

Lidia Margarida Silva Serras

Contribuição para o estudo dos hemoparasitas dos bovinos na
Beira Interior

Presidente: Prof^a Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Prof. Doutor Luís Cardoso

Orientador: Prof^a Doutora Ana Araújo Munhoz

Vogal: Prof^a Doutora Margarida Alves

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2017

Lidia Margarida Silva Serras

Contribuição para o estudo dos hemoparasitas dos bovinos na Beira Interior

Dissertação defendida em provas PÚBLICAS
Para obtenção do grau de Mestre em
Medicina Veterinária conferido pela
Universidade Lusófona de Humanidades e
Tecnologias no dia 28 de Setembro de 2017
com o Despacho Reitoral nº 304/2017 com a
seguinte composição:

Presidente: Prof^a Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Prof. Doutor Luís Cardoso

Orientador: Prof^a Doutora Ana Araújo
Munhoz

Vogal: Prof^a Doutora Margarida Alves

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2017

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à minha orientadora Doutora Ana Munhoz, pela paciência, pela sabedoria e concelhos transmitidos e pelo incentivo em fazer sempre mais e melhor, os meus sinceros agradecimentos.

A todos os colaboradores da Clínica Veterinária Entre Patas, Dra. Ana Rico, Carla Albuquerque e Joana Pereira, agradeço o acolhimento e integração, e por todos os conhecimentos que partilharam comigo. Um especial agradecimento à Dra. Joana Carrilho, que sempre se mostrou disponível em me ajudar, pelos concelhos cheios de sabedoria, pela paciência em me transmitir os seus conhecimentos e pela amizade que sempre demonstrou para comigo.

Ao Dr. Pedro Cardoso, pela forma como me recebeu e integrou, por me transmitir os seus conhecimentos de forma clara e eficiente e pela sabedoria e paciência demonstradas.

A todos os enfermeiros, médicos veterinários da Clínica Veterinária de Castelo Branco, Márcia Branco, Sílvia Lopes, Diogo Perdigão, Ana Sousa e Margarida Tomé, agradeço o carinho com que me receberam, pois apesar de não ter realizado o meu estágio nesta clínica, permitiram-me adquirir conhecimentos e experiência tanto a nível profissional como pessoal. O meu agradecimento especial à Dra. Raquel Venâncio, que mostrou-se sempre disponível em me ajudar a todos os níveis, e que me permitiu analisar as minhas amostras de sangue na sua clínica.

Ao Doutor Jacinto Gomes e a Doutora Helga Waap do Instituto Nacional Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), por terem partilhado comigo os seus conhecimentos, e pela ajuda preciosa que me deram na realização desta dissertação.

À minha mãe Lidia Serras, minha melhor amiga, que sempre me apoiou em tudo nesta vida, e que fez com que fosse possível a realização deste sonho.

Ao meu namorado, Daniel Carita, por toda a paciência ao longo destes anos, pelo apoio incondicional, sem ele nada disto teria sido possível.

Aos meus familiares, que sempre demonstraram o seu orgulho e confiança em mim.

Aos meus amigos Catarina Damas, Mariana Rico, Paulo Peixinho, Mafalda Lobato, Ana Shou, entre outros tantos, pelo vosso entusiasmo em ouvir as minhas aventuras ao longo destes seis anos, pela paciência e pelas palavras certas na hora certa.

À Dra. Amélia, uma amiga muito especial, que me acolheu em sua casa e que esteve sempre presente comigo, no meu percurso ao longo destes seis anos.

Ao Manuel Almeida, que ao longo de quatro anos me acolheu em sua casa, como se fosse família, um grande obrigado por tudo o que fez por mim.

Aos meus colegas de faculdade, pelos últimos seis anos memoráveis, pela amizade e companheirismo que sempre demonstraram para comigo, em especial ao João Vieira por todos os conselhos, pela amizade e troca de conhecimentos ao longo destes últimos anos, os meus sinceros agradecimentos.

Resumo

Portugal é caracterizado por ter um clima mediterrâneo quente e temperado, com estações do ano distintas, o que propicia um ambiente adequado para o desenvolvimento de uma ampla gama de espécies de carraças. As carraças são os principais vetores responsáveis pela transmissão de hemoparasitas aos bovinos, nomeadamente *Theileria spp.*, *Babesia spp.* e *Anaplasma spp.*. Pretendeu-se com o presente trabalho contribuir para o estudo dos hemoparasitas dos bovinos na Beira Interior, estimando a prevalência de hemoparasitas nessa região, identificando possíveis fatores de risco associados à infeção dos animais, caracterizando uma amostra de ixodídeos recolhidos de uma exploração aleatoriamente e promover a consciencialização por parte dos produtores sobre a importância do controlo dos vetores na prevenção da transmissão dos hemoparasitas. Para tal, procedeu-se à recolha de amostras sanguíneas de 111 animais, escolhidos aleatoriamente, num total de 8 explorações, para realização de esfregaços sanguíneos e posterior análise microscópica. Os animais foram considerados positivos se, ao exame microscópico fosse visível um parasita do género *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* ou *Theileria spp.*.

Foi obtida uma prevalência de 100%, comprovando que a Beira Interior é endémica no que diz respeito aos hemoparasitas. O género *Anaplasma spp.* (espécie *Anaplasma marginale*) (100%) foi o mais prevalente, seguido de *Theileria spp.* (33%) e o por último *Babesia spp.*, que foi o género menos encontrado (3%).

Não se conseguiu apurar nenhuma associação aparente entre as variáveis raça e sinais clínicos com a ocorrência de hemoparasitas. Foi nos animais com idades compreendidas entre 5 e 10 anos e mais de 10 anos, que se observou uma prevalência maior do género *Babesia spp.*, quer como infeção simples, dupla ou tripla. A visualização de “algumas” e “muitas” carraças por parte dos produtores foi identificada como um fator de risco para a ocorrência de hemoparasitas, mais propriamente no que diz respeito à infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* e, à infeção por *Theileria spp.* individualmente, por outro lado não se conseguiu estabelecer uma associação aparente entre a frequência dos tratamentos utilizados em cada exploração e a ocorrência de hemoparasitas.

A amostra de ixodídeos recolhidos, revelou uma predominância do género *Hyalomma spp.*, tendo sido visualizadas microscopicamente formas intra-eritrocitárias compatíveis com *Anaplasma marginale*, em quatro fêmeas ingurgitadas do género *Hyalomma spp.*.

A Beira Interior apresenta fatores de risco associados à presença e disseminação de hemoparasitas, este trabalho pode ser uma contribuição importante para a sensibilização dos produtores e médicos veterinários para o desenvolvimento de melhores formas de controlo e de prevenção da doença.

Palavras-chave: *Theileria spp.*, *Babesia spp.*, *Anaplasma spp.*, carraças, *Hyalomma spp.*

Abstract

Portugal is characterized by a warm and temperate Mediterranean climate with distinct seasons, providing a suitable environment for the development of a wide range of tick species. Ticks are the main vectors responsible for the transmission of hemoparasites to cattle, namely *Theileria spp.*, *Babesia spp.* and *Anaplasma spp.*. The present work aimed to contribute to the study of bovine hemoparasites in Beira Interior, estimating the prevalence of hemoparasitosis in this region, identifying possible risk factors associated with the infection of the animals, characterizing a sample of ixodids collected from a farm at random and raise awareness among producers of the importance of vector control in preventing the transmission of hemoparasites. For this purpose, blood samples were collected from 111 randomly selected animals in a total of 8 farms to perform blood smears and subsequent microscopic analysis. The animals were considered positive if, under microscopic examination, a parasite of the genus *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* or *Theileria spp.*.

It was obtained a prevalence of 100%, proving that the region of Beira Interior is endemic with regard to hemoparasitosis. The genus *Anaplasma spp.* (*Anaplasma marginale* species) (100%) was the most prevalent, followed by *Theileria spp.* (33%) and the last *Babesia spp.* which was the least found genus (3%).

No apparent association could be ascertained between the variables race and clinical signs with the occurrence of hemoparasitosis. It was observed in animals aged between 5 and 10 years and over 10 years that a greater prevalence of the genus *Babesia spp.* was found, either as single, double or triple infection. The visualization of "some" and "many" ticks on the part of the producers was identified as a risk factor for the occurrence of hemoparasitosis, more properly with respect to the double infection by *Anaplasma marginale* + *Theileria spp.* and, to the infection by *Theileria spp.* individually, on the other hand, it was not possible to establish an apparent association between the frequency of treatments used in each farm and the occurrence of hemoparasites.

The sample of ixodídeos collected, showed a predominance of the genus *Hyalomma spp.*, and it was observed microscopically intra-erythrocyte forms compatible with *Anaplasma marginale* in four engorged females of the genus *Hyalomma spp.*.

The Beira Interior presents risk factors associated with the presence and dissemination of hemoparasites, this work can be an important contribution to the sensitization of producers and veterinarians for the development of better ways of controlling and preventing the disease.

Key words: *Theileria spp.*, *Babesia spp.*, *Anaplasma spp.*, ticks, *Hyalomma spp.*

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

AChE - Acetilcolinesterase
ADA - Adenosina deaminase
ADN - Ácido desoxirribonucleico
ALP- Fosfatase alcalina
ALT- Alanina aminotransferase
AST- Aspartato de aminotransferase
CAT- Teste aglutinação capilar em placa
CF - Teste fixação do complemento
EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA – Ensaio de imunoabsorção enzimática
EUA - Estados Unidos da América
FMV – Faculdade de Medicina Veterinária
HD – Hospedeiro definitivo
HI – Hospedeiro Intermediário
IFA – Teste imunofluorescência indireta de anticorpos
IM - Via intramuscular
IV - Via endovenosa
LEB – Leucose Enzoótica Bovina
MC – Manifestações Clínicas
MPB- Modo de Produção Biológico
OIE – Organização Mundial de Saúde Animal
OVIBEIRA - Associação de Produtores de Ovinos do Sul da Beira
PCR – Reação polimerase em cadeia
SIA – Sistema de identificação animal
SNC – Sistema nervoso central
RBL – Ensaio reverso de transferência de linha
ULHT – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
USDA - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

Índice Geral

1. Casuística do estágio.....	11
2. Introdução.....	17
3. Revisão Bibliográfica.....	18
3.1. Espécies de Ixodídeos que Parasitam os Bovinos	18
3.1.1. Enquadramento Taxonómico.....	18
3.1.2. Características Morfológicas.....	18
3.1.3. Ciclo Biológico.....	19
3.1.4. Carraças que afetam os bovinos.....	20
3.1.5. Distribuição Geográfica.....	21
3.1.6. Prevenção e Controlo.....	24
3.2. Hemoparasitas.....	26
3.2.1. Theileriose.....	26
3.2.1.1. Agente Etiológico.....	26
3.2.1.2. Ciclo Biológico.....	26
3.2.1.3. Epidemiologia.....	28
3.2.1.4. Diagnóstico.....	29
3.2.1.4.1. Exame Clínico.....	29
3.2.1.4.2. Exame Laboratorial.....	30
3.2.1.5. Tratamento.....	32
3.2.1.6. Prevenção e Controlo.....	33
3.2.2. Babesiose.....	34
3.2.2.1. Agente Etiológico.....	34
3.2.2.2. Ciclo Biológico.....	34
3.2.2.3. Epidemiologia.....	35
3.2.2.4. Diagnóstico.....	37
3.2.2.4.1. Exame Clínico.....	37
3.2.2.4.2. Exame Laboratorial.....	38
3.2.2.5. Tratamento.....	41
3.2.2.6. Prevenção e Controlo.....	42
3.2.3. Anaplasmose.....	43
3.1.3.1. Agente Etiológico.....	43
3.1.3.2. Ciclo Biológico.....	43
3.1.3.3. Epidemiologia.....	44
3.1.3.4. Diagnóstico.....	46
3.1.3.4.1. Exame Clínico.....	46
3.1.3.4.2. Exame Laboratorial.....	47
3.1.3.5. Tratamento.....	48
3.1.3.6. Prevenção e Controlo.....	49
3.3. Objetivos.....	51
4. Material e Métodos.....	52

4.1. Beira Interior.....	52
4.1.1. Descrição geográfica e económica.....	52
4.1.2. Clima.....	53
4.1.3. Agricultura e Floresta.....	53
4.1.4. Raças autóctones.....	54
4.2. Descrição do Estudo.....	55
4.3. Colheita e Preparação das Amostras.....	57
4.3.1. Amostras de Sangue.....	57
4.3.2. Amostras de Ixodídeos.....	58
4.4. Análise Estatística.....	59
5. Resultados	60
6. Discussão	80
7. Conclusões	88
8. Referências Bibliográficas	91
9. Anexos/Apêndices	106

Índice de figuras

Figura 1: Classificação taxonómica das carraças.....	19
Figura 2: Ciclo Biológico de um Ixodídeo.....	20
Figura 3: Carraças da espécie <i>Ixodes ricinus</i> . A: Macho (esquerda) e Fêmea (direita); B: Ninfas, vista ventral (esquerda) e dorsal (direita)	22
Figura 4: Ciclo Biológico da <i>Theileria spp</i>	28
Figura 5: Distribuição mundial das principais espécies de <i>Theileria</i> em bovinos.....	29
Figura 6: (A) Esfregaço de sangue contendo três formas anulares de <i>Theileria annulata</i> nos glóbulos vermelhos. (B) Esfregaço de nódulo linfático, mostrando um esquizonte numa célula mononuclear. Corado com Giemsa, × 1.000.....	32
Figura 7: Ciclo Biológico da <i>Babesia spp</i>	36
Figura 8: Piroplasma de <i>B. bigemina</i> intra-eritrocitário.....	40
Figura 9: Estágios intra-eritrocitários de <i>B. major</i> num bovino.....	40
Figura 10: <i>Babesia bovis</i> no interior de um eritrócito.....	40
Figura 11: <i>B. divergens</i> num esfregaço sanguíneo corado com Diff-Quick	41
Figura 12: Diversas formas de <i>B. divergens</i> nos eritrócitos	41
Figura 13: Ciclo biológico do <i>Anaplasma spp</i>	45
Figura 14: Estágios intra-eritrocitários de <i>Anaplasma marginal</i> num bovino.....	48
Figura 15: Localização geográfica da Beira Interior.....	52
Figura 16: Fêmea (esquerda) e Macho (direita) da raça Merino da Beira Baixa.....	54
Figura 17: Fêmea (esquerda) e Macho (direita) da raça Charnequeira.....	54
Figura 18: Algumas das raças incluídas no estudo. A- Raça Cruzada; B- Raça Preta e Raça Mertolenga; C- Raça Mirandesa.....	56
Figura 19: Recolha de sangue por venipuntura coccígea.....	57
Figura 20: Técnica de esfregaço sanguíneo.....	57
Figura 21: Localização das carraças no úbere de dois bovinos.....	58
Figura 22: Amostras de Ixodídeos devidamente identificados e conservadas em álcool a 70%.....	59
Figura 23: Formas intra-eritrocitárias de <i>Theileria spp</i>	62
Figura 24: Formas intra-eritrocitárias de <i>Babesia spp</i>	63
Figura 25: Formas intra-eritrocitárias de <i>Anaplasma marginale</i>	63
Figura 26: Macho do género <i>Hyalomma spp</i> . (A) Face dorsal; (B) Face Ventral.....	77
Figura 27: Fêmea do género <i>Hyalomma spp</i> . (A) Face dorsal; (B) Face Ventral.....	78
Figura 28: (A) Forma intra-eritrocitária de <i>Anaplasma marginale</i> no esfregaço de sangue do animal 20 da exploração 7; (B) Forma intra-eritrocitária de <i>Anaplasma marginale</i> no esfregaço de sangue recolhido do Ixodídeo nº4 no animal 20 da exploração 7.....	79

Índice de gráficos

Gráfico 1: Distribuição das consultas de acordo com a espécie animal atendida.....	12
Gráfico 2: Género dos canídeos.....	12
Gráfico 3: Género dos felídeos.....	13
Gráfico 4: Distribuição etária dos pacientes caninos.....	13
Gráfico 5: Distribuição etária dos pacientes felinos.....	13
Gráfico 6: Especialidades médico-veterinárias acompanhadas durante o estágio em pequenos animais.....	14
Gráfico 7: Distribuição das espécies pecuárias observadas.....	15
Gráfico 8: Especialidade médico-veterinárias acompanhadas durante o estágio em bovinos..	16
Gráfico 9: Especialidade médico-veterinárias consultadas durante o estágio em pequenos ruminantes.....	16
Gráfico 10: Género dos bovinos pertencentes ao estudo.....	60
Gráfico 11: Distribuição da população de bovinos de acordo com a idade.....	60
Gráfico 12: Distribuição da população de bovinos de acordo com a raça.....	61
Gráfico 13: Distribuição da população de bovinos de acordo com a presença ou ausência de sinais clínicos.....	61
Gráfico 14: Distribuição da população de bovinos de acordo com o concelho a que pertencem.....	61
Gráfico 15: Prevalência de hemoparasitas nas 8 explorações estudadas.....	65
Gráfico 16: Prevalência dos três hemoparasitas nas 8 explorações estudadas.....	65
Gráfico 17: Prevalência de hemoparasitas de acordo com a raça.....	66
Gráfico 18: Prevalência dos três hemoparasitas de acordo com a raça.....	66
Gráfico 19: Prevalência de hemoparasitas de acordo com a idade.....	67
Gráfico 20: Prevalência dos três hemoparasitas de acordo com a idade.....	67
Gráfico 21: Prevalência de hemoparasitas de acordo com a presença ou ausência de sinais clínicos.....	68
Gráfico 22: Prevalência dos três hemoparasitas de acordo com a presença ou ausência de sinais clínicos.....	68
Gráfico 23: Distribuição das manifestações clínicas observadas pelos produtores.....	69
Gráfico 24: Distribuição das faixas etárias em que os produtores observaram as manifestações clínicas.....	70
Gráfico 25: Distribuição das épocas do ano em que os produtores observaram as manifestações clínicas.....	70
Gráfico 26: Distribuição da visualização de carraças por parte dos produtores.....	71
Gráfico 27: Distribuição das épocas do ano em que os produtores visualizam mais as carraças.....	71
Gráfico 28: Distribuição dos tratamentos utilizados em cada exploração.....	71
Gráfico 29: Distribuição dos tratamentos utilizados de acordo com a sua frequência.....	72
Gráfico 30: Prevalência de hemoparasitas de acordo com a visualização de carraças.....	73
Gráfico 31: Prevalência dos três hemoparasitas de acordo com a visualização de carraças.....	73

Gráfico 32: Prevalência de hemoparasitas de acordo com a frequência dos tratamentos utilizados.....	74
Gráfico 33: Prevalência dos três hemoparasitas de acordo com a frequência dos tratamentos utilizados.....	75
Gráfico 34: Distribuição da população de carraças, de acordo com o sexo.....	76

Índice de tabelas

Tabela 1: Espécies de <i>Babesia</i> nos Bovinos, distribuição geográfica, morfologia do organismo e vetores/carraças.....	21
Tabela 2: Localização das explorações incluídas no estudo.....	55
Tabela 3: Prevalência de hemoparasitas em bovinos na Beira Interior.....	64
Tabela 4: Distribuição da amostra de Ixodídeos recolhidos na exploração 7, de acordo com o sexo e sua localização no animal.....	76
Tabela 5: Distribuição da amostra de Ixodídeos recolhidos na exploração 7, de acordo com o sexo e sua identificação taxonómica.....	77
Tabela 6: Distribuição dos 4 ixodídeos (fêmeas) recolhidos na exploração 7 e respectivos resultados dos esfregaços sanguíneos.....	78

1. Casuística do Estágio

No âmbito do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, realizado durante o período de setembro de 2016 a março de 2017, foi possível acompanhar e integrar os trabalhos realizados na área da clínica de pequenos animais na Clínica Veterinária Entre Patas em Abrantes (Dezembro de 2016 a Fevereiro 2017), e na área de espécies pecuárias, no âmbito da sanidade animal e clínica de espécies pecuárias, na Beira interior (Setembro de 2016 a Dezembro de 2017, e de 1 de Março de 2017 a 31 de Março de 2017).

Atividades desenvolvidas na área da clínica de pequenos animais.

Na área da clínica de pequenos animais, as actividades desenvolvidas foram maioritariamente em consultas, tratamento de animais em regime de internamento diário, acompanhamento de casos clínicos e participação em cirurgias.

Foram atendidos cerca de 313 animais, dos quais 209 canídeos e 104 felídeos, correspondendo a 67% e a 33% do total de animais, respectivamente (Gráfico 1). Em ambos os grupos foram assistidos maioritariamente pacientes do género masculino (Gráficos 2 e 3), o que pode ser explicado por uma preferência por animais de companhia do género masculino por parte dos donos.

Gráfico 1: Distribuição das consultas de acordo com a espécie animal atendida.

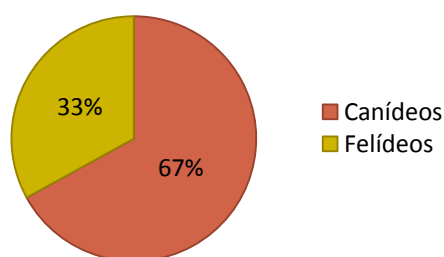


Gráfico 2: Género dos canídeos.

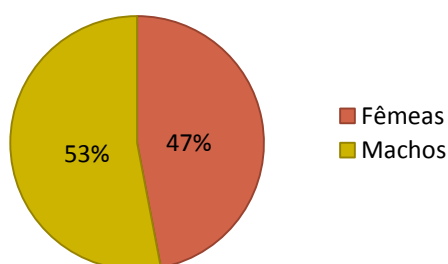
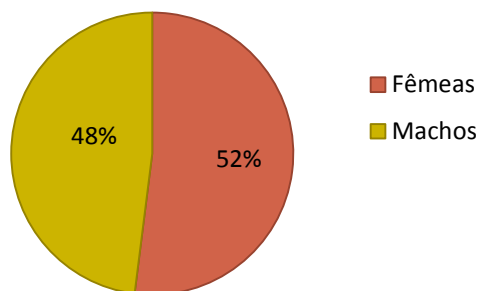


Gráfico 3: Género dos felídeos.



A idade dos pacientes quando presentes à consulta médico-veterinária variou de 1 mês e meio a 16 anos, sendo a idade média dos canídeos (3,8) inferior á dos felídeos (4,2). A grande maioria dos canídeos e dos felídeos tinham idade inferior a um ano (Gráfico 4 e 5).

Gráfico 4: Distribuição etária dos pacientes caninos.

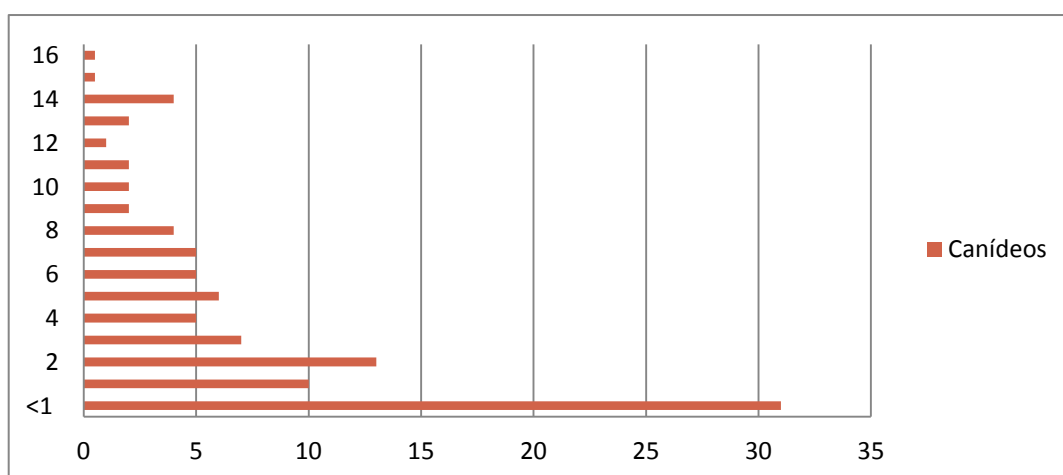
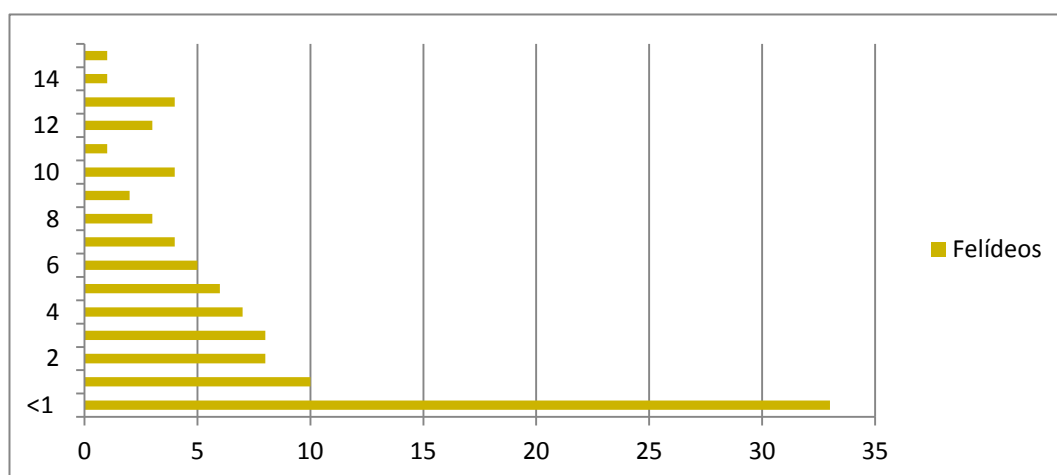
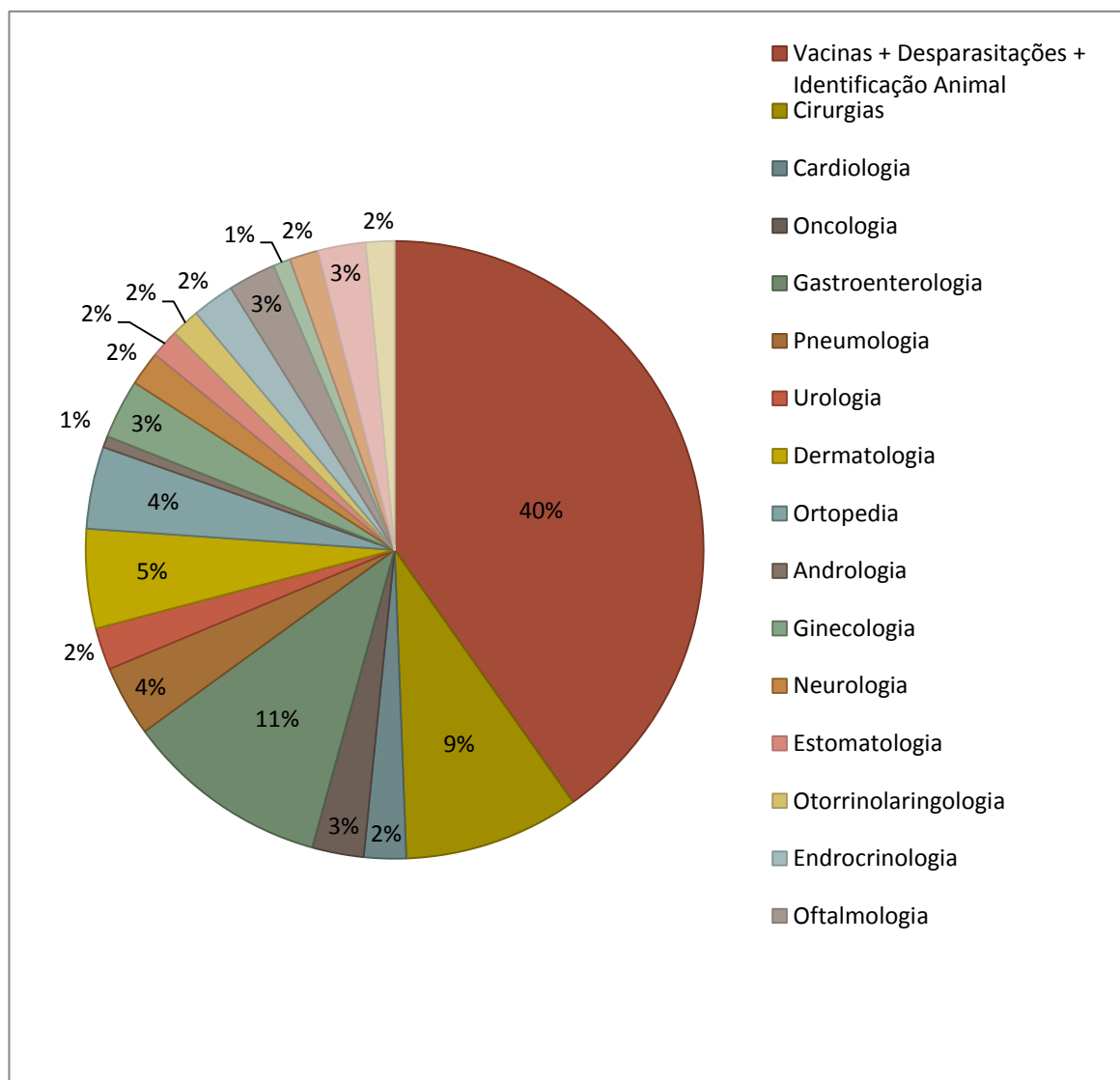


Gráfico 5: Distribuição etária dos pacientes felinos.



Dentre das consultas realizadas na clínica durante o estágio foram abordadas diversas especialidades, sendo as mais frequentes consultas para vacinação, desparasitação e identificação animal (40%) seguidas das consultas de ginecologia (11%) e dermatologia (9%) (Gráfico 6).

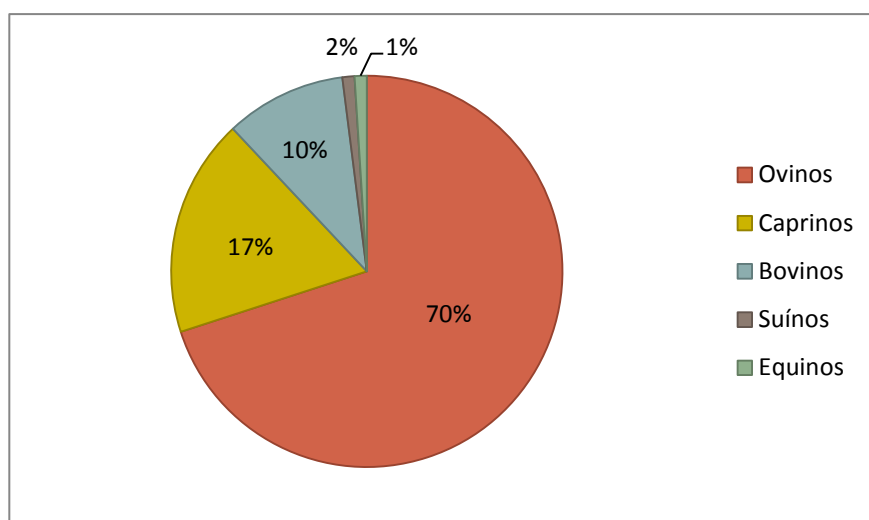
Gráfico 6: Especialidades médico-veterinárias acompanhadas durante o estágio em pequenos animais.



Atividades desenvolvidas na área da clínica das espécies pecuárias na Beira Interior.

Em relação á clínica de espécies pecuárias, foram observados 8.785 animais, dos quais 6.215 ovinos, 1.565 caprinos, 992 bovinos, 10 suínos e 3 equinos, correspondendo a 70%, 17%, 10%, 2% e 1% do total de animais, respectivamente (Gráfico 7). Estas espécies foram observadas num total de 122 explorações.

Gráfico 7: Distribuição das espécies pecuárias observadas.



Foram realizadas atividades inerentes à sanidade de efetivos nos pequenos ruminantes (Gráfico 8), como identificação animal, rastreios de Brucelose, desparasitações e vacinações contra *Clostridium spp.* e *Mannhemia haemolytica spp.*, Vírus da Língua azul e Agalaxia Contagiosa no caso dos ovinos, e no caso dos caprinos contra *Clostridium spp.*, *Mannhemia haemolytica spp.* e mamites. Em bovinos, foram realizadas provas de intradermatuberculinização, rastreios de Brucelose e Leucose Enzoótica Bovina (LEB), desparasitações e vacinações contra *Clostridium spp.* e *Mannhemia haemolytica spp.*, Vírus da Rinotraqueíte Bovina, Vírus da Diarreia Bovina, Vírus da Parainfluenza tipo-3, Vírus Respiratório Sincicial Bovino, Vírus da Língua Azul e Bactéria do género *Leptospira* (Gráfico 9). Em suínos foram realizados rastreios da Doença de Aujeszky.

Foi também possível acompanhar outros casos da prática clínica de pequenos ruminantes como, tratamento de casos clínicos relacionados com mastites, parto distócico, abortos provocados por *Chlamydia spp.*, Linfadenite Caseosa, Ectima Contagioso, Hemoparasitas, Acidose Ruminal, Sarna Sarcóptica, Pieira, Língua Azul e Deficiência de Vitamina E/Selénio ou Doença do Músculo Branco. Em relação á espécie bovina, foi possível acompanhar casos como, hemoparasitas, diarreias em bezerros, tendo sido feita uma cesariana resultante de um parto distócico em que o vitelo já estava morto. Na espécie suína foram observados casos de mastites. Na espécie equina, foi feita a recolha de sangue para pesquisa de *Anaplasma phagocytophilum* e observados casos de claudicações.

Ainda durante o estágio, foi possível acompanhar o trabalho realizado na OVIBEIRA (Associação de Produtores de Ovinos do Sul da Beira) no âmbito dos pequenos ruminantes, onde foram realizadas atividades como, recolha de sangue para realização de testes de paternidade através de ADN, classificação morfológica, inscrição no livro de adultos, conferência de efetivo e pesagens para controlo de *performances*.

Durante o estágio realizado na área da clínica de espécies pecuárias, foi possível participar no Concurso da Raça Bordeleira na Serra da Estrela, no Leilão de Gado Bovino

realizado em Alcains, e a uma demonstração de ecografia em pequenos ruminantes e bovinos de leite realizado na Escola Superior Agrária de Castelo Branco.

Gráfico 8: Especialidade médico-veterinárias acompanhadas durante o estágio em bovinos.

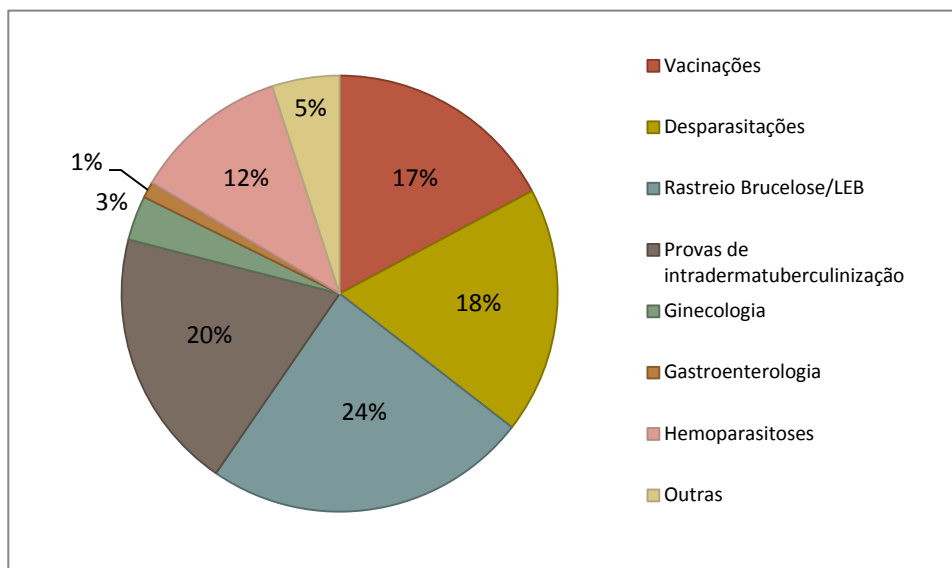
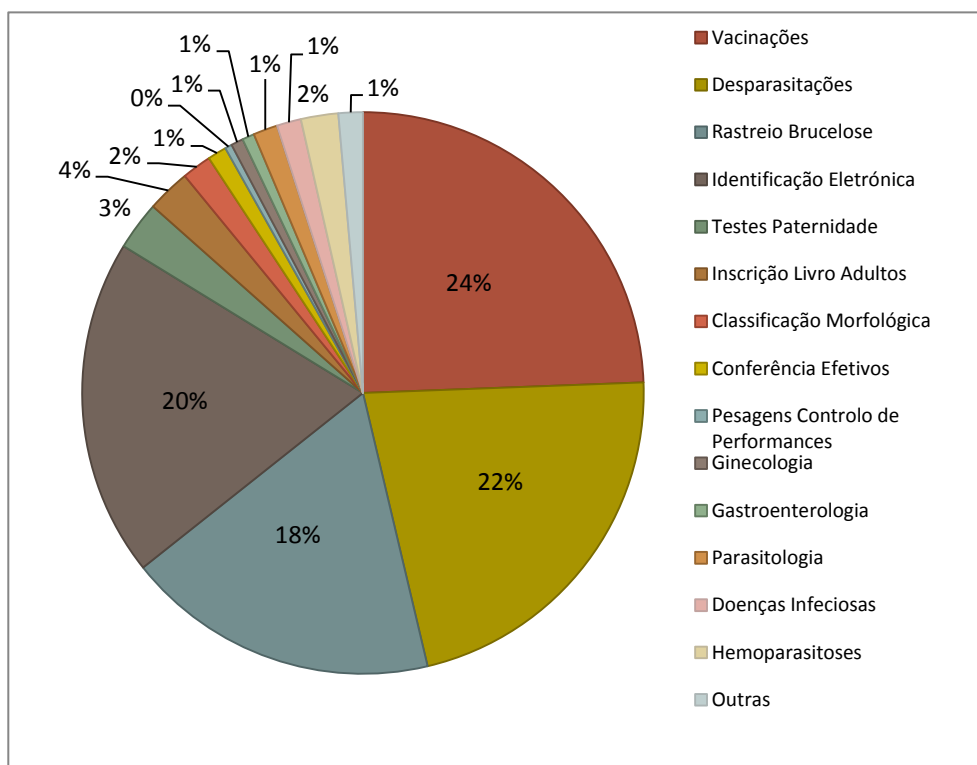


Gráfico 9: Especialidade médico-veterinárias consultadas durante o estágio em pequenos ruminantes.



