).

A terapêutica sintomática/organotrópica inclui administração de alguns fármacos, como anti-inflamatórios não esteroides, incluindo a flunixin meglumina (analgésico relativamente potente, não narcótico e não esteroide, com propriedades anti-inflamatórias, anti-endotóxicas e anti-piréticas) (DGAV, 2011), sendo vulgarmente indicados em animais que exibem sinais de pirexia e dor secundária às lesões (Sperlova & Zendulkova, 2011). A utilização de corticosteroides está contraindicada (Vega *et al.*, 2005).

As sulfamidas ou outros fármacos antimicrobianos de largo espectro podem ser administradas na tentativa de prevenir ou tratar lesões secundárias, como a pneumonia (Sperlova & Zendulkova, 2011).

12. Controlo

Atualmente as medidas de controlo aplicadas para os diferentes serotipos do vírus da LA fundamentam-se na aplicação de programas de epidemiovigilância, programas de vacinação, em especial nos ovinos e controlo da movimentação dos animais suscetíveis. Estas medidas têm sido progressivamente adequadas no exercício da evolução epidemiológica (Vega *et al.*, 2005; DGAV, 2016e). As respetivas medidas de combate à LA estão estabelecidas no Decreto-Lei n.º 146/2002, de 21 de maio e na Diretiva 2000/75/CE do Conselho, de 20 de novembro (DGAV, 2016e).

O controlo da LA, devido à sua distribuição epidemiológica e múltiplos serotipos, é difícil, pois tanto os vetores como os hospedeiros suscetíveis são fontes de transmissão do vírus (Vega *et al.*, 2005).

Segundo o Regulamento (CE) n.º 1266/2007 da Comissão, de 26 de outubro, na sua versão atual, a vigilância laboratorial deve ser constituída pelo acompanhamento sorológico com animais sentinela, ou estudos sorológicos/viológicos, ou ambos. Entenda-se por uma animal sentinela aquele que revelou resultados sorológicos negativos num teste anterior e que se soroconverteu desde essa altura de negativo a positivo para anticorpos contra pelo menos um serótipo da LA. A monitorização com animais sentinela consiste num programa anual com o objetivo de avaliar a circulação do vírus da LA na zona submetida a restrições.

O papel de identificação dos diferentes serotipos do vírus é essencial na conceção e implementação de medidas de controlo adequadas da doença, bem como para a utilização do serotipo vacinal correto (Sperlova & Zendulkova, 2011).

O controlo da importação de animais provenientes de países com BTV é uma das medidas a adotar como prioritárias, seguido da monitorização do rebanho que se encontra infetado, bem como a monitorização do vetor. A imunização profilática e a remoção dos vetores são também uma forma de controlo que pode ser utilizada (Sperlova & Zendulkova, 2011).

A eliminação total do vetor é um processo cuja realização é impraticável, no entanto, existe a possibilidade de reduzir as populações de moscas para níveis aceitáveis (Vega *et al.*, 2005). Existem algumas estratégias de controlo a fim de proporcionar alguma proteção aos animais dentro e fora dos estábulos, tais como (DGAV, 2014):

- Durante os períodos de alimentação ativa do vetor, os animais deverão ser recolhidos para o interior e os recintos fechados deverão estar protegidos com telas feitas de malha fina ou tecido impregnado com inseticidas (Vega *et al.*, 2005);
- Os solos húmidos, com água estagnada, deverão ser drenados e aplicados nos mesmos inseticidas e larvicidas aprovados (Vega *et al.*, 2005);
- O controlo do inseto adulto poderá ser realizado pela utilização de inseticidas aprovados, no exterior ou interior dos estábulos, ou ainda diretamente nos animais (Vega *et al.*, 2005);

- Evitar o uso das mesmas agulhas nos diferentes animais, especialmente nas épocas do ano de maior risco da doença (Stilwel, 2013);
- Desinsetização dos veículos de transporte dos animais, principalmente aqueles que se deslocam para zonas indemnes, com idóforos ou compostos fenólicos (Stilwel, 2013);
- Manter em quarentena os animais provenientes de zonas endêmicas (proteção contra os vetores) (Stilwel, 2013).

Outras estratégias para reduzir as taxas de infeção pelo inseto, incluem a sua captura ou uso de animais hospedeiros de forma a atrair o vetor (Maclachlan & Mayo, 2012).

Os agentes inseticidas utilizados nos animais terão que cumprir baixos níveis de toxicidade para os mamíferos, como os piretroides sintéticos (deltametrina, ciflutrina, permetrina e fenvalerato), com eficiência entre três a cinco semanas. Estes podem ser impregnados nas marcas auriculares dos animais. Também poderão ser utilizadas avermectinas (Ivermectina, Selamectina) por via sistémica, subcutânea ou intradérmica. Os repelentes de insetos podem ainda ser utilizados para garantir maior proteção, como o *N-dimetil-meta-toluamida* (DEET), não obstante, a sua eficácia é pouco duradoura, indo até quatro horas após a sua aplicação (Sperlova & Zendulkova, 2011).

13. Profilaxia

Nos países onde a LA é endémica, a luta contra o vetor não é a solução suficiente e definitiva para controlo da infeção. A infeção nestes países é difícil de controlar, tanto pela existência de infeções subclínicas, como pela impossibilidade de estabular permanentemente os animais. Como tal, a alternativa mais viável é a vacinação (Vega *et al.*, 2005).

