

FILIPA LEITÃO DO NASCIMENTO

**ESTUDO DA OCORRÊNCIA DE CAEV EM
REBANHOS DE CAPRINOS DE LEITE NA REGIÃO
OESTE DE PORTUGAL**

Orientadora: Professora Doutora Ângela Dâmaso

**Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa
Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa
2023**

FILIPA LEITÃO DO NASCIMENTO

**ESTUDO DA OCORRÊNCIA DE CAEV EM
REBANHOS DE CAPRINOS DE LEITE NA REGIÃO
OESTE DE PORTUGAL**

Dissertação defendida em prova pública para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, conferido pela Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa, no dia 19 de Janeiro de 2023, perante o júri nomeado pelo Despacho de Nomeação de Júri Nº 54/2023, de 04 de janeiro de 2023, com a seguinte composição:

Presidente: Professora Doutora Margarida Alves por delegação da Professora Doutora Laurentina Pedroso;

Arguente: Professor Doutor João Ribeiro Lima Orientadora: Professora Doutora Ângela Dâmaso

**Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa

2023

Agradecimentos

Agradeço a todos os docentes da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias que contribuíram para a minha formação profissional e pessoal.

À minha orientadora Professora Doutora Ângela Dâmaso por ter sempre confiado em mim e por ter acreditado na realização desta dissertação, visto ser um tema tão desafiante em Portugal.

Ao meu orientador externo Dr. João Vieira, responsável pelo estágio mais dinâmico de sempre, pela ajuda na realização deste trabalho e pela transmissão de conhecimentos.

Ao Dr. António Cortes pela amizade, pelos valores que me transmitiu para o futuro profissional e pela dedicação que teve comigo durante o estágio.

À Associação de Criadores e Reprodutores de Gado do Oeste, e em especial à Eng. Dina, pelo carinho com que me receberam.

A todos os produtores que participaram neste estudo e que permitiram a realização do mesmo.

Aos meus pais, Alzira e Francisco, e aos meus avós, Gracinda e António, por todos os ensinamentos que me transmitiram ao longo da vida, pois é necessária muita dedicação para alcançar qualquer objetivo na vida.

Às minhas irmãs, Catarina e Margarida, que me acompanham em todas as aventuras desde que nasci. Muito obrigada!

Às minhas tias, Elvira e Assunção, por me terem sempre ajudado a crescer, desde a infância até à vida adulta.

Aos restantes membros da família Leitão do Nascimento e à família do Renato também quero fazer um agradecimento geral.

A todas as minhas amigas, Helena, Cátia, Sofia, Carol, Lili, Mariana, Andreia, Joana, Xana e Beatriz, agradeço todo o companheirismo ao longo desta jornada.

Às colegas da faculdade, Mariana, Inês, Madalena e Beatriz, pois lado a lado caminhámos juntas nesta formação e vocês foram fundamentais na transformação deste percurso difícil em algo mais fácil.

E por fim, à pessoa mais especial da minha vida, Renato, a ti agradeço todo o apoio, amizade, carinho e, principalmente, a tua presença ao longo destes sete anos, essenciais para a realização deste sonho.

Resumo

O Vírus da Artrite Encefalite Caprina (*Caprine Arthritis Encephalitis Virus* – CAEV) pertence ao género *lentivírus* e à família *Retroviridae* e é bastante conhecido devido à sua distribuição mundial, principalmente em países industrializados. O seu contágio deve-se à ingestão de colostro ou leite proveniente de cabras infetadas e de vetores. Apesar da maioria dos animais infetados permanecerem assintomáticos, a forma clínica da doença inclui artrite, encefalite, mamite e pneumonia, que podem ocorrer isoladamente ou em simultâneo.

Em Portugal, existe pouca informação sobre a seroprevalência de lentivírus nos pequenos ruminantes e sobre os fatores de risco associados à infeção. Por isso, o objetivo principal deste trabalho é estudar a seroprevalência de CAEV em efetivos de caprinos leiteiros, os fatores de risco associados à infeção e o seu impacto nos efetivos.

Foram estudadas seis explorações de caprinos leiteiros da região Oeste de Portugal, onde todas as fêmeas reprodutoras foram testadas serologicamente para o vírus da CAE e, também, foi realizado um questionário a cada produtor de forma a recolher informações sobre cada exploração.

A compra de animais e a elevada taxa de refugo e mortalidade na exploração foram fatores associados a seropositividade mais elevada nos efetivos.

Palavras-chave: CAEV, Caprinos leiteiros, Seropositividade, Fatores de risco, Portugal.

Abstract

Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV) belongs to the lentivirus genus and the Retroviridae family and is well known due to its worldwide distribution, mainly in industrialised countries. Its infection is due to the ingestion of colostrum or milk from infected goats and vectors. Although most infected animals remain asymptomatic, the clinical form of the disease includes arthritis, encephalitis, mastitis and pneumonia, which may occur in isolation or simultaneously.

In Portugal, there is little information on the seroprevalence of lentivirus in small ruminants and the risk factors associated with infection. Therefore, the main objective of this work is to study the seroprevalence of CAE in dairy goat herds, the risk factors associated to the infection, and its impact on the herds.

Six dairy goat farms in the Western region of Portugal were studied, where all breeding females were serologically tested for the CAE virus. A questionnaire was given to each producer in order to gather information about each farm.

The purchase of animals, high culling rates and mortality rates on farm were factors associated with higher seropositivity in the herds.

Keywords: CAEV, Dairy goats, Seropositivity, Risk factors, Portugal.