Das diversas áreas consultadas durante o estágio em bovinos na Beira Interior destaca-se a área dos hemoparasitas, pois foi das áreas observadas no estágio que se observou maior morbilidade nos animais. Os animais observados, aquando da visita do médico veterinário, já apresentavam elevado grau de caquexia e anorexia, nos casos em que tratamento não era rapidamente instaurado, os animais acabavam por morrer. Foi devido a esta frequente observação nos rebanhos desta região que, resolveu-se estudar os hemoparasitas, que não só visa contribuir para o estudo da doença nesta região, como também auxiliar no diagnóstico da doença através da percepção dos produtores quanto ao seu aparecimento e a presença dos vetores e, deste modo ajudar o médico veterinário da exploração no tratamento dos animais.

2. Introdução

Das 1.606 mil cabeças que fazem parte do efetivo de bovinos em Portugal, 77 mil localizam-se na Beira Interior (INE, 2016). Apesar da produção de bovinos de carne assumir uma grande importância nesta região, a carne proveniente de ovinos e caprinos (principalmente borrego e cabrito) são as que têm um maior peso na economia regional. Os sistemas de produção dos bovinos são por excelência o extensivo. Os animais raramente estão estabulados, alimentando-se em pastagens naturais e de algumas forragens semeadas destinadas ao pastoreio direto, e suplementados em alturas de maior escassez alimentar.

Portugal é caracterizado por ter um clima mediterrâneo quente e temperado, com estações do ano distintas, o que propicia um ambiente adequado para o desenvolvimento de uma ampla gama de espécies de carraças (Santos-Silva *et al.*, 2011). Estima-se um total de aproximadamente 3,9 milhões de animais com importância económica em Portugal. Destes, 2,8 milhões são ovinos e caprinos e 1,1 milhões são bovinos, susceptíveis à infestação por carraças e, conseqüentemente, à infeção por doenças transmitidas por carraças, incluindo Babesiose e Theileriose (Caeiro, 1999).

As carraças são artrópodes ubíquos e vetores de vários agentes patogénicos em animais e humanos. As preocupações atuais sobre carraças e doenças transmitidas por carraças são atribuíveis à emergência e reemergência de agentes patogénicos. A expansão da distribuição geográfica de várias espécies de carraças e seus agentes tem sido potencializada por movimentos humanos e animais, comércio nacional e internacional, mas também por questões socioeconómicas e ambientais, como a desflorestação e o aquecimento global (Savic *et al.*, 2014; Tijssse-Klasen *et al.*, 2014). Apesar da crescente conscientização das doenças zoonóticas transmitidas por carraças, as infeções associadas às espécies pecuárias são as mais relevantes devido ao enorme impacto económico.

Os hemoparasitas encontram-se distribuídos mundialmente, que para além de serem difíceis de controlar também provocam grandes prejuízos económicos em diversos países. Em 1984 a FAO (Food and Agriculture Organization) estimou um gasto mundial anual de 7000 milhões de dólares devido aos hemoparasitas, estando incluído nesse montante as perdas diretas em mortes de animais e produtividade, assim como os custos com medidas de controlo.

Para o combate aos hemoparasitas e diminuição do impacto económico negativo nas explorações, é urgente a implementação de novas e eficazes formas de controlo. Monitorizar o aparecimento de carraças é de grande importância para determinar a ocorrência de agentes patogénicos e as potenciais espécies de vetores, o que confere uma visão sobre o risco da transmissão de doenças em determinadas áreas (Antunes *et al.*, 2016).

O objetivo geral deste trabalho é contribuir para o conhecimento dos fatores que podem estar associados à ocorrência de hemoparasitas dos bovinos na Beira Interior, estudando a sua prevalência na Beira Interior e, deste modo consciencializar os produtores para a importância do controlo das carraças, de modo a evitar perdas na produtividade dos animais e evitar prejuízos económicos que daí advêm.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Espécies de Ixodídeos que Parasitam os Bovinos

3.1.1. Enquadramento Taxonómico

As carraças são vetores notáveis de inúmeros agentes patogénicos, alguns dos quais podem causar doenças graves em diversos hospedeiros vertebrados, incluindo o homem (Jongejan & Uilenberg 2004; de la Fuente *et al.*, 2008; Domingos *et al.*, 2013).

Taxonómicamente, as carraças estão incluídas na Classe Arachnida, Ordem Acari, Subordem Ixodida (Figura 1) (Parola & Raoult, 2001; Estrada-Pena *et al.*, 2004a).

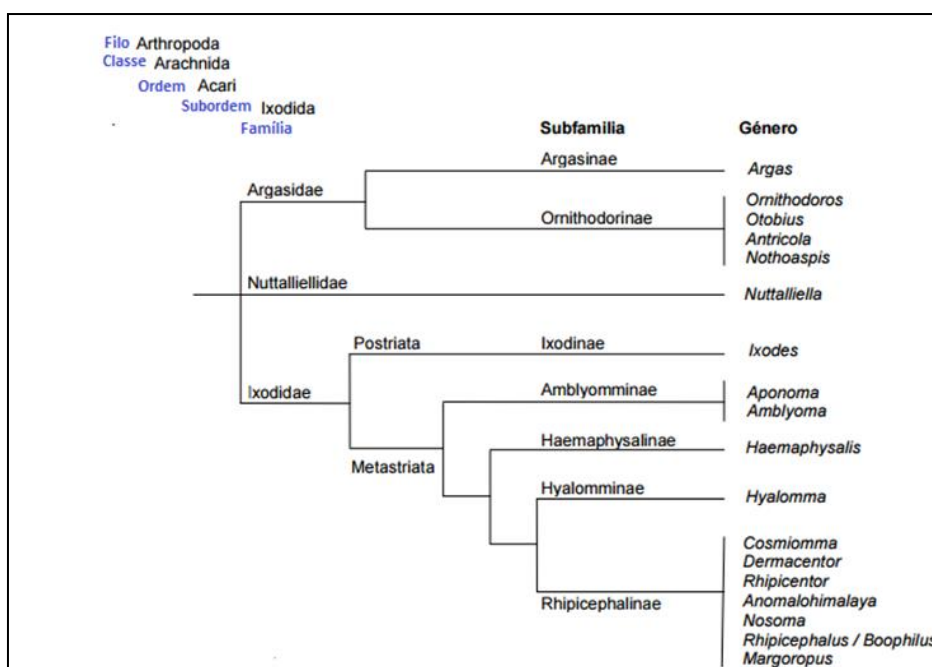


Figura 1: Classificação taxonómica das carraças. (Adaptado de Parola & Raoult, 2001; Estrada-Pena *et al.*, 2004a)

3.1.2. Características Morfológicas

As carraças da Família Ixodidae são denominadas de “carraças duras”, são relativamente grandes (entre 2 e 20 mm), achatadas dorso-ventralmente, com escudo dorsal, que no caso dos machos cobre o corpo todo e nas fêmeas só parcialmente. Apresentam dimorfismo sexual marcado, o capítulo dos adultos é visível dorsalmente, apresentam um tegumento liso, às vezes com estrias, mas sem granulações nem discos (Cáceres, 1996; Vignau *et al.*, 2005; Taylor *et al.*, 2007).

A morfologia geral dos Ixodídeos é semelhante ao resto dos Aracnídeos. O corpo não apresenta segmentação, sendo dividido em uma região anterior que se situa cranialmente ao capítulo, estrutura que inclui os apêndices, peças alargadas e articuladas com capacidade tátil, as quelíceras, estruturas para cortar e hipostoma um órgão de fixação. Seguidamente, em direção caudal, situa-se o corpo propriamente dito, onde se insere os quatro pares de patas (adultos, ninfas), subdivididas cada uma em 6 segmentos, em sua região anteroventral situa-se o poro genital e na região posteroventral a abertura anal (Cáceres, 1996).

Os ixodídeos reúnem uma série de características que lhes conferem um potencial como vetores de agentes patogénicos, alimenta-se durante largos períodos de tempo (vários dias), a sua picada é geralmente indolor, e permanecem fortemente fixados sobre o hospedeiro. Cada estadio se alimenta uma única vez, podendo parasitar a uma grande variedade de espécies animais em diferentes tipos de habitats (Sonenshine, 1991; Anderson & Magnarelli, 2008).

3.1.3. Ciclo Biológico

As carraças apresentam três estadios: larva, ninfa e adulto (macho ou fêmea) (Figura 2), e podem ter um, dois ou três hospedeiros. Durante as fases ativas, os ixodídeos alternam entre períodos de intensa atividade (procura de hospedeiro e alimentação) e períodos não ativos (metamorfose e diapausa), necessitando sempre de uma refeição de sangue para passarem ao estado evolutivo seguinte (Silva *et al.*, 2006).

Nas carraças de um hospedeiro todo o desenvolvimento de larva para adulto ocorre num único hospedeiro, nas carraças de dois hospedeiros, as larvas e ninfas desenvolvem-se num hospedeiro e os adultos em outro, por fim nas carraças de três hospedeiros cada estágio de desenvolvimento (larva, ninfa e adulto) ocorre em diferentes hospedeiros (Taylor *et al.*, 2007).

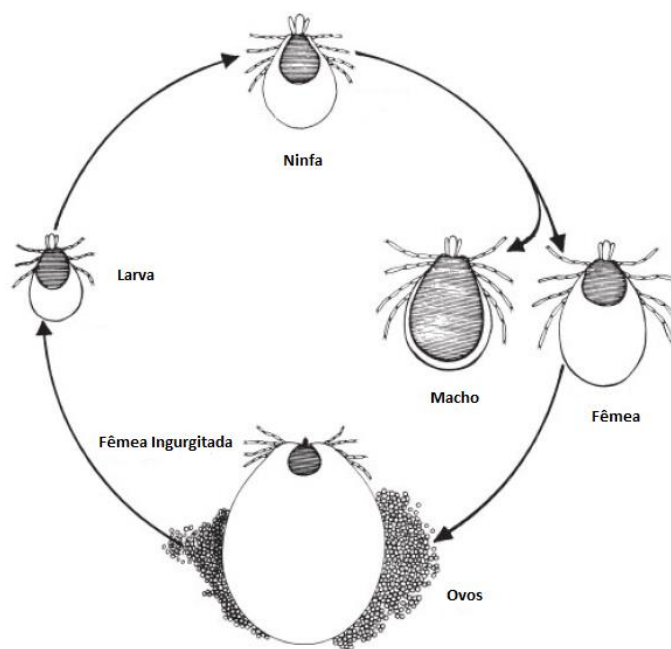


Figura 2: Ciclo Biológico de um Ixodídeo. (Adaptado de Taylor *et al.*, 2007)

A carraça adulta infeta-se mas não transmite a doença, o que será feito pela geração seguinte. A transmissão de geração em geração ocorre por via transovárica (transmissão transovárica). Nas carraças com mais de um hospedeiro, os parasitas também podem ser transmitidos pelos diversos estádios de uma mesma geração (transmissão transestadial). Os parasitas podem ser ingeridos por uma larva da carraça e transmitidos pela ninfa ou, se ingeridos por uma ninfa, transmitidos pelo adulto. A transmissão transestadial só ocorre em carraças que exigem para o seu ciclo evolutivo mais de um hospedeiro (Fortes, 2004; Vignau *et al.*, 2005).

Enquanto que, no género *Babesia spp.* e *Anaplasma spp.* a transmissão transovárica permite que uma carraça infetada transmita a sua infeção a numerosos descendentes, no género *Theileria spp.* a infeção só passa de uma geração da carraça à outra (transmissão transestadial) (Taylor *et al.*, 2007).

3.1.4. Carraças que afetam os bovinos

Em Portugal existem doze diferentes espécies de carraças que afetam bovinos, agrupadas em duas famílias principais (Ixodidae e Argasidae) e a seis géneros diferentes (*Ixodes*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis* e *Ornithodoros*) (Caeiro, 1999).

Na Theileriose bovina, os vetores responsáveis por transmitir a doença são o *Rhipicephalus appendiculatus* (*Theileria parva*), *Hyalomma lusitanicum* e *H. marginatum* (*Theileria annulata*) e *Amblyomma variegatum*, *A. cohaerens*, *A. haebraeum* (*Theileria orientalis*) (Taylor *et al.*, 2007).

Na Babesiose bovina, tal como descrito na Tabela 1, os vetores da *Babesia bigemina* e da *Babesia bovis* são *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *spp.*, da *Babesia divergens* o *Ixodes ricinus*, e o da *Babesia major* o *Haemaphysalis punctata* (Smith, 2009). Em Portugal existem pelo menos três espécies de carraças identificadas que são competentes para a transmissão de *B. bovis* e *B. bigemina*: *Ixodes ricinus* (Figura 3), *Rhipicephalus bursa* e *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *annulatus* (Caeiro, 1999; Estrada-Pena *et al.*, 2004a).

Tabela 1 - Espécies de *Babesia* nos Bovinos, distribuição geográfica, morfologia do organismo e vetores/carraças. (Adaptado de Smith, 2009)

Organismo	Animais Afetados	Distribuição geográfica	Morfologia do Organismo	Vetores/Carraças
<i>B. bigemina</i>	Bovinos	América, Europa, África, Austrália, Médio Oriente	4.5 x 2.5 µm (largo, redondo e piriforme; ângulo agudo)	<i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>annulatus</i> , <i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>decoloratus</i> , <i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>microplus</i>
<i>B. bovis</i>	Bovinos	América, Rússia, África, Austrália, Europa, Ásia	2.4 x 1.5 µm (pequeno e mais redondo; ângulo obtuso)	<i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>annulatus</i> ; <i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>microplus</i> , <i>Ixodes species</i> (?)
<i>B. divergens</i>	Bovinos	Europa	1.5 x 1.4 µm (pequeno, ângulo estreito e obtuso)	<i>Ixodes ricinus</i>
<i>B. major</i>	Bovinos	Europa, Rússia, Norte de África, Médio Oriente	2.6 x 1.5 µm (similar á <i>B. bigemina</i> , mas mais pequeno)	<i>Haemaphysalis punctata</i>



Figura 3: Carraças da espécie *Ixodes ricinus*. **A:** Macho (esquerda) e Fêmea (direita); **B:** Ninfas, vista ventral (esquerda) e dorsal (direita). (Iza, 2010)

Na Anaplasmosse bovina, os vetores do *Anaplasma marginale* são *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus decoloratus*, *Rhipicephalus microplus*, *Ixodes ricinus* e *Haemaphysalis punctata* (Estrada-Pena & Venzal, 2006; Taylor *et al.*, 2007). Nos EUA, os principais vetores são *Dermacentor andersoni*, *D. occidentalis* e *D. variabilis* (Taylor *et al.*, 2007).

Na Turquia, foi realizado um estudo por Ica *et al.* (2007) para detetar espécies de carraças que infetam os bovinos e espécies de *Theileria* e *Babesia* transmitidas por essas carraças. A espécie de carraça mais prevalente neste estudo foi *R. (Boophilus) annulatus*, seguida de *H. marginatum* e *R. turanicus*. Nas carraças foram encontradas 12 amostras positivas infetadas com *B. bigemina*, *T. annulata*, *Babesia spp.* e *T. anulada* e *B. bigemina* (infecção mista).

Um estudo realizado por Ferrolho *et al.* (2016) em Portugal, com o objectivo de identificar os agentes patogénicos atualmente em circulação na espécie *R. bursa*, confirmou a presença de *Anaplasma marginale*, *Theileria annulata* e *Theileria equi*, através de técnicas moleculares.

Um estudo realizado por Antunes *et al.* (2016) em 17 sub-regiões de Portugal, demonstrou pela técnica de PCR que, em 428 carraças seleccionadas pertencentes a 9 espécies de Ixodidade, vinte foram positivas, ou seja continham um agente patogénico: um *Ixodes ventralloi* para *Theileria annulata*; quatro *Dermacentor marginatus*, um *Haemaphysalis punctata*, cinco *Ixodes ricinus*, cinco *I. ventralloi* e quatro *Rhipicephalus sanguineus* para *Anaplasma marginale*. Este estudo representa o primeiro relato de deteção de *A. marginale* e *T. annulata* em *I. ventralloi*.

3.1.5. Distribuição Geográfica

A distribuição geográfica das carraças é determinada pelo grau de adaptação aos diferentes habitats e ecossistemas, entendido como o conjunto formado pelas características climáticas, de vegetação e existência de hospedeiros em uma determinada região. A ocorrência e a frequência de carraças está limitada a ambientes que proporcionem humidade suficiente e temperaturas dentro das margens toleráveis de cada género e/ou espécie (Leclercq, 1988).

A distribuição geográfica de *I. ricinus* está limitada pela vegetação, pela temperatura e especialmente pela humidade do ambiente, não podendo sobreviver com uma humidade relativa ambiental inferior a 80% (Anderson & Magnarelli, 2008; Gray *et al.*, 2009). Nos países

do centro e norte da Europa, *I. ricinus* apresenta uma ampla distribuição, sendo as condições de temperatura e humidade ambiental as que marcam o período de atividade, geralmente compreendido desde Fevereiro-Março até Novembro (Anderson & Magnarelli, 2008; Gray *et al.*, 2009). Porém, nos países da bacia mediterrânea, como França, Espanha, Itália, Grécia, Portugal e o norte de África apresenta uma distribuição mais restringida (Gilot *et al.*, 1975). Nestes países, esta carraça ocupa determinadas áreas que apresentam uma humidade relativa ambiental que permita a sobrevivência e o desenvolvimento da sua população (Estrada-Pena *et al.*, 2004b). As formas adultas estão ativas durante os períodos menos quentes do ano (Setembro/Março) interrompendo a atividade durante o período de Verão. Ao contrário, as formas imaturas têm maior atividade nos meses de Primavera/Verão (Abril/Junho), justificando a sazonalidade observada nas doenças associadas a este artrópode (Santos-Silva *et al.*, 2006). Segundo a revisão bibliográfica de Santos-Silva *et al.* (2011), *I. ricinus* já foi relatado em todos os distritos de Portugal. Estrada-Pena & Santos-Silva, 2005, demonstraram que o *I. ricinus* está presente nas zonas Sul de Portugal e também em partes ocidentais onde o clima é habitualmente húmido.

Haemaphysalis punctata é uma espécie paleártica, que se distribui por uma variedade muito grande de habitats, onde um grau elevado de humidade é conseguido (Estrada-Pena *et al.*, 2004a). Esta espécie encontra-se distribuída pela Europa (incluindo no Sul da Escandinávia e Grã-Bretanha), Ásia Central e Norte de África (Taylor *et al.*, 2007). Em Espanha, encontra-se distribuído nas regiões mais húmidas e temperadas como Albacete, Andaluzia, Aragão, Baleares, Canárias, Cantabria, Castela-Leão, Catalunha, entre outras (Iza, 2010). Em Portugal encontra-se distribuído de norte a sul do país (Santos-Silva *et al.*, 2006). As formas adultas têm maior atividade no período de Outono-Inverno, ao contrário dos estádios imaturos de larva e ninfa cujo período de maior atividade é a Primavera-Verão. Prefere zonas de clima temperado a frio, não sendo muito exigente nas condições de humidade relativa (Santos-Silva *et al.*, 2006).

Rhipicephalus annulatus encontra-se presente na América Central e do Sul, África, México, Comunidade dos Estados Independentes (ex-URSS), África, Médio Oriente, Oriente Próximo, Mediterrâneo e México. Tem sido amplamente erradicada da América do Norte, mas pode ser encontrada, por vezes, no Texas ou na Califórnia (Taylor *et al.*, 2007). Em Espanha foi relatado em quatro regiões como, Andaluzia, Badajoz, Catalunha e Menorca (Iza, 2010). Em Portugal já foi relatado em 12 distritos (Beja, Braga, Castelo Branco, Évora, Faro, Leiria, Lisboa, Portalegre, Porto, Santarém, Setúbal, e Viana do Castelo) (Tendeiro 1962; Leitão 1971; Dias & Santos-Reis 1989; Caeiro & Simões 1991; Caeiro 1992).

Rhipicephalus appendiculatus encontra-se distribuído por África, sul do Sahara. Ocorre particularmente em áreas com abundante chuva e está ausente nos desertos (Taylor *et al.*, 2007).

Rhipicephalus bursa trata-se de uma espécie bem adaptada aos habitats que apresentam escassas precipitações e verões largos e secos (Hoogstraal, 1978), se bem que a sua presença em climas áridos como ocorrem em certas zonas de Israel é escassa (Liebisch & Zukari, 1978) e tão pouco lhe é muito favorável a humidade excessiva (Pomerantzev, 1950). Na Grécia é omnipresente em todos os climas, desde submediterrâneo ao mesomediterrâneo atenuado, sendo mais frequente no clima mesomediterrâneo acentuado (Liakos, 1979; Papadopoulos,

1990). Em Espanha foi relatada a sua presença em todas as regiões (Iza, 2010). No que diz respeito a Portugal, foi notificado em 15 distritos (Aveiro, Beja, Braga, Bragança, Coimbra, Évora, Faro, Guarda, Leiria, Lisboa, Portalegre, Porto, Santarém, Setúbal e Viana do Castelo) (Tendeiro 1962; Leitão 1971; Dias *et al.*, 1994; Caeiro 1992, 1999).

Um estudo realizado por Estrada-Pena & Santos-Silva (2005) em Portugal, conclui que as espécies *R. bursa*, *R. annulatus*, estão restritas, na sua maioria, à parte sul do país sob condições climáticas quentes e secas do tipo mediterrânico.

Rhipicephalus decoloratus encontra-se distribuído por África. Por outro lado o *R. microplus* distribui-se pela Ásia, Austrália, México, América Central e do Sul, Índia Ocidental e África do Sul (Taylor *et al.*, 2007).

Hyalomma lusitanicum habita em ambientes quentes, muito quentes e secos, localizando-se desde a Itália Central a Portugal, incluindo França e Espanha; também se estende pela zona do Magrebe (Marrocos, Argélia, etc.), chegando a localizar-se nas Ilhas Canárias (Travassos, 1994). A primeira referência a respeito da presença e identificação desta espécie vem de Portugal, de onde recebe o seu nome (Koch, 1844), posteriormente é referenciada a sua presença em diversos pontos geográficos da Europa. Segundo a revisão bibliográfica de Santos-Silva *et al.* (2011), *H. lusitanicum* já foi relatado em todos os distritos de Portugal. Estrada-Pena & Santos-Silva (2005) detetaram a sua presença em grande parte do Sul de Portugal, como também em algumas regiões do Norte e Centro.

Hyalomma marginatum trata-se de uma espécie amplamente distribuída devido à sua capacidade de adaptação a diferentes condições bioclimáticas e por se pouco exigente. É fácil observá-la desde zonas subsarianas até áreas húmidas, suportando uma ampla variabilidade de temperaturas e está associada a áreas com vegetação diversa (Pomerantzev *et al.*, 1940; Anónimo, 1987). O período de maior atividade das formas adultas é durante a Primavera-Verão, enquanto as formas imaturas de larvas e ninfas são encontradas, com maior facilidade, no final do Verão e durante o período do Outono-Inverno (Santos-Silva *et al.*, 2006). Foi detetada a sua presença no Paquistão, Índia, Ásia Central, Médio Oriente, países baixos do Mar Negro, países mediterrâneos e quase toda a África (Hoogstraal, 1956; Kaiser & Hoogstraal, 1974; Nosek & Folk, 1977). Hoogstraal *et al.* (1963) identificaram esta espécie no Egito e em toda a região Afrotropical. Em Portugal diversos autores descreveram a presença de *H. marginatum* (Leitão, 1943; Tendeiro, 1962; Caeiro, 1991; Travassos, 1994), tendo sido notificado em todas as regiões do país. Estrada-Pena & Santos-Silva (2005) demonstraram que o *H. marginatum* está restrito, na sua maioria, à parte sul de Portugal.

Dermacentor andersoni e *D. variabilis* encontram-se amplamente distribuídos pelas partes ocidentais e centrais da América do Norte, nomeadamente no México. Por outro lado o *D. occidentalis* encontra-se distribuído no Oeste dos EUA (Taylor *et al.*, 2007).

O género *Amblyomma spp.* encontra-se distribuído principalmente por África (Taylor *et al.*, 2007).

3.1.6. Prevenção e Controlo

A base de um controlo bem-sucedido é evitar o desenvolvimento das carraças fêmeas ingurgitadas e assim limitar a deposição de um grande número de ovos (Taylor *et al.*, 2007).

O controlo das carraças/ixodídeos baseia-se largamente no uso de acaricidas químicos aplicados quer por imersão total num tanque de imersão, quer sob a forma de spray, chuveiro, spot-on ou em forma de libertação lenta com uso de brincos auriculares. Estão disponíveis no mercado uma grande variedade de formulações de organofosforados (por exemplo, malatião, clorpirifos, fentião, diclorvos, citoato, diazinão, propetamfos, fosmete) e inseticidas piretróides (por exemplo, cipermetrina, permetrina, deltametrina) para aplicação sob a forma de sprays, banhos de imersão, spot-on ou chuveiros. Também se demonstrou que as lactonas macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas) ou closantel, administradas por via parentérica são um auxílio útil no controlo de carraças. Quando animais se encontram severamente parasitados necessitam de um tratamento individual, formulações especiais de acaricidas suspensas em uma base gordurosa podem ser aplicadas nas áreas afetadas (Taylor *et al.*, 2007).

O número de imersões/banhos depende de vários fatores e muitas vezes significa que o intervalo entre cada tratamento varia de acordo com a estação do ano. Depende da duração da atividade do ixodídeo, da toxicidade do produto, da atividade sazonal das carraças, do tempo que as carraças passam no hospedeiro e se é necessário controlar ou erradicar o parasita (Andrews *et al.*, 2004).

Assim, as carraças de um hospedeiro que permanecem no hospedeiro por três semanas, são muito mais fáceis de tratar do que as carraças de três hospedeiros, que só se alimentam por um dia ou dois. Geralmente, nessa altura, será necessário tratar os animais uma vez por semana contra as carraças de um hospedeiro e duas vezes por semana para as carraças de três hospedeiros. Esse tratamento frequente permite a seleção de carraças para combater as resistências. No entanto, quando o controlo das carraças não é alcançado este, muitas vezes é devido aos animais serem tratados com uma frequência insuficiente, a formulação usada para tratar os animais estar demasiado fraca, mal misturada ou o tipo de princípio ativo ser o menos indicado e este poder estar com uma concentração insuficiente para as carraças serem mortas. Quando há suspeita da ocorrência de resistência, esta pode ser superada mudando-se o tipo de princípio ativo para tratar os animais (Andrews *et al.*, 2004).

O controlo a longo prazo das carraças de três hospedeiros está orientado para o período necessário para que a fêmea adulta se torne completamente ingurgitada, que varia de 4 a 10 dias de acordo com a espécie. Se um animal for tratado com um acaricida que tenha um efeito residual de 3 dias, será pelo menos 7 dias antes de qualquer fêmea completamente ingurgitada reaparecer após o tratamento (ou seja, 3 dias de efeito residual mais um mínimo de 4 dias para a fêmea ingurgitar). O tratamento semanal durante a época de carraças deve, portanto, matar as fêmeas adultas antes de estas ingurgitarem, exceto em casos de doença muito graves, em que o intervalo de tratamento tem de ser reduzido para 4 ou 5 dias. Teoricamente, o tratamento semanal também deve controlar as larvas e as ninfas, mas em

várias áreas o pico de infestação de larvas e ninfas ocorre em épocas diferentes para as fêmeas adultas e a duração do tratamento tem que ser estendida (Taylor *et al.*, 2007).

Uma vez que muitas carraças ocorrem em partes menos acessíveis do corpo, como o ânus, vulva, virilha, escroto, úbere e orelhas, um cuidado deve ser exercido para garantir que o acaricida é aplicado corretamente (Taylor *et al.*, 2007).

No caso específico do *Rhipicephalus (Boophilus) spp.*, o tratamento a cada 21 dias durante a época de mais carraças proporciona um bom controlo, mas uma vez que os estádios ninfais parecem ser menos suscetíveis à maioria dos acaricidas, um intervalo de 12 dias é muitas vezes necessário entre os tratamentos, no início da temporada das carraças. As avermectinas / milbemicinas podem desempenhar um papel crescente no controlo de carraças de um hospedeiro (Taylor *et al.*, 2007).

Em Portugal, a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) publicou a listagem de produtos de uso veterinário autorizados, datando a última atualização em Dezembro de 2013. No que diz respeito aos inseticidas e acaricidas para utilização em bovinos, apenas estão disponíveis para uso veterinário em Portugal a ciflutrina, cipermetrina, ciromazina, deltametrina, imadoclopride, permetrina e piretrinas.

A poluição ambiental derivada da repetida aplicação de acaricidas está a tornar-se num grave problema, com eventuais repercussões no desenvolvimento de resistências (Kocan *et al.*, 2000), assim como na contaminação do leite e da carne pela presença de resíduos (Almazan *et al.*, 2012).

A queima das pastagens no final da estação de seca, que coincide com a abundância de estados evolutivos das carraças nas pastagens, ajuda a reduzir a população de carraças, no entanto, verificou-se que quando esta é a única forma de controlo utilizada, após a queima a população de carraças volta a aumentar devido à população de carraças que permaneceram nos seus hospedeiros e que voltam para as pastagens (Quiroz, 2000).

Na Austrália e em alguns outros países, utiliza-se uma vacina contra *R. microplus*. A vacina consiste em antigénios recombinantes para as microvilosidades do epitélio intestinal da carraça. Como resultado, a ingestão de sangue de bovinos imunizados interfere na digestão da carraça, o que leva à morte ou diminuição da fertilidade. Após alguns anos de vacinação, a população local de carraças é, portanto, drasticamente reduzida. A vacinação tem de ser repetida pelo menos uma vez por ano, uma vez que a imunidade não é reforçada por antigénios de infeção natural (Andrews *et al.*, 2004).

3.2. Hemoparasitas

3.2.1. Theileriose

3.2.1.1. Agente Etiológico

Theileria spp. insere-se no Reino Protista, Filo Protozoa, Subfilo Sporozoa/Apicomplexa, Classe Esporozoa, Sub-Classe Piroplasmida, Ordem Haemosporida, Família Theileriidae, Género *Theileria* spp. (Levine *et al.*, 1980; Taylor *et al.*, 2007).

Nos bovinos, *Theileria parva* e *Theileria annulata* são os principais agentes etiológicos da Theileriose clínica severa. *Theileria orientalis*, um parasita benigno do género *Theileria*, também causou surtos de Theileriose em muitos países tais como Austrália e Nova Zelândia (Eamens *et al.*, 2013; McFadden *et al.*, 2014).

A espécie *T. orientalis* pode ser definida como Complexo *Theileria orientalis*, sinónimo de *Theileria mutans*, *Theileria buffeli* e *Theileria sergenti* (Taylor *et al.*, 2007).

Segundo Smith (2009), a Theileriose cerebral é uma doença encefálica dos bovinos que é causada pelos parasitas da espécie *T. annulata* e *T. parva*.

Uma forma leve de Theileriose, localmente chamada de “doença de Janeiro”, ocorre em bovinos em Moçambique. Esta condição é causada pela subespécie *T. parva bovis*. A doença do corredor é causada pela subespécie *T. parva lawrence* (Smith, 2009).

3.2.1.2. Ciclo Biológico

O ciclo biológico é heteroxeno, sendo o hospedeiro definitivo (HD) os bovinos e o hospedeiro intermediário (HI) os Ixodídeos do género *Rhipicephalus* spp., *Hyalomma* spp. e *Amblyomma* spp..

Os bovinos são infetados quando as carraças sugam o sangue (Figura 4) e os esporozoítos são inoculados, estes rapidamente entram nos linfócitos associados a uma glândula linfática, geralmente a parótida onde sofrem esquizogonia e merogonia (Taylor *et al.*, 2007; Elsify *et al.*, 2014). O linfócito parasitado transforma-se num linfoblasto, que se divide rapidamente à medida que se transforma em macroesquizonte. Esta divisão é aparentemente estimulada pelo parasita, que por sua vez se divide de forma síncrona com o linfoblasto para produzir duas células infetadas. A taxa de proliferação é tal que um aumento de células infetadas dez vezes, pode ocorrer a cada 3 dias. Cerca de 12 dias após a infeção, a proporção de macroesquizontes se desenvolve em microesquizontes e dentro de um dia estes produzem os micromerozoítos que entram nos eritrócitos. Depois de algumas fissões binárias estes produzem as formas variadas presentes nos glóbulos vermelhos (Taylor *et al.*, 2007).

Os eritrócitos infetados com *Theileria* são ingeridos pelas carraças onde ocorre a fase sexual, seguida pela produção de milhares de esporozoítos haplóides infecciosos nas glândulas salivares. O parasita tem um ciclo de vida principalmente haplóide com uma breve fase diplóide na carraça correspondente aos estágios de zigoto e ooquineto (Mehlhorn & Schein, 1984).

Para completar o ciclo de vida, os piroplasmas necessitam de ser ingeridos pelos estádios de larva ou ninfa de três vetores hospedeiros. Nestes, a fase sexual descrita acima ocorre no intestino da carraça seguido pela formação de esporoblastos nas glândulas salivares. Nenhum desenvolvimento posterior ocorre até que na fase seguinte a carraça se alimente e os esporoblastos produzam esporozoítos infecciosos a partir do dia 4 em diante. As carraças fêmeas alimentam-se continuamente por cerca de 10 dias e os machos intermitentemente durante um período mais longo, isso permite um tempo longo de infeção para o hospedeiro. O período de incubação após transmissão da carraça é de 8-24 dias (Taylor *et al.*, 2007).

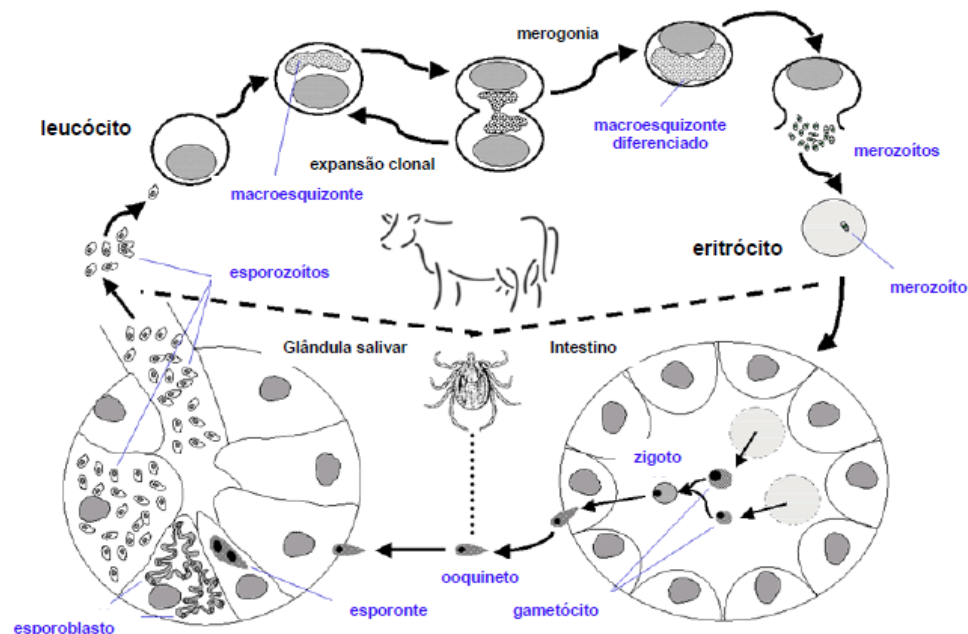


Figura 4: Ciclo Biológico da *Theileria* spp. (Adaptado de Wellcome Trust Project for Tropical Theileriosis, 2007, <http://www.theileria.org>)

Como os esquizontes de *T. parva* e *T. annulata* induzem rápida proliferação de leucócitos, essas espécies são classificadas como transformadoras. Em contraste, *T. orientalis* não induz a proliferação de leucócitos sendo portanto referida como uma *Theileria* não-transformadora (Elsify *et al.*, 2014).