Nos intercâmbios comerciais, desde países onde a língua azul é endémica a países indemnes, deve ter-se em atenção as normas referentes de importação dos animais, sémen e embriões (Vega *et al.*, 2005).

Os programas de vacinação requerem adaptação à evolução epidemiológica da doença, contudo, resultam na implementação da vacinação obrigatória. A vacinação terá de ser aplicada num conjunto de zonas que, pelas suas características edafo-climáticas e também dados históricos do plano entomológico, constituam elevado risco de propagação da doença (DGAV, 2014).

Estão atualmente disponíveis vacinas vivas atenuadas para ovinos e vacinas inativadas para ovinos e bovinos. As vacinas inativadas são mais seguras do que as vivas atenuadas, porque estas últimas terão potencial de transmissão na natureza, reversão para virulência e a capacidade de atravessar a placenta (Smith, 2015). As vacinas atenuadas devem ser administradas, pelo menos, 2 semanas antes da época de reprodução para evitar efeitos teratogénicos e antes do período sazonal da transmissão do vírus (final do verão e outono), para evitar a infeção de vetores e assim minimizar a probabilidade de recombinação do vírus atenuado

vacinal com o vírus de campo (Smith, 2015). Atualmente tem vindo a ser desenvolvida uma nova geração de vacinas contra o BTV, incluindo as vacinas recombinantes, que ainda se encontram em estudo. Estas, além de serem muito seguras, poderão permitir distinguir os animais vacinados dos animais infetados (as chamadas *Differentiating Infected from Vaccinated Animals* - DIVA) (OIE, 2014; Smith, 2015).

Na África do Sul as vacinas vivas atenuadas são conhecidas por produzirem uma imunidade eficaz e duradoura, no entanto, a sua atenuação é considerada um dos potenciais inconvenientes (OIE, 2014).

No território Português, segundo a DGAV (2016e), constituindo a vacinação a forma mais eficaz de controlar a LA e na sequência dos focos do serotipo 1 detetados nas regiões do Alentejo e Algarve em setembro de 2015, é de elevada importância a continuidade do desenvolvimento da campanha de vacinação obrigatória do efetivo reprodutor adulto e dos jovens destinados à reprodução, bem como definir as condições de circulação necessárias (DGAV, 2016e).

Em Portugal as medidas de controlo baseiam-se na vacinação obrigatória e no acompanhamento dos planos de vigilância clínica, sorológica e virológica. As vacinas autorizadas que estão a ser utilizadas em território Português são vacinas inativadas. As medidas de biossegurança em vigor nas explorações consistem no reforço das desinsetizações e ainda as desinsetizações obrigatórias dos meios de transporte utilizados para movimentação dos animais durante as épocas de maior atividade do vetor (DGAV, 2014).

13.1 Obrigatoriedade Vacinal em Portugal (DGAV, 2016e):

De acordo com análises de risco efetuadas e tendo em conta dados históricos do plano entomológico, planos de vigilância e indicadores meteorológicos, confirmou-se que a transmissão do vírus da LA no território nacional continental reúne condições para continuação da sua propagação. Desta forma, ao abrigo do disposto nos artigos 8º, 9º e 10º do Decreto-Lei n.º 146/2002, de 21 de maio e do Regulamento (CE) n.º 1266/2007 da Comissão, de 26 de outubro, na sua versão atual, foi determinado o seguinte:

- A obrigatoriedade do ato vacinal imunizante contra o serotipo BTV-1 nos efetivos de ovinos reprodutores adultos e jovens destinados à reprodução a partir dos seis meses de idade dos concelhos de Castelo Branco, Idanha-a-Nova e Vila Velha de Ródão, da Direção de Serviços de Alimentação e Veterinária da Região Centro, em todos os concelhos da Direção de Serviços de Alimentação e Veterinária da Região do Alentejo e Algarve, com recurso a uma vacina inativada, realizando primovacinação e reforço e ainda revacinações anuais;
- A permissão da vacinação com vacinas inativadas que confirmam imunidade contra outros serotipos da língua azul que não o BTV-1, nomeadamente de animais em que se venha a verificar o seu deslocamento para zonas de restrição de outros serotipos, com fim à participação em exposições ou eventos tauromáquicos. Este ato só poderá, contudo, ser

realizado a título excepcional e no seguimento de uma autorização da DGAV, desde que exista a possibilidade de retorno dos animais a território nacional;

- A incumbência ao Estado da responsabilidade do fornecimento das vacinas imunizantes contra os serotipos BTV-1 e 4 às OPP, na eventualidade da sua obrigação. Estes atos devem ser obrigatoriamente registados no documento de identificação animal ou guia de trânsito, assim como no programa informático de saúde animal.

14. Relato de casos clínicos

14.1 Ovinos

Espécie: Ovina

Exploração: Semi-extensivo

Raça: Merino branco e preto, *Ile de France*

Localização da exploração: Concelho de Moura (Freguesia da Amareleja)

Caracterização da região e exploração:

A exploração localiza-se entre a Granja e a Amareleja, na fronteira entre o Alto e Baixo Alentejo, com o clima típico da região em que os invernos são curtos e rigorosos e contrastantes com o Verão bastante longo e seco. A área da exploração abrange aproximadamente 700ha. Nela existem corpos de água, nomeadamente charcos e poços que são povoados com grande afluência pelos animais da exploração. A exploração é constituída por um efetivo ovino de aproximadamente 2000 cabeças de gado, de raça Merino Branco de lã fina e *Ile de France*. O efetivo reprodutor pastoreia no campo durante todo o ano. Os borregos são desmamados e agrupados para posterior engorda na exploração antes de serem vendidos para abate.