Abreviaturas

Ac - Anticorpo

ACRO - Associação dos Criadores e Reprodutores de Gado do Oeste

Ag – Antigénio

AGID - Teste de imunodifusão em gel de ágar

AIE - Anemia Infeciosa Equina

BIV - Vírus da imunodeficiência bovina

CA - Cápsidio

CAE - Artrite Encefalite Caprina (Caprine Arthritis Encephalitis)

CAEV – Vírus da Artrite Encefalite Caprina (Caprine Arthritis Encephalitis Virus)

CIDR - Dispositivo intravaginal libertador de progesterona

DAE - Deslocamento de abomaso à esquerda

DNA - Ácido desoxirribonucleico

eCG - Gonadotrofina coriônica equina

EIAV - Vírus da anemia infecciosa equina

ELISA - Ensaio de imunoabsorção enzimática

ELISA-i - ELISA indireto

FIV - Vírus da imunodeficiência felina

GnRH - Hormona libertadora de gonadotrofinas

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

HIV-1 - Vírus da imunodeficiência humana tipo 1

HIV-2 - Vírus da imunodeficiência humana tipo 2

IA - Inseminação artificial

IDTC - Intradermotuberculinização Comparada

IN - Integrase

LAMP - Loop-mediated isothermal amplification

MV - Maedi-Visna

MVV - Vírus de Maedi-Visna

NC – Nucleocápsidio

OIE – Organização internacional para a saúde animal

PCR – Polimerase chain reaction

PIDR - Dispositivo intravaginal libertador de progesterona

PgF₂ α - Prostaglandina 2 α

PR – Protease

RNA - Ácido ribonucleico

SIV - Vírus da imunodeficiência de várias espécies de macacos

SRLV – Lentivírus dos pequenos ruminantes

SU - Superfície

SYBR - Reagente para coloração de DNA no gel da eletroforese

TR - Transcriptase reversa

TM - Transmembranar

WB - Teste de Western Blotting

Índice Geral

Agradecimentos.....	3
Resumo	5
Abstract	6
Abreviaturas	7
Índice Geral	9
Índice de Tabelas.....	11
Índice de Figuras	12
Casuística do Estágio.....	13
1. Introdução	18
2. Revisão bibliográfica.....	19
2.1. Vírus da Artrite Encefalite Caprina.....	19
2.1.1. Morfologia.....	20
2.1.2. Replicação	22
2.1.3. Transmissão.....	23
2.1.4. Patogenia e Resposta Imune.....	24
2.1.5. Sinais clínicos.....	25
2.1.6. Diagnóstico.....	27
2.1.7. Prevenção e controlo	29
3. Material e Métodos	31
3.1. População em estudo e Critérios de inclusão.....	31
3.2. Testagem laboratorial.....	32
3.3. Questionário	33
3.4. Análise estatística.....	34
4. Resultados	35
4.1. Caracterização das explorações.....	35
4.2. Prevalência de CAEV	35

4.3.	Compra de animais e Seropositividade	36
4.4.	Refugo e Seropositividade	37
4.5.	Mortalidade e Seropositividade	39
5.	Discussão de resultados.....	41
6.	Conclusão.....	45
7.	Bibliografia	46
	Anexos.....	51

Índice de Tabelas

Tabela 1: Número de bovinos intervencionados em ações sanitárias	14
Tabela 2: Número de caprinos e ovinos intervencionados em ações sanitárias.....	15
Tabela 3: Número de intervenções realizadas na área de cirurgia e obstetrícia.....	17
Tabela 4: Principais doenças causadas por Lentivírus.	20
Tabela 5: Número total de efetivo e número de fêmeas adultas em lactação.....	32
Tabela 6: Prevalência de CAEV na população estudada (número absoluto/ frequência relativa).....	36
Tabela 7: Frequência absoluta e relativa e relativa do número de animais refugados e de animais refugados positivos a CAEV.....	37
Tabela 8: Número de animais de Refugo em função do resultado do teste ao CAEV (Vírus da Artrite Encefalite Caprina) ser (Positivo ou Negativo).	37
Tabela 9: Animais refugados seropositivos e as suas principais causas.	38
Tabela 10: Frequência absoluta do número de mortes e número de mortes positivas a CAEV reportadas pelo produtor em cada exploração.	39
Tabela 11: Número de animais mortos com CAEV (Vírus da Artrite Encefalite Caprina)..	39

Índice de Figuras

Figura 1: Número de casos clínicos observados por espécie na primeira parte do estágio...	13
Figura 2: Número de casos clínicos observados por área de intervenção na primeira parte do estágio.....	14
Figura 3: Número de casos clínicos observados na área de reprodução.	16
Figura 4: Fotografia de uma urgência veterinária: A) Resolução com sutura de buhner; B) Prolapso vaginal (com prolapso cervical) (Originais da autora).	17
Figura 5: Estrutura dos viriões pertencentes à família Retroviridae (Adaptado de Ravazollo and Costa, 2007).....	21
Figura 6: Patogenia das infecções causadas por Lentivírus (Adaptado de Blacklaws, 2012)	24
Figura 7: Sinais clínicos de CAEV. 1) Pulmões com pneumonia intersticial, difusa, severa, com consolidação cranioventral; 2) Articulação intercárpica com descoloração difusa, opaca, áspera, espessada com material necrótico. (Adaptado de Patton, K. et al., 2012)	26
Figura 8: Região Oeste de Portugal (Retirado a 5 de Agosto de 2022 de https://multisector.pt/2017/06/08/si2e-mais-concursos-para-mais-regioes-do-pais/)	31
Figura 9: A) Colheita de sangue pela veia jugular. (Retirado a 5 de Agosto de 2022 de https://www.istockphoto.com/br/foto/o-sangue-da-cabra-na-veia-jugular-gm1153468023-313287153); B) Exemplar de um inquérito realizado ao produtor (Original da autora).....	33
Figura 10: Caracterização da população em estudo.	35
Figura 11:Frequência absoluta de animais comprados nos últimos 24 meses em cada exploração.	36
Figura 12: Causas de refugo.	38

Casuística do Estágio

O estágio curricular para conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária decorreu em dois lugares distintos.

A primeira parte do estágio decorreu sob a orientação externa do Médico Veterinário Dr. João Vieira, entre 15 de setembro a 30 de novembro de 2020, tendo uma componente prática, com maior incidência na clínica de espécies pecuárias, e uma componente de investigação sobre o Vírus da Artrite Encefalite Caprina (*Caprine Arthritis Encephalitis Virus* - CAEV). O Dr. João Vieira presta serviços Médico-Veterinários em regime de ambulatório, na região Oeste de Portugal Continental, desde Alcobaça, Alenquer, Arruda dos Vinhos, Bombarral, Cadaval, Caldas da Rainha, Lourinhã, Nazaré, Óbidos, Peniche, Sobral de Monte Agraço e Torres Vedras.