Os merozoítos libertados induzem lise dos esquizontes que infetam os glóbulos vermelhos. Embora os merozoítos de *T. annulata* e *T. orientalis* se multipliquem eficientemente nos glóbulos vermelhos, a merogonia nos glóbulos vermelhos da *T. parva* é menos pronunciada (Elsify *et al.*, 2014).

3.2.1.3. Epidemiologia

Theileria é amplamente distribuída em bovinos e ovinos na África, Ásia, Europa e Austrália (Figura 5) (Taylor *et al.*, 2007).

As espécies de *Theileria* mais virulentas e economicamente mais importantes são, *T. parva* e *T. annulata*. Enquanto *T. parva* é endêmica na África oriental, central e meridional, *T. annulata* é comum no norte de África, sul da Europa e Ásia (Bishop *et al.*, 2004; Elsify *et al.*, 2014). Por outro lado o autor Gubbels *et al.* (1999) afirma que a *T. annulata* é a espécie mais difundida e maligna, que ocorre em torno da bacia mediterrânea, no médio Oriente e no sul da Ásia.

O Complexo *T. orientalis* (*T. sergenti*, *T. buffeli* e *T. mutans*) tem sido relatado em todo o mundo (Uilenberg, 1981). Foi relatado nos EUA, Europa, Japão, Coreia, África, China, sudoeste Asiático incluindo Tailândia, Indonésia e Nova Zelândia (Kakuda *et al.*, 1998; Aktas *et al.*, 2006; McFadden *et al.*, 2014). *T. sergenti* é encontrada na Coreia e no Japão e a *T. mutans* no sudoeste dos Estados Unidos (Smith, 2009).

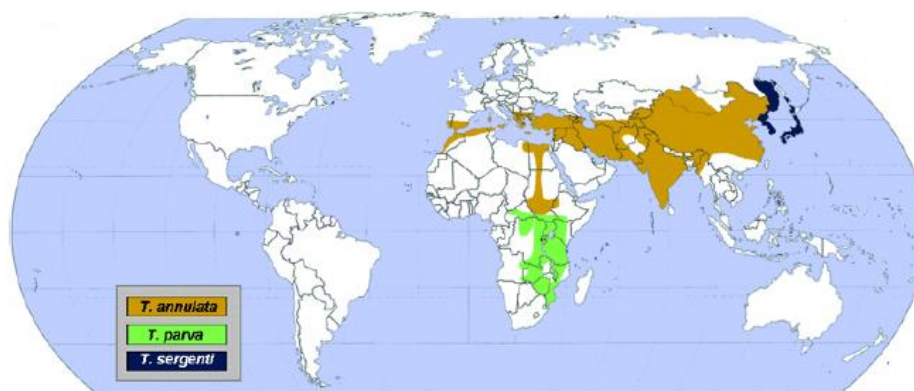


Figura 5: Distribuição mundial das principais espécies de *Theileria* em bovinos. (Adaptado de Wellcome Trust Project for Tropical Theileriosis, 2007, <http://www.theileria.org>)

Elsify *et al.* (2004) descreveu pela primeira vez a *T. orientalis* no Egito com base em testes de ADN, através de PCR. Um outro estudo realizado na Tailândia, demonstrou que a *T. orientalis* foi a espécie com mais prevalência em bovinos de carne, e que a falta de controlo das carraças é um fator de risco para esta doença (Jirapattarasate *et al.*, 2015).

A Theileriose tropical, causada por *T. annulata*, é considerada uma infeção endêmica nos bovinos em algumas regiões portuguesas. No entanto, vários casos de doença aguda fatal em bezerros foram relatados no sul de Portugal (Branco *et al.*, 2010).

Segundo Caeiro (1999) em Portugal, nas regiões do Alentejo e Ribatejo, *T. annulata* é a espécie mais importante transmitida por carraças. Já o autor Centeno-Lima *et al.* (2003) demonstrou que 88% dos animais são portadores de *T. annulata* na região do Alentejo.

Um estudo realizado por Brígido *et al.* (2004) no norte Portugal (Bragança) a fim de caracterizar a população de hemoparasitas da raça Mirandesa, concluiu através da análise de PCR, que 3 dos 116 animais analisados estavam infetados com parasitas do género *Theileria* ou *Babesia*, enquanto que na análise de RBL mostrou que os animais estavam infetados com *T. buffeli/orientalis*.

Um trabalho realizado por Silva *et al.* (2010) nas regiões Centro e Sul de Portugal, demonstrou que 74.7 % dos bovinos testados foram positivos para *Babesia* e/ou *Theileria*, sendo que a *T. buffeli* foi a espécie mais frequentemente encontrada. Por outro lado, um estudo realizado por Gomes *et al.* (2013) demonstrou que a prevalência de animais afetados com *Theileria* e *Babesia* nas regiões Norte, Centro e Sul do país foi de 36.8% (sendo a região Sul a mais afetada) e que *T. annulata* foi a espécie mais frequentemente encontrada com uma prevalência de 21.3%, em comparação com a espécie *T. buffeli*.

A primeira análise genética populacional de *T. annulata* em Portugal foi realizada por Gomes *et al.* (2016) onde foi demonstrado que, á semelhança de outros países endémicos, a população parasitária de *T. annulata* é muito diversa.

Noaman (2012) demonstrou em estudo realizado no Irão que o género *Theileria* pode ser detetado em bovinos sem qualquer sinal de infeção, mas que estes mantêm um estado subclínico persistente e que podem vir a servir como reservatórios de infeção para as carraças e causar transmissão natural da doença.

Um estudo realizado no Sudão por Salih *et al.* (2007) identificou como fatores de risco o sistema de manejo extensivo e a idade dos animais entre 1-2 anos mais propícios para a infeção por *T. parva* e *T. annulata*.

3.2.1.4. Diagnóstico

3.2.1.4.1. Exame Clínico

O período de incubação desta doença dura cerca de 1 semana quando nem os parasitas nem as lesões podem ser detetadas (Taylor *et al.*, 2007).

Aproximadamente 1 semana após a infeção, em um animal totalmente suscetível, o nódulo linfático que drena a área da picada da carraça, geralmente a parótida, aumenta de tamanho e o animal torna-se febril (40-41.7 °C; 104-107°F). Dentro de alguns dias há um aumento generalizado dos nódulos linfáticos superficiais, orelhas, olhos e regiões submandibulares, o animal torna-se anorético, apresenta diminuição da produção de leite e perde rapidamente a condição corporal, cessa a ruminação, torna-se fraco, aumenta a frequência cardíaca e hemorragias petequiais podem ocorrer na língua e na vulva. Os animais afetados tornam-se emaciados, dispneicos e com diarreia, muitas vezes com sangue e muco (Taylor *et al.*, 2007).

Ocasionalmente, os sinais nervosos, são relatados e atribuídos a presença de merozoítos nos capilares cerebrais (Taylor *et al.*, 2007). Em casos raros o parasita pode localizar-se na medula espinhal (Smith, 2009).

A síndrome neurológica é caracterizada por ataxia, hipermetria, défices propriocetivos conscientes, depressão, “head pressing”, hiperestesia, cegueira, nistagmo, “circling” e

agressividade. Na fase terminal, os animais tornam-se recumbentes e desenvolvem opistótono, convulsões tónico-clónicas e coma. Os sinais do SNC resultam de vasculite e inflamação linfocítica do cérebro (Smith, 2009).

No caso específico da *T. annulata*, na fase tardia ocorre anemia hemolítica e frequentemente icterícia. Na forma mais crónica pode-se observar febre intermitente, inapetência, emaciação, anemia e icterícia (Taylor *et al.*, 2007).

Infeções mais leves mostram uma febre ligeira durante 3 a 7 dias, apatia e aumento dos linfonodos superficiais (Taylor *et al.*, 2007).

Animais que sobrevivem à doença aguda podem tornar-se portadores crónicos persistentemente infetados e desempenhar um papel importante como reservatório para a manutenção do ciclo de vida do parasita (Smith, 2009; Gomes *et al.*, 2013).

Diagnósticos diferenciais incluem tripanossomose, babesiose, anaplasmoses, “heartwater” e febre catarral maligna/peste bovina/vírus da diarreia bovina (Radostits *et al.*, 2007).

3.2.1.4.2. Exame Laboratorial

O diagnóstico das infeções causadas por *Theileria spp.* em Portugal, é realizado através da microscopia e métodos serológicos (Brígido *et al.*, 2004).

Na infeção por *T. parva*, os macroesquizontes são facilmente detetados em esfregaços feitos a partir de biópsia de nódulos linfáticos, nos animais mortos por esfregaços de impressão feitos a partir dos nódulos linfáticos e baço. Em casos avançados, os esfregaços de sangue corados com Giemsa mostram piroplasmas nos eritrócitos, podendo até 80% deles estarem parasitados. As formas trofozoíticas presentes nos eritrócitos são predominantemente em forma de bastonete (1,5-2,0 x 0,1-1,0 µm), mas podem ser redondas, ovais e em forma de vírgula. Os corpos de Koch podem ser observados nos linfócitos e células endoteliais do baço ou nódulos linfáticos onde podem ser muito numerosos e medirem 8 µm, podendo variar até 12 µm ou mais (Taylor *et al.*, 2007).

Ao contrário da *T. parva*, o diagnóstico da *T. annulata* requer a deteção de merozoítos em ambas as amostras de biópsia de nódulos linfáticos e em esfregaços sanguíneos (Figura 6). Na infeção por *T. annulata* as formas trofozoíticas nos eritrócitos são predominantemente redondas (0,5-2,7 µm) a ovais (2 x 0,6 µm), mas também podem ser em forma de bastão ou em forma de vírgula (1,2 x 0,5 µm). A divisão é realizada por fissão binária podendo formar duas ou quatro células filhas, a última em forma de cruz. Os corpos de Koch podem ser observados nos linfócitos do baço ou nos gânglios linfáticos ou mesmo livres nesses órgãos. Estes medem cerca de 8 µm mas podem alcançar até 27 µm (Taylor *et al.*, 2007).

Na *T. orientalis* as formas trofozoíticas nos eritrócitos são redondas (1-2 µm de diâmetro), ovais (1,5 x 0,6 µm), piriformes, em forma de vírgula ou semelhantes a *Anaplasma*. A fissão binária produz duas ou quatro células filhas. Existem relativamente poucos corpos de Koch (8-20 µm) nos linfócitos do baço e nódulos linfáticos, que contêm 1-80 grânulos de cromatina (1-2 µm de diâmetro) (Taylor *et al.*, 2007).

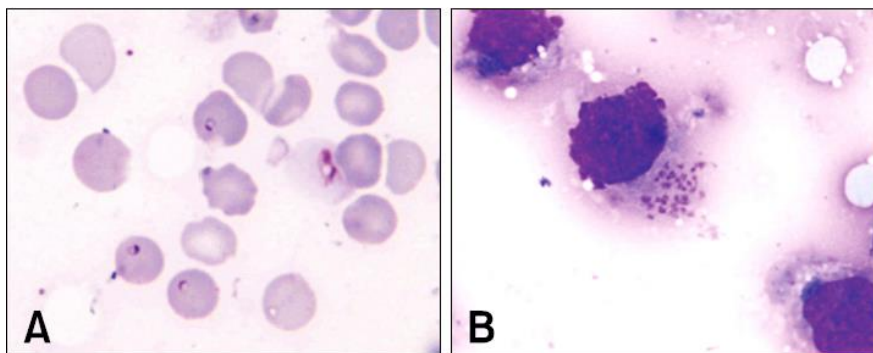


Figura 6: (A) Esfregaço de sangue contendo três formas anulares de *Theileria annulata* nos glóbulos vermelhos. (B) Esfregaço de nódulo linfático, mostrando um esquizonte numa célula mononuclear. Corado com Giemsa, $\times 1.000$. (Branco *et al.*, 2010)

O CF, CAT e os testes indiretos de hemaglutinação têm sido utilizados no diagnóstico, mas são menos fiáveis. O IFA é considerado o mais confiável, e tem um grande valor na deteção de *T. parva*. O teste de ELISA também está sendo cada vez mais usado (Andrews *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2007).

Num estudo realizado por Gomes *et al.* (2013) utilizou-se a técnica de RBL para estimar a prevalência das espécies de *Theileria* e *Babesia* em Portugal. Num outro estudo realizado por Gomes *et al.* (2016) utilizou-se a técnica de PCR para investigar a diversidade genética da *T. annulata* no sul de Portugal comparando com os dados disponíveis na Tunísia e Turquia.

Na necrópsia pode-se observar os gânglios linfáticos aumentados de tamanho com atrofia do conteúdo celular e hiperemia variável. O baço encontra-se geralmente aumentado de tamanho com polpa macia e corpúsculos de malpighi proeminentes. O fígado encontra-se também aumentado de tamanho, friável, amarelo-acastanhado, com degeneração do parênquima. Os rins estão congestionados ou castanho-pálido, com um número variável de enfartes renais. As meninges podem estar ligeiramente congestionadas. O coração é de consistência mole com petéquias no epicárdio e endocárdio. Os pulmões encontram-se frequentemente congestionados e edematosos. Pode haver hidrotórax e hidropericárdio, e a cápsula renal pode conter uma grande quantidade de fluido seroso. Pode haver petéquias na pleura visceral e parietal, córtex adrenal, bexiga e mediastino. No abomaso, intestino delgado e grosso é comum observarem-se úlceras de 2 a 5 mm ou mais de diâmetro. As placas de peyer estão aumentadas e o conteúdo intestinal é amarelado (Taylor *et al.*, 2007).

O cérebro dos animais afetados parece ter um tom amarelado. Microscopicamente, inclusões azuis no citoplasma (corpos de Koch) são vistos nos linfócitos adjacentes às áreas hemorrágicas. A forma nervosa da *Theileria* é difícil de diagnosticar definitivamente porque o parasita é apenas esporadicamente visível em secções de tecido nervoso em animais afetados. A biópsia do córtex cerebral tem sido recomendado como um teste confirmatório para o diagnóstico da doença. O LCR (líquido cefalorraquidiano) dos animais afetados apresenta uma concentração de proteínas normal ou aumentada (1400 e 12,452 mg/dl), com um número normal de glóbulos brancos (Smith, 2009).

3.2.1.4. Tratamento

Os fármacos de escolha no tratamento de *Theileriose* são oxitetraciclinas de longa ação (tetraciclinas), naftaquinona (parvaquona e buparvaquona), assim como o anticoccídeo halofuginona (Taylor *et al.*, 2007; Shkap *et al.*, 2010).

Embora as tetraciclinas tenham um efeito terapêutico se administradas no momento da infeção, elas não têm qualquer valor no tratamento de casos clínicos (Taylor *et al.*, 2007). A clortetraciclina administrada em qualquer fase da infeção, numa dose de 10 mg / kg de peso corporal quer por via parenteral quer por via oral, reduz a gravidade da parasitemia e da pirexia (Andrews *et al.*, 2004).

A diminazeno (Berenil®) também atua contra os primeiros estados do parasita e continua a ser indicada devido à sua eficácia em co-infecções pelos hemoparasitas *Anaplasma* e *Babesia* ou quando ocorre infeção bacteriana (Navarrete *et al.*, 2002).

O Fruvexon® é a combinação, mais recentemente reportada, de parvaquona com o diurético furosemida, que alguns autores demonstraram ser efetivo no tratamento de bovinos que desenvolvem edema pulmonar, uma consequência comum observada na theileriose (Mbwambo *et al.*, 2002; Smith, 2009; Shkap *et al.*, 2010).

Hoje em dia, é o grupo das naftoquinonas, ao qual pertencem a parvaquona e a buparvaquona (Butalex®), aquele que apresenta as substâncias ativas com maior eficácia e mais específicas contra os parasitas do género *Theileria*. Estes compostos têm atividade contra as formas merogónicas (esquizontes) e destroem os linfócitos parasitados. A taxa de recuperação dos animais afetados está entre 80-94%. A parvaquona é eficaz nas fases iniciais da doença. Se for administrada mais tardiamente, são necessárias várias administrações. A buparvaquona é considerada o fármaco de eleição e, apesar de ser mais eficaz quando usada em estados iniciais da doença (fase de esquizogonia), também é eficaz na fase de merogonia (Campillo *et al.*, 2002; Smith, 2009; Shkap *et al.*, 2010). Apesar de serem os fármacos mais utilizados no combate da Theileriose bovina, não conseguem destruir o parasita por completo. Assim, o animal deixa de apresentar sinais clínicos, mas permanece num estado de portador (Navarrete *et al.*, 2002; OIE, 2008). Por outro lado, é frequente que os animais que recuperam após o tratamento permaneçam debilitados com baixa produção de leite/carne durante meses, devido à extensa destruição do sistema imunitário, provocada pela doença. Estes animais tornam-se também mais susceptíveis a infeções secundárias (Morrison *et al.*, 2007). O preço elevado destes produtos é a sua maior desvantagem (Shkap *et al.*, 2010).

No tratamento da theileriose a dose recomendada é de 10 a 20 mg /kg de peso vivo via intramuscular em duas doses com intervalo de 48 horas no caso da parvaquona (Clexon®), e de 2,5 mg /kg de peso vivo via intramuscular numa única dose no caso da buparvaquona (Butalex®). Estes fármacos têm uma eficácia de 90% no tratamento da theileriose (Smith, 2009).

Num estudo realizado por Mhadhbi *et al.* (2010) na Tunísia, foi confirmada pela primeira vez a ocorrência de resistência à buparvaquona em infeções produzidas por *T. annulata*.

Em Portugal, na lista de Medicamentos de Uso Veterinário para hemoparasitas em bovinos (DGV, 2008) não se encontra nenhum medicamento registado específico para o tratamento da Theileriose.

Os tratamentos de suporte passam pela transfusão sanguínea, administração de antianémicos, protetores hepáticos (Vitamina B e Ácido Fólico) e antipiréticos.

3.2.1.5. Prevenção e Controlo

No controlo desta parasitose o movimento dos animais torna-se importante, devendo ser realizado por meio de vedações que impeçam o acesso de animais a áreas infestadas pelos vetores e pelo tratamento repetido com acaricidas. Em áreas de alto risco, tais tratamentos podem requerer a frequência de aplicação duas vezes por semana para matar as carraças antes que os esporozoítos infectantes se desenvolvam nas glândulas salivares das carraças. Esta profilaxia não só é cara, como cria uma população de bovinos suscetível, pois se o acaricida falhar na sua atividade devido ao erro humano na aplicação ou nas dosagens, ou as carraças ganharem resistência aos acaricidas, as consequências podem ser desastrosas (Taylor *et al.*, 2007).

A pulverização semanal e a aplicação de brincos auriculares impregnados com cipermetrina, foram apontados como eficazes no controlo de carraças e na prevenção de infeções causadas por *Theileria* em bezerros na Tanzânia (Smith, 2009).

Em estudos também realizados por Smith (2009), indicaram que a prevenção da infeção por *Theileria* deveria ser baseada na utilização de vacinas vivas atenuadas, que produziram uma imunidade sólida mediada por células.

Grandes esforços têm sido feitos para desenvolver uma vacina adequada para *T. parva*, mas estes não têm sido suficientes dado haver complexos mecanismos imunológicos envolvidos na imunidade do bovino e pela descoberta de estirpes imunologicamente diferentes de *T. parva* no campo. No entanto um regime de “infeção e tratamento” que envolve a injeção simultânea de um estabilizante virulento de *T. parva* e tetraciclina de ação prolongada mostrou ser bem-sucedido, embora ainda não tenha sido utilizado em larga escala (Taylor *et al.*, 2007).

Aparentemente, a tetraciclina retarda a taxa de esquizogonia, dando tempo de resposta imune para se desenvolver (Taylor *et al.*, 2007).

A vacinação com uma vacina viva atenuada e quimioprofilaxia com buparvaquona estão disponíveis em certos países. No entanto, nenhuma destas medidas de controlo está disponível em Portugal. A única intervenção disponível é a utilização de acaricidas para o controlo das carraças (Gomes *et al.*, 2016).

3.2.2. Babesiose

3.2.2.1. Agente Etiológico

O género *Babesia* insere-se no Reino Protista, Filo Protozoa, Subfilo Sporozoa/Apicomplexa, Classe Esporozoa, Sub-Classe Piroplasmida, Ordem Haemosporida, Família Babesiidae, Género *Babesia* spp. (Levine *et al.*, 1980; Taylor *et al.*, 2007).

Conhecida comumente por nomes como, babesiose bovina, piroplasmose, febre do texas, “redwater” nos EUA, febre da carraça, tristeza bovina e tristeza parasitária, esta doença pode ser causada por pelo menos seis espécies de *Babesia*, tal como descrito na Tabela 1 (Smith, 2009).

As espécies mais importantes de *Babesia* que afetam os bovinos são as consideradas babesias grandes (*Babesia major* e *Babesia bigemina*) e as babesias pequenas (*Babesia divergens* e *Babesia bovis*) (Andrews *et al.*, 2004).

Entre as espécies de *Babesia* associadas à babesiose bovina, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Babesia divergens* são consideradas as mais virulentas (Elsify *et al.*, 2014), porém segundo Smith (2009), a espécie *Babesia bovis* é mais virulenta comparada com a espécie *Babesia bigemina*.

3.2.2.2. Ciclo Biológico

O ciclo biológico é heteroxeno, sendo o HD os bovinos e o HI os Ixodídeos do género *Rhipicephalus* spp., *Rhipicephalus* (*Boophilus*) spp., *Haemaphysalis* spp. e *Ixodes* spp..

A transmissão natural das espécies de *Babesia* ocorre principalmente através da alimentação dos vários estadios das carraças. As carraças são mais frequentemente infetadas pela via transovárica (verticalmente) (Smith, 2009).

A carraça fêmea é infetada pela ingestão de parasitas durante o ingurgitamento. Depois de se desprender do hospedeiro, os esporozoítos reproduzem-se dentro dos tecidos da carraça. Alguns dos organismos reprodutores são incorporados dentro do desenvolvimento embrionário da carraça, e os agentes patogénicos são transmitidos a novos hospedeiros vertebrados pela alimentação das larvas, ninfas ou adultos. As carraças no estado larvar podem transmitir *Babesia bovis*, mas *Babesia bigemina* não é transmitida até que as larvas tenham mudado para os estados de ninfa ou adulto (Smith, 2009).

Tal como descrito na Figura 7, o ciclo biológico da *Babesia* spp. é composto por três fases, sendo que a gametogonia e esporogonia se realizam no HI e a esquizogonia se realiza no HD (Vignau *et al.*, 2005).

A carraça alimenta-se num mamífero parasitado e ingere eritrócitos infetados com gametócitos. Estes penetram as células do epitélio intestinal do ixodídeo onde se transformam em gâmetas (macrogametas e microgametas), que se fundem originando o zigoto ou ooquinetos terminando assim a fase de gametogonia iniciada no mamífero. Na esporogonia, o

zigoto deixa a célula intestinal, passa para a cavidade geral da carraça e vai penetrar as células da hemolinfa. Quando a carraça se alimenta num hospedeiro, formam-se esporozoítos nas células das glândulas salivares e por maturação, os esporozoítos são inoculados através da saliva no hospedeiro vertebrado.

Já na circulação sanguínea do bovino, a fase de esquizogonia ou merogonia é caracterizada pela transformação de esporozoítos em trofozoítos. O trofozoíto, por reprodução assexuada, divide-se em duas formas piriformes, unidas pela extremidade afilada. Estas formas designam-se por merozoítos e parasitam os eritrócitos.

A multiplicação assexuada dos merozoítos dentro dos glóbulos vermelhos resulta na hemólise das células, levando a anemia e icterícia no animal (Elsify *et al.*, 2014).

Quando há destruição de eritrócitos, libertam-se merozoítos para o plasma sanguíneo que irão parasitar novas células, alguns deixam de se dividir e designam-se por gametócitos, as formas infetantes para as carraças.

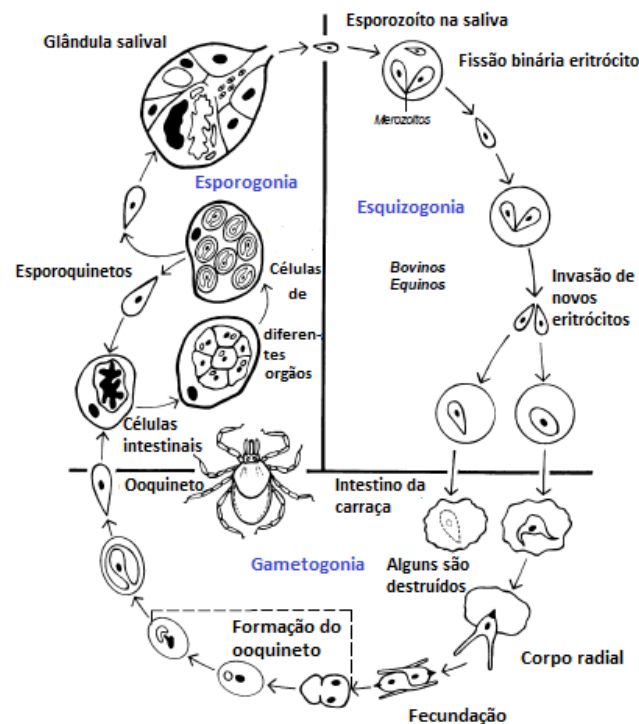


Figura 7: Ciclo Biológico da *Babesia* spp. (Adaptado Vignau *et al.*, 2005)

3.2.2.3. Epidemiologia

Babesiose foi relatada pela primeira vez em 1888 por Viktor Babes na Romênia, que detetou a presença de corpos redondos e intra-eritrocitários no sangue de bovinos infetados. Em 1893, Theobald Smith e Frederick Kilborne, nos Estados Unidos, publicaram os resultados de uma série de experimentações que demonstraram que o *Rhipicephalus annulatus* foi responsável pela transmissão de uma doença chamada febre da carraça para bovinos susceptíveis.

Bovinos de todas as raças são suscetíveis à babesiose. No entanto, as raças *Bos indicus* exibem um grau definido de resistência tanto às espécies de *Babesia* como aos vetores de carraças (Smith, 2009).

Os animais jovens são menos suscetíveis à babesiose do que os animais mais velhos (Taylor *et al.*, 2007). Em áreas endémicas, o animal jovem primeiramente adquire imunidade de forma passiva através do colostro e como resultado, com frequência sofre apenas infeções transitórias com discreta sintomatologia clínica. Contudo, essas infeções aparentemente são suficientes para estimular a imunidade ativa, embora a recuperação seja seguida por um longo período durante o qual ficam portadores, quando, apesar de não manifestarem sintomatologia clínica, o seu sangue permanece infetante para as carraças durante muitos meses. Costumava-se supor que essa imunidade ativa dependia da persistência do estado do portador e o fenómeno era denominado por premunição. Entretanto, parece improvável que seja este o caso, pois sabe-se que tais animais podem deixar de ter a infeção quer naturalmente quer por quimioterapia, mas mesmo assim ainda mantêm uma imunidade sólida (Urquhart *et al.*, 1996).

Em áreas endémicas, onde há muitas carraças infetadas, a imunidade do hospedeiro é mantida num nível elevado através de repetidos desafios e a doença clínica é rara. Em contraste, quando existem poucas carraças ou quando estão confinados a áreas limitadas, o estado imunológico da população é baixo e os animais jovens recebem pouca ou nenhuma imunidade colostrar (Taylor *et al.*, 2007).

O surto ocasional de doença clínica em áreas endémicas, particularmente em animais adultos, é frequentemente associado a algum tipo de stress, como o parto ou a presença de outra doença, como a febre transmitida por carraças (Taylor *et al.*, 2007).

Enquanto *B. bovis* e *B. bigemina* são encontrados em regiões tropicais e subtropicais do mundo, *Babesia divergens*, que também é definida como um agente zoonótico e *Babesia major*, são comuns na Europa (Urquhart *et al.*, 1996; Elsify *et al.*, 2014).

Babesia bigemina e *B. bovis* são altamente patogénicas nas regiões tropicais e subtropicais. Na Europa, *B. divergens* é a mais disseminada e patogénica e os casos clínicos ocorrem durante os períodos de atividade das carraças, principalmente na primavera e outono, enquanto que *B. major* apenas produz uma anemia leve e transitória (Urquhart *et al.*, 1996; Taylor *et al.*, 2007).

Babesia bigemina é de particular interesse histórico, pois foi a primeira infeção protozoária do homem ou de animais que demonstrou ter um hospedeiro intermediário artrópode, isto foi comprovado em 1893, por Smith e Kilborne, ao investigar a causa da localmente denominada “Febre do Texas” em bovinos, nos Estados Unidos (Urquhart *et al.*, 1996).

Um estudo realizado nas regiões centro e sul de Portugal para pesquisa de *B. bovis* e *B. bigemina* por métodos serológicos e de deteção de ADN por Silva *et al.* (2009), demonstraram que existe uma alta incidência de infeções por *Babesia spp.*, sendo que os testes serológicos revelaram que 79% e 52% dos bovinos foram positivos para anticorpos contra *B. bovis* e *B. bigemina*, respectivamente, enquanto que os testes com PCR detetaram 71% e 34% de bovinos infetados com *B. bovis* e *B. bigemina*.

Caeiro (1999) observou que em Portugal nas regiões do Alentejo e Ribatejo a espécie *B. bigemina* e *B. bovis* são consideradas as doenças mais importantes transmitidas por carraças.

Um trabalho realizado por Silva *et al.* (2010), nas regiões Centro e Sul de Portugal, demonstrou que a espécie *B. divergens* foi a mais frequentemente encontrada. Por outro lado,

um estudo realizado por Gomes *et al.* (2013) demonstrou que a espécie *B. bigemina* foi a mais frequentemente encontrada nas regiões Norte, Centro e Sul do país, com uma prevalência de 7.9 %.

Silva *et al.* (2009) observaram que a incidência e a distribuição de infeções causada por *Babesia spp.*, entre os 1.1 milhões de bovinos estimados em Portugal, permaneciam ainda desconhecidas.

3.2.2.4. Diagnóstico

3.2.2.4.1. Exame Clínico

Os sinais clínicos observados em bovinos em áreas enzoóticas com carraças podem fornecer dados suficientes para um diagnóstico presuntivo (Smith, 2009).

Os sinais clínicos manifestam-se 2 a 3 semanas após a infestação de carraças. O período de incubação, após inoculação de sangue pode ser superior a cinco dias ou mais de três semanas, dependendo do volume de inóculo (Smith, 2009).

São observados sinais clínicos como febre (40-42°C, 104-107.6°F), depressão, icterícia, anorexia, taquicardia, taquipneia, anemia, hemoglobinemia, hemoglobinúria, aborto e morte (Smith, 2009).

A anemia é causada pela destruição intravascular de eritrócitos por merozoítos, após a reprodução intra-eritrocitária das babesias por fissão binária. Além disso, a fragilidade osmótica da população total de eritrócitos aumenta de forma terminal, de modo que a lise maciça ocorre, embora a parasitémia possa ser inferior a 1%. Adicionalmente, uma condição auto-imune pode resultar em que o baço remova eritrócitos danificados e aparentemente saudáveis da circulação. Assim, o grau de anemia pode exceder o esperado com um grau de parasitémia baixo (Smith, 2009).

A saída de *B. bigemina* e *B. bovis* dos eritrócitos infetados liberta duas ou mais enzimas proteolíticas associadas a parasitas no plasma. Acredita-se que estas enzimas e outros produtos metabólicos do parasita interagem com os componentes do sangue e são responsáveis por sinais clínicos como acidose metabólica e anoxia. A taquicardia pode ser dramática e os batimentos cardíacos pronunciados (Smith, 2009).

A babesiose cerebral, caracterizada por hiperexcitabilidade, convulsões, opistótonos, coma e morte, pode ser observada em bovinos infetados com *B. bigemina* ou *B. bovis*, especialmente com quando se trata de *B. bovis* não causando hemoglobinúria, pois tende a aglutinar-se nos capilares, principalmente os do cérebro. Os sinais do sistema nervoso central são causados por anoxia cerebral resultante da anemia grave e bloqueio eritrocitário dos capilares cerebrais (Benavides, 2002; Smith, 2009).

A morte é causada por uma síndrome de choque associada à acumulação de toxinas, libertação de substâncias vasoativas e anoxia anémica. A maioria dos casos com envolvimento cerebral é fatal. Contudo, a mortalidade é extremamente variável, dependendo das espécies de *Babesia* envolvidas, da susceptibilidade do hospedeiro, dos fatores de stress ambiental e

maneio. Muitos dos bovinos sobrevivem á fase aguda recuperam, mas tornam-se portadores crónicos. Outros morrem como resultado de infeções secundárias contraídas durante o seu estado de debilidade (Smith, 2009).

No estudo realizado por Lotfollahzadeh *et al.* (2012), foram analisadas as atividades das enzimas ALT, AST e ALP, como também a concentração de ferro para determinar grau de dano hepático e de ferro sanguíneo causado por *T. annulata* e *B. bigemina*. Este estudo revelou um aumento das atividades séricas de AST e ALP em bovinos infetados com *T. annulata* e *B. bigemina*, o que indicou existir lesão hepática associada à infeção. Por outro lado este estudo concluiu que, a anemia por deficiência de ferro não é um fator importante em bovinos infetados com estas espécies.

Outras condições que podem apresentar sinais semelhantes a babesiose são, anaplasmoses, tripanossomíase, theileriose, leptospirose, toxicidade crónica por cobre e hemoglobinúria bacilar. Os sinais clínicos cerebrais podem ser confundidos com raiva e outras encefalites (Smith, 2009).

O diagnóstico diferencial requer a eliminação de outras condições que causem hemoglobinúria, como eperitrozonose, leptospirose, pós-parto e hemoglobinúria bacilar (Andrews *et al.*, 2004).

3.2.2.4.2. Exame Laboratorial

Um diagnóstico positivo requer a identificação de espécies de *Babesia* em esfregaços de sangue fino corados com Giemsa, testes serológicos positivos ou inoculação de bezerros esplenectomizados com sangue infectado (Smith, 2009).

O esfregaço de sangue é um meio de diagnóstico simples e pouco dispendioso, mas requer um microscopista experiente para diferenciar as espécies, é confiável apenas se a quantidade de parasitas no sangue é alta o suficiente para ser detetada, o que normalmente só é possível durante os casos agudos. A observação de merozoítos intra-eritrocitários emparelhados é indicativo de infeção, mas existem outros estadios do parasita, como os trofozoítos, que apresentam diferentes formas e tamanhos dependendo da espécie, o que torna sua deteção difícil e demorada (Potgieter *et al.*, 1977).

B. bigemina é caracteristicamente uma espécie grande que aparece dentro dos eritrócitos maduros como não pigmentada, em par, com os corpos em forma de pêra unidos num ângulo agudo. Formas irregulares, redondas ou ameboides também podem ser observadas (Figura 8) (Smith, 2009).

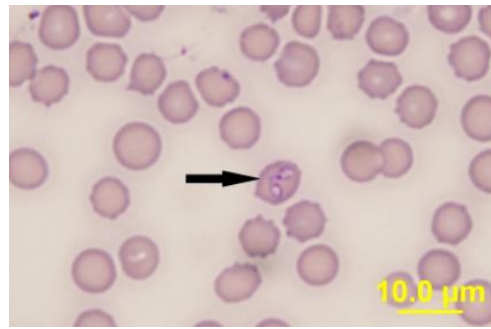


Figura 8: Piroplasma de *B. bigemina* intra-eritrocitário. (National Center for Veterinary Parasitology, disponível em <http://ncvptest.weebly.com/protozoa1.html>)

B. major é uma Babesia grande, com corpos piriformes de 2,6 x 1,5 μm , sendo caracteristicamente emparelhada num ângulo agudo inferior a 90° e encontra-se no centro do eritrócito. Podem formar-se formas redondas com cerca de 1,8 μm de diâmetro (Figura 9) (Taylor *et al.*, 2007).

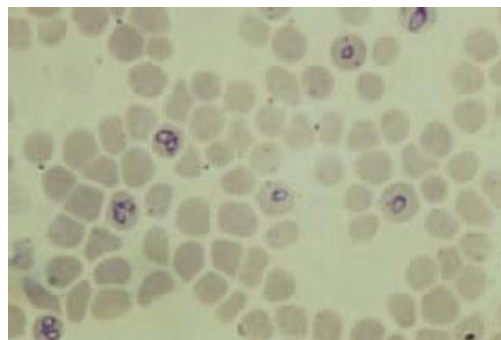


Figura 9: Estágios intra-eritrocitários de *B. major* num bovino. (Taylor *et al.*, 2007)

B. bovis é uma espécie pequena e pleomórfica, frequentemente identificada como um único corpo redondo ou como corpos em par em forma de pêra unidos num ângulo obtuso dentro dos eritrócitos maduros (Figura 10) (Smith, 2009).