História clínica:

No final de outubro a Clínica Veterinária Vetmanos foi contactada para uma consulta a vários animais por se apresentarem com sinais clínicos de doença.

Ao exame clínico, 14 animais apresentavam hiperémia da mucosa oral e nasal, sialorreia, edema submandibular, febre (40 a 41°C), claudicação, ligeira dispneia, pleurotónico, hiperémia da pele do escroto e edema do mesmo, fraqueza e relutância à locomoção e alimentação. Nos animais em que foram encontrados sinais de hiperémia, estavam sempre presentes as descargas nasais (sero-mucosas a muco-purulentas), sialorreia e dispneia. Alguns animais apresentavam apenas claudicação com coronite e relutância em se mover, sem mais sinais aparentes de doença. Verificou-se também nalguns animais a presença de crostas nos lábios e chanfro. Num dos casos ocorreu aborto.

A maioria dos animais afetados eram fêmeas (12), havendo apenas dois machos a manifestarem sinais clínicos. Todos os animais presentes à consulta eram adultos. Nas Figuras 27 e 28 estão representadas algumas das lesões encontradas nos ovinos aquando da consulta.



Figura 28 – **A** - ovino com lesões de hiperémia no lábio superior e chanfro. **B** - ovino com hiperémia da mucosa bucal. **C** - ovino com hiperémia da mucosa bucal. **D** - carneiro com hiperémia e edema do escroto (Autor).



Figura 29 – **A** - ovino com edema submandibular, sialorreia e corrimento nasal sero-mucoso. **B** - ovino com pleurotórtono (Autor).

Diagnósticos diferenciais:

Todos os sinais clínicos existentes sugerem como DD o ectima contagioso e a febre catarral maligna.

Diagnóstico:

O diagnóstico foi então concluído pelos sinais clínicos que eram sugestivos de língua azul. O facto de a doença circular em Portugal, inclusive perto da fronteira de Espanha, ajudou à sugestão da mesma como diagnóstico presuntivo, embora não tenham sido efetuados nenhuns testes sorológicos/viológicos.

Tratamento:

Foi realizado um tratamento sintomático aos animais infetados, em função dos sinais clínicos apresentados.

Aos animais que se apresentavam com piroxia foi administrado, por via IM, anti-inflamatório não esteroide (flunixin meglumine), numa dose de 2,2 mg/kg. Também foram utilizados antibióticos de largo espectro (Oxitetraciclina) numa dose de 20 mg/kg via IM a todos os animais doentes por forma a evitar futuras infeções bacterianas secundárias. Nas lesões cutâneas foram efetuadas lavagens com solução iodada (iodopovidona) e aplicação de Sulfadiazina de prata a 10% em creme.

Controlo/Profilaxia sanitária:

Foi recomendado ao produtor separar os animais do restante rebanho, colocando-os num local fechado, de preferência sem exposição solar (diminuição da exacerbação dos sinais clínicos). Para a proteção contra a ação do vetor, aconselhou-se a aplicação de redes mosquiteiras nas janelas e portas dos estábulos e desinsetização com piretroides sintéticos (cipermetrima a 10%) dos animais doentes e do restante rebanho. Foi recomendado ainda a aplicação de repelentes nos estábulos (também cipermetrima a 10%) e lavagens dos mesmos com compostos fenólicos.

Sugeriu-se também a desinfeção dos transportes dos animais, assim como a drenagem de locais com água estagnada presentes na exploração, com fim à redução da proliferação de moscas.

Aos animais em fases terminais de vida foi indicado o abate de modo a evitar a expansão epidémica do vírus.

Profilaxia médica:

A vacinação foi efetuada a todos os animais da exploração com mais de três meses de idade (vacina inativada - Syvazul 1), via IM, assim que a mesma foi disponibilizada pelos serviços oficiais (DGAV).

14.2 Bovinos

Espécie: Bovina

Exploração: Semi-extensivo

Raça: Mertolenga X Aberdeen-Angus

Localização da exploração: Concelho de Évora (Freguesia do Campinho)

Caracterização da região e exploração:

A exploração localiza-se entre Reguengos de Monsaraz e o Campinho, com o clima semelhante ao já descrito para a localização da exploração de ovinos do caso clínico anteriormente relatado. A exploração abrange aproximadamente 500ha, incluindo 30he de vinha e 20he de arrifes. Dentro da exploração existem poços e charcas. É constituída por um efetivo de bovinos de aproximadamente 320 cabeças. O efetivo reprodutor não tem qualquer estabulação ao longo de todo o ano, estando sempre a campo. Os bezerras são desmamados aos cinco meses de idade e agrupados para posterior engorda (um mês) na exploração antes de serem vendidos para abate.

História clínica:

No final de novembro a Clínica Veterinária Vetmanos foi contactada para a realização de um teste de pré-movimentação de um lote de animais no fim da engorda (40 animais). Uma vez que se tratava de uma pré-movimentação intracomunitária para uma zona indemne (Espanha) e existindo várias normas a cumprir nestes casos, foram solicitados testes de RT-PCR para pesquisa do agente da LA. Para tal foi colhido sangue a esses animais para tubos de EDTA e posteriormente enviados para o INIAV. Destas colheitas resultaram vários animais positivos, indicando desta forma a presença da doença, quer na exploração, quer na zona em questão. Os animais que demonstraram positividade no teste, não apresentavam sinais clínicos no momento da colheita de sangue.