Os serviços Médico-Veterinários praticados em regime de ambulatório passam pelas consultas de campo em clínica geral, pelo controlo reprodutivo, intervenções cirúrgicas, sanidade, urgências, e, por fim, necropsias em espécies pecuárias e também em animais de companhia.

Durante esta parte do estágio, foram intervencionados 1512 animais no total, com registo de 10 cães, 5 gatos, 3 equinos, 2 suínos, 357 bovinos, 319 caprinos e em maior número os ovinos, com 816 animais assistidos (Figura 1).

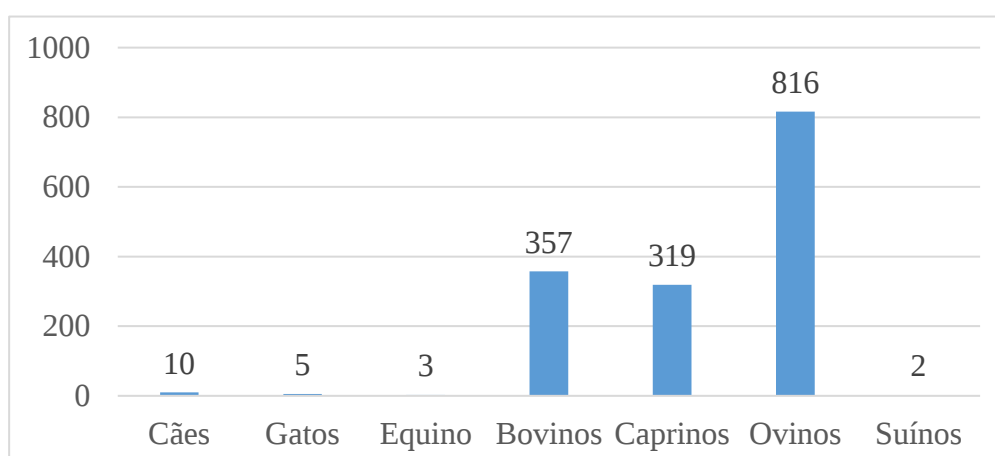


Figura 1: Número de casos clínicos observados por espécie na primeira parte do estágio.

A distribuição da casuística por área de intervenção correspondeu a 22 casos de clínica geral, 282 casos de controlo reprodutivo, 19 casos de intervenção cirúrgica, 6 necropsias, 1170 casos de sanidade anual e 13 urgências, confirmando no total os 1512 animais intervencionados (Figura 2).

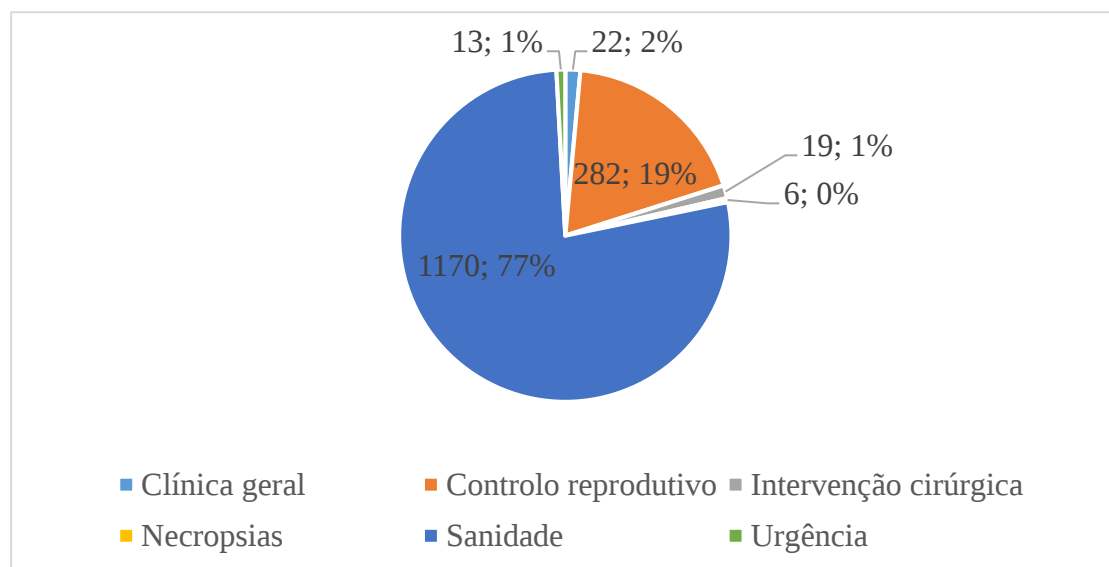


Figura 2: Número de casos clínicos observados por área de intervenção na primeira parte do estágio.

A área de intervenção que teve maior destaque foi a sanidade com 1170 casos repartidos pelos bovinos, caprinos e ovinos. O saneamento anual consiste na colheita de sangue para o rastreio da Brucelose, realização da prova de intradermotuberculinização comparada (IDTC) em bovinos, vacinação, desparasitação e colocação de identificação eletrónica em forma de brinco e/ou chip (Tabela 1 e Tabela 2). Estas intervenções sanitárias anuais são obrigatórias e organizadas pela Associação dos Criadores e Reprodutores de Gado do Oeste (ACRO) onde o Dr. João Vieira é colaborador.

Tabela 1: Número de bovinos intervencionados em ações sanitárias

Bovinos				
Saneamento anual	Colheita de sangue	IDTC	Vacinação	Desparasitação
	62	62	173	173
Testes de pré-movimentação	19			
Colocação de Brincos e/ou chip	6			

Tabela 2: Número de caprinos e ovinos intervencionados em ações sanitárias.

Ovinos e Caprinos			
Saneamento anual	Colheita de sangue	Vacinação	Desparasitação
	997	417	417
Colocação de Brincos e/ou chip	359		

Durante o decorrer do estágio, a estagiária teve a ocasião de acompanhar, lado a lado, o trabalho do Dr. João Vieira e da sua família na Sociedade Agrícola Vale do Medo, Lda que se dedica à engorda de bovinos de aptidão de carne. Nesta exploração, os animais passam por quatro etapas de produção: receção, adaptação, crescimento e finalização – até estarem em condições para abate.