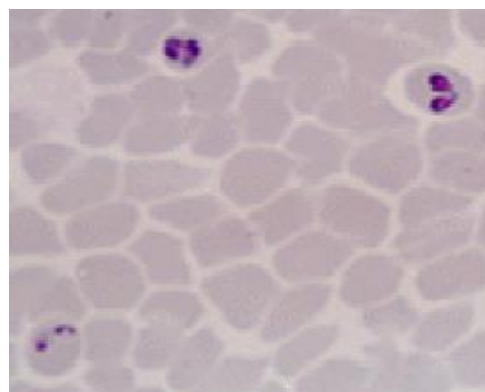


Figura 10: *Babesia bovis* no interior de um eritrócito. (Léon *et al.*, 2010)

B. divergens aparece dentro dos glóbulos vermelhos quase sempre individualmente ou em pares, muitas vezes disposta num ângulo obtuso característico, com as extremidades estreitas opostas (Figura 11). Tipicamente são piriformes, mas podem ser redondos, alongados ou em forma de charutos (Taylor *et al.*, 2007). Segundo Smith, 2009 as formas podem medir entre 1,5 x 1,4 μm , e segundo Taylor *et al.*, 2007 pode estar presentes outras formas que medem 2 x 1 μm , algumas circulares, até 2 μm de diâmetro e algumas podem ser em forma de vacúolo (Figura 12).

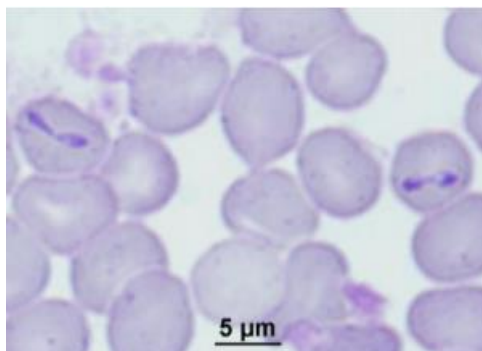


Figura 11: *B. divergens* num esfregaço sanguíneo corado com Diff-Quick. (University of Liège-François Smeets)

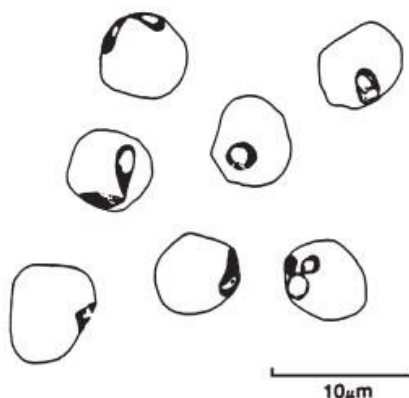


Figura 12: Diversas formas de *B. divergens* nos eritrócitos. (Taylor *et al.*, 2007)

Na infeção aguda, espécies de *Babesia* podem ser detetadas em esfregaços feitos a partir de sangue periférico. Em casos crónicos, o número de eritrócitos parasitados diminui, tornando-se tão escasso que dificulta a deteção. Isto é particularmente verdade com *B. bovis*, que mostra uma tendência marcada para se acumular nos capilares, particularmente os do cérebro. *B. bovis* pode favorecer os capilares no cérebro e rim porque a principal via de produção de energia da *Babesia* parece ser a da glicólise anaeróbia. O bloqueio de capilares cerebrais e renais pelos eritrócitos parasitados resulta numa condição anaeróbia que permite aos parasitas absorver substratos pré-formados por pinocitose e difusão através das suas membranas de superfície (Smith, 2009).

Os valores do hematócrito caem rapidamente de um valor normal de 35% para menos de 10% em menos de uma semana após o aparecimento dos sinais clínicos. Os níveis séricos de potássio diminuem em alguns animais afetados, enquanto que os níveis de potássio na urina aumentam em quase todos os casos (Smith, 2009).

Anticorpos específicos anti-babesia são detetáveis em soros de bovinos com menos de 7 dias após infeção. Esses anticorpos também existem durante pelo menos 252 dias após o desaparecimento dos parasitas detetados. O teste de CF e o teste de IFA são os mais utilizados.

O teste CF é eficaz, mas aproximadamente 100 dias após a infeção os anticorpos caem abaixo de um nível de diagnóstico fiável (Smith, 2009).

O teste IFA utiliza todo o parasita intra-eritrocitário como antígeno em vez de um extrato e uma γ -globulina anti-bovina de coelho comercialmente preparada conjugada com fluoresceína. (Smith, 2009) A principal desvantagem é as reações serológicas cruzadas entre as várias espécies de *Babesia*. Isto complica a interpretação dos resultados sorológicos na presença de mais de uma espécie de *Babesia* (Papadopoulos *et al.*, 1996). Outro inconveniente da serologia é a incapacidade de correlacionar resultados positivos com a presença de parasitas vivos (Devos & Geysen, 2004).

Um estudo realizado em França por Devos & Geysen (2004) demonstrou a especificidade do ensaio desenvolvido por PCR para pesquisa de *Babesia divergens*.

Os achados post-mortem em bovinos são característicos de uma crise aguda hemolítica. Tais achados incluem palidez generalizada ou icterícia em toda a carcaça, fígado aumentado e icterico, vesícula biliar distendida e espessada, bÍlis verde escura que pode conter flocos de material semi-sólido, baço extremamente aumentado, escuro e macio. Podem ser observados hidropericárdio e petéquias no subepicárdio/subendocárdio. O sangue é fino e aguado. A bexiga urinária encontra-se frequentemente distendida com urina vermelho escuro. Os rins são pálidos e edematosos. Pode haver equimoses na mucosa intestinal e na subserosa do abomaso e os gânglios linfáticos encontram-se edematosos. A fáscia intermuscular também se encontra edematosa (Smith, 2009).

3.2.2.4. Tratamento

Após o início da hemoglobinúria ou sinais cerebrais, o prognóstico é mau. Casos agudos com valores de hematócrito de 12% geralmente respondem bem ao tratamento. O prognóstico diminui nos casos de hematócritos com valores abaixo de 10%. O sucesso do tratamento depende do diagnóstico precoce e da terapia imediata (Smith, 2009).

Os princípios ativos babesicidas específicos mais frequentemente utilizados, eficazes e relativamente menos tóxicos são o dipropionato de imidocarb (1 a 3 mg/kg), diminazeno (3 a 5 mg/kg), di-isetionato de fenamidina (8 a 13 mg/kg) e di-isetionato de amicarbalina (5 a 10 mg/kg) (Smith, 2009). O aceturato de diminazeno foi retirado da Europa por razões de comercialização (Vial & Gorenflot, 2006).

O dipropionato de imidocarb é altamente eficaz e relativamente não tóxico, mas pode apresentar resíduos nos tecidos durante várias semanas após a sua utilização (Andrews *et al.*, 2004). Este composto tem propriedades terapêuticas e profiláticas e em áreas enzoóticas, o

seu uso previne infecção clínica por até 2 meses, mas ao mesmo tempo permite que ocorram infecções subclínicas leves, resultando numa imunidade antecipada (Smith, 2009).

Além do tratamento específico, a terapia de suporte, como transfusões de sangue (4 L de sangue total por 250Kg de peso corporal), fluídos (soros isotónicos) e antibióticos profiláticos são importantes. As espécies de *Babesia* mais pequenas são mais resistentes á quimioterapia e podem requerer doses aumentadas ou tratamentos adicionais (Smith, 2009).

Geralmente os bovinos tratados tornam-se portadores crónicos e são resistentes a outros episódios clínicos da doença. No entanto, o tratamento de *B. bigemina* pode ser tão eficaz que a esterilização pode ocorrer, eventualmente deixando o animal suscetível á reinfeção (Smith, 2009).

Um trabalho realizado por Goo *et al.* (2010), sugeriu que o artesunato, um derivado da artemisinina solúvel em água, pode ser um fármaco potencial contra a infecção causada por espécies de *Babesia*, incluindo a *B. bovis*. Este mostrou que quando a cultura de *B. bovis* foi tratada com concentrações iguais ou superiores a 2.6 µm de artesunato aos 3 dias pós-tratamento, esta mostrou inibição do crescimento por parte do parasita.

3.2.2.5. Prevenção e Controlo

O controlo da babesiose bovina pode ser efetuado pelo controlo das carraças, imunização, fármacos anti-babesia ou por uma combinação destes (Suarez & Noh, 2011).

A erradicação de vetores carraças do género *Rhipicephalus spp.* proporcionou um controle efetivo nos Estados Unidos. Outros projetos semelhantes tentados noutros locais não foram bem-sucedidos devido a razões tão diversas como a resistência das carraças aos acaricidas, capacidade de algumas carraças infetarem hospedeiros alternativos não-bovinos, falha na obtenção de cooperação integral por parte dos produtores de bovinos e falta de recursos financeiros para sustentar um programa prolongado (Smith, 2009).

As áreas de instabilidade enzoótica também criam problemas quando as quantidades de carraças aumentam repentinamente ou os animais, por alguma razão, são forçados a utilizar uma área adjacente infetada com carraças (Urquhart *et al.*, 1996).

Segundo Smith (2009) a maioria dos procedimentos destinados a reduzir as infestações por carraças, como aplicações de acaricidas nos hospedeiros ou no ambiente, queima da pastagem em área controlada, o cultivo, o repouso prolongado e o uso de repelentes, são benéficos.

Deve-se tomar cuidado para evitar a transferência accidental de sangue de um animal para o outro em cirurgias de rotina como por exemplo, descorna, castração, colocação de brincos nas orelhas, implantação de hormonas e procedimentos de vacinação (Smith, 2009).

A forma mais comum de imunização consiste em inocular organismos vivos (virulentos ou atenuados) em vitelos suscetíveis para induzir um estado de premunição. Embora uma abordagem de premunição seja útil em áreas endémicas, é menos desejável em áreas com taxas de infecção baixas porque os portadores premunizados permanecem como grande reservatório da infecção (Smith, 2009).

Estudos demonstraram que algumas vacinas adjuvantes mortas provaram ser bem-sucedidas em ensaios limitados. As técnicas de cultivo celular *in vitro* produziram antígenos

solúveis altamente imunogénicos de *B. bovis*. As vacinas sub-unitárias derivadas de tecnologias monoclonais mostraram-se eficazes na proteção contra doenças clínicas graves (Smith, 2009).

Anticorpos monoclonais aparentemente inibem a invasão de merozoítos nos eritrócitos. As vacinas deste material não-infecioso geralmente não impedem a doença, mas moderam os efeitos da infeção e não produzem os portadores diretamente (Smith, 2009).

As vacinas vivas para *B. bovis* e *B. bigemina* estão disponíveis em muitos países há muitos anos, tais como Austrália e alguns países da América do Sul. Não existem vacinas atualmente disponíveis para *B. divergens*, apesar de estarem a ser realizadas muitas investigações para desenvolver vacinas recombinantes inativadas para essa espécie e para *B. bovis* e *B. bigemina* (Andrews *et al.*, 2004).

A quimioterapia é importante para o controlo da doença, seja para tratar casos de campo ou para controlar infeções induzidas artificialmente (Rodriguez & Trees, 1996).

3.2.3. Anaplasmosse

3.2.3.1. Agente Etiológico

O género *Anaplasma spp.*, ao contrário do género *Theileria spp.* e *Babesia spp.*, não é um protozoário mas sim uma Rickettsia, inserindo-se assim no Reino Protista, Filo Proteobacteria, Classe Alphaproteobacteria, Ordem Rickettsiales, Família Anaplasmataceae e Género *Anaplasma spp.* (Taylor *et al.*, 2007).

Anaplasmosse é uma doença hemolítica que afeta principalmente os bovinos, sendo causada por uma bactéria gram-negativa intracelular obrigatória denominada *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910). *Anaplasma marginale* é o agente causal da anaplasmosse em bovinos e ruminantes selvagens (Razmi *et al.*, 2006).

3.2.3.2. Ciclo Biológico

Anaplasma spp. pode ser transmitido por carraças, e também mecanicamente por moscas hematófagas ou instrumentos cirúrgicos contaminados (Taylor *et al.*, 2007).

O ciclo de vida de *A. marginale* nos ixodídeos é complexo e coordenado com o modo de alimentação destes vetores (Figura 13) (Kocan, 1986; Kocan *et al.*, 1992a; Kocan *et al.*, 1992b; Kocan *et al.*, 2010). Estes, durante a picada num bovino infetado, ingerem eritrócitos que seguem até ao intestino onde são digeridos e se inicia o desenvolvimento das rickettsias por multiplicação nas células intestinais. Posteriormente, muitos outros tecidos dos vetores são infetados, tais como a glândula salivar, a partir da qual *A. marginale* irá ser transmitida aos bovinos (Eriks *et al.*, 1993; Ge *et al.*, 1996; Kocan *et al.*, 2004; Kocan *et al.*, 2010). *A. marginale* desenvolve-se em vacúolos formados pela invaginação da membrana da célula hospedeira, sendo que a primeira forma a ser visualizada é reticulada (vegetativa), que se divide por fissão

binária e forma grandes agregados que podem conter centenas de organismos. Estes mudam então para a forma densa, forma essa infetante e que pode sobreviver fora das células hospedeiras. Os bovinos infetam-se com *A. marginale*, quando as formas densas presentes nas glândulas salivares do artrópode são transmitidas durante a alimentação deste (Kocan *et al.*, 2003; Kocan *et al.*, 2010).

Dentro dos eritrócitos dos bovinos, os vacúolos formados pela invaginação da membrana contém inclusões em forma de mórula com 4-8 rickettsias (Ristic, 1977; Richey, 1981).

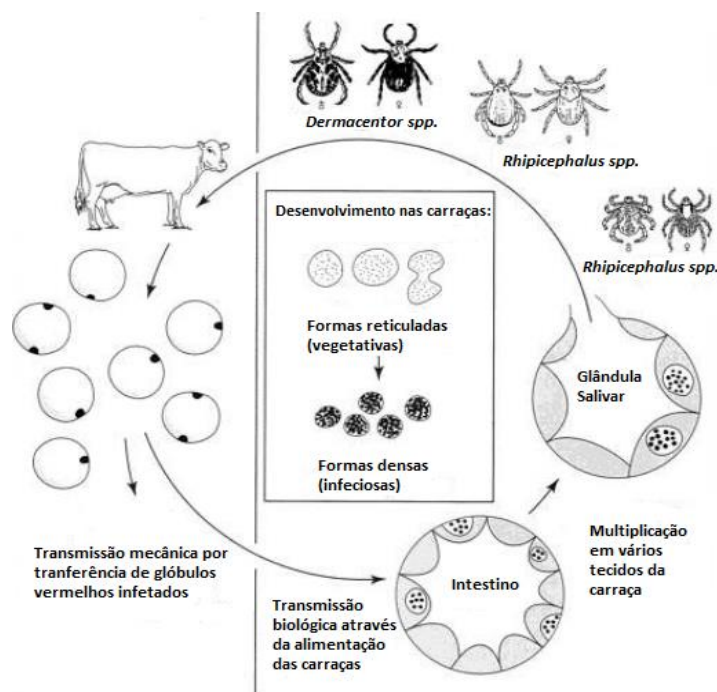


Figura 13: Ciclo biológico do *Anaplasma* spp. (Adaptado de Kocan *et al.*, 2003)

3.2.3.3. Epidemiologia

Anaplasma marginale é a mais prevalente das infeções transmitidas por carrças em todo o mundo e continua sendo uma séria restrição à produção pecuária em regiões tropicais e subtropicais (Smith, 2009).

Anaplasmosose em bovinos é comum na África do Sul, Austrália, Rússia, América do Sul e Estados Unidos (Razmi *et al.*, 2006).

Anaplasma marginale é endêmica em áreas tropicais, subtropicais e certas áreas temperadas do mundo, nomeadamente México, América Central e do Sul (Guglielmone, 1995). Nas regiões tropicais, a prevalência da doença pode atingir 50% a 90% dos animais (Eriks *et al.*, 1993; Aubry & Geale 2011). Esta infeção pode causar uma doença hemolítica leve a grave que resulta em consideráveis perdas económicas para as indústrias pecuárias (Kocan *et al.*, 2008).

A ampla distribuição da doença poderá ser explicada por contínuas mudanças climáticas, em parte resultantes do aquecimento global, que influencia a distribuição dos ixodídeos (Jonsson & Reid 2000) e, por outro lado, pelo aumento das transações de bovinos entre

regiões (infetados cronicamente), funcionando como fonte de infecção para os vetores e, conseqüentemente para os bovinos nativos. Um exemplo que valida esta hipótese foi o diagnóstico de anaplasmosse num Bisonte em Saskatchewan, Canadá durante o verão de 2000 (Kocan *et al.*, 2010).

A distribuição da anaplasmosse é muito influenciada pelas mudanças climáticas que, por sua vez, atuam não só na distribuição das populações de ixodídeos, assim como na sua sobrevivência no inverno (Jonsson & Reid 2000). Estrada-Pena *et al.* (2009) conjugaram as variações climáticas entre regiões do planeta e conseqüentemente diferentes estados da vegetação e obtiveram diferentes tipos de populações de ixodídeos que, por sua vez, exerceram pressão seletiva sobre as diferentes estirpes de *A. marginale* das regiões em questão. Porém, o impacto das mudanças climáticas na epidemiologia do vetor não é linear. Isto foi realçado num artigo publicado por Tabachnick (2010), onde afirma que prever os efeitos das alterações futuras no ambiente, como as alterações climáticas, no complexo ciclo epidemiológico artrópode-parasita-hospedeiro, exige a compreensão de outros mecanismos complexos de nível molecular na população.

Nos Estados Unidos a infecção é endêmica em grande parte do Ocidente e ocorre esporadicamente em muitas regiões historicamente não endêmicas. Anaplasmosse foi detetada em 40 estados.

O Canadá é considerado livre de anaplasmosse endêmica. Anaplasmosse foi erradicada após o surgimento de surtos em Manitoba em 1968, Quebec em 1979, Saskatchewan em 1983, Ontario em 1996, e Saskatchewan em 2000, aplicando a política federal de teste e abate de animais positivos, bem como o rastreamento de movimentos de animais e a realização de vigilância em rebanhos circundantes. Essas ações resultaram na recuperação do Canadá como país livre de anaplasmosse (Howden *et al.*, 2010).

Um estudo realizado no Rio de Janeiro, Brasil por Barbosa da Silva *et al.* (2014), em vacas de leite, demonstrou a importância da via transplacentária na transmissão de *A. marginale*. Neste estudo a infecção por *A. marginale* foi de 41% nos bezerros recém-nascidos antes de ingerirem colostro. No entanto, apenas 14% desses bezerros recém-nascidos eram seropositivos para *A. marginale*. Todos os bezerros foram positivos para *A. marginale* por PCR e no exame microscópico através de esfregaço sanguíneo, antes do segundo e quarto mês de idade, respectivamente.

A atividade do vetor varia de acordo com a região, mas os surtos de anaplasmosse geralmente ocorrem mais frequentemente no final da primavera e verão, quando a atividade dos artrópodes é maior (Smith, 2009).

Embora os ruminantes selvagens (por exemplo, cervos, alces e bisontes) raramente têm doença clínica e geralmente são portadores assintomáticos persistentemente infetados, a sua importância global na epidemiologia da infecção não é clara. Atualmente pensa-se que os ruminantes selvagens desempenham, no máximo, apenas um papel secundário na transmissão natural (Smith, 2009).

3.2.3.4. Diagnóstico

3.2.3.4.1. Exame Clínico

O período de incubação típico é de 15 a 30 dias, concorrendo com a manifestação de sinais clínicos, de acordo com a taxa de inoculação e sensibilidade do hospedeiro (Kessler & Schenk, 1998; Smith, 2009).

Os sinais clínicos são altamente variáveis, desde a fase aguda da doença á infecção subclínica. Dependendo da estirpe de *A. marginale* e da sensibilidade do hospedeiro, a percentagem de eritrócitos parasitados situa-se entre 10% e 90% na fase aguda da infecção. Para o desenvolvimento de sinais clínicos estão parasitados, no mínimo, 15% dos eritrócitos (Radostits *et al.*, 2007), por outro lado o autor Smith, 2009 afirma que, os sinais clínicos aparecem quando mais de 1% dos eritrócitos estão infetados e a gravidade correlaciona-se com a percentagem aproximada de eritrócitos infetados.

A idade no momento da infecção inicial é o que primeiro determina a suscetibilidade do hospedeiro. A doença é frequente nos primeiros 6 a 9 meses de vida e vai se tornando cada vez mais grave em bovinos mais velhos. Infecções em bezerros são muitas vezes assintomáticas, mas leve letargia e anorexia podem ser observadas em 24 a 48 horas. Em contraste, o estágio inicial da anaplasmoze aguda em gado adulto é tipificado por febre, com temperaturas rectais que variam de 39 a 41°C (103- 106°F). Dentro de 12 a 24 horas a febre diminui, e a temperatura pode cair para o normal e tornar-se subnormal antes de o animal morrer (Smith, 2009).

Os principais sinais clínicos nos bovinos são, debilidade grave, emaciação, anemia e icterícia (Razmi *et al.*, 2006).

Anorexia e uma dramática diminuição na produção leiteira podem ser observadas em vacas leiteiras logo após ser detetada a febre. Ao mesmo tempo, há supressão da ruminação, secura do focinho e letargia. Bovinos podem cambalear ou tornar-se agressivos como resultado da hipoxia cerebral associada à anemia. Deve-se ter cuidado para não stressar bovinos gravemente anêmicos, pois isso pode resultar em colapso e morte (Smith, 2009).

Na fase inicial as mucosas encontram-se pálidas, mas podem ficar ictéricas se um animal sobreviver por 2 a 3 dias após a crise aguda (Smith, 2009).

Constipação é um sinal consistente, com fezes castanho-escuro e cobertas com muco e polaquíúria caracterizada por urina amarela escura. Hemoglobinúria não ocorre (Smith, 2009).

O aborto pode ser observado quando a infecção ocorre no final da gestação (Smith, 2009). A privação de oxigênio pode resultar na morte do feto e causar aborto em vacas gestantes (De-Whittier *et al.*, 2007).

Se um animal sobrevive à crise aguda, o período de convalescença é prolongado e depende da gravidade da anemia. Icterícia e perda de peso são mais frequentemente observadas no período de convalescença, que pode durar entre 3 a 4 semanas (Smith, 2009).

Os animais que recuperam permanecem persistentemente infetados para toda a vida. No entanto, a infecção persistente não está associada a nenhuma doença ou diminuição no status

da produção, portanto não existe nenhuma base para diagnosticar “anaplasmoses crônicas” (Smith, 2009).

Um estudo realizado no Irão por Razmi *et al.* (2006) demonstrou que a prevalência de infecção por *A. marginale* não foi significativamente diferente entre machos e fêmeas e entre diferentes faixas etárias de bovinos.

O diagnóstico diferencial requer consideração por doenças que podem induzir anemia ou icterícia, incluindo Babesiose, hemoglobinúria bacilar e leptospirose. Em bovinos em pastoreio, intoxicações por plantas hepatotóxicas (*Senecio*) e outras causas de doença hepática que produzem icterícia também devem ser consideradas (Smith, 2009).

3.2.3.4.2. Exame Laboratorial

Nos bovinos Anaplasmoses agudas são caracterizadas por anemia, hematócrito em queda, sendo este um excelente critério para fins de prognóstico e para determinar a gravidade da infecção (Smith, 2009).

Durante a fase aguda, *A. marginale* pode ser detectado dentro dos eritrócitos por exame microscópico, através de esfregaços de sangue utilizando corantes como Wright's, Azul de Metileno e Giemsa. *A. marginale* é visto em esfregaços sanguíneos corados com Giemsa como um organismo pequeno, redondo, como uma inclusão basofílica de aproximadamente 0.3-1.0 µm, na extremidade das células, presente em maior número antes de uma crise hemolítica. A inclusão é composta por uma pequena mórula de dois a oito organismos individuais, e mais de 5%, até 20 a 70% dos eritrócitos podem estar infectados (Figura 14) (Taylor *et al.*, 2007; Smith, 2009).

O hematócrito desce abaixo de 30% quando os primeiros sinais são observados, e podem cair precipitadamente dentro de 24 a 48 horas. A morte pode ocorrer durante este período apesar do hematócrito estar acima de 20%. Em outros casos, o hematócrito pode diminuir podendo estar abaixo dos 10% antes da morte (Smith, 2009).

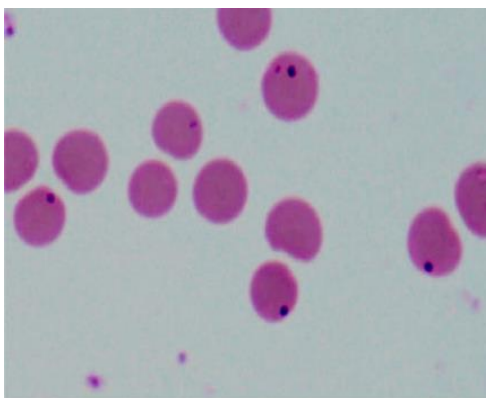


Figura 14: Estágios intra-eritrocitários de *Anaplasma marginale* num bovino. (Jaswal *et al.*, 2013)

Posteriormente, após vários dias de anemia, a percentagem de eritrócitos infetados diminui drasticamente e pode ser detetada evidências de regeneração por parte dos glóbulos vermelhos. Existe anisocitose, ponteados basofílicos, poiquilocitose, policromasia e reticulocitose. Após a recuperação de uma doença aguda, os bovinos permanecem infetados persistentemente com 0,000001% a 0,1% de eritrócitos infetados. Esses níveis extremamente baixos não podem ser detetados de forma confiável por exame microscópico e animais persistentemente infetados que servem como reservatórios para a transmissão, sendo necessário recorrer ao diagnóstico serológico (Smith, 2009).

O diagnóstico serológico mais frequentemente utilizado é o ELISA, que proporciona uma alta especificidade como, ao contrário do CF, uma alta sensibilidade na deteção de bovinos portadores persistentemente infetados. Este método é aprovado como teste oficial pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), sendo conduzido pela maioria, senão por todos os laboratórios estaduais de diagnóstico. Atualmente, o resultado negativo com ELISA é requerido para importação de gado vivo para o Canadá (Smith, 2009).

Na necropsia, não há lesões patognomónicas para o diagnóstico de anaplasmoses. Na anaplasmoses aguda o sangue é fino e aguado e não coagula prontamente. As membranas mucosas, os tecidos subcutâneos e a musculatura esquelética são pálidas (palidez anémica). Em fases posteriores à doença aguda os mesmos tecidos apresentam diferentes graus de icterícia (Smith, 2009). A icterícia e a anemia na anaplasmoses podem ser devidas à destruição das células sanguíneas e seu conteúdo ser libertado na corrente sanguínea (Jaswal *et al.*, 2013). Esplenomegalia é um achado consistente. Hepatomegalia e distensão da vesícula biliar são comuns, mas menos frequentes. A urina é amarelada, mas não ocorre hemoglobínúria nem hematúria. A ausência de hemoglobínúria ajuda a diferenciar anaplasmoses de outras doenças hemolíticas (babesioses, hemoglobínúria bacilar, leptospirose). Ocasionalmente podem ser encontradas petéquias no subepicárdio, subendocárdio e outras membranas serosas (Smith, 2009). Num estudo realizado por Jaswal *et al.* (2013) foi observado um feto morto no útero de uma vaca com *A. marginale*.

A deteção de eritrócitos infetados com *A. marginale* dentro de capilares de cortes histológicos corados com Giemsa, podem ser utilizados para confirmação do diagnóstico de anaplasmoses (Smith, 2009).

3.2.3.5. Tratamento

As tetraciclinas são o antibiótico de escolha para o tratamento da doença aguda, e não foi relatada resistência. Na anaplasmoses aguda, a oxitetraciclina a 11 mg/kg IV cada 24 horas por 3 a 5 dias é eficaz. Uma a duas administrações de oxitetraciclina de ação prolongada a 20 mg/kg IM a intervalos de 72 horas também é um tratamento eficaz (Smith, 2009).

Além da terapia antibiótica, a terapia de suporte também é importante. Se o hematócrito for igual ou inferior a 12%, a transfusão de sangue total pode ser indicada para prevenir a morte e encurtar o período de convalescença; 4 a 8 L de sangue total são usualmente

administrados a um animal adulto. Um hematócrito de 8% ou inferior indica um prognóstico desfavorável, e a morte ocorre frequentemente apesar da antibioticoterapia e terapia de suporte adequada. É importante notar que o regime de oxitetraciclina utilizado para tratar a anaplasmoze aguda não é eficaz para eliminar o parasita do organismo e os animais que recuperam tornam-se portadores persistentemente infetados (Smith, 2009).

O tratamento com dipropionato de imidocarb demonstrou ser bem-sucedido contra doenças hemolíticas tais como anaplasmoze, necessitando apenas de uma dose para remissão dos sinais clínicos (3 mg/kg de peso corporal, subcutâneo ou intramuscular). No entanto, esta droga causa muitos efeitos colaterais como, salivação, lacrimação, taquipneia, taquicardia e dor no local da injeção, como resultado da acumulação maciça de acetilcolina (principal neurotransmissor vagal que possui efeito anti-inflamatório) (Abdullah *et al.*, 1984; Carrique *et al.*, 2000).

Um estudo recente analisou os efeitos do dipropionato de imidocarb sobre o sistema purinérgico e as enzimas antioxidantes, em animais naturalmente infetados por *A. marginale*. O dipropionato de imidocarb foi utilizado na dose de 5 mg/kg via subcutânea. Os resultados sugeriram que o dipropionato de imidocarb tem efeito sobre as enzimas antioxidantes e inibe significativamente as atividades enzimáticas da ADA (adenosina deaminase) e da AChE (acetilcolinesterase) (Doyle *et al.*, 2016).

3.2.3.6. Prevenção e Controlo

As medidas de controlo variam de acordo com as características económicas e geográficas de cada região e podem incluir: controlo de vetores artrópodes pelo uso de acaricidas, administração profilática de antibióticos e vacinação. O controlo de vetores não constitui uma solução prática para muitas áreas, não impedindo a transmissão mecânica através de fómites. O uso de antibióticos, além de caro, não é viável em sistemas de criação extensivos e traz o risco do aumento da ocorrência de microrganismos resistentes (Kocan *et al.*, 2010).

A vacinação é uma forma económica e eficiente para o controlo parcial da anaplasmoze bovina. As vacinas podem ser de dois tipos: vivas ou mortas. O uso de vacinas vivas para o controlo de anaplasmoze envolve a infeção do animal, pela inoculação de eritrócitos infetados com isolados atenuados de *A. marginale* ou vacinas vivas contendo *A. centrale*, que é menos patogénico (Kocan *et al.*, 2003). Tais métodos apresentam algumas limitações, como efeitos adversos em algumas categorias de animais (vacas gestantes, animais adultos), possibilidade de veiculação de agentes patogénicos (no caso da premunicação), sensibilização de vacas contra grupos sanguíneos e consequentemente, isoeritrólise neonatal em bezerros (Brizuela *et al.*, 1998; Kessler & Schenk, 1998).

O uso de vacinas mortas tem como principais vantagens o baixo risco de contaminação com agentes infecciosos indesejáveis, barato e com menor número de reações adversas pós-inoculação. As desvantagens são a necessidade de reforços anuais, o alto custo de purificação de *A. marginale* a partir de eritrócitos e a falta de proteção cruzada entre casos isolados geograficamente. A imunidade protetora conferida pelas vacinas de organismos mortos é,

frequentemente, menor que a conferida pelas vacinas de organismos vivos (Kocan *et al.*, 2003).

Na Austrália utiliza-se uma vacina viva trivalente (*A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*) para assegurar a infeção dos bovinos na idade jovem. Similarmente, as vacinas vivas baseadas em *A. centrale* ou estirpes fracamente virulentas de *A. marginale* são tipicamente usadas em África, Ásia e América Central e do Sul. No entanto, estas não estão licenciadas para utilização nos Estados Unidos. A exceção a isso é o licenciamento de uma vacina viva usada na Califórnia (Smith, 2009).

Na ausência de imunoprofilaxia, anaplasmose é geralmente controlada pela prevenção da transmissão. Embora seja difícil prevenir completamente o contacto de carraças e moscas com os animais em sistema extensivo, o uso estratégico de acaricidas e inseticidas pode reduzir a transmissão durante períodos de alta atividade vetorial (Smith, 2009).

O uso de acaricidas está se tornando cada vez mais problemático devido à seleção de populações resistentes. Além disso, a presença de resíduos de acaricida na carne e no leite são preocupações de saúde pública e em última instância, podem interferir na estabilidade enzoótica, tornando os animais suscetíveis tanto à anaplasmose quanto à babesiose bovina (Thullner *et al.*, 2007).

Como os instrumentos e as agulhas contaminados com sangue podem transmitir mecanicamente a infeção, devem ser implementadas medidas sanitárias apropriadas quando são realizadas injeções ou procedimentos cirúrgicos (Smith, 2009).

A manutenção de um rebanho livre de *A. marginale* em áreas não endémicas pode ser realizada por quarentena e triagem serológica utilizando o método de ELISA. Contudo, em regiões endémicas, requer extrema vigilância na triagem, prevenção do contacto direto e da partilha de pastagens com outros ruminantes domésticos e selvagens, o que pode resultar na transmissão da doença através dos vetores (Smith, 2009).

3.3. Objetivos

Na presente dissertação, foi realizado um estudo sobre hemoparasitas em bovinos na Beira Interior.

O objetivo geral deste trabalho foi contribuir para o estudo dos hemoparasitas dos bovinos na Beira Interior, comparando os resultados obtidos com a literatura publicada. Foram também propostos alguns objetivos específicos:

1. Estimar a prevalência de hemoparasitas na população de bovinos na Beira Interior.
2. Identificar fatores de risco associados à infeção dos animais
3. Caracterização de uma amostra de Ixodídeos, recolhidos aleatoriamente de uma exploração incluída no estudo.
4. Promover a consciencialização por parte dos produtores sobre a importância do controlo dos vetores na prevenção da transmissão dos hemoparasitas.

4. Material e Métodos

4.1. Beira Interior

4.1.1. Descrição geográfica e económica

A Beira interior resulta da moderna união da antiga província da Beira Baixa, com a Beira Trasmontana (Figura 15). Ocupa uma área correspondente a 12 740 km² e contabiliza um total de 383 995 habitantes (INE,2011).

É constituída por 26 municípios, sendo doze do distrito da Guarda, doze do distrito de Castelo Branco, um do distrito de Coimbra e um do distrito de Santarém.

Os concelhos que fazem parte da Beira Interior são: Aguiar da Beira, Almeida, Belmonte, Castelo Branco, Celorico da Beira, Covilhã, Figueira de Castelo Rodrigo, Fornos de Algodres, Fundão, Gouveia, Guarda, Idanha-a-Nova, Manteigas, Mação, Meda, Oleiros, Pampilhosa da Serra, Penamacor, Pinhel, Proença-a-Nova, Sabugal, Seia, Sertão, Trancoso, Vila de Rei e Vila Velha de Rodão (INE,2011).

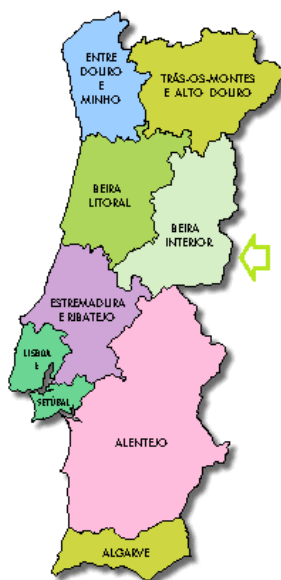


Figura 15: Localização geográfica da Beira Interior (Seta Verde) (Mapa adaptado de http://regioes.blogspot.pt/2006_06_01_archive.html)

A economia da região caracteriza-se pelo peso relativamente exagerado das atividades agrícolas, por uma indústria pouco diversificada e com predominância dos ramos tradicionais pouco inovadores e utilizadores de mão-de-obra intensiva sem grande qualificação técnico-profissional e por um sector de turismo débil. De referir que a Beira Interior ocupa cerca de 53% da superfície, 26% da população e concentra 24% do total de empresas, da Região Centro.

De entre os sectores produtivos com maior importância na região é de salientar o sector agrícola em Modo de Produção Biológico (MPB), atendendo ser a Beira Interior a segunda maior região de área agrícola certificada do país, em que a sua prática e comercialização de produtos em MPB poderá constituir uma estratégia de desenvolvimento para o sector e para a região.

É nesta região que se situa a maior área protegida do país, o Parque Natural da Serra da Estrela, que contém valores naturais relevantes, incluindo algumas espécies de flora únicas no país; na fauna destaca-se o lobo (*Canis lupus*), o javali, a lontra e a raposa (*Vulpes vulpes*). Na zona norte da região, situa-se o Parque Natural do Douro Internacional, famoso pelas suas arribas dos vales dos rios Douro e Águeda, onde abundam as aves. Nos concelhos do Sabugal e Penamacor, localiza-se o Reserva Natural da Serra da Malcata, caracterizado pela sua fauna única, onde prontificam espécies como o lobo e a raposa. Foi criada para servir de santuário para o lince-ibérico, espécie em perigo extremo de extinção. A sul, o Parque Natural do Tejo Internacional, caracterizado pelos seus bosques de sobreiros, azinheiras e salgueiros, e por populações únicas de cegonhas, águias, abutres, lontras e veados.

4.1.2. Clima

Em relação ao clima, a temperatura média anual situa-se por volta dos 16.7°C, sendo o mês de Agosto o mais quente tendo temperaturas médias por volta dos 24°C, e o mês de Janeiro o mais frio tendo temperaturas médias por volta dos 7,7°C. A precipitação média anual desta região é em média de 272 dias de chuva por ano, sendo Novembro e Julho os meses com maior e menor precipitação respectivamente (INE,2011).