Diagnóstico:

Os testes de RT-PCR em tempo real foram efetuados em *pools* de cinco animais. Dos 12 resultados laboratoriais constaram dois resultados positivos na pesquisa de BTV-1 e três resultados positivos na pesquisa de BTV-4. Os restantes foram negativos.

Controlo/Profilaxia sanitária

Várias medidas foram implementadas, nomeadamente as restrições de movimentação de animais, conforme o Edital n.º 40 Febre Catarral Ovina ou Língua Azul, bem como as medidas de biossegurança com vista à contenção da doença (*i.e.*, agente e vetores), que contemplaram: a quarentena dos animais durante 60 dias (período necessário ao desaparecimento da virémia); animais confinados nas horas de maior atividade dos vetores; a desinfeção dos veículos de transporte dos animais, assim como a drenagem das águas estagnadas presentes na exploração, visando reduzir a exposição ao agente no local. Foi recomendado ao produtor separar esses animais do restante rebanho e a desinsetização a todos os animais da exploração. Segundo o mesmo edital, relativamente às regras de movimentação obrigatórias em território nacional, os animais a movimentar ou o efetivo de origem à data do transporte não poderão apresentar qualquer suspeita de doença; O carregamento dos animais deverá ser efetuado nas horas de menor atividade do vetor; os veículos deverão ser desinsetizados antes da carga e os

animais deverão ser tratados com inseticidas ou repelentes com uma antecedência máxima de sete dias em relação à data da movimentação.

Nenhum protocolo terapêutico foi adotado neste efetivo.

15. Discussão dos casos clínicos

Em relação ao caso clínico dos ovinos, no que se refere ao diagnóstico, este foi emitido a título presuntivo, como já referido, pelos sinais clínicos que eram sugestivos de língua azul e pela já reportada presença do vírus em Portugal. Contudo não foram efetuados nenhuns testes sorológicos/virológicos/moleculares, não havendo a confirmação do diagnóstico.

O clima tem sido apontado como um dos principais motores da distribuição do BTV, existindo uma grande probabilidade de que os surtos europeus sejam uma consequência do aquecimento global, em concordância com as condições verificadas na localização geográfica da exploração (Samy & Peterson, 2016).

Por todos os sinais clínicos existentes, constaram como diagnósticos diferenciais principais o ectima contagioso e a febre catarral maligna. O ectima contagioso manifesta-se principalmente com lesões proliferativas na mucosa bucal, nasal e úbere. Já as lesões da LA são de natureza erosiva, contemplando um quadro sintomatológico mais indicativo de afeção sistémica. O ectima contagioso foi descartado como DD pelo fato de não se terem observado animais jovens afetados, nem mães com úberes afetados, sendo de referir ainda a sua elevada contagiosidade e maior incidência no período pós-parto, padrão não evidente neste caso clínico. Por sua vez, a LA tem uma incidência sazonal (final do verão e início do Outono), figurando-se como um DD mais provável (Vega *et al.*, 2005; Scott, 2007; Pugh & Baird, 2012; Smith, 2015).

Na febre catarral maligna (FCM) é frequente a ocorrência de estados febris (40 a 42°C) e lesões erosivas localizadas essencialmente na cabeça e região ocular, ocorrendo ainda úlceras e necrose das mucosas nasal e oral, corrimento nasal e adenopatia generalizada. A mortalidade desta doença ronda os 100%. Tanto na FCM como na LA os animais apresentam lesões cutâneas, dificuldades respiratórias e lesões oculares, no entanto, em nenhum animal houve registo de afeção ocular (*e.g.*, conjuntivite e lacrimejamento), situação mais frequente nas infeções pelos vírus da FCM do que as pelo vírus da LA. Adicionalmente dois outros fatores desfavoreceram a FCM como DD, nomeadamente, o fato de os ovinos terem apresentado sintomas (quadro incomum em ovinos infetados com o vírus da FCM, uma vez que atuam principalmente como portadores) e a mortalidade reduzida, fortalecendo a LA como diagnóstico presuntivo (Stilwell, 2013).

De acordo com o Decreto-Lei n.º 146/2002 de 21 de maio, a LA deve constar da lista de diagnósticos diferenciais sempre que estejam presentes quaisquer sinais clínicos que a evoquem, conciliando-se esta informação a um conjunto de dados epidemiológicos que permitam considerar esta eventualidade. Esta consideração viabiliza o diagnóstico sugestivo no caso clínico dos ovinos.

O tratamento da LA é inespecífico e apenas destinado a tratamento de suporte e enfermagem (Stilwell, 2013). Em termo de tratamento sintomático, foram efetuados todos os procedimentos necessários para minimizar os sinais clínicos e possíveis infeções secundárias. As medidas sanitárias aplicadas também cumpriram o disposto no Decreto-Lei n.º 146/2002, de 21 de maio e na Diretiva 2000/75/CE do Conselho, de 20 de novembro onde estão estabelecidas as medidas de combate à doença, cujas aplicações se encontram previstas no Regulamento (CE) n.º 1266/2007, da Comissão, de 26 de outubro, na sua versão atual (DGAV, 2016).