Ao longo do estágio, também houve oportunidade para a investigação do Vírus da Artrite Encefalite Caprina (*Caprine Arthritis Encephalitis Virus* - CAEV), o tema da dissertação, através das visitas às seis explorações em estudo e do apoio da ACRO.

A segunda parte do estágio decorreu na Clínica Veterinária de Santo Onofre, de modo a acompanhar o Médico Veterinário Dr. António Cortes, de 1 de fevereiro até 30 de abril de 2021 e baseou-se na clínica de espécies pecuárias. A Clínica está sediada na cidade de Elvas, mas também presta serviços em regime de ambulatório na região do Alto Alentejo, mais propriamente em oito dos quinze municípios pertencentes - Arronches, Avis, Campo Maior, Elvas, Fronteira, Monforte, Portalegre e Sousel.

Durante estes três meses de estágio, os dias eram divididos entre manhãs e tardes. Nas manhãs eram realizados os serviços Médico-Veterinários previamente agendados com o produtor, nomeadamente sanidade e manejo reprodutivo das explorações, enquanto que as tardes eram reservadas para as urgências.

A área de intervenção com maior casuística foi o manejo reprodutivo das explorações, pois é a área de maior interesse do Dr. António Cortes. Este acompanhamento reprodutivo inclui protocolos de sincronização para a realização de inseminação artificial com posterior diagnósticos de gestação.

O protocolo de sincronização utilizado consiste na administração intramuscular da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) e aplicação de um dispositivo intravaginal libertador de progesterona (CIDR ou PRID) ao dia 0; administração de prostaglandina F2 α (PgF2 α) e gonadotrofina coriônica equina (eCG) e retirada do dispositivo intravaginal de progesterona ao dia 7; e inseminação artificial em tempo fixo com uso de sémen congelado e administração de GnRH ao dia 9. O diagnóstico de gestação era feito ou através de palpação retal ao dia 30, ou através do uso de ultrassonografia (ecografia) transretal (Modo B) ao dia 26 após IA.

No total foram observados 1029 bovinos, a sua maioria de aptidão de carne, na área de intervenção de manejo reprodutivo (Figura 3).

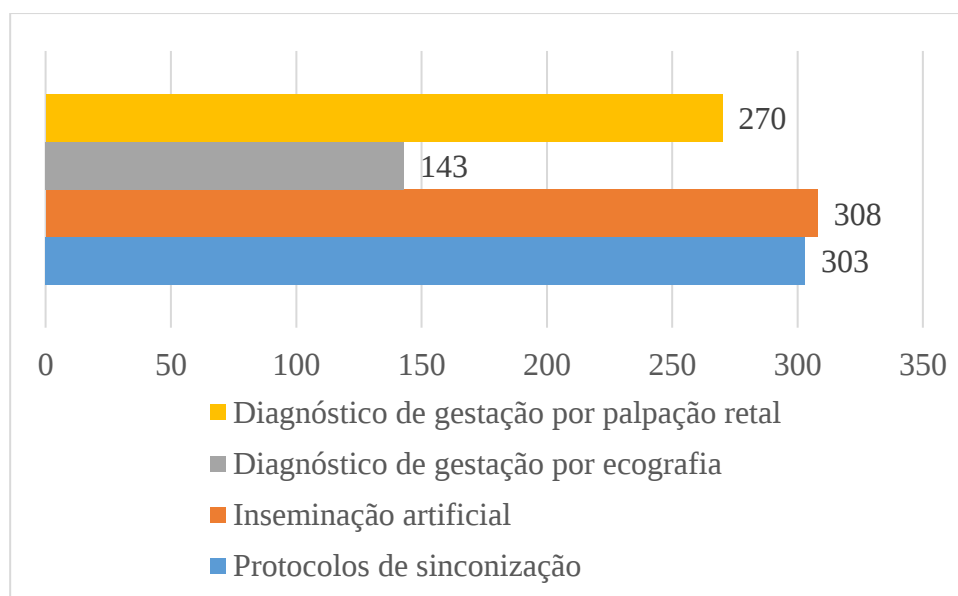


Figura 3: Número de casos clínicos observados na área de reprodução.

A segunda maior área de intervenção foram as intervenções cirúrgicas e obstétricas, pois surgiam normalmente nas urgências, onde foram realizadas 3 cesarianas, 1 descorna, 1 correção de deslocamento de abomaso à esquerda (DAE), 4 orquiectomias, 2 correções de prolapso vaginal, 4 correções de prolapso uterino e 1 correção de prolapso retal (Tabela 3). Foram também assistidos 7 partos distócicos. Os partos distócicos e os prolapsos uterinos foram as intervenções com maior ocorrência (Figura 4).

Tabela 3: Número de intervenções realizadas na área de cirurgia e obstetrícia.

Intervenções cirúrgicas e obstétricas	Nº de casos
Parto distócico	7
Orquiectomia	4
Correção de prolapso uterino	4
Correção de prolapso vaginal	2
Cesariana	3
Descorna	1
Correção de prolapso retal	1
Correção de deslocamento de abomaso à esquerda	1
Total	23



Figura 4: Fotografia de uma urgência veterinária: A) Resolução com sutura de buhner; B) Prolapso vaginal (com prolapso cervical) (Originais da autora).

1. Introdução

Os caprinos foram dos primeiros animais a serem domesticados pelo Homem, revelando uma grande importância no mundo, e também em Portugal, devido à sua contribuição na agricultura, alimentação, comércio e religião, o que contribuiu para o desenvolvimento socioeconómico no mundo inteiro (Solaiman 2010).

Em Portugal, a comercialização do leite de cabra tem vindo a diminuir devido ao decréscimo do número de efetivos caprinos o que leva consequentemente à diminuição da produção nacional de leite e de carne provenientes do mesmo (Matos, 2000). Paula Cabo (2017) mostra que os queijos qualificados de ovelha e cabra exibiram uma tendência global de decréscimo em reflexo da diminuição de explorações abastecedoras de leite, com 175 explorações leiteiras a abandonar a atividade ao longo da década.