4.1.3. Agricultura e Floresta

A Beira Interior apresenta predominantemente áreas com características naturais para uso florestal. A intervenção humana e os investimentos efetuados em certas áreas terão aumentado a superfície utilizada (Cordeiro, 2002).

A superfície agrícola utilizada por exploração é maior na Beira Interior Norte do que na Beira Interior Sul, em relação as espécies pecuárias, os ovinos existem em maior proporção, seguido dos caprinos, bovinos e suínos, respectivamente (INE,2011).

Fundada em 1984, a OVIIBEIRA é uma entidade de direito privado sem fins lucrativos que tem como finalidade a defesa dos interesses dos produtores de ovinos, caprinos e bovinos, seus associados, no campo técnico, económico e legislativo, através do acompanhamento sanitário e alimentar, tipificação e melhoramento rácico, participação na elaboração das medidas legislativas que afetam o setor, salientando-se a reestruturação dos organismos estatais de intervenção. É uma associação de grande importância económica na região e tem um significado muito relevante na identidade cultural da vida rural. Os ovinos e caprinos são as espécies mais exploradas na região e atingem cerca de 140 000 animais, seguem-se os bovinos de carne com cerca de 20 000 e por fim os bovinos de leite com aproximadamente 2 000 animais. Estes efetivos encontram-se distribuídos por 1 500 explorações agrícolas (OVIIBEIRA).

Nos pequenos ruminantes predomina a produção leiteira, sendo o sistema de produção maioritariamente misto (extensivo vs intensivo) (INE, 2011).

Nos bovinos predomina a produção cárnea, e o sistema de produção é maioritariamente extensivo, com produção de estrume (FAO, 2009).

4.1.4. Raças autóctones

Nesta região encontram-se presentes duas raças autóctones, nomeadamente a cabra Charnequeira e o Merino da Beira Baixa (OVIBEIRA).

A raça Merino da Beira Baixa é uma raça de pequena corpulência (elipométrica e brevilíneo) que não sofreu tão forte influência dos Merinos Precoces, ou outros, como os restantes Merinos portugueses. Explora-se na sua tripla função, carne leite e lã (Figura 16) (OVIBEIRA).

A raça Charnequeira, que deve o seu nome à zona onde é explorada – a Charneca, agrupa animais de perfil retilíneo ou subcôncavo, eumétricos e sub-hiper-métricos, que são explorados na sua dupla aptidão leite e carne (Figura 17) (OVIBEIRA).



Figura 16: Fêmea (esquerda) e Macho (direita) da raça Merino da Beira Baixa. (OVIBEIRA, disponível em <http://ovibeira.wixsite.com/ovibeira>)

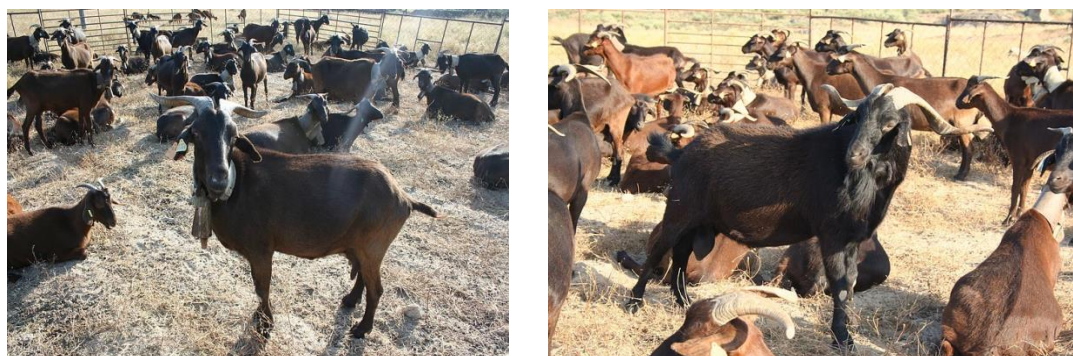


Figura 17: Fêmea (esquerda) e Macho (direita) da raça Charnequeira. (OVIBEIRA, disponível em <http://ovibeira.wixsite.com/ovibeira>)

4.2. Descrição do Estudo

No período que decorreu entre Novembro de 2016 a Abril de 2017 foram analisados esfregaços sanguíneos de 111 animais, escolhidos aleatoriamente de forma simples, num total de 8 explorações, estabelecidas nos concelhos de Idanha-a-Nova, Castelo Branco e Vila Velha de Rodão (Tabela 2).

Tabela 2: Localização das explorações incluídas no estudo.

Exploração	Freguesia	Concelho
1	Ladoeiro	Idanha-a-Nova
2	Vila Velha de Rodão	Vila Velha de Rodão
3	Malpica do Tejo	Castelo Branco
4	Zebreira	Idanha-a-Nova
5	Castelo Branco	Castelo Branco
6	Vale das Pousadas	Vila Velha de Rodão
7	Caféde	Castelo Branco
8	Rosmaninhal	Idanha-a-Nova

As amostras de sangue foram colhidas durante a visita para saneamento anual obrigatório. Todas as explorações incluídas no estudo continham os animais em sistema extensivo, e os animais eram todos destinados a produção de carne. As raças de bovinos incluídos neste estudo foram Charolês, Limousine, Mertolenga, Preta, Mirandesa e Cruzadas (Figura 18). A população do estudo foi composta na sua grande maioria por fêmeas (94%), não entrando a variável sexo para estudo estatístico. No que diz respeito á variável idade, os animais foram distribuídos por três grupos etários, <1 ano, 1 a 4 anos, 5 a 10 anos e >10 anos, respectivamente.

Os animais foram divididos em dois grupos, os que apresentavam sintomatologia clínica e os que não apresentavam.

Inicialmente foram colhidas amostras de sangue apenas aos animais que apresentassem sintomatologia clínica, mas devido ao número de amostragem ser reduzido, optou-se por colher aleatoriamente, ou seja, colheu-se tanto aos animais que apresentavam sintomatologia clínica como aos que não apresentavam. A maioria dos animais com sintomatologia clínica apresentou-se com anorexia e caquexia, apenas foi observado um animal com mucosas pálidas, um com edema submandibular e um com mioclonias.

A exploração 3, situada na freguesia de Malpica do Tejo, não entrou para o estudo da prevalência, pois só foi possível recolher sangue a um animal desta exploração.

Para cálculo da dimensão da amostragem foi usada a fórmula indicada por Thrusfield (1986), para uma prevalência estimada de 40%, o que correspondeu a uma amostragem de 6 animais por exploração ou grupo.

Os animais eram considerados positivos se ao exame microscópico fosse visível um parasita dos géneros *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* e *Theileria spp.*. Não houve contabilização da carga parasitária de cada animal. A observação foi realizada pela estagiária e confirmada pelos orientadores do estágio, profissionais com mais experiência nesse procedimento.

Por motivos de pouca experiência e por ser utilizado apenas o exame microscópico como meio de diagnóstico, as diferentes espécies de *Babesia* e *Theileria* não foram identificadas. O contrário foi possível para as espécies de *Anaplasma*, pois como a sua diferenciação baseia-se na sua distribuição no eritrócito, e o processo de identificação é mais simples.

Foram recolhidas carraças para posterior identificação do género e esfregaço sanguíneo para pesquisa de hemoparasitas. A amostra de carraças recolhida foi pequena, e serviu apenas para demonstrar a presença de vetores/carraças nessa região, não entrando esta amostra para efeitos estatísticos.

Foi realizado um inquérito individual às 8 explorações pertencentes ao estudo. O inquérito continha um total de 9 perguntas de resposta simples, sendo respondido pelo produtor, com a ajuda do médico veterinário da exploração, no dia da colheita das amostras sanguíneas. A primeira parte do inquérito serviu para caracterizar as 8 explorações e a segunda parte deste, foi dirigida ao tema dos hemoparasitas, onde serviu para avaliar se os produtores estão atentos às manifestações clínicas nos animais, a faixa etária onde elas mais ocorrem e a altura do ano em visualizam mais as manifestações clínicas; se estão atentos à visualização de carraças e a época do ano em que mais as visualizam. Por último, questionou-se sobre os tratamentos utilizados e a frequência da utilização dos mesmos assim como sobre a compra e venda animais. Este inquérito teve como objetivo identificar possíveis fatores de risco associados à infeção com hemoparasitas (anexo I).

Para melhor consciencializar os produtores sobre a importância do controlo dos vetores, foi realizado um folheto informativo (anexo II) e um relatório (anexo III) com a prevalência de hemoparasitas em cada exploração estudada, que posteriormente foi entregue aos produtores das 8 explorações individualmente.



Figura 18: Algumas das raças incluídas no estudo. A- Raça Cruzada; B- Raça Preta e Raça Mertolenga; C- Raça Mirandesa. (Fotografias originais)

4.3. Colheita e Preparação das Amostras

4.3.1. Amostras de sangue

As amostras de sangue foram obtidas por venipuntura coccígea (Figura 19), transportadas em tubos com anticoagulante EDTA (Vacu Lab[®], K3EDTA/4.0 ml), e armazenadas á temperatura de refrigeração (cerca de 4° C). Ainda no local, os tubos foram devidamente identificados com o número de SIA (Sistema de identificação animal) correspondente a cada animal.



Figura 19: Recolha de sangue por venipuntura coccígea. (Fotografia original)

Os esfregaços foram realizados na clínica segundo a técnica apresentada na Figura 20. Foram realizados dois esfregaços por cada amostra e as lâminas foram devidamente identificadas na extremidade com auxílio de uma caneta de acetato.

A secagem foi feita ao ar e só os esfregaços devidamente delgados, com uma única camada sem sobreposição, nem formação de grãos ou flocos e completos foram corados.



Figura 20: Técnica de esfregaço sanguíneo. (Adaptado de Peleteiro *et al.*, 2011)

Os esfregaços de sangue foram corados com a coloração Giemsa, de acordo com a técnica descrita por Peleteiro *et al.* (2011). Primeiro procedeu-se á fixação com metanol durante 5 minutos, de seguida corou-se as lâminas com o corante diluído em água destilada (3 ml de Giemsa para 15 ml de água destilada). O tempo de coloração foi entre 15 a 20 minutos.

No final as lâminas foram lavadas em abundante água corrente, durante o tempo necessário para arrastar todo o corante. Os esfregaços foram deixados a secar ao ar durante 24 horas.

A observação dos esfregaços sanguíneos realizou-se em microscópio ótico, utilizando uma ocular de 10 X e objetiva de 100 X, com uma ampliação total de 1000x, com auxílio do óleo de imersão. Cada esfregaço foi objeto de 2 a 3 observações para confirmação do diagnóstico.

4.3.2. Amostra de Ixodídeos

As amostras de Ixodídeos foram colhidas aleatoriamente na exploração 7 (Tabela 2). Foram recolhidas 18 carraças, entre elas 12 fêmeas e 6 machos, num total de 8 animais. Estas foram recolhidas na zona do úbere (Figura 21) e coxa, posteriormente foram colocadas em sacos de plástico individuais, identificadas com o número de SIA de cada animal e devidamente seladas.



Figura 21: Localização das carraças no úbere de dois bovinos (seta branca). (Fotografia original)

O processamento das amostras foi feito na clínica, onde primeiramente se separou as fêmeas ingurgitadas dos machos, seguidamente procedeu-se á extração de sangue nas fêmeas. O sangue foi extraído com uma agulha de 25 G e uma seringa de 1ml, através de um corte de aproximadamente 1 a 2 cm na face ventral da carraça, com auxílio de uma lâmina de bisturi. Posteriormente foi realizado o esfregaço sanguíneo conforme descrito na Figura 20. Devido á dificuldade sentida na extração de sangue das amostras de ixodídeos, apenas se extraiu sangue a 4 das 12 fêmeas. As lâminas foram coradas com Giemsa, tal como descrito anteriormente e analisadas ao microscópio ótico. Por último, as amostras foram colocadas em recipientes de plástico, fechados com tampa de rosca, devidamente identificadas e conservadas em álcool a 70%, para posterior identificação do género (Figura 22).



Figura 22: Amostras de Ixodídeos identificados e conservadas em álcool a 70%. (Fotografia original)

As amostras foram transportadas para o Laboratório de Parasitologia da ULHT - FMV e observadas ao microscópio estereoscópico (lupa) binocular. Uma vez no laboratório, os ixodídeos foram colocados sobre plasticina, que por ser flexível e maleável, permitiu a inclusão dos mesmos impedindo a sua mobilidade, facilitando assim a sua identificação. Posteriormente procedeu-se á identificação do género dos ixodídeos, de acordo com Estrada-Pena *et al.* (2004a).

4.4. Análise Estatística

Os dados foram inseridos no “Microsoft Office Excel 2007®”, para posterior análise estatística.

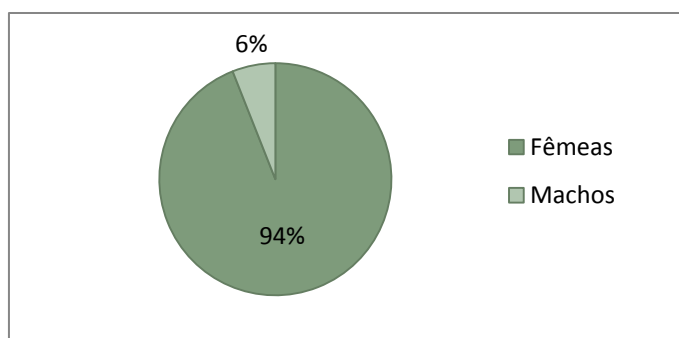
Realizou-se ainda uma análise descritiva dos dados, através de estatística descritiva com análise univariada dos dados recolhidos, tabelas e gráficos.

5. Resultados

- Caracterização geral da população em estudo

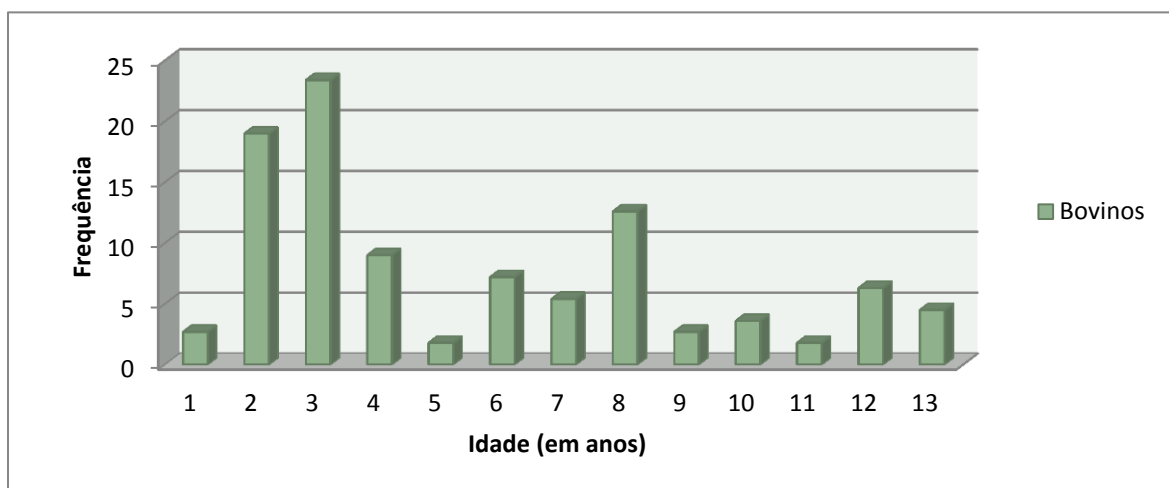
A população total avaliada neste estudo (n=111) correspondeu a 104 bovinos do sexo feminino e 7 bovinos do sexo masculino, correspondendo a 94 % e 6 % do total de animais, respectivamente (Gráfico 10).

Gráfico 10: Género dos bovinos pertencentes ao estudo.



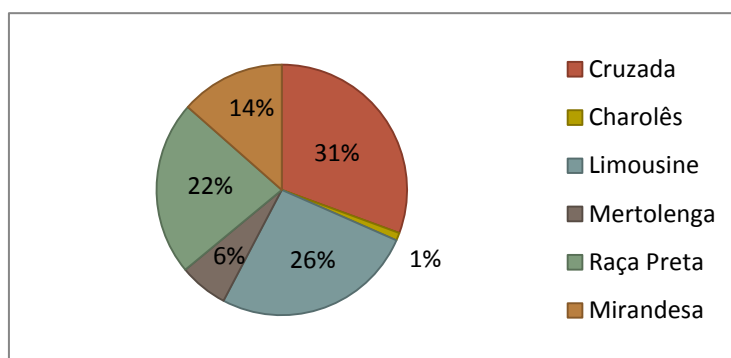
A mediana das idades dos bovinos presentes no estudo foi de 4 anos (média de 5.5 anos), sendo a idade mínima de 1 ano e a idade máxima de 13 anos (Gráfico 11).

Gráfico 11: Distribuição da população de bovinos de acordo com a idade.



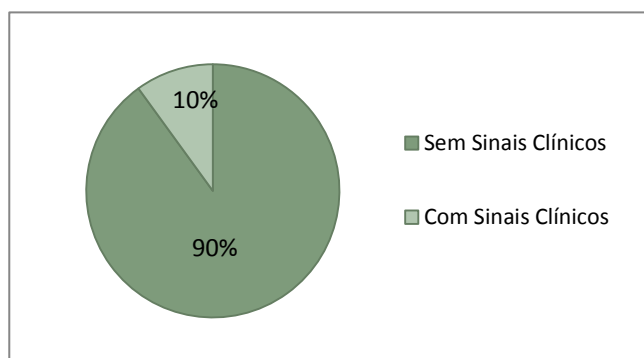
No que diz respeito à distribuição das raças, as mais frequentes foram a raça cruzada e a raça Limousine, correspondendo a 31% e a 26% do total de animais, respectivamente (Gráfico 12). Apenas foi observado um bovino da raça charolês, correspondendo a 1% do total de animais.

Gráfico 12: Distribuição da população de bovinos de acordo com a raça.



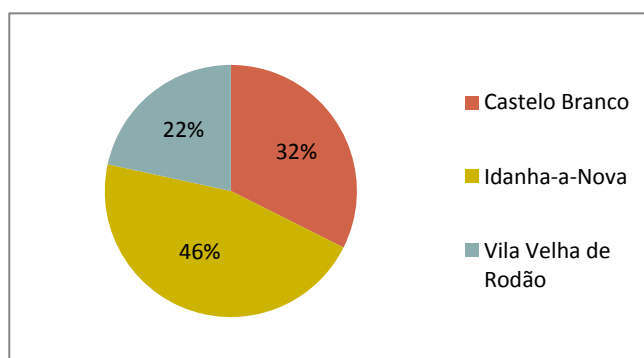
Em relação à manifestação de sinais clínicos, 100 bovinos não apresentaram sinais clínicos por ocasião da recolha de sangue e 11 bovinos apresentaram, correspondendo a 90% e 10 % do total de animais, respectivamente (Gráfico 13).

Gráfico 13: Distribuição da população de bovinos de acordo com a presença ou ausência de sinais clínicos.



A grande maioria da população em estudo (n=111) estava inserida nos concelhos de Idanha-a-Nova (51 bovinos) e Castelo Branco (36 bovinos), correspondendo a 46% e 32% do total de animais, respectivamente (Gráfico 14).

Gráfico 14: Distribuição da população de bovinos de acordo com o concelho a que pertencem.



- **Hemoparasitas em bovinos na Beira Interior**

Esfregaços sanguíneos realizados nos bovinos

Foram realizados esfregaços sanguíneos a 111 animais escolhidos aleatoriamente num total de 8 explorações. As lâminas foram observadas ao microscópio ótico, através da objetiva de 100x com auxílio do óleo de imersão, foi possível identificar os géneros *Theileria* spp. (Figura 23), *Babesia* spp. (Figura 24) como também a espécie *Anaplasma marginale* (Figura 25).

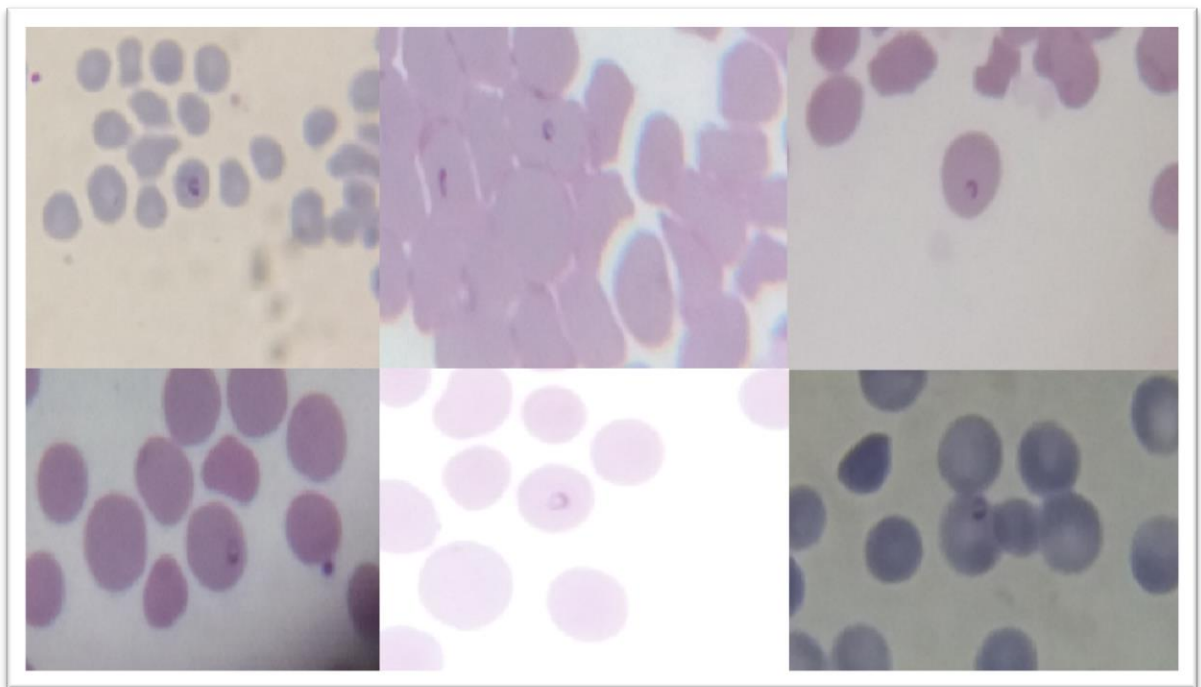


Figura 23: Formas intra-eritrocitárias de *Theileria* spp. (Fotografias originais)

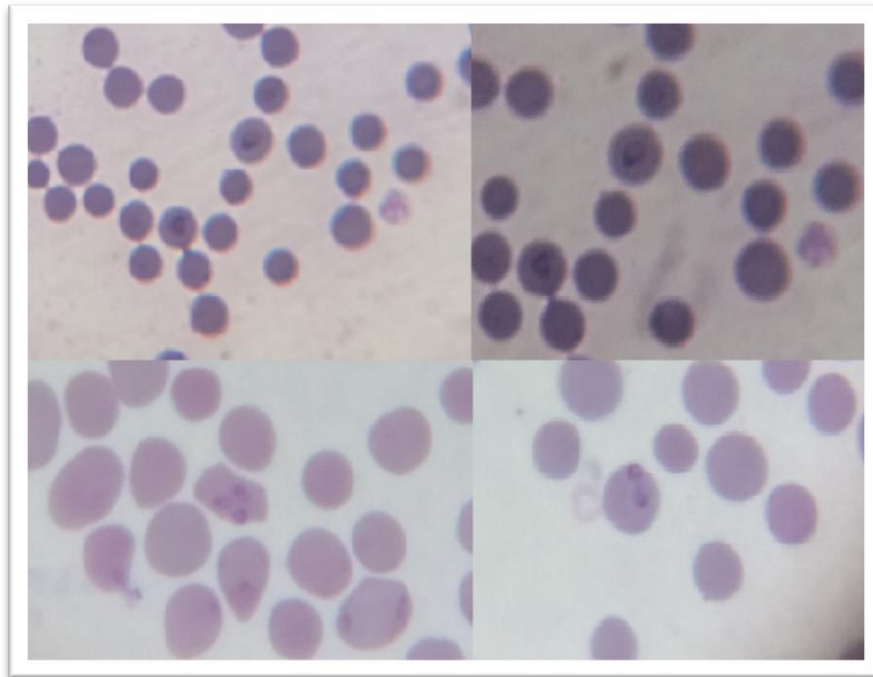


Figura 24: Formas intra-eritrocitárias de *Babesia* spp. (Fotografias originais)

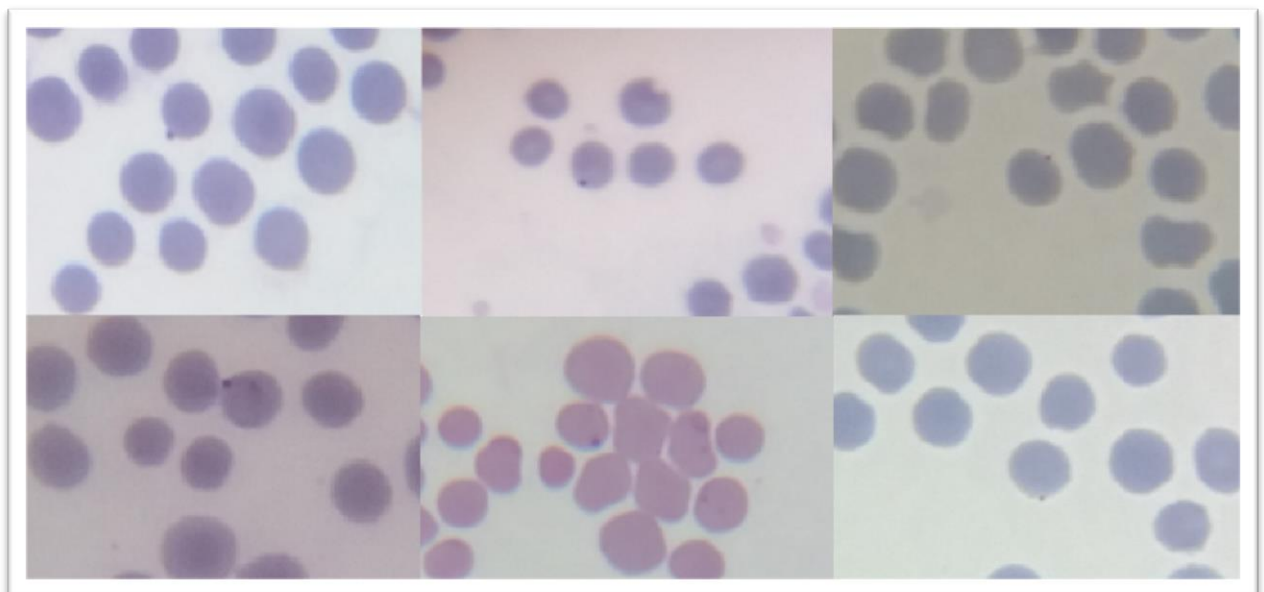


Figura 25: Formas intra-eritrocitárias de *Anaplasma marginale*. (Fotografias originais)

Prevalência de hemoparasitas em bovinos na Beira Interior

Das 8 explorações incluídas no estudo, todas apresentavam animais portadores de hemoparasitas. De um total de 888 animais foram selecionados 111 animais para realização de esfregaços sanguíneos, sendo que todos eles estavam parasitados, ou seja a prevalência foi de 100% em todas as amostras analisadas. Destes animais, 65% tinham infeções singulares, 34% tinha infeções duplas e 1 % tinha infeções triplas. Dentro das infeções singulares, apenas foi observado o parasita *Anaplasma marginale*. Dentro das infeções duplas, a combinação *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* foi a mais observada, e *Anaplasma marginale* e *Babesia spp.* a menos observada. Apenas foi observado um animal com infeção tripla (*Anaplasma marginale*, *Theileria spp.* e *Babesia spp.*).

O género com maior prevalência foi *Anaplasma marginale* com 100%, estando presente em todas as amostras observadas e *Babesia spp.* foi o género menos observado, com uma prevalência de 3% (Tabela 3).

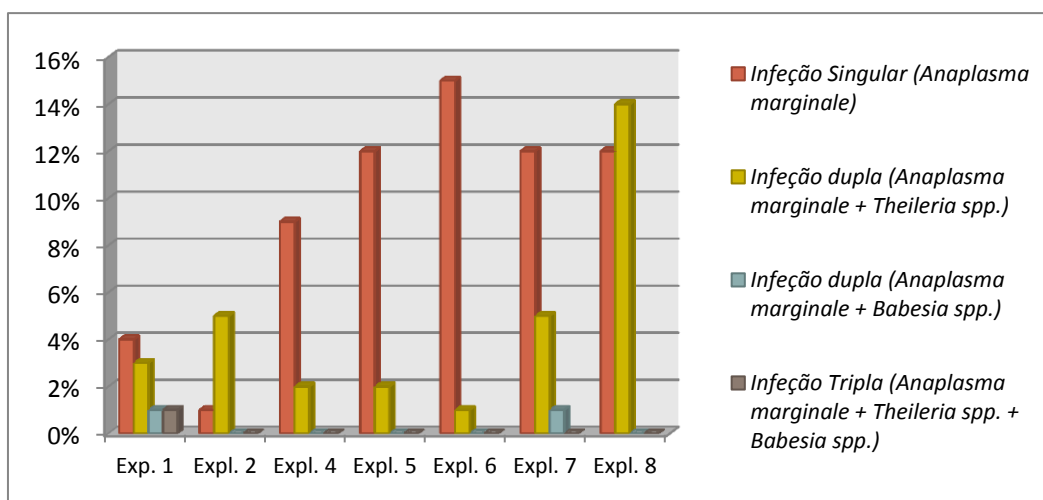
Tabela 3: Prevalência de hemoparasitas em bovinos na Beira Interior.

	Nº animais Positivos	Total animais	Percentagem
Prevalência	111	111	100%
Infeção Singular	72	111	65%
<i>Anaplasma marginale</i>	72	72	100%
Infeção Dupla	38	111	34%
<i>Anaplasma marginale</i> + <i>Theileria spp.</i>	36	38	95%
<i>Anaplasma marginale</i> + <i>Babesia spp.</i>	2	38	5%
Infeção Tripla	1	111	1%
<i>Anaplasma marginale</i> + <i>Theileria spp.</i> + <i>Babesia spp.</i>	1	1	100%
Hemoparasitas			
<i>Anaplasma marginale</i>	111	111	100%
Infeção Singular	72	111	65%
Infeção Dupla	38	111	34%
Infeção Tripla	1	111	1%
<i>Babesia spp.</i>	3	111	3%
Infeção Dupla	2	3	67%
Infeção Tripla	1	3	33%
<i>Theileria spp.</i>	37	111	33%
Infeção Dupla	36	37	97%
Infeção Tripla	1	37	3%

Prevalência de hemoparasitas nas 8 explorações estudadas

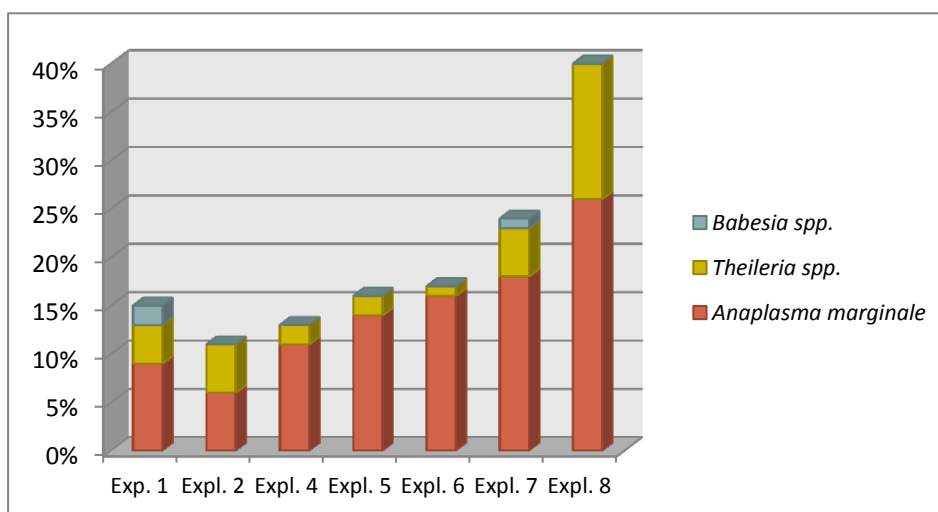
Das 8 explorações incluídas no estudo, a exploração 6 foi a que apresentou uma prevalência maior de infeção singular por *Anaplasma marginale*, e a exploração 2 a que apresentou menor, correspondendo a 15% e a 1% do total de animais, respectivamente. Por outro lado, a exploração 8 foi a que apresentou uma prevalência maior de infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.*, e a exploração 6 a que apresentou menor, correspondendo a 14% e a 1% do total de animais, respectivamente (Gráfico 15).

Gráfico 15: Prevalência de hemoparasitas nas 8 explorações estudadas.



Avaliou-se cada hemoparasita individualmente nas 8 explorações incluídas no estudo, e conclui-se que, os hemoparasitas *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* apresentaram ambos maior prevalência na exploração 8, correspondendo a 26% e a 14% do total de animais, respectivamente. Por outro lado o hemoparasita *Anaplasma marginale* apresentou menor prevalência na exploração 2, correspondendo a 6% do total de animais, e o hemoparasita *Theileria spp.* apresentou menor prevalência na exploração 6, correspondendo a 1% do total de animais (Gráfico 16).

Gráfico 16: Prevalência dos três hemoparasitas nas 8 explorações estudadas.

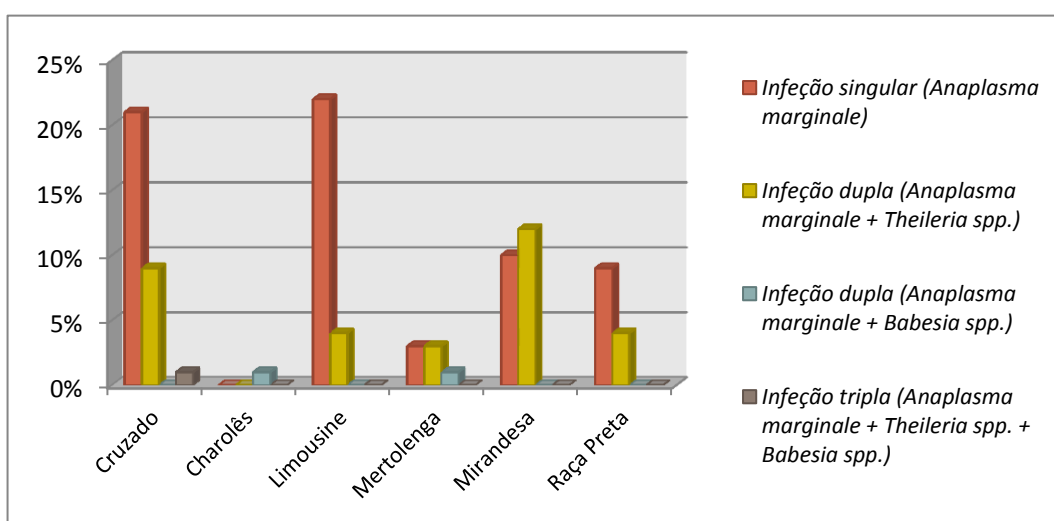


Prevalência de hemoparasitas de acordo com a Raça

No que diz respeito à prevalência de hemoparasitas nas diversas raças incluídas no estudo, foi na raça limousine que se observou uma maior prevalência de infeção singular por *Anaplasma marginale*, correspondendo a 23% do total de animais. Por outro lado foi na raça mirandesa que se observou uma prevalência maior da infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.*, correspondendo a 12% do total de animais (Gráfico 17).

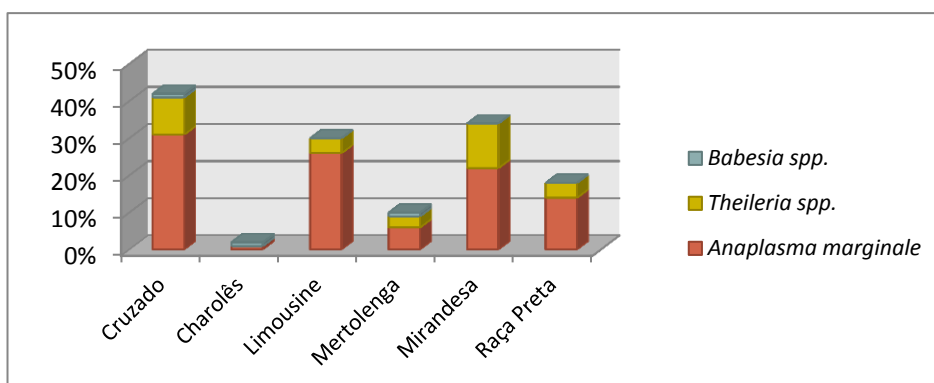
Como descrito na Figura 34, a raça charolesa representa 1% do total da população em estudo, desta forma, nesta raça apenas foi diagnosticada infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Babesia spp.*, correspondendo a 1% do total de animais.