Em relação ao caso clínico dos bovinos, no que respeita à emissão do diagnóstico definitivo, esta foi efetuada pela presença, não de sinais clínicos, mas sim através da positividade dos testes RT-PCR. Os bovinos são o principal reservatório do BTV, uma vez que são infetados geralmente de forma subclínica e desenvolvem virémias prolongadas, adquirindo importância epidemiológica, convertendo-se desta forma em espécies amplificadoras da doença (Purse *et al.*, 2005; Sperlova & Zendulkova, 2011). Uma vez que à primeira (e única) consulta o produtor solicitou os serviços médico-veterinários para a realização rotineira dos TPM e, desconhecendo-se a doença antes do resultado das análises, estando também os animais sem sintomatologia (doença subclínica), não foi adotado nenhum protocolo terapêutico.

Conforme o artigo 6º, alínea a) da Diretiva 2000/75/CE do conselho de 20 de novembro de 2000, que aprova disposições específicas relativas às medidas de luta e de erradicação da LA, sempre que a doença seja oficialmente confirmada, o veterinário oficial pode mandar proceder ao abate sanitário dos animais afetados que sejam considerados necessários para evitar a extensão da epidemia, informando a Comissão Europeia deste facto.

As medidas sanitárias aplicadas também cumpriram o disposto no Decreto-Lei n.º 146/2002, supracitado no caso dos ovinos.

A movimentação dos animais dentro do território nacional está sujeita às condições do Edital n.º 40 Febre Catarral Ovina ou Língua Azul que refere as restrições à movimentação dos efetivos onde sejam detetados animais com resultados positivos aos testes de RT-PCR. Nestas explorações são implementadas medidas de quarentena dos animais durante 60 dias; tratamentos e medidas de manejo para controlo de vetores; avaliação epidemiológica e possibilidade de aplicação de vacina inativada; registo obrigatório no passaporte individual do bovino e na base de dados PISA.NET das inoculações de vacina efetuadas.

As medidas de controlo implementadas têm sido baseadas em programas de vigilância, vacinação e na movimentação controlada dos animais sensíveis, sendo adaptadas em função da evolução epidemiológica do BTV. Em Portugal é importante monitorizar a circulação viral de BTV-1 e a sua evolução, bem como identificar precocemente qualquer indício de circulação viral de novos serotipos, nomeadamente do BTV-8 (DGAV, 2014).

A adaptação do programa de vacinação à evolução epidemiológica da doença resulta na implementação da vacinação obrigatória num conjunto restrito de concelhos onde, pelas suas características edafo-climáticas e avaliação dos dados históricos do plano entomológico, resulta um risco acrescido de atividade do vetor e conseqüentemente de circulação viral. (DGAV, 2014).

A aplicabilidade da vacina, caracterização das zonas submetidas a restrições da doença, movimentações e transportes de animais encontram-se descritos nos artigos 8º, 9º e 10º do Decreto-Lei n.º 146/2002, de 21 de maio e do Regulamento (CE) n.º 1266/2007 da Comissão, de 26 de outubro, na sua versão atual.

As medidas de biossegurança em vigor nas explorações relativamente à língua azul consistem no reforço das desinsetizações. É ainda obrigatória a desinsetização dos animais e dos meios de transporte, sempre que seja necessária a movimentação dos animais durante as épocas do ano em que se verifica maior atividade do vetor, comprovada através da emissão de documento próprio (DGAV, 2014).

Ao abrigo do Decreto-Lei n.º 146/2002 de 21 de maio, após a notificação da suspeita à DGAV ou às DRA, a DGAV ordena a vigilância oficial da ou das explorações suspeitas.

A persistência da língua azul nos ruminantes constitui um entrave ao comércio animal, nomeadamente no que se refere a movimentações para as regiões autónomas e com destino ao trânsito intracomunitário destas espécies e à exportação para países terceiros (DGAV, 2014).

Esta doença tem elevadas perdas diretas, nomeadamente o custo da doença e custo das medidas de controlo e combate à doença. As perdas indiretas contemplam principalmente o obstáculo à livre circulação de animais. O devido controlo da doença/agente/vetor contribui para o aumento da produtividade das explorações e conseqüentemente para a melhoria do nível de vida dos produtores (DGAV, 2014)

O Regulamento (CE) n.º 1266/2007 da comissão de 26 de outubro de 2007 estabelece normas de execução da Diretiva 2000/75/CE do Conselho no que se refere ao controlo, acompanhamento, vigilância e restrições às deslocações de determinados animais de espécies sensíveis, relativamente à LA. Para efeitos do presente regulamento, são aplicáveis as definições constantes do artigo n.º 2 da Diretiva 2000/75/CE, que define como caso de LA, um animal que completa um dos seguintes requisitos: apresentação de sinais clínicos compatíveis com a LA; animal que revelou um resultado positivo aos testes serológicos à LA ou a partir do qual foi identificado o antígeno viral ou o RNA viral específico de um ou vários serotipos da LA. Ainda para além dos requisitos supracitados, deverão existir um conjunto de dados epidemiológicos sugestivos de que os sinais clínicos ou os resultados dos testes laboratoriais que indicam a infeção pela LA, resultam da circulação do vírus na exploração em que o animal se encontra e não são consequência de seropositivos provenientes de zonas submetidas a restrições ou da introdução de animais vacinados.

16. Conclusão

A realização deste relatório de estágio constituiu um complemento essencial na aquisição de conhecimentos na clínica espécies pecuárias.

Neste relatório pretendeu-se fazer uma breve descrição das atividades realizadas durante os cinco meses de estágio na Clínica Veterinária Vetmanos, bem como o desenvolvimento de uma monografia sobre a doença da Língua Azul.