Apesar desta diminuição, a criação de caprinos tem uma enorme importância, não apenas pela produção de carne e leite, mas também pela conservação das explorações e da sua empregabilidade em regiões rurais com elevado despovoamento, onde a agricultura e a produção pecuária são atividades socioeconómicas muito importantes (Silva et al. 2007).

Hoje em dia, a clínica de espécies pecuárias deve incidir na medicina preventiva, prestando atenção ao controlo das doenças infecciosas e parasitárias, de forma a que a saúde animal contribua de forma positiva para a atividade económica das explorações. Por essa razão, esta dissertação é importante para mostrar que as doenças infecciosas, em especial a artrite-encefalite caprina (CAE), têm um impacto económico muito relevante na produção de caprinos leiteiros. A CAE é uma doença progressiva e bastante debilitante causada pelo vírus da artrite-encefalite caprina (CAEV) atualmente denominado como lentivírus dos pequenos ruminantes (SRLV) (Blacklaws et al., 2004).

2. Revisão bibliográfica

2.1. Vírus da Artrite Encefalite Caprina

O Vírus da Artrite Encefalite Caprina (*Caprine Arthritis Encephalitis Virus* - CAEV) pertence ao género *lentivírus* dos pequenos ruminantes (SRLV) e à família *Retroviridae*. Pode ainda ser classificado como um retrovírus exógeno não oncogénico com um genoma complexo (Quérat and Vigne, 2000).

Em 1959, na Suíça, a artrite-encefalite caprina foi observada pela presença de artrite crónica em caprinos adultos. As alterações respiratórias idênticas a Maedi-Visna em caprinos foram descritas na Índia, enquanto que no Japão descreveram alterações histopatológicas de poliartrite crónica. Através da deteção por microscopia eletrónica de partículas virais foi confirmado que a doença era causada por um vírus, semelhante à do vírus Maedi-Visna, em células do plexo coroide caprino (Callado et al, 2001). A primeira descrição de CAEV ocorreu mais tarde, em 1974, com a presença de lesões no sistema nervoso central de cabritos jovens. Foi detetado linfocitose e posterior ataxia até paralisia total dos membros, sendo acompanhado de pneumonia intersticial e hiperplasia pulmonar linfoide (Cruz, 2009; Penido, 2015). Apenas em 1980 nos Estados Unidos da América, em Washington, após a identificação do agente, o vírus da artrite encefalite caprina foi descrito à comunidade científica como uma virose, sendo classificado como um *lentivírus* da família *Retroviridae*, denominado CAEV (Callado et al, 2001).

A CAE apresenta uma distribuição mundial, mas a sua ocorrência é mais alta nos países industrializados devido à circulação internacional de raças europeias de caprinos leiteiros (OIE, 2018). Um estudo epidemiológico realizado em 112 localizações, de 14 países distintos, utilizou 3.729 amostras de soro apresentando uma prevalência de 33,9% de animais seropositivos confirmando assim a distribuição cosmopolita da artrite encefalite caprina (Bezerra *et al.*, 2014).

Além do CAEV, os *lentivírus* incluem vírus da imunodeficiência humana (HIV-1 e HIV-2), vírus da imunodeficiência de várias espécies de macacos (SIV), vírus da anemia infecciosa equina (EIAV), vírus da imunodeficiência felina (FIV), vírus da imunodeficiência bovina (BIV) e vírus de Maedi-Visna (*Maedi-Visna Virus* – MVV) em ovinos. A comparação da sequência de nucleosídeos de vários *lentivírus* isolados que infetam ovelhas e cabras, ou

seja, MVV e CAEV, revela que esses vírus estão intimamente relacionados e mostram menos similaridade com os outros *lentivírus* animais e humanos (Quérat and Vigne, 2000).

Os *Lentivírus* causam infecções persistentes ao longo da vida, apesar de provocarem uma resposta imunológica vigorosa. Eles são a origem de doenças degenerativas e inflamatórias do tecido conjuntivo específico (CAEV e MVV) ou alterações patológicas no sistema imunológico, resultando em síndromes de imunodeficiência graves (Quérat and Vigne, 2000). Na Tabela 4, de Bezerra *et al.* (2014), está apresentada a principal doença causada pelo *Lentivírus* consoante a espécie afetada.

Tabela 4: Principais doenças causadas por *Lentivírus*.

Espécie Acometida	Doença Causada
Caprinos	Artrite Encefalite Caprina (CAE)
Ovinos	Maedi-Visna (MV)
Equinos	Anemia Infeciosa Equina (AIE)
Bovinos	Imunodeficiência Bovina (BIV)
Felinos	Imunodeficiência felina (FIV)
Primatas não humanos	Imunodeficiência Símia (SIV)
Humanos	Imunodeficiência humana (HIV – 1 e 2)

2.1.1. Morfologia

A morfologia do CAEV é muito idêntica à de outros *Lentivírus*. A partícula viral completa, o *virion*, mede entre 80 a 100 nm de diâmetro e contém um envelope esférico, de glicoproteínas e lípidos, e um capsídeo de simetria icosaédrica que contém duas moléculas iguais de ácido ribonucleico (RNA) (Silva, 2006). Na superfície viral possui uma enorme

quantidade de ácido siálico, este protege as proteínas virais da digestão por proteases e da rápida neutralização viral por anticorpos (Cruz, 2009; Fields et al, 2007; Penido, 2015).