Gráfico 17: Prevalência de hemoparasitas de acordo com a raça.



Após avaliar-se individualmente cada hemoparasita nas diversas raças concluiu-se que, o hemoparasita *Anaplasma marginale* apresentou maior prevalência na raça cruzada e menor prevalência na raça charolesa, correspondendo a 31% e a 1% do total de animais, respectivamente. Por outro lado, a prevalência do hemoparasita *Theileria spp.* foi maior na raça mirandesa e menor na raça mertolenga, correspondendo a 12% e a 3% do total de animais, respectivamente (Gráfico 18). O hemoparasita *Theileria spp.* não foi diagnosticado na raça charolesa.

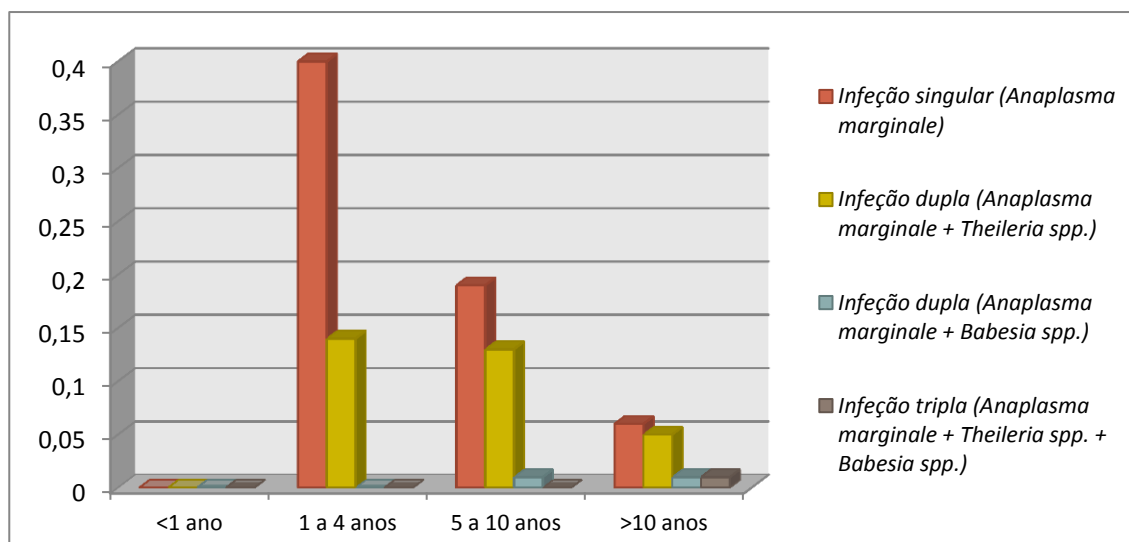
Gráfico 18: Prevalência dos três hemoparasitas de acordo com a raça.



Prevalência de hemoparasitas de acordo com a idade

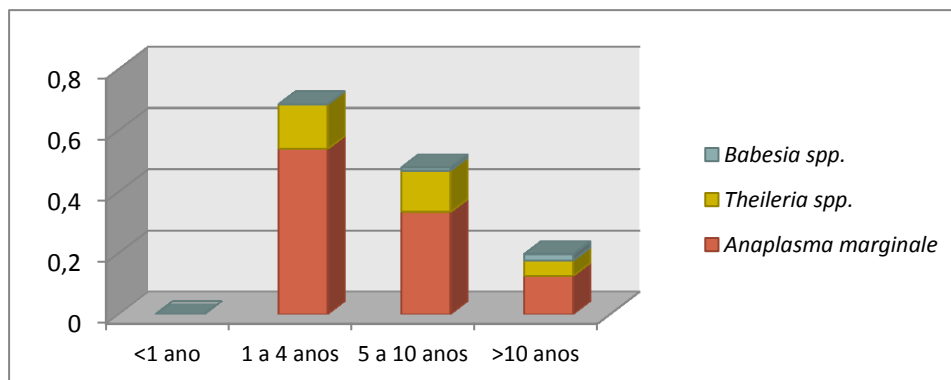
Dos 111 animais que fizeram parte da população em estudo, nenhum deles possuía menos do que um ano de idade. A prevalência tanto de infeção singular por *Anaplasma marginale* como de infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.*, foi maior nos animais com idades compreendidas entre 1 e 4 anos, correspondendo a 40% e 14% do total de animais, respectivamente. Por outro lado, dos dois animais que apresentaram infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Babesia spp.*, um deles tinha entre 5 a 10 anos e o outro tinha mais de 10 anos. O único animal do estudo que apresentou infeção tripla por *Anaplasma marginale*, *Theileria spp.* e *Babesia spp.*, que correspondeu a 1 % do total de animais, está inserido na faixa etária dos animais com mais de 10 anos de idade (Gráfico 19).

Gráfico 19: Prevalência de hemoparasitas de acordo com a idade.



No que diz respeito à análise de cada hemoparasita individualmente, a prevalência tanto de *Anaplasma marginale* como de *Theileria spp.* foi maior nos animais com idades compreendidas entre 1 e 4 anos de idade, correspondendo a 54% e 14% do total de animais, respectivamente. Por outro lado, a prevalência do género *Babesia spp.* foi maior nos animais com idades superiores a 10 anos (Gráfico 20).

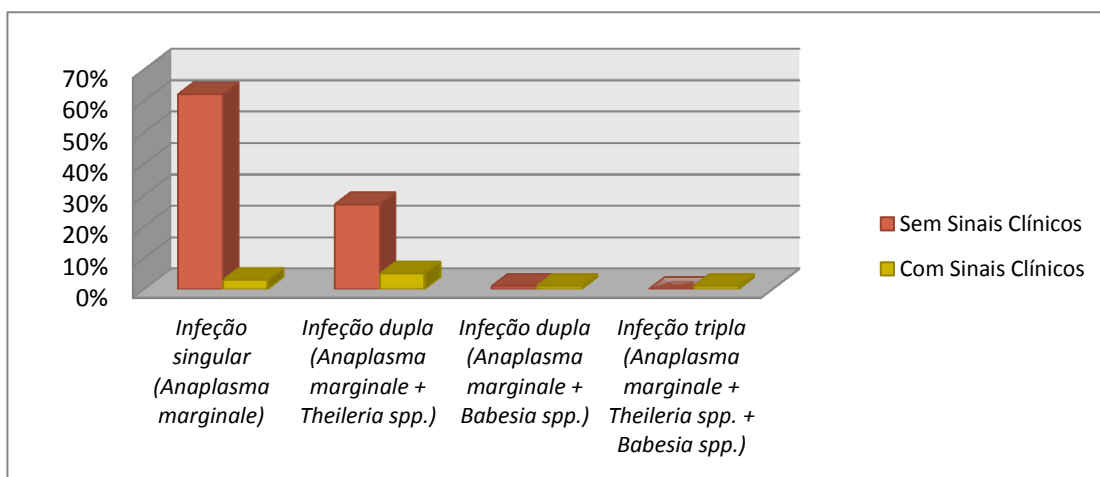
Gráfico 20: Prevalência dos três hemoparasitas de acordo com a idade.



Prevalência de hemoparasitas de acordo com os sinais clínicos

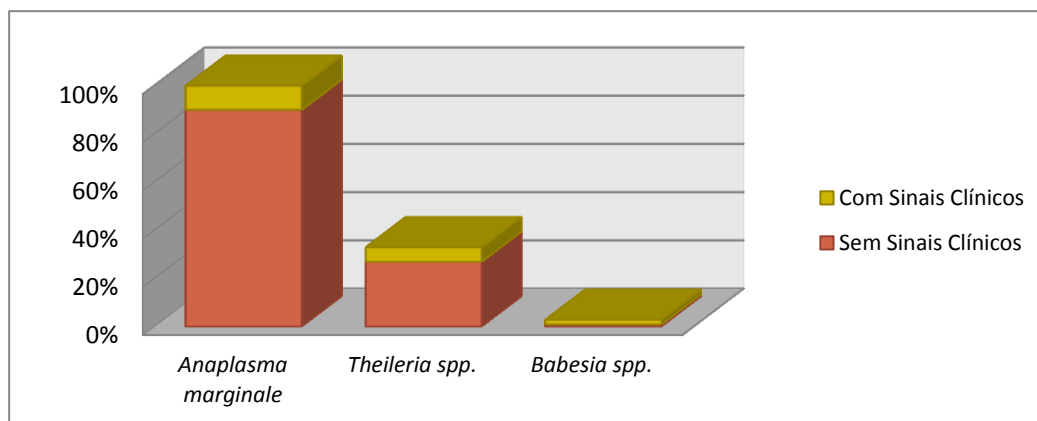
A grande maioria dos animais incluídos no estudo não apresentava sinais clínicos aquando da recolha de sangue. Nos animais que apresentaram sinais clínicos a prevalência de infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* foi maior comparativamente à infeção singular por *Anaplasma marginale*, correspondendo a 5% e 3% do total de animais, respectivamente. Por outro lado a prevalência de infeção singular por *Anaplasma marginale* foi maior nos animais que não apresentaram sinais clínicos, correspondendo a 62% do total de animais (Gráfico 21).

Gráfico 21: Prevalência de hemoparasitas de acordo com a presença ou ausência de sinais clínicos.



Após avaliar-se cada hemoparasita individualmente de acordo com presença ou ausência de sinais clínicos concluiu-se que, tanto nos animais que apresentaram sinais clínicos aquando da recolha de sangue como nos que não apresentaram, o hemoparasita *Anaplasma marginale* foi o mais prevalente, correspondendo a 10% e a 2% do total de animais, respectivamente. Por outro lado, a prevalência do hemoparasita *Theileria spp.* foi maior nos animais que não apresentaram sinais clínicos aquando da recolha de sangue, correspondendo a 27% do total de animais (Gráfico 22).

Gráfico 22: Prevalência dos três hemoparasitas de acordo com a presença ou ausência de sinais clínicos.



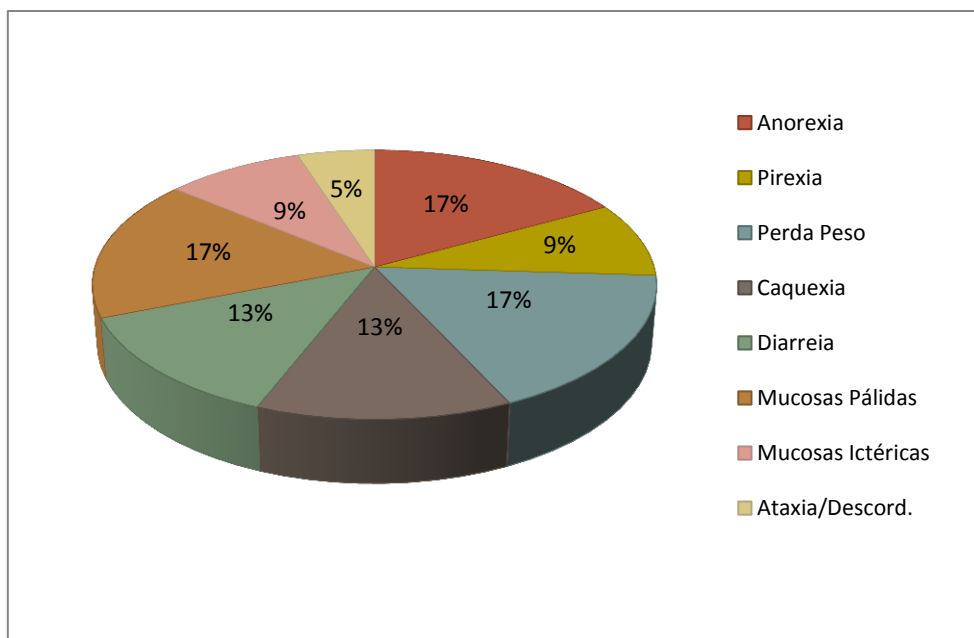
• Inquérito Realizado aos Produtores

Foi realizado um inquérito às 8 explorações incluídas no estudo de forma individualizada. O inquérito foi composto por 9 perguntas de resposta simples e foi respondido por cada produtor com a ajuda do médico veterinário da exploração.

A primeira parte do inquérito destinava-se a caracterização da exploração, sendo que todas as explorações incluídas no estudo são do tipo extensivo, e todas elas com finalidade de produção de carne. No que diz respeito ao tamanho do rebanho, a maioria das explorações incluídas no estudo apresentava um rebanho inferior a 100 animais, o que corresponde a 75% do total de explorações e apenas 25% apresentava entre 100 e 500 animais. Nenhuma exploração continha mais de 500 animais.

A segunda parte do inquérito foi direcionada ao tema dos hemoparasitas. Dos três grupos de perguntas que se seguem, e que dizem respeito à visualização de manifestações clínicas (MC) por parte dos produtores, apenas 4 produtores (em 8) responderam afirmativamente a estas três perguntas, os restantes 4 afirmaram não ter visualizado nenhuma das manifestações clínicas descritas no inquérito nos seus animais. As manifestações clínicas mais observadas por parte dos produtores foram, anorexia, perda de peso e mucosas pálidas, correspondendo a 17%, 17% e 17% do total de manifestações clínicas, respectivamente (Gráfico 23). Dos 4 produtores que responderam, nenhum afirmou ter observado hemoglobínúria, gânglios linfáticos aumentados ou dispneia.

Gráfico 23: Distribuição das manifestações clínicas observadas pelos produtores.



Em relação à faixa etária dos animais em que os produtores observavam mais as manifestações clínicas, a maioria respondeu nos adultos e nos reprodutores, correspondendo a 25% e a 25% do total de explorações, respectivamente (Gráfico 24).

Por outro lado, a maioria afirmou visualizar mais manifestações clínicas na época do Outono, correspondendo a 37% do total de explorações (Gráfico 25).

Gráfico 24: Distribuição das faixas etárias em que os produtores observaram as manifestações clínicas.

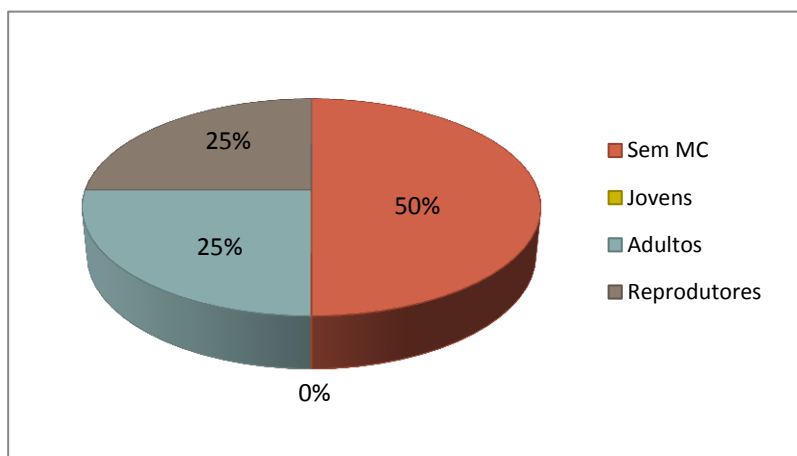
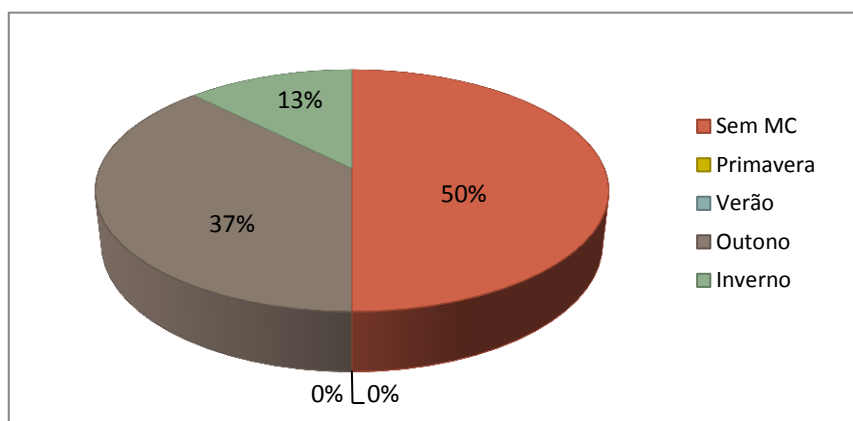


Gráfico 25: Distribuição das épocas do ano em que os produtores observaram as manifestações clínicas.



Outro dos grupos de perguntas que fizeram parte do inquérito abordou o tema das carraças. A grande maioria dos produtores afirmou visualizar “algumas” carraças nos seus animais, correspondendo a 50% do total das explorações, e apenas 13% afirmou visualizar “muitas” carraças (Gráfico 26). Por outro lado, a maioria dos produtores afirmou visualizar mais carraças na época da Primavera e do Verão, correspondendo a 37% e a 38% do total das explorações, respectivamente (Gráfico 27).

Gráfico 26: Distribuição da visualização de carraças por parte dos produtores.

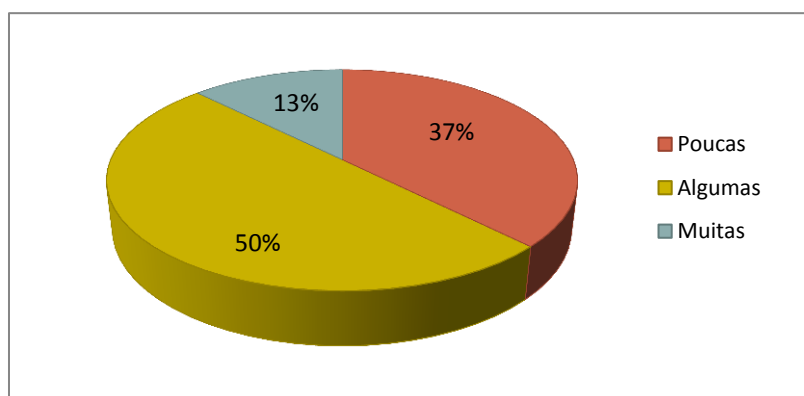
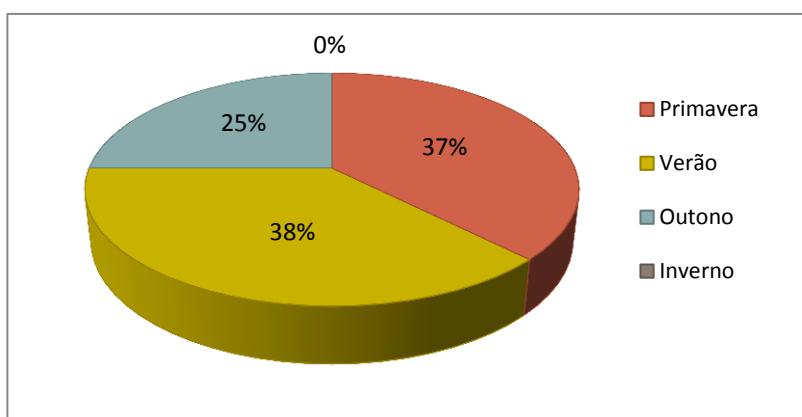
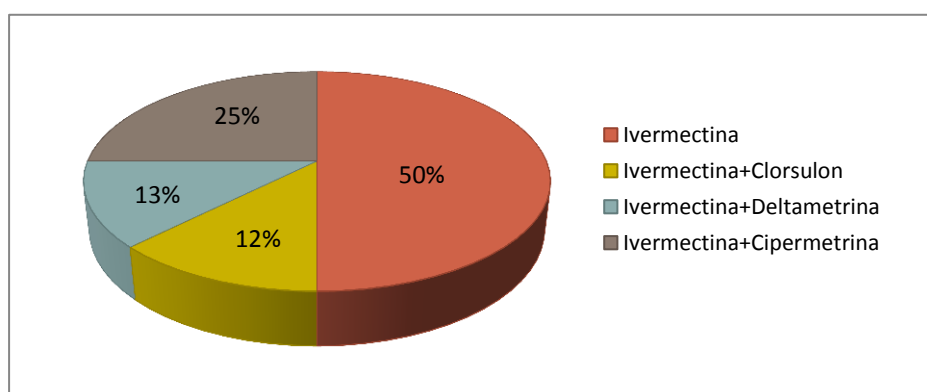


Gráfico 27: Distribuição das épocas do ano em que os produtores visualizam mais as carraças.



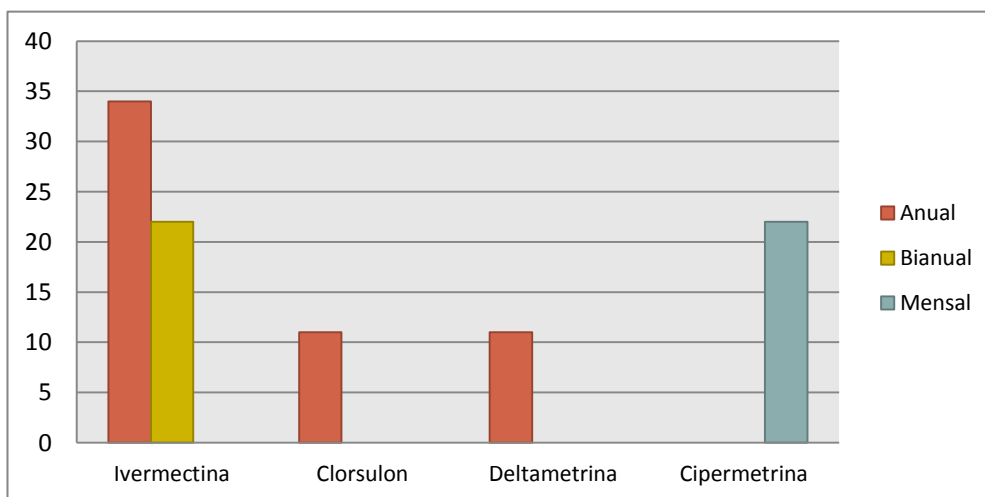
No que diz respeito aos tratamentos utilizados em cada exploração, em todas elas os animais eram desparasitados com o princípio ativo ivermectina, por via subcutânea. A grande maioria das explorações apenas desparasitava os seus animais com o princípio ativo ivermectina não associando este a nenhum outro, correspondendo a 50% do total das explorações. Por outro lado 25% das explorações desparasitava os animais com o princípio ativo ivermectina associado a um ectoparasiticida cujo princípio ativo era a cipermetrina (Gráfico 28).

Gráfico 28: Distribuição dos tratamentos utilizados em cada exploração.



Em relação á frequência dos tratamentos utilizados, a maioria utilizava esquemas anuais com ivermectina por via subcutânea, correspondendo a 34% do total de tratamentos, por outro lado no que diz respeito ao tratamento com ectoparasiticidas, a maioria das explorações utilizava o princípio ativo cipermetrina pulverizando os animais todos os meses, correspondendo a 22% do total de tratamentos (Gráfico 29).

Gráfico 29: Distribuição dos tratamentos utilizados de acordo com a sua frequência.



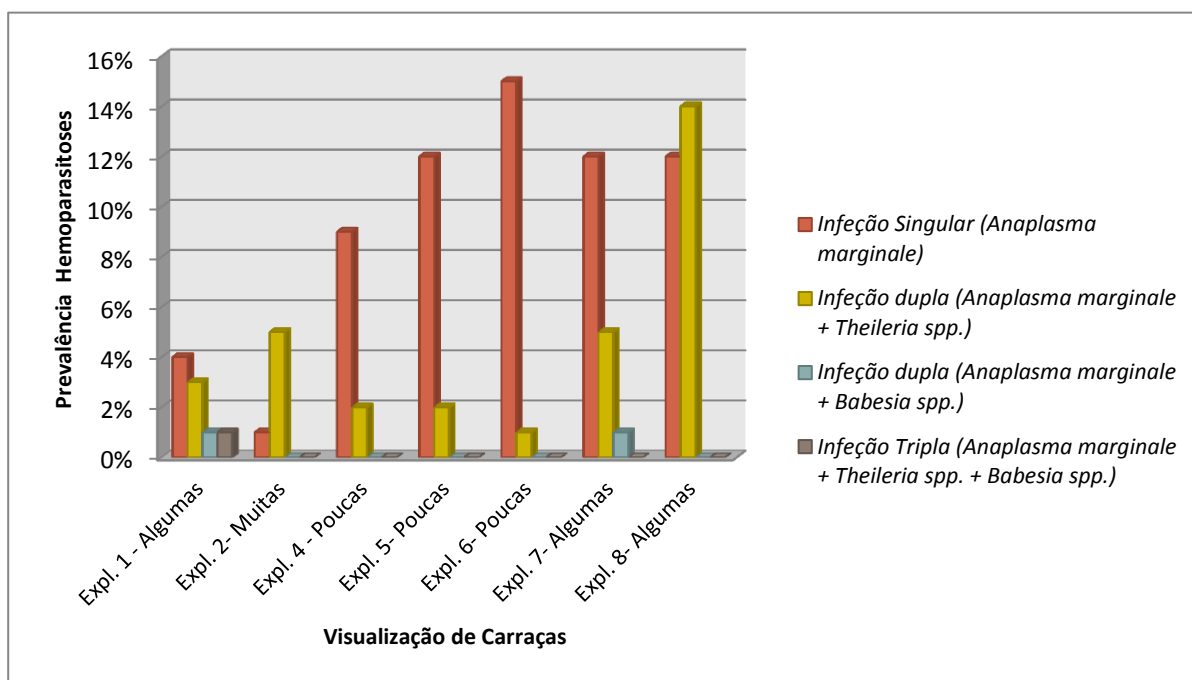
As duas últimas perguntas do inquérito foram dirigidas para a compra e venda de animais. Todas as explorações vendiam animais, quer para produção cárnea quer para outras explorações. A grande maioria comprava animais, e uma pequena minoria não comprava, correspondendo a 87% e a 13% do total de explorações, respectivamente.

- **Prevalência de hemoparasitas de acordo com a visualização de carraças**

Neste estudo um dos objectivos foi o de estabelecer uma relação entre a visualização de carraças durante o ano por parte dos produtores em cada exploração e a prevalência de hemoparasitas nas explorações.

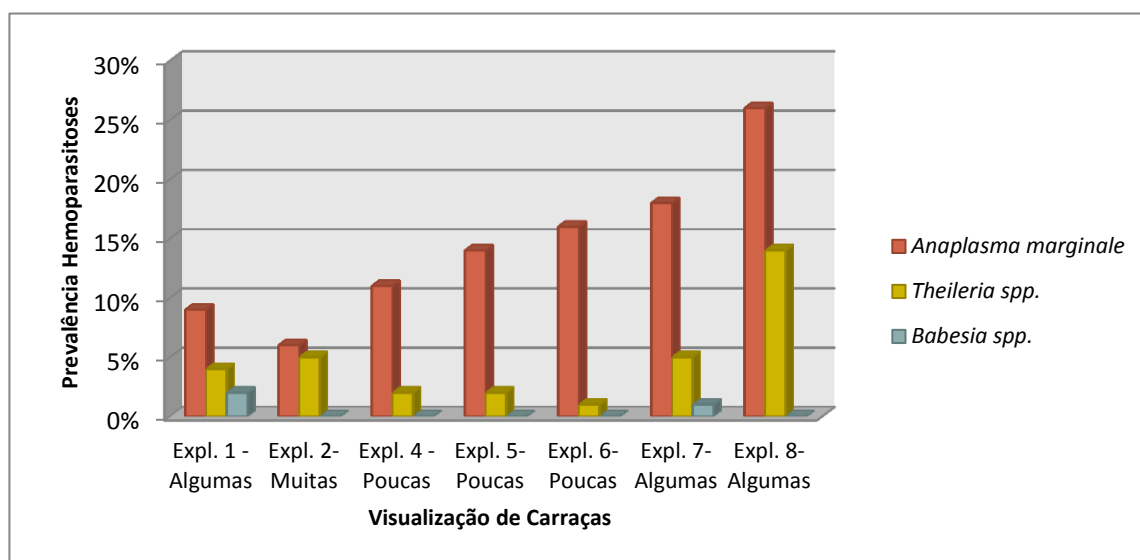
No que diz respeito aos três tipos de infeção (singular, dupla e tripla), e como se pode observar na Gráfico 30, nas explorações em que os produtores visualizaram “algumas” e “muitas” carraças (exploração 1, 2, 7 e 8), a prevalência de infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* foi maior, correspondendo a 3%, 5%, 5% e 14% do total de animais, respectivamente, do que naquelas em que os produtores visualizaram “poucas” carraças (exploração 4, 5 e 6), correspondendo a 2%, 2% e 1% do total de explorações, respectivamente. Por outro lado, a prevalência de infeção singular por *Anaplasma marginale* foi semelhante nas explorações em que os produtores visualizam “poucas” e “algumas” carraças durante o ano.

Gráfico 30: Prevalência de hemoparasitas de acordo com a visualização de carraças.



Comparou-se a prevalência dos três hemoparasitas individualmente de acordo com a visualização de carraças por parte dos produtores. A prevalência do hemoparasita *Anaplasma marginale* foi semelhante nas diversas explorações, independentemente de os produtores visualizarem “poucas”, “algumas” ou “muitas” carraças. Por outro lado, a prevalência de *Theileria spp.* foi maior nas explorações em que os produtores visualizaram “algumas” e “muitas” carraças (exploração 1, 2, 7 e 8), correspondendo a 4%, 5%, 5% e 14% do total de animais, respectivamente (Gráfico 31).

Gráfico 31: Prevalência dos três hemoparasitas de acordo com a visualização de carraças.

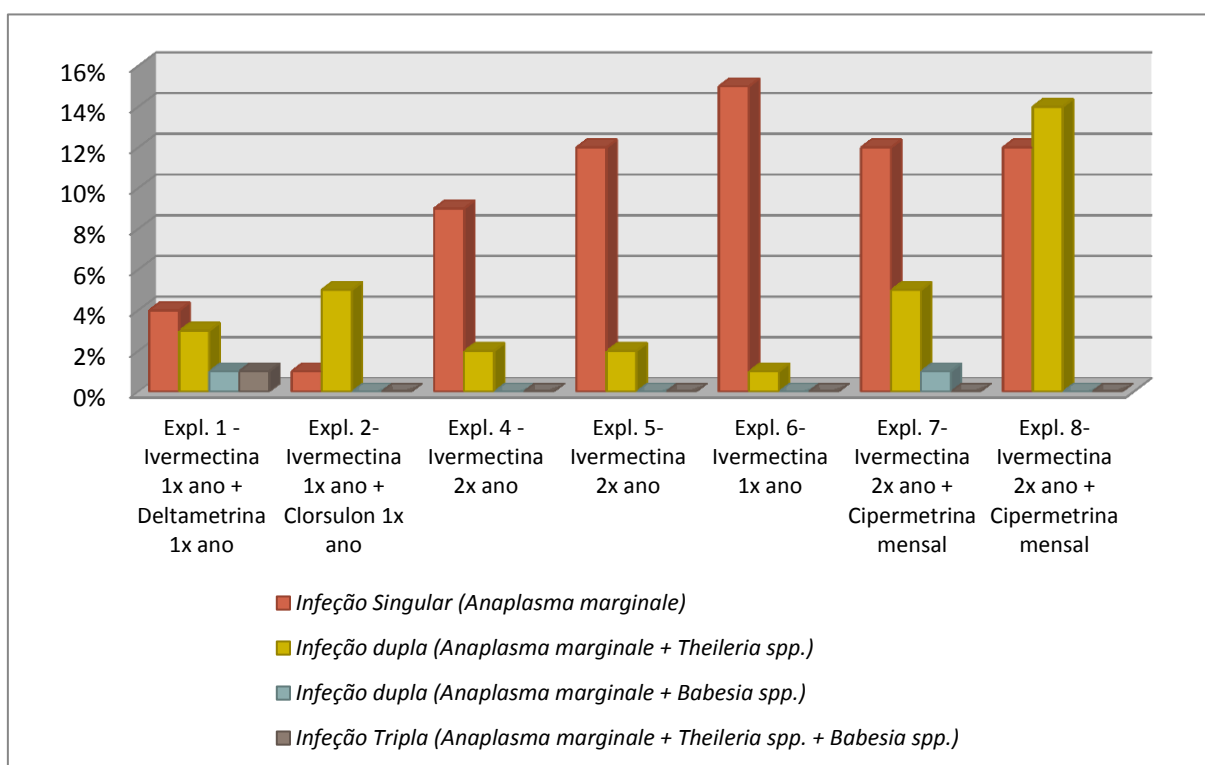


- **Prevalência de hemoparasitas de acordo com a frequência dos tratamentos utilizados**

Outro objectivo teve como foco estabelecer uma relação entre a prevalência de hemoparasitas em cada exploração individualmente e a frequência dos tratamentos utilizados por parte dos produtores/médicos veterinários de cada exploração.

A prevalência de infeção singular por *Anaplasma marginale* é maior na exploração 6 que utilizava o princípio ativo ivermectina 1 vez por ano e, menor na exploração 2 que utilizava o princípio ativo ivermectina e o princípio ativo clorsulon, anualmente, correspondendo a 15% e 1%, do total de animais, respectivamente. Por outro lado, no que diz respeito à infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.*, a prevalência foi maior na exploração 8 que utilizava o princípio ativo ivermectina 2 vezes por ano e o princípio ativo cipermetrina mensal, e menor na exploração 6 que utilizava o princípio ativo ivermectina 1 vez por ano, correspondendo a 14% e 1% do total de animais, respectivamente (Gráfico 32).

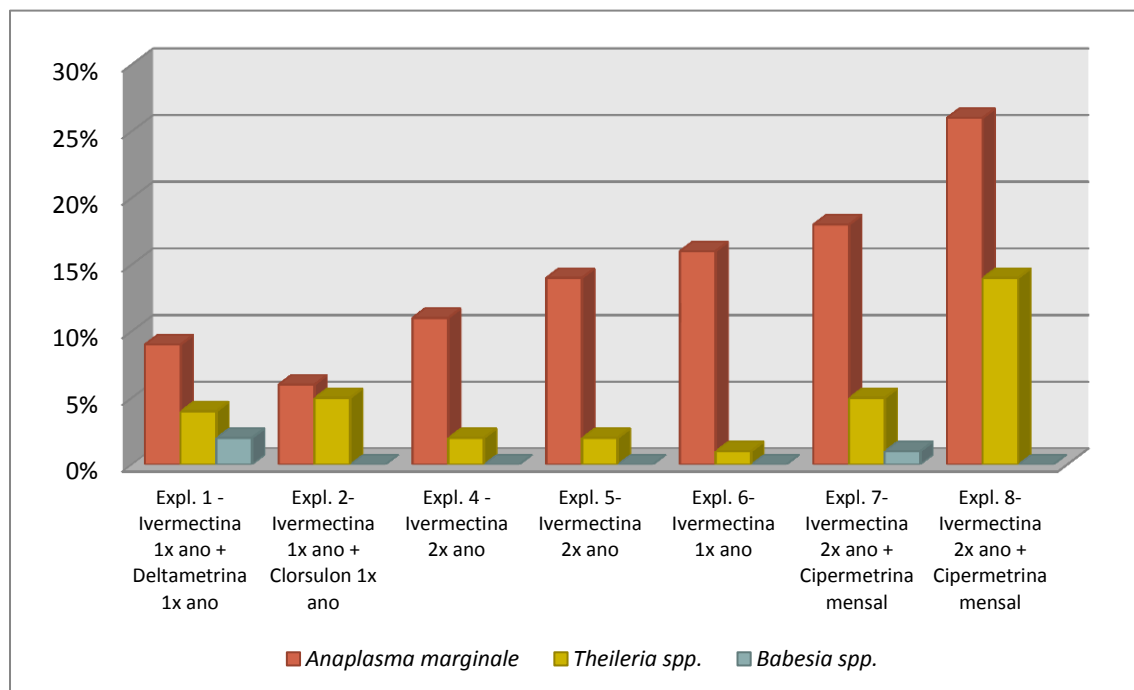
Gráfico 32: Prevalência de hemoparasitas de acordo com a frequência dos tratamentos utilizados.



Após a análise dos três hemoparasitas individualmente concluiu-se que, a prevalência dos hemoparasitas *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* foi maior na exploração 8 que utilizava o princípio ativo ivermectina 2 vezes por ano e o princípio ativo cipermetrina mensal, correspondendo a 26% e 14% do total de animais, respectivamente. Por outro lado, a prevalência do hemoparasita *Babesia spp.* foi maior na exploração 1 que utilizava o princípio ativo ivermectina 1 vez por ano e o princípio ativo deltametrina 1 vez por ano, e menor na

exploração 7 que utilizava o princípio ativo ivermectina 2 vezes por ano e o princípio ativo cipermetrina mensal, correspondendo a 2% e 1% do total de animais, respectivamente (Gráfico 33).

Gráfico 33: Prevalência dos três hemoparasitas de acordo com a frequência dos tratamentos utilizados.



- **Amostra de Ixodídeos**

Caracterização da amostra de ixodídeos

A população total de carraças recolhidas neste estudo (n=18) correspondeu a um total de 12 fêmeas e 6 machos, o que representou 67% e 33% do total de carraças, respetivamente (Gráfico 34). As amostras foram recolhidas maioritariamente da região do úbere (Tabela 4).

Gráfico 34: Distribuição da população de carraças, de acordo com o sexo.