A língua azul é uma doença com larga distribuição mundial. Em Portugal encontra-se em circulação o serotipo 1 do vírus, que foi relatado o ano passado, em setembro de 2015, localizado em diversos concelhos da região do Alentejo e Algarve. Neste momento estão a ser implementadas medidas profiláticas para combater a propagação da doença. No entanto, as medidas de biossegurança indicadas por lei (Decreto Lei 146/2000), são quase impraticáveis nas explorações em extensivo ou semi-intensivo.

A língua azul é uma doença com elevado impacto económico, estando sujeita ao cumprimento de medidas estipuladas pelas entidades responsáveis, de forma a minimizá-los.

A realização deste relatório foi um elemento de aprendizagem fundamental para o meu trabalho futuro.

17. Bibliografia

Barros SC, Ramos F, Luís TM, Vaz A, Duarte M, Henriques M, Cruz B, fevereiro M (2007) Molecular epidemiology of bluetongue virus in Portugal during 2004–2006 outbreak. *Veterinary microbiology*, 124 (1): 25-34.

Beagley JC, Whitman KJ, Baptiste KE & Scherzer J (2010) Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *Journal of Internal Veterinary Medicine*, 24: 261-268.

Bettencourt E & Romão R (2013) Texto de apoio à disciplina de Clínica de Espécies Pecuárias. Universidade de Évora.

Bitew M, Nandi S & Ravishankar C (2013) Bluetongue: Virus proteins and recent diagnostic approaches. *African Journal of Microbiology Research*, 7: 51.

Câmara Municipal de Mourão (2016) Acedido a 15 de março de 2016 em: <http://www.cm-mourao.pt/pt/site-visitar/Paginas/Geografia.aspx>.

CCDR Alentejo. Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional do Alentejo. Acedido a 15 de março de 2016 em: <http://webb.ccdr-a.gov.pt/index.php/ra-87821/mapas>.

CDC – Center for Disease Control and Prevention (Estados Unidos da América). Acedido a 15 de agosto de 2016 em: <http://www.cdc.gov/salmonella/reportspubs/salmonella-atlas/serotyping-importance.html>.

Chand P, Sadana JR & Malhotra AK (2002). Epididymo-orchitis caused by *Brucella melitensis* in breeding rams in India. *The Veterinary Record*, 150: 84-85.

Coetsee P, Stokstad M, Venter EH, Myrmel M & Vuuren MV (2012) Bluetongue: a historical and epidemiological perspective with the emphasis on South Africa. *Virology journal*, 9: 198.

Comissão Europeia (2016) Restriction zones established by the Member States. Acedido a 20 de julho de 2016 em: http://ec.europa.eu/food/animals/animal-diseases/control-measures/bluetongue/index_en.htm mapa.

Costa LL & Silva JR (2010) Avaliação da função reprodutiva do touro para sistemas de produção em extensivo. Workshop para Médicos Veterinários XIV Jornadas da Associação Portuguesa de Buiatria, Elvas, pp.01-20.

Costa LL (2008) Controlo da reprodução em efetivos bovinos de produção de carne. Revista Portuguesa de Buiatria, pp.01-08.

Decreto-Lei n.º 144/1999 de 14 de abril. Diário da República n.º 87/1999 – I Série-A. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa. Acedido a 11 de abril de 2016 em: <https://dre.pt/application/file/a/544548>.

Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro. Diário da República n.º 224/1999 – I Série-A. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa. Acedido a 11 de abril de 2016 em: <https://dre.pt/application/dir/pdf1s/2000/09/224A00/52075223.pdf>.

Decreto-Lei n.º 272/2000 de 8 de novembro. Diário da República n.º 258/2000 – I Série. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa. Acedido a 18 de março de 2016 em: http://www.vetbiblios.pt/LEGISLACAO_TECNICA/SAUDE_ANIMAL/Brucelose/Decreto-Lei_244-2000_27.09.pdf.

DGAV (2011) Base de Dados de Medicamentos, Produtos e Biocidas de uso Veterinário. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 3 de agosto de 2016 em: <http://medvet.dgav.pt/RCM/Index/1576>.

DGAV (2014) Programa de Vigilância Controlo e Erradicação da Língua Azul 2014. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 25 de julho de 2016 em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=3667381&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2015a) Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina 2015. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 18 de março de 2016 em: <http://www.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2015b) Programa Plurianual de Vigilância da Leucose Enzoótica Bovina 2015. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 11 de abril de 2016 em: <http://www.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2015c) Programa Nacional de Erradicação da Brucelose dos Bovinos 2015. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 11 de abril de 2016 em:

<http://www.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2015d) Programa Nacional de Erradicação da Brucelose dos Pequenos Ruminantes 2015. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 11 de abril de 2016 em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2016e) Edital n.º 40 Febre Catarral Ovina Língua Azul. Agricultura florestas e desenvolvimento rural. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 21 de julho de 2016 em: <http://www.acos.pt/repository/docs/EDITAL%20n%2040%20FEBRE%20CATARRAL%20OVINA.pdf>.

DGAV (2016a) Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina 2016. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 20 de maio de 2016 em: <http://www.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=3667381&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2016b) Programa Plurianual de Vigilância da Leucose Enzoótica Bovina 2015. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 20 de maio de 2016 em: <http://www.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=3667381&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2016c) Programa Nacional de Erradicação da Brucelose dos Bovinos 2015. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 20 de maio de 2016 em: <http://www.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=3667381&generico=20291&cboui=20291>.