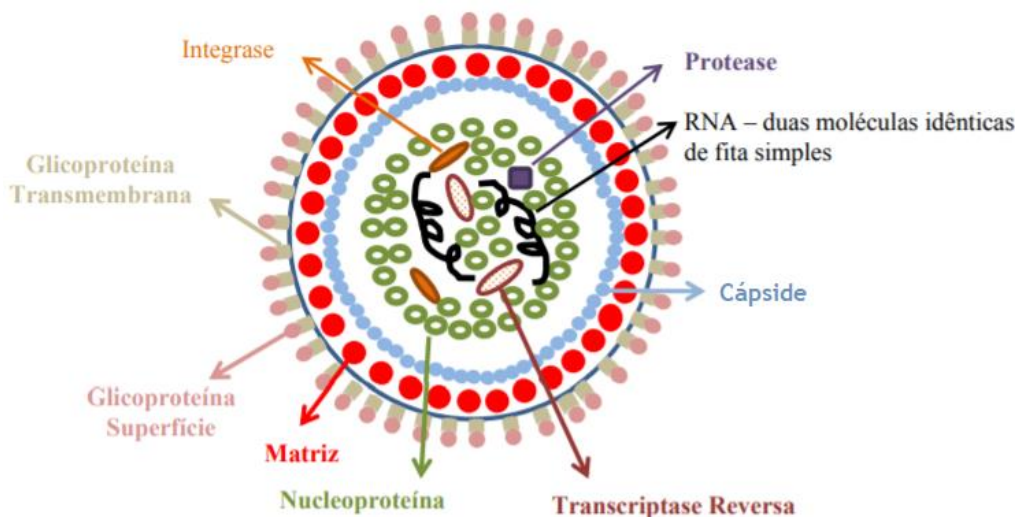


Figura 5: Estrutura dos viriões pertencentes à família Retroviridae (Adaptado de Ravazollo and Costa, 2007)

O genoma viral é composto por duas fitas simples de RNA sense + e possui os genes *gag*, *env* e *pol*, típicos da família Retroviridae, e os genes regulatórios *tat*, *rev* e *vif* (Silva, 2006).

As proteínas estruturais, cápsidio (CA), nucleocápsidio (NC) e matriz (MA), são codificadas pelo gene *gag*, as glicoproteínas presentes na superfície do *virion*, superfície (SU) e transmembranar (TM), são codificadas pelo gene *env* e as enzimas, transcriptase reversa (RT), protease (PR) e integrase (IN), são codificadas pelo gene *pol*. A regulação da expressão viral é realizada pelos genes *tat* e *rev*, o primeiro aumenta a transcrição pelo RNA polimerase e o segundo exporta RNA mensageiros virais do núcleo para o citoplasma, enquanto que o gene *vif* está relacionado com a infecção viral pois aumenta a replicação do vírus nos linfócitos (Bezerra et al., 2014; Maclachlan and Dubovi, 2010; Silva, 2006).

2.1.2. Replicação

In vivo o CAEV replica-se em células do sistema monocítico-fagocitário e a principal célula infectada pelo vírus é o macrófago. A replicação viral começa nos monócitos mas só termina quando estes se diferenciam em macrófagos. Quando o *virion* é formado intracelularmente em vacúolos citoplasmáticos, não é visível nenhuma alteração celular, este acontecimento é conhecido como restrição da replicação, que permite ao vírus permanecer nos monócitos por longos períodos, sem ser detetado pelo sistema imunitário (Cruz, 2009).

Assim sendo, os macrófagos são responsáveis pela disseminação do vírus pelo organismo, tanto em animais experimentalmente infectados como naturalmente infectados. Entretanto, o RNA viral é detetado em células endoteliais, epiteliais e fibroblásticas presentes nos tecidos alvo: glândula mamária, pulmões e sistema nervoso central (Mselli-lakhal *et al.*, 1999; Sanna *et al.*, 1999; Murphy *et al.*, 2006; Penido, 2015).

Os *lentivírus*, como não dependem da síntese do DNA celular para se replicarem, conseguem replicar-se em células diferenciadas que não se estão replicando. Uma das particularidades destes organismos é a presença da enzima RT, esta permite que o RNA viral dê origem à dupla fita de DNA pró-viral que se incorpora no genoma celular (Silva, 2006).

As etapas da replicação dos *lentivírus* são:

- 1) A adsorção ocorre quando o *virion* liga-se aos recetores presentes na superfície das células-alvo;
- 2) O desnudamento, ou seja, o envelope viral funde-se à membrana celular e o nucleocapsídeo é libertado intracelularmente;
- 3) A transcrição reversa acontece porque a enzima viral RT transcreve o RNA genómico viral numa dupla fita de DNA;
- 4) A dupla fita de DNA é transportada para o núcleo celular e introduzido pela enzima integrase no genoma celular, como um pró-vírus;
- 5) O DNA pró-viral é transcrito em RNA genómico e mensageiro (RNAm) que é transportado para o citoplasma, onde é traduzido em proteínas virais;
- 6) Os *virions* são formados e libertados da célula através do brotamento;
- 7) Por fim, o vírus recebe um envelope esférico, onde a membrana celular é constituída por glicoproteínas e lípidos (Silva, 2006);

Os caprinos naturalmente infetados com CAEV expressam o DNA pró-viral em vários tecidos, principalmente no trato genital como útero, ovidutos e glândula mamária. A transmissão vertical da doença pode ocorrer pela presença do *lentivírus* nestes tecidos (Fieni *et al.*, 2002).

2.1.3. Transmissão

O conhecimento do modo de transmissão do vírus é muito importante, tal como o seu ciclo de vida, para implementação de medidas de controlo e prevenção da doença (Bezerra *et al.*, 2014).

Durante os primeiros meses de vida, ocorre a principal via de transmissão do CAEV nos animais pela ingestão de colostro ou leite de cabras infetadas (Cruz, 2009).

Contudo, a introdução de caprinos infetados nos rebanhos; a utilização do aplicador de brincos e tatuagens sem desinfeção prévia; a descorna deixando feridas abertas; a deficiente higienização das salas de ordenhas; a reutilização de material descartável; a presença de gâmetas e/ou embriões infetados; ou seja, onde exista o envolvimento de sangue é considerado a segunda forma mais comum de propagação da doença (Penido *et al.*, 2017; Metzger, 2018).

Além disso, é provável que a transmissão via intrauterina ou durante o parto possa ocorrer, uma vez que há deteção do agente viral nas células epiteliais do útero *in vivo* (Ali *et al.*, 2012). A transmissão horizontal deve ser considerada, apesar de ter uma importância menor, pois é necessário um contato prolongado com a saliva e secreções respiratórias e urogenitais de animais infetados (Callado *et al.*, 2001).