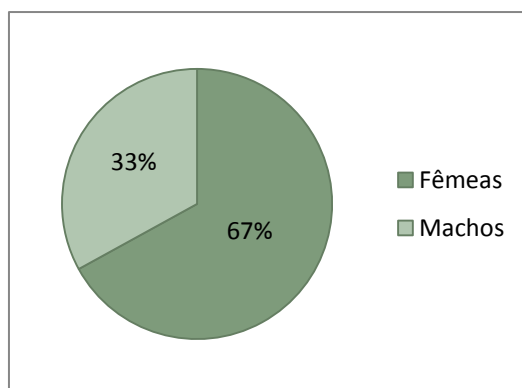


Tabela 4: Distribuição da amostra de Ixodídeos recolhidos na exploração 7, de acordo com o sexo e sua localização no animal.

Nº Amostra	Localização da Carraça no Animal	Nº Fêmeas e Machos Recolhidos
1	Coxa	1 Fêmea
2	Úbere	1 Fêmea 1 Macho 1 Macho
3	Úbere	1 Fêmea 1 Fêmea 1 Macho 1 Macho 1 Macho
4	Úbere	1 Fêmea
5	Úbere	1 Fêmea 1 Macho
6	Úbere	1 Fêmea
7	Úbere	1 Fêmea 1 Fêmea 1 Fêmea
8	Úbere	1 Fêmea 1 Fêmea

Identificação do género dos ixodídeos analisados

Todos os ixodídeos analisados (n=18), recolhidos de alguns dos animais da exploração 7 e identificados segundo Estrada-Pena *et al.* (2004a), pertencem ao género *Hyalomma* spp. (Tabela 5) (Figura 26 e 27).

Tabela 5: Distribuição da amostra de ixodídeos recolhidos na exploração 7, de acordo com o sexo e sua identificação taxonómica.

Nº Amostra	Nº Fêmeas e Machos Recolhidos	Género
1	1 Fêmea	<i>Hyalomma</i> spp.
2	1 Fêmea 1 Macho 1 Macho	<i>Hyalomma</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp.
3	1 Fêmea 1 Fêmea 1 Macho 1 Macho 1 Macho	<i>Hyalomma</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp.
4	1 Fêmea	<i>Hyalomma</i> spp.
5	1 Fêmea 1 Macho	<i>Hyalomma</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp.
6	1 Fêmea	<i>Hyalomma</i> spp.
7	1 Fêmea 1 Fêmea 1 Fêmea	<i>Hyalomma</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp.
8	1 Fêmea 1 Fêmea	<i>Hyalomma</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp.



Figura 26: Macho do género *Hyalomma* spp. (A) Face dorsal; (B) Face ventral. (Fotografia original)



Figura 27: Fêmea do género *Hyalomma* spp. (A) Face dorsal; (B) Face ventral. (Fotografia original)

Esfregaços sanguíneos realizados a partir do sangue nos ixodídeos

No que diz respeito aos esfregaços sanguíneos realizados a partir do sangue nos ixodídeos, apenas foram utilizados 4 ixodídeos (fêmeas) e, em todos eles foram visualizadas microscopicamente, formas intra-eritrocitárias compatíveis com *Anaplasma marginale* (Tabela 6).

Tabela 6: Distribuição dos 4 ixodídeos (fêmeas) recolhidos na exploração 7 e respetivos resultados dos esfregaços sanguíneos.

<u>Nº Amostra</u>	<u>Nº Animal</u>	<u>Nº Fêmeas e Machos Recolhidos</u>	<u>Género</u>	<u>Resultados do Esfregaço Sanguíneo</u>
1	5420	1 Fêmea	<i>Hyalomma</i> spp.	<i>Anaplasma marginale</i>
4	<u>Animal 20</u>	1 Fêmea	<i>Hyalomma</i> spp.	<i>Anaplasma marginale</i>
6	6725	1 Fêmea	<i>Hyalomma</i> spp.	<i>Anaplasma marginale</i>
8	0871	1 Fêmea	<i>Hyalomma</i> spp.	<i>Anaplasma marginale</i>

Na exploração 7, tal como nas restantes explorações, foram recolhidas amostras de sangue para pesquisa de hemoparasitas. No que diz respeito a esta exploração, no esfregaço de sangue do animal número 20 estavam presentes formas intra-eritrocitárias de *Anaplasma marginale* (Figura 28 A), o mesmo se verificou no esfregaço de sangue do ixodídeo (fêmea) recolhido desse mesmo animal (Figura 28 B). Foi possível chegar a esta conclusão pois foi registado o número de SIA dos animais por ocasião da colheita de sangue e foi realizada a recolha dos ixodídeos do mesmo animal.

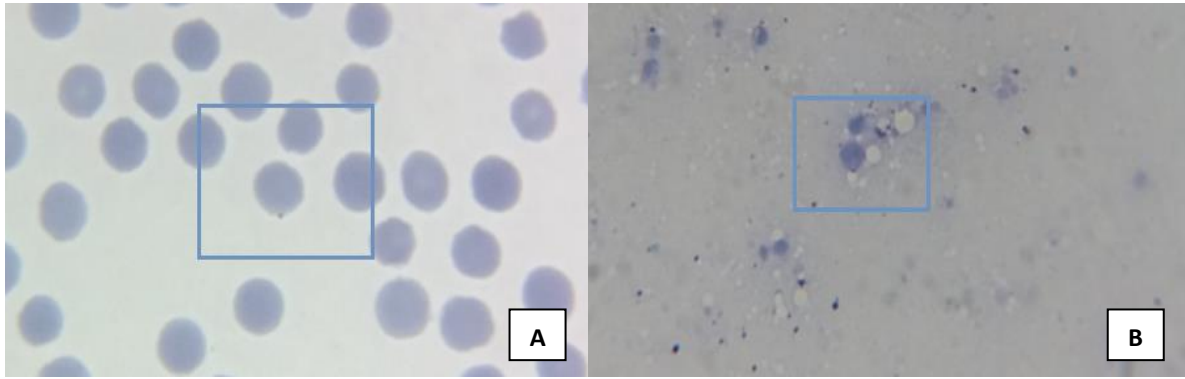


Figura 28: (A) Forma intra-eritrocitária de *Anaplasma marginale* no esfregaço de sangue do animal 20 da exploração 7 (fotografia original); **(B)** Forma intra-eritrocitária de *Anaplasma marginale* no esfregaço de sangue recolhido do Ixodídeo nº4 no animal 20 da exploração 7. (Fotografia original)

6. Discussão

Um dos objetivos específicos do presente trabalho foi estimar a prevalência de hemoparasitas causados por *Anaplasma marginale*, *Theileria spp.* e *Babesia spp.* em oito explorações localizadas na Beira Interior. Outro dos objetivos, foi tentar identificar fatores de risco que poderiam contribuir para a infeção dos bovinos por estes agentes etiológicos.

O diagnóstico laboratorial foi efetuado através da observação microscópica de esfregaços sanguíneos. A observação microscópica dos esfregaços sanguíneos pode ser considerada subjetiva, na medida em que esteve sujeita à interpretação do operador, mas foi o meio de diagnóstico escolhido dado os custos envolvidos noutros testes.

A prevalência global de animais infetados com hemoparasitas (Anaplasmoze, Theileriose e Babesiose) na Beira Interior foi de 100%, o que corresponde a uma prevalência bastante elevada. Esta prevalência tão elevada pode ser justificada pelo facto de a Beira Interior reunir condições ideais, tais como características climáticas, de vegetação e modo de produção dos animais frequentemente pelo sistema produção extensivo, o que favorece o parasitismo por carraças e a disseminação de hemoparasitas.

Sob o ponto de vista da presença de um ou mais agentes etiológicos, verificou-se diferenças significativas entre os três hemoparasitas (*Anaplasma marginale*, *Theileria spp.* e *Babesia spp.*). *Anaplasma marginale* esteve presente em todas as amostras colhidas (100%), quer como infeção singular (65%), dupla (34%) ou tripla (1%). Essa diferença significativa em relação aos outros dois hemoparasitas pode ser explicada pelo modo de transmissão deste agente. *Anaplasma marginale* pode ser transmitido aos bovinos tanto por carraças como por moscas hematófagas e/ou instrumentos cirúrgicos contendo sangue contaminado, podendo com estes facilitarem a sua transmissão (Taylor *et al.*, 2007). Em nenhum estudo da bibliografia científica nacional e internacional consultada foram observados valores de prevalências tão elevados. Num estudo realizado por Howden *et al.* (2010) no sudoeste de Manitoba (Canadá), foram testados 13.000 bovinos para anaplasmoze. Neste estudo 590 bovinos foram positivos para *Anaplasma marginale* através da técnica de ELISA, PCR e alguns por esfregaço sanguíneo, sendo que a prevalência identificada variou entre 0.04% e 65.96%. Também, num estudo realizado por Rodríguez-Vivas *et al.* (2000) em Yucatan (México) foram analisados esfregaços sanguíneos, corados com Giemsa a 10% de 2.438 bovinos, sendo que destes, 385 foram positivos para *Anaplasma marginale* o que correspondeu a uma prevalência de 15.79%, e apenas 68 foram positivos para *Babesia bovis* e 30 para *Babesia bigemina*, correspondendo a 2.78% e 1.23% do total de animais, respectivamente.

No presente estudo a prevalência de *Anaplasma marginale* foi muito elevada comparativamente aos outros hemoparasitas, o que está de acordo com os resultados também obtidos pelos investigadores do Canadá e México acima referidos.

No estudo realizado por Gomes *et al.* (2016) no sul de Portugal a prevalência de *T. annulata* foi de aproximadamente 30%, o que está de acordo com os resultados obtidos no presente estudo em que a prevalência de *Theileria spp.* foi de 33% (Tabela 3).

A menor prevalência do género *Babesia spp.* (3%) em comparação com o género *Theileria spp.* (33%) pode ser explicado pelas flutuações na parasitemia que ocorrem na fase

crónica da infeção por *Babesia* spp. (Gullbels *et al.*, 1999). Esta situação pode também ser explicada pelo baixo número de piroplasmas intra-eritrocíticos que circulam na corrente sanguínea de bovinos portadores de *Babesia*, o que dificulta a sua deteção microscópica (Homer *et al.*, 2000).

Dentro das infeções duplas, a combinação *Anaplasma marginale* e *Theileria* spp. foi a mais observada, e *Anaplasma marginale* e *Babesia* spp. a menos observada, tendo apenas sido observado um animal com infeção tripla (*Anaplasma marginale*, *Theileria* spp. e *Babesia* spp.). Estes resultados podem ser explicados pelo facto de o método de diagnóstico utilizado neste estudo não ser suficientemente sensível ou suficientemente específico para detetar portadores crónicos, particularmente quando ocorrem infeções mistas, comparativamente às técnicas moleculares que permitem a deteção sensível e específica dos parasitas (Altay *et al.*, 2008). No entanto, o exame microscópico negativo não exclui a possibilidade de infeção (Weiland & Reiter 1988).

Através dos resultados da prevalência dos hemoparasitas em cada uma das oito explorações incluídas no estudo, foi possível perceber em qual das explorações a prevalência de hemoparasitas foi maior e, deste modo dar um “feedback” aos produtores sobre a situação epidemiológica que se encontra cada exploração, para que estes percebam as alterações necessárias ao manejo, principalmente no que diz respeito aos tratamentos acaricidas e frequência dos mesmos, para que deste modo se possa combater de forma efetiva os vetores transmissores e se reduza a possibilidade de disseminação destas doenças.

A exploração 8, localizada na freguesia do Rosmaninhal, comparativamente às restantes explorações, foi a que apresentou a maior prevalência no que diz respeito à infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria* spp., e por *Anaplasma marginale* e *Theileria* spp. individualmente.

Estes resultados podem ser justificados pelo facto de ter sido esta a exploração do estudo onde foram analisados maior número de animais, comparativamente às outras explorações; por outro lado a maioria dos animais desta exploração tinham idades compreendidas entre 5 e 10 anos de idade (19 em 29 animais), o que de acordo com a bibliografia, constitui um fator de risco para a ocorrência de infeção, pois os animais mais velhos são mais susceptíveis aos hemoparasitas do que os animais mais jovens (Taylor *et al.*, 2007).

No que diz respeito à prevalência de hemoparasitas de acordo com a variável raça, neste estudo foi na raça Limousine que se observou uma maior prevalência de infeção singular por *Anaplasma marginale* (23%). Por outro lado, esta raça apresentou prevalências baixas no que diz respeito a infeções duplas (*Anaplasma marginale* e *Theileria* spp. e *Anaplasma marginale* e *Babesia* spp.) e triplas (*Anaplasma marginale*, *Theileria* spp. e *Babesia* spp.). Estes resultados não estão de acordo com a maioria dos autores, pois alguns afirmam que as raças exóticas, tais como a Limousine, são extremamente sensíveis à theileriose, principalmente às infeções por *T. annulata* (Preston, 1992; Ahmed *et al.*, 2008). Segundo Smith (2009) as raças *Bos indicus* exibem um grau definido de resistência às espécies de *Babesia*, o que mais uma vez não vai de acordo com os resultados obtidos, pois nesta raça foram observadas prevalências baixas no que diz respeito a este hemoparasita.

De entre todas as raças incluídas no estudo a raça mertolenga foi a que apresentou uma prevalência menor quer de infeção singular por *Anaplasma marginale* quer por infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.*, o mesmo se verificou quando foi realizada a análise de cada hemoparasita individualmente. Estes resultados, não são comprobatórios devido ao pequeno número de esfregaços sanguíneos realizados de 7 bovinos desta raça, que comparativamente às outras raças é uma amostragem pequena.

Dos 111 animais analisados no estudo, nenhum deles apresentou menos do que um ano de idade. A prevalência de infeção singular por *Anaplasma marginale* e a prevalência deste hemoparasita individualmente, foi maior nos animais com idades compreendidas entre 1 e 4 anos, correspondendo a 40% e 54% total de animais, respectivamente. Estes resultados foram os esperados na medida em que Anaplasmosose é frequente nos primeiros 6 a 9 meses de vida e vai se tornando cada vez mais grave em bovinos mais velhos (Smith, 2009). Em outro estudo realizado no Irão por Razmi *et al.* (2006) foi demonstrado que a prevalência de infeção por *Anaplasma spp.* não foi estatisticamente diferente entre as diferentes faixas etárias. No entanto há que realçar que grande parte da população em estudo apresentava idades compreendidas entre 2 e 4 anos (média de 4 anos), o que pode justificar a elevada prevalência encontrada de *Anaplasma marginale*.

Os mesmos resultados se verificaram na infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.*, e na infeção por *Theileria spp.* individualmente, em que a prevalência foi maior nos animais com idades compreendidas entre 1 e 4 anos, correspondendo a 14% e 14% do total de animais, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com o estudo realizado por Salih *et al.* (2007) no Sudão, onde os autores identificaram como fator de risco as idades dos animais estarem compreendidas entre 1 e 2 anos, o que possibilitaria a infeção por *T. parva* e *T. annulata*.

Por outro lado, dos dois animais que apresentaram infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Babesia spp.*, um deles tinha entre 5 a 10 anos e o outro tinha mais de 10 anos, o mesmo se verificou na análise individual do hemoparasita *Babesia spp.*, em que a prevalência foi maior nos animais com idades superiores a 10 anos (Gráfico 19). Estes resultados podem ser explicados pelo facto de os animais mais velhos serem mais suscetíveis á babesiose do que os animais mais jovens (Taylor *et al.*, 2007).

O único animal do estudo que apresentou infeção tripla por *Anaplasma marginale*, *Theileria spp.* e *Babesia spp.*, que correspondeu a 1 % do total de animais, está inserido na faixa etária dos animais com mais de 10 anos de idade (Gráfico 20), o que está de acordo com os resultados obtidos em estudos anteriormente realizados onde os animais mais velhos apresentam-se mais susceptíveis comparativamente aos mais jovens (Taylor *et al.*, 2007).

A maioria dos animais observados neste estudo não apresentava sinais clínicos por ocasião da recolha de sangue (90%), o que não era esperado devido aos altos níveis de infeção detetados. Porém sabe-se que os animais que sobrevivem à doença aguda podem tornar-se portadores crónicos persistentemente infetados (Smith, 2009; Gomes *et al.*, 2013), o que significa que o fato de não apresentarem sinais clínicos não elimina a possibilidade de estarem infetados.

Nos animais que apresentaram sinais clínicos a prevalência de infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* foi maior comparativamente à infeção singular por

Anaplasma marginale, o que pode ser justificado pelo facto de a theileriose causar maior morbilidade e os sinais clínicos serem mais evidentes, comparativamente à anaplasmosse. Por outro lado, a prevalência do hemoparasita *Theileria spp.* foi maior nos animais que não apresentaram sinais clínicos no momento da recolha de sangue (27%), o que está de acordo com o estudo realizado por Noaman (2012) no Irão, que demonstrou que a infeção por *Theileria* pode ser detetada em bovinos sem qualquer sinal clínico, mas que estes mantêm um estado subclínico persistente e que podem vir a servir como reservatórios de infeção para as carraças e causar transmissão natural da doença.

Em relação aos resultados dos inquéritos realizados a cada exploração, as manifestações clínicas mais observadas pelos produtores foram anorexia, perda de peso e mucosas pálidas (Gráfico 23). Estas manifestações clínicas podem ser observadas em qualquer um dos três hemoparasitas estudados (Razmi *et al.*, 2006; Smith, 2009).

Nenhum produtor afirmou ter observado hemoglobínúria nos seus animais, o que se justifica pelos resultados obtidos, pois dos três hemoparasitas estudados, o género *Babesia spp.* foi o que obteve menor prevalência (3%). Isto porque a hemoglobínúria é um sinal característico de babesiose, não ocorrendo na anaplasmosse (Smith, 2009).

A maioria dos produtores afirmou observar mais manifestações clínicas nos bovinos adultos e reprodutores, comparativamente aos animais jovens (Gráfico 24). Estes resultados estão de acordo com a bibliografia consultada, uma vez que os animais mais jovens são menos susceptíveis aos hemoparasitas comparativamente aos mais velhos, na medida em que os animais jovens adquirem primeiramente imunidade passiva, através do colostro e como resultado, sofrem apenas infeções transitórias com discreta sintomatologia clínica (Salih *et al.*, 2007; Taylor *et al.*, 2007). Por outro lado, o fato de as fêmeas estarem gestantes é um fator de stress e o aborto pode ocorrer nestas situações (Smith, 2009).

Em relação à época do ano em que os animais manifestavam mais sinais clínicos, a maioria dos produtores afirmou observar mais manifestações clínicas na época do Outono (37%) (Gráfico 25). Os surtos de anaplasmosse geralmente ocorrem mais frequentemente no final da primavera e verão, quando a atividade dos artrópodes é maior (Smith, 2009), o que se verifica nos resultados obtidos, visto que se observou o hemoparasita *Anaplasma marginale* presente em todas amostras do estudo.

Em relação à visualização de carraças por parte dos produtores, a grande maioria afirmou visualizar “algumas” carraças nos seus animais (50%), e apenas 13% afirmou visualizar “muitas” carraças (Gráfico 26). Por outro lado, a maioria dos produtores afirmou visualizar mais carraças na época da Primavera e do Verão (Gráfico 27), o que está de acordo com a bibliografia consultada a nível nacional. Exemplos disso, são o caso do *I. ricinus* e do *H. punctata*, em que as formas imaturas (larva e ninfa) têm maior atividade nos meses de Primavera/Verão (Abril/Junho) (Santos-Silva *et al.*, 2006), outro exemplo é o *H. marginatum* vetor da *T. annulata*, em que o período de maior atividade das formas adultas é durante a Primavera-Verão (Santos-Silva *et al.*, 2006). Estes dados são importantes na medida em que, seria importante adequar o tratamento ectoparasiticida à quantidade de carraças observadas nos animais e à estação do ano em que estas são mais frequentemente observadas (atividade sazonal).

Em todas as explorações os animais eram desparasitados com o princípio ativo ivermectina, por via subcutânea, sendo que na grande maioria das explorações (50%), os animais apenas eram desparasitados com o princípio ativo ivermectina não havendo associação deste princípio ativo a nenhum outro. De acordo com a bibliografia consultada, as lactonas macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas) ou closantel, administradas por via parentérica são de grande utilidade no controlo de carraças (Taylor *et al.*, 2007), porém para um bom controlo dos ectoparasitas, especialmente das carraças, é necessário associar a estes princípios ativos também acaricidas/insecticidas como cipermetrina, deltametrina, entre outros. Neste presente estudo apenas 25% das explorações desparasitavam os animais com o princípio ativo ivermectina juntamente com o ectoparasiticida cipermetrina e apenas 13% desparasitava os animais com o princípio ativo ivermectina associado ao ectoparasiticida deltametrina (Gráfico 28).

No que diz respeito à frequência dos tratamentos utilizados em cada exploração, a maioria das explorações utilizava esquemas anuais (25%) ou bianuais (25%) com ivermectina por via subcutânea (Gráfico 29). No que diz respeito ao tratamento ectoparasiticida, a maioria pulverizava os animais todos os meses com cipermetrina (25%). No que diz respeito à frequência da utilização dos ectoparasiticidas, a cipermetrina e deltametrina deveriam ser utilizadas obedecendo a critérios de acordo com diversos fatores, tais como a época do ano, carga parasitária do animal e o tipo de carraças existentes (um, dois ou três hospedeiros) (Andrews *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2007). Tendo sido observado que o tratamento com um edectocida não era eficaz para um correto controlo de ectoparasitas, era frequente a utilização de um ectoparasiticida para complementar o tratamento. Porém pela falta de informação que se verificava quanto ao controlo das carraças, os tratamentos ectoparasiticidas eram realizados repetidamente sem um controlo eficaz.

As duas últimas perguntas do inquérito foram dirigidas para a compra e venda de animais, que teve como objectivo perceber até que ponto a transferência de animais tanto na saída como na entrada de novos animais ao rebanho poderia ser um fator contributivo para a prevalência de hemoparasitas. A venda e a compra de animais é de extrema importância na medida em que, os animais que sobrevivem à doença aguda podem tornar-se portadores crónicos persistentemente infetados e desempenhar um papel importante como reservatório para a manutenção do ciclo de vida do parasita (Smith, 2009; Gomes *et al.*, 2013), o que significa que, ao se introduzir bovinos portadores de hemoparasitas em rebanhos não-endémicos, está-se a contribuir para a disseminação da doença e consequentemente infeção dos animais, dessas explorações.

Todas as explorações incluídas no estudo vendiam animais, quer para produção cárnea quer para outras explorações, e a grande maioria comprava animais (87%).

Alguns autores apontam para a possibilidade da manutenção de rebanhos livres em áreas não endémicas podendo ser realizada quarentena e triagem serológica através do método de ELISA para se conhecer os serologicamente negativos (Smith, 2009). Este método torna-se dispendioso para os produtores, porém garante um controlo efectivo de rebanhos não infectados (Howden *et al.*, 2010).

As carraças sendo os principais vetores dos hemoparasitas, a partir da visualização nos animais por parte dos produtores constitui um fator de alerta à ocorrência da doença. Por este

motivo, através do inquérito tentou-se estabelecer uma relação entre a visualização de carraças por parte dos produtores em cada exploração e a ocorrência de hemoparasitas nessas mesmas explorações. Nas explorações em que os produtores afirmaram visualizar “algumas” e “muitas” carraças durante o ano, observou-se que a prevalência de infecção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* foi maior, do que naquelas em que os produtores afirmaram visualizar “poucas” carraças. Os mesmos resultados foram observados no que diz respeito à prevalência de *Theileria spp.* individualmente (Gráficos 30 e 31).

Estes resultados estavam dentro do esperado na medida em que, a grande maioria dos hemoparasitas diagnosticados neste estudo dizem respeito à espécie *Anaplasma marginale* (100%) e ao género *Theileria spp.* (33%). Por outro lado estes resultados chamam a atenção para o fato de a visualização de carraças por parte dos produtores consistir um fator de alerta para a infecção dos animais.

O mesmo não verificou para a prevalência do hemoparasita *Anaplasma marginale* individualmente, em que a prevalência deste foi semelhante nas diversas explorações, independentemente de os produtores visualizarem “poucas”, “algumas” ou “muitas” carraças. Estes resultados podem ser justificados pelo fato de o *Anaplasma marginale* poder ser transmitido não só por carraças/ixodídeos como também por moscas hematófagas, ao contrário dos outros dois hemoparasitas estudados (Taylor *et al.*, 2007).

Sendo os hemoparasitas transmitidos maioritariamente por carraças, a frequência com que os produtores ou médicos veterinários tratam os animais para combater estes ectoparasitas, é de extrema importância.

No caso específico da exploração 8, foi a que apresentou maior prevalência no que diz respeito à infecção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.*, e maior prevalência em relação aos hemoparasitas *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* individualmente (Gráficos 32 e 33). Estes resultados não foram os esperados na medida em que esta exploração, juntamente com a exploração 7, foi a que apresentou o melhor protocolo de tratamento, comparativamente às outras explorações, pois nesta os animais eram tratados com o princípio ativo ivermectina duas vezes por ano juntamente com o princípio ativo cipermetrina mensalmente, logo o esperado seria que esta exploração apresentasse resultados de prevalência menores e não o inverso. Para colmatar estes resultados, seria importante repensar os esquemas de tratamento utilizados nesta exploração, tais como a pulverização dos animais todas as semanas na época de mais carraças (primavera-verão) com o princípio ativo cipermetrina, ao invés de todos os meses (Andrews *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2007; Smith, 2009), por outro lado seria importante avaliar se o produto está a ser administrado de forma correta e na dose correta.

As explorações 4, 5 e 6, que apenas utilizavam o princípio ativo ivermectina uma ou duas vezes por ano, foram as que obtiveram prevalências menores no que diz respeito à infecção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.*, e por *Theileria spp.* individualmente (Gráficos 32 e 33), mais uma vez estes resultados não foram os esperados, na medida em que estas explorações não incluíam nos seus esquemas de tratamento nenhum ectoparasiticida, mas por outro lado há que ter em conta que, o método de diagnóstico utilizado neste estudo não foi o mais sensível/específico para detetar estes agentes, o que não exclui a possibilidade de existência de hemoparasitas (Altay *et al.*, 2008).

Um estudo efetuado por Almeria *et al.* (2009) revelou a importância do controlo dos vetores da Theileriose bovina, nomeadamente, a Theileriose Mediterrânica. Os autores deste estudo concluíram que, a utilização de ectoparasiticidas não tem influência sobre a prevalência de *T. buffeli*, mas pelo contrário, têm um efeito muito significativo na diminuição da prevalência de *T. annulata* (de 90% para 47,5%, após aplicação). Quanto maior a frequência do controlo de ixodídeos, mais significativas eram as diminuições na prevalência de *T. annulata*.

A amostragem de ixodídeos obteve pouca representatividade neste estudo, devido a amostragem ser proveniente apenas de uma exploração. Foram colhidas 18 carraças no total, sendo que estas foram recolhidas maioritariamente da região do úbere, o que está de acordo com a bibliografia consultada, uma vez que as carraças têm preferência pelas áreas menos acessíveis do corpo dos hospedeiros à sua remoção, nomeadamente ânus, vulva, virilha, escroto, úbere e orelhas (Taylor *et al.*, 2007).

Neste estudo, apenas foi identificado um género de ixodídeo, correspondente ao género *Hyalomma* spp.. Foi utilizada a chave dicotómica proposta por Estrada-Pena *et al.* (2004a), onde foram observadas características específicas deste género o que possibilitou a sua identificação. Os exemplares apresentavam tamanho entre 5 e 6 mm (carraças não alimentadas) incluindo as peças bucais, sutura lateral ausente, textura do tegumento com estrias, peças bucais anteriores, base capitulo formando um ângulo médio na margem lateral, patas delgadas com anéis claros, olhos muito convexos, festones presentes nos machos (e nas fêmeas, mas não foi claro quando estas se encontraram alimentadas), espiráculos grandes e posteriores às patas, placas ventrais apenas presentes nos machos (três pares distintos), sulco anal posterior ao ânus, coxas 4 de tamanho normal e as coxas 1 com esporas pareadas grandes e iguais.

Vários estudos relataram a presença do género *Hyalomma* spp. em Portugal com as espécies *H. lusitanicum* e *H. marginatum* (Caeiro, 1999; Estrada- Pena & Santos-Silva, 2005; Santos-Silva *et al.*, 2006; Santos-Silva *et al.*, 2011). Neste estudo, as 18 carraças do género *Hyalomma* spp. foram recolhidas na freguesia de Caféde, Concelho de Castelo Branco, o que já foi relatado no estudo realizado por Caeiro (1999) que identificou as espécies *H. lusitanicum* e *H. marginatum* no Concelho de Castelo Branco, entre outras espécies de ixodídeos.

A espécie *T. annulata* é transmitida por carraças de dois e três hospedeiros do género *Hyalomma* spp. (Ghosh *et al.*, 2008, Gharbi *et al.*, 2013) sendo que neste estudo, as formas intra-eritrocitárias visualizadas do género *Theileria* spp. apresentavam na sua maioria, formas em anel compatíveis com a espécie *T. annulata* (Figura 23), por outro lado, a seguir à espécie *A. marginale*, *Theileria* spp. foi o género que obteve maior prevalência (33%) neste estudo. O estudo realizado por Silva *et al.* (2006) indica que o período de maior atividade das formas adultas do género *Hyalomma* spp. é durante a Primavera– Verão, período no qual estas carraças foram colhidas.

No que diz respeito aos esfregaços sanguíneos realizados através de sangue recolhido nos 4 ixodídeos (fêmeas), em todos eles foram observadas formas intra-eritrocitárias compatíveis com *Anaplasma marginale* (Tabela 6 e Figura 28).

Como já foi referido anteriormente a prevalência de *A. marginale* no presente estudo foi de 100%, o que está em concordância com os resultados obtidos nos esfregaços sanguíneos

realizados nos ixodídeos, porém a amostragem deveria ter sido maior, para se poder correlacionar os dados de forma mais segura.

A espécie *A. marginale* foi observada neste estudo através de formas intra-eritrocitárias compatíveis com *Anaplasma marginale* em esfregaços sanguíneos de quatro ixodídeos do género *Hyalomma spp.*. Na região mediterrânica, a espécie *H. marginatum* foi identificada como portadora de *A. marginale*, juntamente com as espécies *R. bursa* e *R. turanicus* (de la Fuente *et al.*, 2004; Ferrolho *et al.*, 2016).

Na exploração 7, especificamente no animal número vinte, foram observadas formas intra-eritrocitárias compatíveis com *Anaplasma marginale* no esfregaço sanguíneo obtido através da venipuntura coccígea desse animal e no esfregaço realizado através do sangue do ixodídeo recolhido nesse mesmo animal.

Este resultado é coincidente com o ciclo de vida deste hemoparasita, pois este pode ser transmitido aos bovinos por carraças e também mecanicamente por moscas hemotófagas (Taylor *et al.*, 2007). Durante a picada num bovino infetado, os ixodídeos ingerem eritrócitos infetados, sendo as rickettsias transmitidas aos bovinos, e assim sucessivamente (Eriks *et al.*, 1993; Ge *et al.*, 1996; Kocan *et al.*, 2004; Kocan *et al.*, 2010).

7. Conclusões

São ainda escassos os estudos sobre a prevalência de hemoparasitas nos bovinos em Portugal, porém verifica-se a sua importância devido a sua morbilidade e a presença de vetores. Porém é evidente que a falta de informações sobre os métodos profiláticos e o fato de que os médicos veterinários, de uma maneira geral, tratam os animais doentes contra protozoários e doenças rickettsiais de uma forma empírica, sem qualquer diagnóstico laboratorial, contribuem para uma pouca efectividade dos tratamentos e desinformação sobre a profilaxia.

Os resultados deste estudo permitiram concluir que a Beira Interior, mais propriamente os concelhos de Castelo Branco, Idanha-a-Nova e Vila Velha de Rodão, são endémicos no que diz respeito aos hemoparasitas, tendo sido confirmada a presença dos géneros *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* e *Theileria spp.* em bovinos.

A espécie *Anaplasma marginale* esteve presente em todas as amostras sanguíneas analisadas microscopicamente, quer como infeção simples (65%), dupla (34%) ou tripla (1%). A combinação *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* foi a mais frequentemente observada, e a combinação *Anaplasma marginale* e *Babesia spp.* a menos observada. Apenas foi observado um animal com infeção tripla (*Anaplasma marginale*, *Theileria spp.* e *Babesia spp.*).

Neste estudo, não se verificou nenhuma associação aparente entre a raça e a ocorrência de hemoparasitas, contudo, é importante que sejam observados em estudos futuros a possibilidade da associação entre estas variáveis. Sendo igualmente interessante tentar estabelecer e comparar níveis de infeção apresentados entre raças autóctones e raças exóticas.

No que diz respeito à idade, foi nos animais com idades compreendidas entre 5 e 10 anos e mais de 10 anos, que se observou uma maior prevalência no que diz respeito ao género *Babesia spp.* quer como infeção simples, dupla ou tripla.

A grande maioria dos animais observados não apresentou sinais clínicos por ocasião da recolha de sangue, o que não era previsível devido aos altos níveis de infeção detetados. Porém este é um aspeto muito importante, e chama a atenção para a importância das medidas de controlo que devem ser estabelecidas para a utilização de meios de controlo profiláticos e de tratamento contra as carrças, pois os animais que se tornam portadores crónicos não manifestam sintomatologia clínica e torna-se difícil a sua detecção.

A visualização de “algumas” e “muitas” carrças por parte dos produtores foi identificada como um fator de alerta para a ocorrência de hemoparasitas, mais propriamente no que diz respeito à infeção dupla por *Anaplasma marginale* e *Theileria spp.* e à infeção por *Theileria spp.* individualmente. O mesmo não se verificou para o hemoparásita *Anaplasma marginale* individualmente, em que a prevalência deste foi semelhante nas diversas explorações, independentemente de os produtores visualizarem “poucas”, “algumas” ou “muitas” carrças.

Não se conseguiu estabelecer uma relação entre a frequência dos tratamentos utilizados em cada exploração e a ocorrência de hemoparasitas, sendo necessário um estudo

mais aprofundado acerca deste assunto, no que diz respeito à avaliação da dosagem, do modo de emprego de cada princípio ativo e da época do ano em que este é utilizado.

No que diz respeito à amostra de ixodídeos recolhidos, esta revelou uma predominância do género *Hyalomma spp.*, tendo sido observadas formas intra-eritrocitárias compatíveis com *Anaplasma marginale*, através da realização de esfregaços sanguíneos em quatro fêmeas ingurgitadas do género *Hyalomma spp.*. Seria interessante a realização de estudos mais aprofundados sobre a epidemiologia e um levantamento das espécies de ixodídeos presentes nesta região.

Uma única espécie de carraça pode transmitir diferentes parasitas, e sendo Portugal um país com um clima e vegetação favoráveis ao desenvolvimento destes vetores, uma forma de atuar contra os hemoparasitas é atuar nos mesmos vetores. O papel do médico veterinário passa por informar os produtores sobre a importância do controlo dos vetores na ocorrência de hemoparasitas.

O inquérito aos produtores realizado neste estudo teve como objectivo fornecer a informação obtida nas oito explorações incluídas no estudo, a realização de um folheto informativo que elucida a importância do controlo dos vetores nos animais e fomenta a utilização de boas práticas de manejo sanitário. Este controlo passa por, rotação de pastagens (mudanças de animais para outros terrenos), desparasitação dos animais (pelo menos duas vezes por ano) preferencialmente com produtos de longa acção e pour-on, em alturas de maior atividade das carraças (no início de primavera e final do verão, podendo aumentar a frequência entre este período), ou quando animais mudam de pasto, devendo ser uma política a adotar pelos produtores, mesmo que os vetores não sejam visíveis.

No final deste estudo, foi entregue aos produtores um relatório com o resultado da prevalência de hemoparasitas diagnosticados em cada exploração individualmente, com as diferentes prevalências encontradas em cada hemoparasita individualmente.

Estas informações são importantes na medida em que, não só dá aos produtores uma ideia da situação epidemiológica em que se encontra a exploração, como dá informações muito importantes ao médico veterinário da exploração, para que este altere ou ajuste os tratamentos realizados na exploração consoante as prevalências encontradas.

Seria importante que cada exploração elaborasse o seu plano sanitário conforme o seu “perfil parasitário”. Para tal, poder-se-ia realizar alguns esfregaços sanguíneos e/ou testes serológicos e moleculares para avaliação da prevalência de hemoparasitas e das espécies presentes na exploração.

Os casos que eventualmente fossem confirmados, deveriam também ser registados. Os animais que fossem introduzidos na exploração deveriam ser colocados em quarentena antes de serem introduzidos no rebanho. Também deveriam ser desparasitados na entrada na quarentena.

Como em Portugal não estão disponíveis quaisquer vacinas, é de extrema importância apostar-se no controlo dos vetores.

Sendo a presença de *Theileria spp.* uma realidade em Portugal, é importante que sejam disponibilizados medicamentos de uso veterinário específico para o tratamento de Theileriose, o que já se verificou no passado.

Novos estudos de prevalência destes hemoparasitas na população bovina em Portugal são urgentes, para melhor compreender a situação epidemiológica do país, as taxas de morbilidade e mortalidade e, desta forma tentar encontrar as melhores estratégias de prevenção.