DGAV (2016d) Programa Nacional de Erradicação da Brucelose dos Pequenos Ruminantes 2015. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido a 20 de maio de 2016 em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=3667381&generico=20291&cboui=20291>.

Directiva 2000/75/CE do Conselho de 20 de novembro. Jornal Oficial da União Europeia. Comissão Europeia. Portugal. Acedido a 2 de agosto de 2016 em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2000:327:0074:0083:ES:PDF>.

Directiva 2008/73/CE DO Conselho de 15 de julho. Jornal Oficial da União Europeia. Comissão Europeia. Portugal. Acedido a 18 de março de 2016 em: <http://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2008/73/oj>.

Drew CP, Hellerb MC, Mayo C, Watsonb JL & MacLachlan NJ (2010) Bluetongue virus infection activates bovine monocyte-derived macrophages and pulmonary artery endothelial cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 136: 292–296.

Eiler H & Fecteau KA (2007) Retained placenta. In *Current therapy in large animal theriogenology*, 2nd edition, ed. Youngquist RS & Threlfall WR, Elsevier Saunders, EUA, ISBN 10: 0-7216-9323-7, pp. 345-354.

Évora Digital (2016). Acedido a 15 de março de 2016 em: <https://www.evradigital.biz/pt/conteudos/territorial/caracterizacao+do+distrito/concelho+de+evora/>.

Fevereiro, M. (2012) Patogenia do vírus da Língua Azul. Material didático e pedagógico de Microbiologia Médica e Imunologia II, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade de Évora.

Hafez B & Hafez E.S.E. (2004) *Reprodução Animal*, Sétima edição, Manole, Brasil, ISBN:978-85204-1222-0, pp. 33-53, 381-398.

House JK, Smith GW, Mcguirk SM, Gunn AA. & Izzo M (2015) Manifestations and Management of Disease in Neonatal Ruminants. In *Large Animal Internal Medicine*, 5th edition, ed. Smith, BP., Elsevier Mosby, St. Louis, Missouri, ISBN: 978-0-323-08839-8, pp. 302-338.

INE - Instituto Nacional de Estatística (2013). Acedido a 15 de março de 2016 em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_unid_territorial&menuBOUI=13707095&contexto=ut&selTab=tab3.

Jenckel M, Bréard E, Schulz C, Sailleau C, Viarouge C, Hoffmann B, Höper D, Beer M & Zientara S (2015) Complete Coding Genome Sequence of Putative Novel BluetongueVirus Serotype 27. *Genome Announcements*, 3 (2): 16-15.

Maan S, Maan NS, Nomikou K, Batten C, Antony F, Belaganahalli MN, Samy AM, Reda AA, Al-Rashid SA, EL Batel M, Oura CAL & Mertens PPC (2011). Novel Bluetongue Virus Serotype. *Emerging Infectious Diseases*, 17: 5.

Maclachlan NJ (2011) Bluetongue: History, global epidemiology, and pathogenesis. *Preventive Veterinary Medicine*, 102: 107– 111.

Maclachlan NJ & Dubovi EJ (2011) *Fenner's Veterinary Virology*, Fourth edition, Elsevier, London, ISBN: 978-0-12-375158-4, pp.114.

Mars MH, van Maanen C, Vellema P, Kramps JA, van Rijn PA (2010) Evaluation of an indirect ELISA for detection of antibodies in bulk milk against bluetongue virus infections in the Netherlands. *Veterinary Microbiology*, 146: 209–214.

Mayo CE, Crossley BM, Hietala SK, Gardner IA, Breitmeyer RE & MacLachlan NJ (2010) Colostral Transmission of Bluetongue Virus Nucleic Acid Among Newborn Dairy Calves in California. *Transboundary and Emerging Diseases*, 57: 277–281.

Menzies FD, McCullough SJ, McKeown IM, Forster JL, Jess S, Batten C, Murchie AK, Gloster J, Fallows JG, Pelgrim W, Mellor PS & Oura CAL (2008) Evidence for transplacental and contact transmission of bluetongue virus in cattle. *Veterinary Record*, 163:203-209.

Millemann Y (2009) Diagnosis of neonatal calf diarrhoea. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 160: 8-9, 404-409.

Nevill EM (1971). Cattle and *Culicoides* biting midges as possible overwintering hosts of bluetongue virus. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 38 (2): 65-72.

OIE - World Organization For Animal Health. OIE Terrestrial Manual 2009 - Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2009, Chapter 2.4.7. Bovine Tuberculosis. Acedido a 18 de março de 2016 em:[http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/;](http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/).

OIE, 2014 - World Organization For Animal Health. OIE Terrestrial Manual 2014 - Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2014, Chapter 2.1.3. Bluetongue (infection with bluetongue virus). Acedido a 1 de agosto de 2016 em:http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.03_BLUETONGUE.pdf.

Plumb DC (2008) *Plumb's Veterinary Drug Handbook*, 6th edition, Blackwell Publishing, USA, ISBN: 978-0-8138-1097-3, pp. 389-390.

Portaria n.º 178/2007 de 9 de fevereiro. Diário da República n.º 29 - I Série. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa. Acedido a 20 de março de 2016 em: <https://dre.pt/application/file/a/517964>.

Pugh DG & Baird AN (2012) *Sheep and Goat Medicine*, 2nd edition. St. Louis, Missouri, Elsevier Saunders, ISBN: 978-1-4377-2353-3, pp.67-68, 262-265, 307-308.