2.1.4. Patogenia e Resposta Imune

Normalmente a infecção natural por Lentivírus de pequenos ruminantes ocorre através de superfícies mucosas, principalmente do trato respiratório e intestinal (figura 6) (Blacklaws, 2012).

A disseminação do vírus ocorre devido aos monócitos infectados quando chegam aos órgãos envolvidos na doença- pulmões, glândula mamária, cérebro e articulações- maturam para macrófagos. Após a introdução do vírus nas células-alvo, através da enzima transcriptase reversa, o RNA fita simples gera o DNA pró-viral, que incluído no genoma do hospedeiro, causa uma infecção persistente (Bezerra *et al.*, 2014).

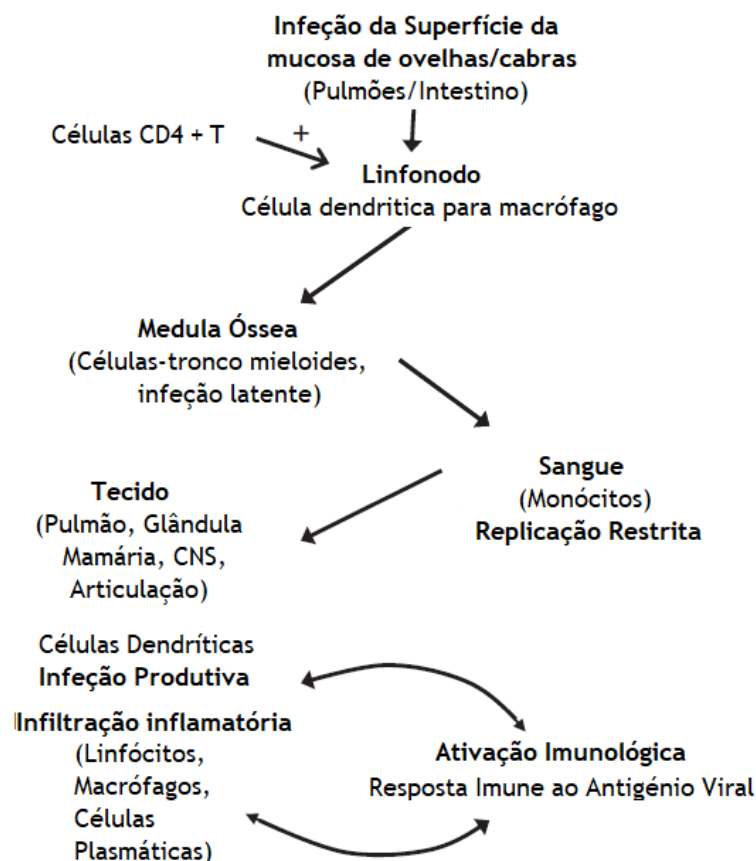


Figura 6: Patogenia das infecções causadas por Lentivírus (Adaptado de Blacklaws, 2012)

Na mucosa encontram-se as células-alvo infectadas, os monócitos, que se movem para os linfonodos regionais e se transformam em macrófagos, o vírus prolifera-se rapidamente

provocando nos órgãos envolvidos na doença- pulmões, glândula mamária, cérebro e articulações- sinais de inflamação. Ao serem infectados, os macrófagos produzem uma proteína viral que estimula a produção de citocinas pelos linfócitos T. O macrófago infectado também fica mais suscetível a sofrer ativação, induzindo a proliferação de linfócitos e macrófagos (Bezerra *et. al*, 2014; Blacklaws, 2012; Pugh, 2004).

Existem vários fatores que contribuem para a persistência da infecção viral: latência nos monócitos, pelo DNA pró-viral; o vírus é capaz de se replicar independentemente da síntese de DNA celular; restrição na replicação viral, pois só ocorre quando o monócito se transforma em macrófago após migração; baixa concentração de anticorpos neutralizantes anti-CAE, incapazes de eliminar todas as células infectadas; alta variabilidade genética (constantes mutações) dificultando a ação do sistema imunitária; é possível que o DNA pró-viral ao integrar-se no genoma de células tronco da medula óssea, provoque uma produção contínua de células infectadas ao longo da vida do animal; (Bezerra *et. al*, 2014; Blacklaws, 2012; Pugh, 2004; Silva, 2006).

2.1.5. Sinais clínicos

Em geral, os animais infectados permanecem assintomáticos e só manifestam a forma clínica em rebanhos com alta prevalência de seropositividade a CAEV. Esta é uma doença crônica e lenta com vários sinais clínicos, sendo que o principal sinal clínico nos animais jovens (até 6 meses de idade) é a encefalomielite. Quando ocorre encefalomielite observa-se desmielização, aumento do número de leucócitos no líquido cefalorraquidiano, infiltração de células mononucleares e astrocitose na medula e no cérebro (Penido, 2015).

São quatro os principais quadros clínicos do CAEV e dividem-se em: artrite, encefalite, mamite e pneumonia, que podem ocorrer de forma isolada ou simultânea (Silva, 2006).

O quadro clínico mais frequente da CAEV é a forma artrítica e caracteriza-se por uma artrite degenerativa crônica envolvendo principalmente o carpo e o tarso, atingindo os animais com idade superior a um ano. É visível o aumento das articulações associado, por vezes, à manifestação de dor. Na fase avançada da artrite, apesar de não haver alteração do apetite, os animais emagrecem, provocando uma diminuição da produção de leite, podem

também apresentar claudicação e locomoção com apoio dos joelhos. As principais causas de um refugo precoce nos animais são os problemas de locomoção e a diminuição da produtividade (Martins, 2019; Silva, 2006).

A forma encefálica atinge todas as faixas etárias, mas os animais com dois a quatro meses de idade são os mais afetados. Os primeiros sinais clínicos são fraqueza e ataxia. Este quadro progride para uma paralisia progressiva da musculatura dos membros posteriores, estendendo-se aos membros anteriores, levando o animal a permanecer em decúbito. No final, os animais apresentam opistótono e movimentos de pedalar (Pugh, 2004).