8. Referências Bibliográficas

Abdullah, A.S., Sheikh-Omar, A.R., Baggot, J.D., Zamri, M. (1984). Adverse effects of imidocarb dipropionate (Imizol) in a dog. *Vet. Res. Commun* 8, 55–59.

Ahmed, J.S., Glass, E.J., Salih, D.A., Seitzer, U. (2008). Innate immunity to tropical theileriosis. *Innate Immunity*, 14 (1), 5-12.

Aktas, M., Altay, K., Dumanli, N. (2006). A molecular survey of bovine Theileria parasites among apparently healthy cattle and with a note on the distribution of ticks in eastern Turkey. *Vet. Parasitol.* 138, 179–185.

Almazan, C., Moreno-Cantu, O., Moreno-Cid, J. A., Galindo, R. C., Canales, M., Villar, M., de la Fuente, J. (2012). Control of tick infestations in cattle vaccinated with bacterial membranes containing surface-exposed tick protective antigens. *Vaccine* 30 (2):265-272.

Almeria, S., Delgado-Neira, Y., Adelantado, C., Huguet, M., Vinent, J. & Nicolàs, A. (2009). Mediterranean Theileriosis and other tick transmitted piroplasmoses in cattle in Minorca (Balearic Islands, Spain): The effect of Tick Control on prevalence levels analysed by Reverse Line Blot (RLB) macroarrays. *Journal of Parasitology*, 95 (3), 598-603.

Altay, K., Aydin, M.F., Dumanli, N., Aktas, M. (2008). Molecular detection of *Theileria* and *Babesia* infection in cattle. *Veterinary Parasitology* 158, 295–301.

Anderson, J.F., Magnarelli, L.A. (2008). Biology of ticks. *Infect Dis Clin North Am*, 22:195-215.

Andrews, A.H., Blowey, R.W., Boyd, H., Eddy, R.G. (2004). *Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle*. (2ª ed., pp. 745-753). Blackwell Science Ltd.

Anónimo (1987). El control de las garrapatas y de las enfermedades que transmiten. Vol. I: Control de las garrapatas. Ed. FAO. Roma (Itália). pp. 1-220.

Antunes, S., Ferrolho, J., Domingues, N., Santos, A.S., Santos-Silva, M.M., Domingos, A. (2016). *Anaplasma marginale* and *Theileria annulata* in questing ticks from Portugal, Springer International Publishing Switzerland. Exp Appl Acarol, DOI 10.1007/s10493-016-0057-y.

Aubry, P., Geale, D. W. (2011). A review of bovine anaplasmosis. Transbound Emerg Dis 58 (1):1-30.

Babes, V. (1888). Sur l' hémoglobinurie bactérienne du boeuf. *C. R. Acad. Sci.*, 107, 692-694.

Barbosa da Silva, J., Castro, G.N.S., Fonseca, A.H. (2014). Longitudinal study of risk factors for anaplasmosis and transplacental transmission in herd cattle. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 35, n. 4, 2491-2500.

Benavides, E. (2002). Epidemiología y control de los hematozoarios y parásitos tisulares que afectan al ganado. *Carta Fedegan*, 72, 112-134.

Bishop, R., Musoke, A., Morzaria, S., Gardner, M., Nene, V. (2004). Theileria: intracellular protozoan parasites of wild and domestic ruminants transmitted by ixodid ticks. *Parasitology* 129:S271–S283.

Branco, S., Orvalho, J., Leitaó, A., Pereira, I., Malta, M., Mariano, I., Carvalho, T., Baptista, R., Shiels, B.R., Peleteiro, M.C. (2010). Fatal cases of *Theileria annulata* infection in calves in Portugal associated with neoplastic-like lymphoid cell proliferation. *J Vet Sci* 11:27–34.

Brígido, C., Fonseca, I.P., Parreira, R., Fazendeiro, I., Rosário, V.E., Centeno-Lima, S. (2004). Molecular and phylogenetic characterization of *Theileria* spp. parasites in autochthonous bovines (Mirandesa breed) in Portugal. *Veterinary Parasitology* 123, 17–23.

Brizuela, C.M., Ortellado, C.A., Sanabria, E., Torres, O., Ortigosa, D. (1998). The safety and efficacy of Australian tick-borne disease vaccine strains in cattle in Paraguay. *Veterinary Parasitology* v. 76, 27-41.

Cáceres, J.A.R.D. (1996). “Nuevas aportaciones al conocimiento epidemiológico de la Theileriosis (*Theileria annulata*) en Extremadura”. Universidad de Extremadura, Facultad de Veterinaria, 31.

Caeiro, V., Simões, A.L. (1991). Ixodoidea da fauna silvestre de Portugal continental. Interesse do seu conhecimento. *Rev Port Ciênc Vet*, 497:20–30.

Caeiro, V. (1992). As carraças em Portugal, seus hospedeiros domésticos e selvagens. Ciclos vitais, preferências de vegetação e de clima. *O Méd Vet* 3:7–17.

Caeiro, V. (1999). General review of tick species present in Portugal. *Parasitologia* 41, 11–15.

Campillo, M.C., Vázquez, F.A.R. (2002). *Parasitologia Veterinária* (3ª ed., pp. 283-302) Madrid (Espanha).

Carrique, J., Ribera, H. (2000). Manual Práctico sobre Garrapatas y Enfermedades transmitidas por Garrapatas. LIDIVET. Santa Cruz, Bolivia. pp. 1 - 36.

Centeno-Lima, S., do Rosário, V., Parreira, R., Maia, A.J., Freudenthal, A.M., Nijhof, A.M., Jongejan, F. (2003). A fatal case of human babesiosis in Portugal: molecular and phylogenic analysis. *Trop. Med. Int. Health* 8, 760–764.

Cordeiro, R.P.G. (2002). Doenças de Alta Produção em efetivos bovinos leiteiros, Universidade de Trás-dos-Montes e Alto Douro, Vila Real.

de la Fuente, J., Vicente, J., Hofle, U., Ruiz-Fons, F., de Mera, I.G.F., Van Den Bussche, R.A., Kocan, K.M., Gortazar, C. (2004). *Anaplasma* infection in free-ranging Iberian red deer in the region of Castilla-La Mancha, Spain. *Veterinary Microbiology*, 100:163–173.

de la Fuente, J., Estrada-Pena, A., Venzal, J.M., Kocan, K.M., Sonenshine, D.E. (2008). Overview: ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Front Biosci* 13:6938–6946.

Devos, J., Geysen, D. (2004). Epidemiological study of the prevalence of *Babesia divergens* in a veterinary practice in the mid-east of France. *Veterinary Parasitology* 125, 237-249.

De-Whittier, D., Currin, N., Currin, J. (2007). Anaplasmosis in Beef Cattle. Virginia Tech Cooperative Extension, Blacksburg, pp. 400–465.

Dias, J.A.T.S. (1994). As carraças (Acarina-Ixodoidea) da Península Ibérica. Algumas considerações sobre a sua biogeografia e relacionamento com a ixodofauna Afropaleártica e Afrotropical. Instituto de Investigação Científica Tropical, Estudos, Ensaios e Documentos 158, Lisboa.

Dias, J.A.T.S., Santos-Reis, M. (1989). A carraça *Ixodes ventralloii* Gil Collado, 1936 como principal ectoparasita de uma população de doninhas (*Mustela nivalis* Linnaeus, 1766) em Portugal. Garcia de Orta, Série de Zoologia 14:35–50.

Domingos, A., Antunes, S., Borges, L., Rosario, V.E. (2013). Approaches towards tick and tick-borne diseases control. Rev Soc Bras Med Trop 46:265–269.

Doyle, R.L., Fritzen, A., Bottari, N.B., Alves, M.S., Aniélen, D.S., Morsh, V., Schetinger, M.R.C., Martins, J.R., Santos, J.S., Machado, G., Silva, A.S. (2016). Imidocarb dipropionate in the treatment of *Anaplasma marginale* in cattle: effects on enzymes of the antioxidant, cholinergic, and adenosinergic systems. *Microbial Pathogenesis* Doi: 10.1016/j.micpath.2016.06.001.

Eamens, G.J., Gonsalves, J.R., Jenkins, C., Collins, D., Bailey, G. (2013). Theileria orientalis MPSP types in Australian cattle herds associated with outbreaks of clinical disease and their association with clinical pathology findings. *Veterinary Parasitology*, 191:209–17.

Elsify, A., Sivakumar, T., Nayel, M., Salama, A., Elkhtam, A., Rizk, M., Mosaab, O., Suktan, K., Elsayed, S., Igarashi I., Yokoyama, N. (2014). An epidemiological survey of bovine *Babesia* and *Theileira* parasites in cattle, buffaloes, and sheep in Egypt. *Parasitology International* 1383-5769.

Eriks, I.S., Stille, D., Palmer, G.H. (1993). Impact of persistent *Anaplasma marginale* rickettsemia on tick infection and transmission. *J. Clin. Microbiol.* 31:2091-2096.

Estrada-Pena, A., Bouattour, A., Camicas, J.L., Walker, A.R. (2004a). Ticks of Domestic Animals in the Mediterranean Region: A Guide to Identification of Species. University of Zaragoza, Zaragoza.

Estrada-Pena, A., Martinez, J.M., Sanchez, A.C. (2004b). Phenology of the tick, *Ixodes ricinus*, in its southern distribution range (central Spain). *Med Vet Entomol*, 18:387-397.

Estrada-Pena, A., Santos-Silva, M.M. (2005). The distribution of ticks of domestic livestock in Portugal. *Exp. Appl. Acarol.* 36, 233–246.

Estrada-Pena, A., Venzal, J.M. (2006). High-resolution predictive mapping for *Boophilus annulatus* and *B. microplus* (Acari: Ixodidae) in Mexico and Southern Texas. *Vet. Parasitol* 142, 350-358.

Estrada-Pena, A., Naranjo, V., Acevedo-Whitehouse, K., Mangold, A. J., Kocan, K. M., de la Fuente, J. (2009). Phylogeographic analysis reveals association of tick-borne pathogen, *Anaplasma marginale*, MSP1a sequences with ecological traits affecting tick vector performance. *BMC Biol* 7:57.

Ferrolho, J., Antunes, S., Santos, A.S., Velez, R., Padre, L., Cabezas-Cruz, A., Santos-Silva, M.M., Domingos, A. (2016). Detection and phylogenetic characterisation of *Theileria spp.* and *Anaplasma marginale* in *Rhipicephalus bursa* in Portugal. *Ticks and Tick-borne Diseases* 7:443–448.

Fortes, E. (2004). *Parasitologia Veterinária* (4ª ed., pp.91). São Paulo: Editora Ícone.

Ge, N. L., Kocan, K. M., Blouin, E. F., Murphy, G. L. (1996). Developmental studies of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in male *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) infected as adult using nonradioactive in situ hybridization. *J. Med. Entomol.* 33:911-920.

Gharbi, M., Hayouni, M.E., Sassi, L., Dridi, W., Darghouth, M.A. (2013). *Hyalomma scupense* (Acari, Ixodidae) in northeast Tunisia: seasonal population dynamics of nymphs and adults on field cattle. *Parasite* 20, 281–283, acedido em 14 de Maio de 2017, disponível em <http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2013012>.

Ghosh, S., Ray, D.D., Vanlahmuaka, Das G., Singh, N.K., Sharma, J.K., Azhahianambi, P. (2008). Progress in development of vaccine against *Hyalomma anatolicum anatolicum*-Indian scenario. *Vaccine* 19, 40–47, acedido em 14 de Maio de 2017, disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.09.067>.

Gilot, B., Pautou, G., Moncada, E. (1975). Ecological study of *Ixodes ricinus* (Linne, 1758) (Acarina, Ixodoides) in southeastern France. *Acta Trop*, 32:232-258.

Gomes, J., Soares, R., Santos, M., Santos-Gomes, G., Botelho, A., Inácio, J. (2013). Detection of *Theileria* and *Babesia* infections amongst asymptomatic cattle in Portugal. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 4, 148– 151.

Gomes, J., Salgueiro, P., Inácio, J., Amaro, A., Pinto, P., Tait, A., Shiels, B., Fonseca, I. P., Santos-Gomes, G., Weir, W. (2016). Population diversity of *Theileria annulata* in Portugal. *Infection, Genetics and Evolution* 42, 14–19.

Goo, Y.K, Terkawi, M. A., Jia, H., Aboge, G.O., Ooka, H., Nelson, B., Kim, S., Sunaga, F., Namikawa, K., Igarashi, I., Nishikawa, Y., Xuan, X. (2010). Artesunate, a potencial drug for treatment of *Babesia* infection. *Parasitology International* 59, 481–486.

Gray, J.S., Dautel, H., Estrada-Pena, A. (2009). Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in europe. *Interdiscip Perspect Infect Dis*, 2009:593232.

Gubbels, M.-J., de Vos, A.P., van der Weide, M., Viseras, J., de Vries, E., Jongenjan, F. (1999). Simultaneous detection of bovine *Theileria* and *Babesia* species by RLB hybridisation. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1782–1789.

Guglielmone, A.A. (1995). Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. *Vet. Parasitol* 57, 109–119.

Homer, M.J., Aguilar-Delfin, I., Telford III, S.R., Krause, P.J., Persing, D.H. (2000). Babesiosis. *Clin. Microbiol. Rev* 13, 451–469.

Hoogstraal, H. (1956). African Ixodoidea. I. Ticks of the Sudan. Dep. Navy, Bur. Med. Surg.; Washington, D.C. (USA). pp. 1101.

Hoogstraal, H., Kaiser, M., Taylor, M., Gaber, S., Guindy, E. (1963). Ticks (Ixodidae) on birds migrating from Europe and Asia to Africa, 1959-61. *Bull. Org. Mond. Santé.*, 28,235-262.

Hoogstraal, H. (1978). Biology of Ticks. En: Tick-borne Diseases and their vectors. Ed. J. K. H. Wilde. Proc. Intern. Conf. Univ. Edinburgh, CTVM, University of Edinburgh (Reino Unido). pp. 3-14.

Howden, K.J., Geale, D.W., Paré, J., Golsteyn-Thomas, E.J., Gajadhar, A.A. (2010). An update on bovine anaplasmosis (*Anaplasma marginale*) in Canada. *Can Vet J* 51:837–840.

Ica, A., Vatansever, Z., Yildirim, A., Duzlu, O., Inci, A. (2007). Detection of *Theileria* and *Babesia* species in ticks collected from cattle. *Veterinary Parasitology* 148, 156–160.

Instituto Nacional de Estatística (2011) “Anuário Estatístico da Região Centro” (pp. 40-345).

Iza, J.F.B. (2010). Las garrapatas exófilas como vetores de agentes zoonóticos: estudio sobre la abundancia y actividad de las garrapatas em la vegetación, e investigación de la presencia de agentes patógenos en garrapatas y micromamíferos. *Universidad de León, Facultad de Veterinaria, Departamento de Sanidad Animal*.

Jaswal, H., Bal, M.S., Singla, L.D., Gupta, K., Brar, A.P.S. (2013). Pathological observations on clinical *Anaplasma marginale* infection in cattle. *J Parasit Dis*, DOI: 10.1007/s12639-013-0384-4.

Jirapattharasate, C., Moumouni, P.F.A., Cao, S., Iguchi, A., Liu, M., Wang, G., Zhou, M., Vudriko, P., Changbunjong, T., Sungpradit, S., Ratanakorn, P., Moonarmart, W., Sedwisai, P., Weluwanarak, T., Wongsawang, W., Suzuki, H., Xuan, X. (2015). Molecular epidemiology of bovine *Babesia* spp. and *Theileria orientalis* parasites in beef cattle from northern and northeastern Thailand. *Parasitology International* 65, 62–69.

Jongejan, F., Uilenberg, G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitology* 129:S3–S14.

Jonsson, N. N., Reid, S. W. (2000). Global climate change and vector borne diseases. *Vet J* 160 (2):87-89.

Kakuda, T., Shiki, M., Kubota, S., Sugimoto, C., Brown, W.C., Kosum, C., Nopporn, S., Onuma, M. (1998). Phylogeny of benign *Theileria* species from cattle in Thailand China and the USA based on the major piroplasm surface protein and small subunit ribosomal RNA genes. *Int. J. Parasitol.* 28, 1261–1267.

Kessler, R.H., Schenk, M.A.M. (1998). Carrapato, tristeza parasitaria e tripanossomose dos bovinos. Embrapa Gado de Corte: Campo Grande, 157.

Kaiser, M.N., Hoogstraal, H. (1974). Ticks on migrating birds in Cyprus, and epidemiological considerations. *Bull. Entomol. Resp.* 64, 97-110.

Kocan, K. M. (1986). Development of *Anaplasma marginale* in ixodid ticks: coordinated development of a rickettsial organism and its tick host. In *Morphology, Physiology and Behavioral Ecology of Ticks*.

Kocan, K. M., Goff, W. L., Stiller, D., Claypool, P. L., Edwards, W., Ewing, S. A., Hair, J. A., Barron, S. J. (1992a). Persistence of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in male *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) transferred successively from infected to susceptible cattle. *J. Med. Entomol.* 29:657-668.

Kocan, K. M., Stiller, D., Goff, W. L., Claypool, P. L., Edwards, W., Ewing, S. A., McGuire, T. C., Hair, J. A., Barron, S. J. (1992b). Development of *Anaplasma marginale* in male *Dermacentor andersoni* transferred from infected to susceptible cattle. *Am. J. Vet. Res.* 5:499-507.

Kocan, K. M., E. F. Blouin, Barbet, A. F. (2000). Anaplasmosis control. Past, present, and future. *Ann N Y Acad Sci* 916:501-509.

Kocan, K.M., De la Fuente, J., Guglielmone, A.A., Melendez, R.D. (2003). Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clinical Microbiology reviews* v. 16, n.4, 698-712.

Kocan, K. M., De La Fuente, J., Blouin, E. F., Garcia-Garcia, J. C. (2004). *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host–pathogen adaptations of a tick-borne rickettsia. *Parasitology* 129 (7):S285-S300.

Kocan, K.M., de la Fuente, J., Blouin, E.F. (2008). Advances toward understanding the molecular biology of the *Anaplasma*-tick interface. *Front Biosci* 13:7032–7045.

Kocan, K.M., De la Fuente, J., Blouin, E.F., Coetzee, J.F., Ewing, S.A. (2010). The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary Parasitology*, v. 167 (2-4):95-107.

Koch, C. L. (1844). Systematische Vebersichut ueber die Ordnung der Zecken. Arch. Nat. Berlin, 10, pp. 217.

Leclercq, M. (1988). A propos de l'épidémiologie de la maladie de Lyme. Ver. Med. Liège., 43(19), 640-643.

Leitão, J.L. (1943). Contribuição para o estudo dos ixodídeos portugueses. Lisboa. pp.72.

Leitão, J.L. (1971). Mapa zooparasitário de Portugal. I. Ixodídeos., Planos do Fomento. Escola Superior de Medicina Veterinária, Laboratório de Parasitologia, Lisboa.

Léon, A.M., Ribera, C.H., Villegas, F. (2010). Deteccion de anticuerpos IgG contra *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale* en bovinos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.G.R.M.

Levine, N.D., Corliss, J.O., Cox, F.E., Deroux, G., Grain, J., Honigberg, B.M., Leedale, G.F., Loeblich, A.R., Lom, J., Lynn, D., Merinfeld, E.G., Page, F.C., Poljansky, G., Sprague, V., Vavra, J., Wallace, F.G. (1980). A newly revised classification of the protozoa. *J. Protozool* 27, 37–58.

Liakos, V. (1979). Contribution à l'étude des ectoparasites de la chèvre et leur importance à l'économie nationale. Thèse médecine vétérinaire, Univ. Thessaloniki (Grecia). pp. 219.

Liebisch, A., Zukari, M. (1978). Biological and ecological studies on ticks of the genera *Boophilus*, *Rhipicephalus* e *Hyalomma* in Syria, en: Ticks-borne diseases and their vectors. Proc. Int. Conf. Univ. Edinburgh, CTVM, pp. 150-162.

Lotfollahzadeh, S., Rahmani, M., Mohri, M., Madadgar, O. (2012). Changes in sérum iron concentration and hepatic enzyme activities in cattle infected with *Theileria annulata* and *Babesia bigemina*. *Comp Clin Pathol* 21:829–832.

Mbwambo, H.A, Sudi, F.F., Mkonyi, P.A., Mfinanga J.M., Mella, E.S., Ngovi, C.J. (2002). Comparative studies of the efficacy of parvaquone and parvaquone-plus-frusemide in the treatment of *Theileria parva* infection (East Coast Fever) in cattle. *Veterinary Parasitology* 108, 195–205.

McFadden, A.M., Rawdon, T.G., Meyer, J., Makin, J., Clough, R.R., Tham, K., Mullner, P., Geysen, D. (2014). An outbreak of haemolytic anaemia associated with infection of *Theileria orientalis* in naive cattle. *New Zealand Veterinary Journal*, 59:79–85.

Mhadhbi, M., Naouach, A., Boumiza, A., Chaabani, M.F., BenAbderazzak, S., Darghouth, M.A. (2010). *In vivo* evidence for the resistance of *Theileria annulata* to buparvaquone. *Veterinary Parasitology* 169, 241–247.

Mehlhorn, H., Schein, E. (1984). The piroplasms: life cycle and sexual stages. *Adv. Parasitology*, 23, 37–103.

Morrison, I., McKeever, D., Dobbelaere, D., Tait, A., Sheils, B., Medley, G., Taracha, E., Darghouth, M., Glass, L., Langsley, G. & Karagenc, T. (2007). Wellcome Trust Project for Tropical Theileriosis. Accessed on 9 de April de 2017, disponível em: <http://www.theileria.org/>.

Navarrete, I., Serrano, F.J. & Reina, D. (2002). *Theileriosis*. In M.C. Campillo & F.A.R. Vázquez, *Parasitologia Veterinaria*. (3ªEd., pp. 294-302). Madrid: McGraw-Hill- Interamericana.

Noaman, V. (2012). A molecular study on *Theileria* and *Babesia* in cattle from Isfahan province, Central Iran. *J Parasit Dis. Indian Society for Parasitology*, doi: 10.1007/s12639-012-0167-3.

Nosek, G., Folk, C. (1977). Relationships of birds to arboviroses and their vectors. *Act. Sci. Nat. Brno*, 11, 1-69.

Office International des Épizooties (2008). OIE Terrestrial Manual Health Code 2008. Chapter 2.4.16, Theileriosis. Paris: OIE, acedido em 9 de Abril de 2017, disponível em: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.04.16_THEILIERIOSIS.pdf

Papadopoulos, B. (1990). Les tiques des animaux domestiques et les hematozoaires qu'elles transmettent en Macedonia (Grece). Tesis doctoral, Fac. Ciencias Univ. Neuchâtel (Suiza). pp. 248.

Papadopoulos, B., Perie, N.M., Uilenberg, G. (1996). Piroplasms of domestic animals in the Macedonia region of Greece. Serological cross-reactions. *Veterinary Parasitology*, 63, 41–56.

Parola, P., Raoult, D. (2001). Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis*, 32:897-928.

Peleteiro, M.C., Marcos, R., Santos, M., Correia, J., Pissara, H., Carvalho, T. (2011). *Atlas de Citologia Veterinária*. (1ª ed., pp. 22-23). Lisboa: Editora Lidel – edições técnicas, lda.

Pomerantzev, B.I. (1950). Keys to genera and species of ticks in the USSR. *Acad. Sci.* 4, 211-214.

Pomerantzev, B.I., Matikashvili, N.V., Lototsky, B.V. (1940). An ecological and faunistic outline of Ixodidae ticks occurring in Transcaucasia. *Parazit. Sborn. Zool. Inst. Akad. Nauk USSR*, 7, 100-133.

Potgieter, F.T., Els, H.J. (1977). The fine structure of intra-erythrocytic stages of *Babesia bigemina*. *The Onderstepoort journal of veterinary research* 44, (3), 157-168.

Preston, P.M., Brown, C.G., Bell-Sakyi, L., Richardson, W. & Sanderson, A. (1992). Tropical theileriosis in *Bos taurus* and *Bos taurus* cross *Bos indicus* calves: response to infection with graded doses of sporozoites of *Theileria annulata*. *Research in Veterinary Science*, 53, 230-243.

Quiroz, R. H. (2000). *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos*. (10ª ed., pp. 187-797), Limusa. México D.F.

Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., Constable, P. D. (2007). *Veterinary Medicine, A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Veterinary Medicine*. (10ª Ed., pp. 451-1457). USA: Saunders Elsevier.

Razmi, G.R., Dastjerdi, K., Hossieni H., Naghibi, A., Barati, F. (2006). An Epidemiological Study on *Anaplasma* Infection in Cattle, Sheep, and Goats in Mashhad Suburb, Khorasan Province, Iran. *New York Academy of Sciences*, 1078: 479-481.

Richey, E. J. (1981). Bovine anaplasmosis. In *Current Veterinary Therapy Food Animal Practice: The W.B. Saunders Co*, 767-772.

Ristic, M. (1977). Bovine anaplasmosis. In *Parasitic Protozoa: Academic Press*, 235-249.

Rodriguez, R.I., Trees, A.J. (1996). *In vitro* responsiveness of *Babesia bovis* to imidocarb dipropionate and the selection of a drug-adapted line. *Veterinary parasitology*, 62, (1-2), 35-41.

Rodríguez-Vivas, R.I., Cob-Galera, L.A., Domínguez-Alpizar, J.L. (2000). Hemoparásitos en bovinos, caninos y equinos diagnosticados en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatan (1984-1999). *Rev Biomed*, 11:277-282.

Salih, D.A., Hussein, A.M.EL, Kyule, M.N., Zessin, K.H., Ahmed, J.S., Seitzer, U. (2007). Determination of potencial risk factors associated with *Theileria annulata* and *Theileria parva* infections of cattle in the Sudan. *Parasitol Res*, 101:1285–1288.

Savic, S., Vidic, B., Grgic, Z., Potkonjak, A., Spasojevic, L. (2014). Emerging vector-borne diseases—incidence through vectors. *Front Public Health*, 2:267.

Santos-Silva, M.M., Santos, A.S., Formosinho, P., Bacellar, F. (2006) Carraças associadas a patologias infecciosas em Portugal. *Acta Med Port*, 19: 39-48.

Santos-Silva, M.M., Beati, L., Santos, A.S., De Sousa, R., Nuncio, M.S., Melo, P., Santos-Reis, M., Fonseca, C., Formosinho, P., Vilela, C., Bacellar, F. (2011). The hard-tick fauna of mainland Portugal (Acari: Ixodidae): an update on geographical distribution and known associations with hosts and pathogens. *Exp Appl Acarol*, 55:85–121.

Shkap, V., Leibovich, B., Krigel, Y., Fish, L. & Orgad, U. (2010). Evaluation of the combined formulation of Parvaquone and Frusemid (Fruvexon) in the treatment of experimental Tropical Theileriosis. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 8 (1), 73-76.

Silva, M.G., Henriques, G., Sánchez, C., Marques, P.X., Suarez, C.E., Oliva, A. (2009). First survey for *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle from Central and Southern regions of Portugal using serological and DNA detection methods. *Veterinary Parasitology* 166, 66-72.

Silva, M.G., Marques, P.X., Oliva, A. (2010). Detection of *Babesia* and *Theileria* species infection in cattle from Portugal using a reverse line blotting method. *Veterinary Parasitology* 174, 199–205.

Smith, T., Kilborne, F.L. (1893). Investigations into the nature, causation, and prevention of Texas or southern cattle fever. *Bureau of Animal Industry, Bull 1*, 85-114.

Smith, B.P (2009). *Large Animal Internal Medicine*. (4^a ed., pp. 403-1159). United States: Mosby Elsevier.

Sonenshine, D.E. (1991). *Biology of Ticks I*. New York (USA): Oxford University Press, Inc.

Suarez, C.E., Noh, S. (2011). Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. *Veterinary parasitology* 180, (1-2), 109- 125.

Tabachnick, W. J. (2010). Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-borne disease epistemics in a changing world. *J Exp Biol*, 213 (6):946-954.

Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L. (2007). *Veterinary Parasitology*. (3^a ed., pp. 150-318). USA, Iowa: Blackwell Publishing.

Tendeiro, J. (1962). Revisão sistemática dos ixodídeos portugueses, *Bol. Pec.*, 2, 1-131.

Theiler, A. (1910). *Anaplasma marginale* (gen. and spec. nov). The marginal points in the blood of cattle suffering from a specific disease. In: Theiler, A. (Ed.), Report of the Government on Veterinary Bacteriology in Transvaal 1908–1909, pp.7–64.

Thrusfield, M. (1986). *Veterinary epidemiology*. (1ª ed., pp. 157-158) Butterworth-Heinemann Ltd.

Thullner, F., Willadsen, P., Kemp, D. (2007). “Acaricide rotation strategy for managing resistance in the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acarina: Ixodidae): laboratory experimente with a field strain from Costa Rica,” *Journal of Medical Entomology* vol. 44, n. 5, 817–821.

Tijssse-Klasen, E., Koopmans, M.P.G., Sprong, H. (2014). Tick-borne pathogen—reversed and conventional discovery of disease. *Front Public Health* 2:73.

Travassos, J. A. (1994). As carraças (Acarina-Ixodoidea) da Península Ibérica. Algumas considerações sobre a sua biogeografia e relacionamento com a ixodofauna afropaleártica e afrotropical. Edit. Instituto de Investigação Científica Tropical. Lisboa (Portugal). pp. 163.

Uilenberg, G. (1981). *Theileria* infections other than east coast fever. In “Diseases of Cattle in the Tropics” (M. Ristic and I. McIntyre, eds), (pp. 411–427). Martinus Nijhoff Publishers, The Hague.

Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W. (1996). *Parasitologia Veterinária* (2ª ed., pp.210). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.

Vial, H.J., Gorenflot, A. (2006). Chemotherapy against babesiosis. *Veterinary parasitology* 138, (1-2), 147-160.

Vignau, M. L., Venturini, L. M. R., Eiras, D. F. B., Walter U. (2005). *Parasitología Práctica y Modelos de Enfermedades Parasitarias en los animales domésticos*. (1ª ed., pp. 18-183). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La plata, Buenos Aires, Argentina.

Weiland, G., Reiter, I. (1988). Methods for measurement of the serological response to Babesia. In: Ristic M (ed) Babesiosis of domestic animals and man. CRC, Boca Raton, pp 143–162.

9. Anexos/ Apêndices

Anexo I – Inquérito



Faculdade
de Medicina
Veterinária

Inquérito – Contribuição para o estudo das Hemoparasitoses em Bovinos na Região da Beira Interior

1. Tipo de Exploração

- ☐ Intensivo
- ☐ Extensivo
- ☐ Semi-intensivo

2. Aptidão

- ☐ Carne
- ☐ Leite

3. Tamanho do Rebanho

- ☐ <100
- ☐ 100-500
- ☐ >500

4. Manifestações Clínicas

- ☐ Anorexia ou diminuição do apetite
- ☐ Pirrexia
- ☐ Perda Peso
- ☐ Caquexia
- ☐ Diarreia
- ☐ Mucosas Pálidas
- ☐ Mucosas Ictéricas
- ☐ Hemoglobinúria

- ☐ Gânglios Linfáticos aumentados de tamanho
- ☐ Dispneia
- ☐ Ataxia/Descoordenação

Faixa etária dos animais com manifestações clínicas

- ☐ Jovens
- ☐ Adultos
- ☐ Reprodutores

5. Época do ano onde manifestam mais os sinais clínicos

- ☐ Primavera
 - ☐ Verão
 - ☐ Outono
 - ☐ Inverno
-

6. Visualização de Carrapças (Vetores) nos animais

- ☐ Poucas
- ☐ Algumas
- ☐ Muitas

Época do ano que visualiza mais carrapças

- ☐ Primavera
- ☐ Verão

☐ Outono

☐ Inverno

7. Tratamentos utilizados (Desparasitação Externa)

☐ Sim Princípios ativos Frequência

☐ Não

8. Compra animais a outras explorações

☐ Sim

☐ Não

9. Vende animais para outras explorações

☐ Sim

☐ Não

Anexo II – Folheto Informativo



- ✓ As carraças devem ser eliminadas dos animais porque é a maneira mais eficaz de prevenir as doenças por elas transmitidas.



- ✓ Os animais devem ser tratados com produtos eficazes contra carraças, indicados pelo médico veterinário.



Procure sempre o
aconselhamento
do médico
veterinário

Bovinos saudáveis

=

Fonte rendimento e Poupança

=

Carne de boa qualidade



Lídia Margarida Silva Serras

Importância do
controlo das
carraças na
transmissão de
doenças nos
Bovinos

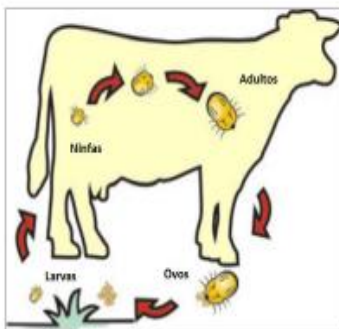


"Prevenir é melhor que
remediar"

CARRAÇAS

As carraças são parasitas externos que necessitam de um animal para sobreviver e reproduzir-se. Estas alimentam-se do sangue dos bovinos.

- ✓ O ciclo de vida das carraças compreende 4 fases:



- ✓ As carraças estão ativas durante todo o ano, porém a sua atividade aumenta desde o início da primavera ao fim do outono.
- ✓ A carraça infetada ao picar o bovino, pode transmitir parasitas do sangue de um bovino para outro, que em situações muito graves poderão levar à morte.

SINTOMAS

Os animais podem apresentar-se:

- Magros



- Tristes
- Com perda apetite
- Deprimidos
- Com urina escura



- Com diarreia



- Mucosas amarelas (olho)



- Mucosas pálidas (vulva)



No caso de observar algum destes sintomas contacte o médico veterinário responsável pela exploração, para que o tratamento seja realizado o mais rapidamente possível.

Anexo III – Relatório da Exploração (exemplo)

Relatório de Campo Hemoparasitas em bovinos

Exploração 1: Ladoeiro

Nesta exploração foram recolhidas 10 amostras de sangue num total de 10 animais, nas datas de 30/11/2016, 09/12/2016, 05/01/2017 e 16/03/2017, para pesquisa de parasitas no sangue.

Em todas amostras de sangue, esteve presente o parasita *Anaplasma marginale*. Foram diagnosticados 3 animais com infeção dupla por *Anaplasma marginale* + *Theileria spp.*, 1 com infeção dupla por *Anaplasma marginale* + *Babesia spp.* e 1 com infeção tripla por *Anaplasma marginale* + *Theileria spp.* + *Babesia spp.*, os restantes 5 animais apenas continham infeção singular por *Anaplasma marginale*.

O gráfico 1, indica as prevalências encontradas no que diz respeito a cada hemoparasita individualmente, como também a prevalência encontrada nos diversos tipos de infeção.

Estas informações são importantes na medida em que, não só dá ao produtor uma ideia da situação epidemiológica em que se encontra a exploração, como dá informações muito importantes ao médico veterinário da exploração, para que este altere ou ajuste os tratamentos realizados nesta exploração consoante as prevalências encontradas. Posto isto, o produtor deve então guardar este relatório, para mais tarde, se for preciso, comparar resultados.

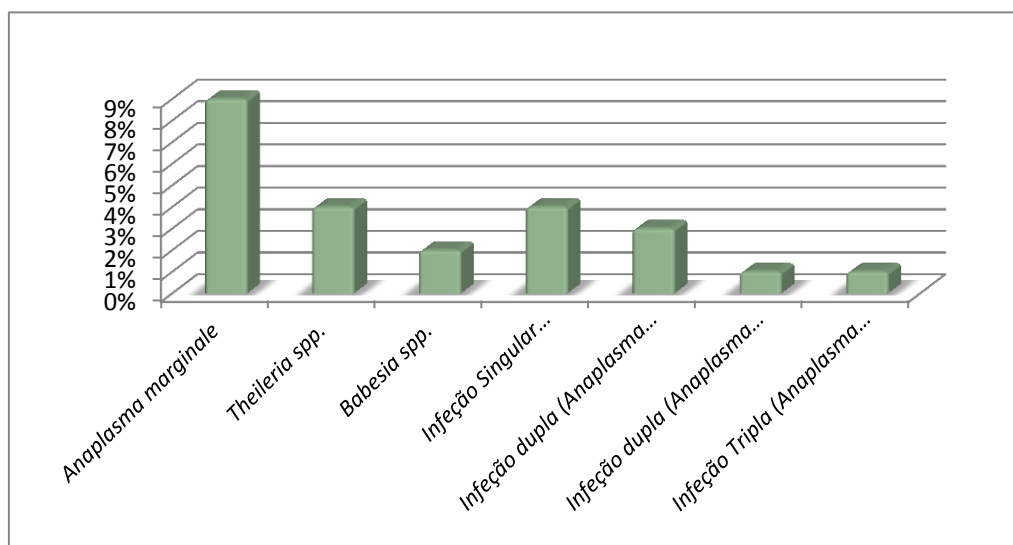


Gráfico 1: Prevalência de hemoparasitas na exploração do Ladoeiro.