Purse BV, Mellor PS, Rogers DJ, Samuel AR, Mertens PPC & Baylis M (2005) Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nature Reviews, Microbiology*, 3: 171–181.

Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW & Constable PD (2006b) Diseases associated with bacteria - III. In *Veterinary medicine: A textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*, 10th edition, ed. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW & Constable PD, Elsevier Saunders, London, ISBN: 978-07020-2777-2, pp.847-1006.

Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW & Constable, PD (2006a) Diseases associated with viroses and chlamydia - I. In *Veterinary medicine: A textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*, 10th edition, ed. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW & Constable PD, Elsevier Saunders, London, ISBN: 978-07020-2777-2, pp.1157-1305.

Regulamento, n.º 1266/2007 de 26 de outubro. Jornal oficial da união Europeia. Comissão Europeia, Portugal. Acedido a 3 de agosto, em: http://www.vetbiblios.pt/LEGISLACAO_TECNICA/SAUDE_ANIMAL/Ovinos/Regulamento_1266-2007_26-10.pdf.

Rooh UA, Bhat GR, Ahmad A, Swain PS & Arunakumari G (2013) Understanding pathophysiology of retained placenta and its management in cattle a Review. *Veterinary Clinical Science*, 1 (1): 01-09.

Saegerman C, Bolkaert B, Baricalla C, Raes M, Wiggers L, Leeuw Id, Vandebussche F, Zimmer J-Y, Haubruge E, Cassart D, Clercq KD & Kirschvink N (2011) The impact of naturally-occurring, trans-placental bluetongue virus serotype-8 infection on reproductive performance in sheep. *The Veterinary Journal*, 187: 72-80.

Samy AM & Peterson AT (2016) Climate Change Influences on the Global Potential Distribution of Bluetongue Virus. *PloS one*, 11 (3): e0150489.

Sánchez-Cordón PJ, Rodríguez-Sánchez B, Rialde MA, Molina V, Pedrera M, Sánchez-Vizcaíno JM & Gómez-Villamandos JC (2010) Immunohistochemical Detection of Bluetongue Virus in Fixed Tissue. *Comparative Pathology*, 143: 20-28.

Savini G, MacLachlan NJ, Sanchez-Vizcaino J-M, Zientara S (2008) Vaccines against bluetongue in Europe. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 31: 101-120.

Scott PR (2007) *Sheep Medicine*. Manson, London, ISBN: 978-1-84076-049-1, pp.243-245, 321-322.

Smith BP (2015) *Large Animal Internal Medicine*, 5th Edition, Elsevier, St. Louis, Missouri, California, ISBN: 978-0-323-08839-8, pp. 318-319, 745-764.

Sperlova A & Zendulkova D (2011) Bluetongue: a review. *Veterinarni Medicina*, 56 (9): 430-452.

Stilwell GT (2013). As doenças mais importantes dos bovinos. In *Clínica de Bovinos*, Primeira edição, ed. Stilwell GT, Publicações Ciência e Vida: Lisboa, ISBN: 978-972-590-092-5, pp. 51-55; 109-115; 292-296.

Taylor MA, Coop RL & Wall RL (2007) Parasitas de ovinos e caprinos. In *Parasitologia Veterinária*, Terceira edição, ed. Taylor MA, Coop RL. & Wall RL, Rio de Janeiro, ISBN: 978-85-277-1568-3, pp.128-217.

Tizard IR (2013) Use of Vaccines. In *Veterinary Immunology*, 9th edition, ed. Tizard, IR, Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, ISBN: 978-14557-0362-3, pp.272-282.

UPSpace (2013a) - Institutional Repository of the University of Pretoria (University of Petroria, África do Sul). Acedido a 15 de agosto de 2016, em: <http://repository.up.ac.za/dspace/handle/2263/32667>.

UPSpace (2013b) - Institutional Repository of the University of Pretoria (University of Petroria, África do Sul). Acedido a 15 de agosto de 2016, em: <http://repository.up.ac.za/dspace/handle/2263/32666>.

UPSpace (2013c) - Institutional Repository of the University of Pretoria (University of Petroria, África do Sul). Acedido a 15 de agosto de 2016, em: <http://repository.up.ac.za/dspace/handle/2263/32683>.

UPSpace (2013c) - Institutional Repository of the University of Pretoria (University of Petroria, África do Sul). Acedido a 15 de agosto de 2016, em: <http://repository.up.ac.za/dspace/handle/2263/32674>.

UPSpace (2013c) - Institutional Repository of the University of Pretoria (University of Petroria, África do Sul). Acedido a 15 de agosto de 2016, em: <http://repository.up.ac.za/dspace/handle/2263/32675>.

Vega S, Tolari F, García Á, Gómez T, Fernández S, Galiana C, Cavini S & Pérez T (2005) Lengua Azul. Departamento de Atención Sanitaria, Salud Pública y Sanidad Animal. Universidad Cardenal Herrera – CEU. 46113 Moncada.

Wilson AJ, & Mellor PS (2009) Bluetongue in Europe: past, present and future. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 364: 2669–2681.

Zientara S, MacLachlan NJ, Calistri P, Sanchez-Vizcaino J-M & Savini G (2014) Bluetongue vaccination in Europe. *Expert Review of Vaccines*, 9: 989-991.

Zubair M & Ahmad M (2014) An insight into the recent advances on the physiology and treatment of retention of fetal membranes in cattle. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2 (2): 73-77.