Por outro lado, a ocorrência de pneumonia crônica em caprinos é esporádica. Quando ocorre apresenta uma evolução aguda, inicialmente provoca dificuldade respiratória e emagrecimento progredindo para pneumonia purulenta acompanhada de febre, secundária à infecção bacteriana (Pugh, 2004).

Por fim, a mamite intersticial é o quadro clínico mais característico da forma mamítica, provoca o endurecimento e a atrofia da glândula mamária. Em algumas explorações chega a atingir mais de 60% das cabras, provocando um grande impacto económico pela redução, normalmente de 10% - 15%, ou mesmo supressão da produção de leite (Martins, 2019; Silva, 2006).

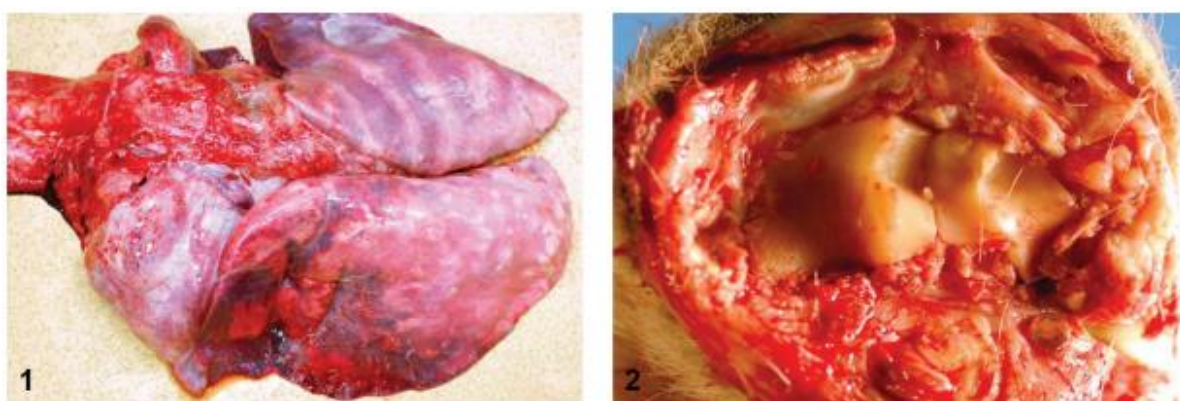


Figura 7: Sinais clínicos de CAEV. 1) Pulmões com pneumonia intersticial, difusa, severa, com consolidação cranioventral; 2) Articulação intercárpica com descoloração difusa, opaca, áspera, espessada com material necrótico. (Adaptado de Patton, K. et al., 2012)

Embora não exista nenhum tratamento específico para esta doença, os animais sintomáticos podem receber cuidados de suporte, incluindo a administração de analgésicos, anti-inflamatórios e antibióticos para o controlo da dor e tratamento de infeções bacterianas oportunistas (Metzger, 2018). Muitos produtores recorrem ao refugio quando se identifica um animal na exploração debilitado e é necessário excluí-lo do rebanho, substituindo-o por outro mais saudável. A única forma fatal da doença é a forma encefálica (Metzger, 2018).

Para prevenir a infeção por Lentivírus poderia recorrer-se à vacinação, mas devido à alta taxa de mutação do vírus e heterogeneidade viral, ainda nenhuma vacina desenvolvida apresentou imunidade duradoura ou mostrou impedir a infeção por SRLV (Henriques et al. 2007; Reina et al. 2013).

2.1.6. Diagnóstico

Em virtude dos diferentes e inespecíficos sinais clínicos e do desenvolvimento subclínico da doença, o seu diagnóstico clínico é insuficiente e é um desafio para o Veterinário e para o Produtor. A maioria destes sinais clínicos são comuns a outras doenças o que leva à dificuldade em chegar a este diagnóstico definitivo, ainda que o Veterinário deve considerar a CAE como um diagnóstico provável perante a ocorrência de inchaço e emaciação nas articulações de cabras adultas (Kaba, 2012). Assim sendo é necessário recorrer a métodos de diagnóstico complementares para CAEV que podem dividir-se em testes sorológicos ou técnicas moleculares, enquanto que o teste sorológico de imunodifusão em gel de ágar (AGID) e o teste ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) concentram-se na deteção de anticorpos CAEV, os métodos de PCR e amplificação isotérmica (LAMP) detetam diretamente o DNA pró-viral do CAEV. O teste *Western Blotting* é o menos usado, mas é considerado um “gold standard” para o diagnóstico sorológico do CAEV (Tu, 2017).

A técnica de diagnóstico sorológico mais utilizada é o teste de imunodifusão em gel de ágar (AGID) para identificação de animais seropositivos a CAEV e é recomendada pela Organização Internacional para a Saúde Animal (OIE, 2017). A técnica consiste numa reação de precipitação da ligação antigénio-anticorpo (Ag-Ac) na placa de gel, quando se forma uma linha de precipitação visível então ocorreu uma conjugação ótima entre Ag-Ac na incubação, os resultados devem ser lidos em 48 a 72 horas para haver certeza da estabilidade, a presença desta linha determina se a amostra é positiva ou negativa (Penido, 2015; Varea *et al.*, 2001).

A especificidade e a sensibilidade deste teste são adequadas para controlo inicial ou programas de triagem. Os falso-negativos podem ocorrer devido à seroconversão tardia, lenta produção de anticorpos ou anticorpos indetetáveis devido ao estado inicial da infeção. Assim, o teste AGID parece ter menor sensibilidade em comparação com o ensaio ELISA (Rodrigues, 2014).

Também recomendado pela OIE, (2017), o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) é outra técnica de diagnóstico sorológico e é mais sensível que o AGID, permite a deteção de anticorpos quando estes se ligam aos antígenos da placa através de um marcador enzimático. O ELISA indireto (ELISA-i) apresenta um maior nível de especificidade pela ligação de anticorpos secundários aos anticorpos primários que tenham se ligado aos antígenos. Devido à diluição do soro, à seroconversão tardia e às oscilações de anticorpos indetetáveis, o número de falso-negativos deste teste também aumentam (Madruga et al, 2001; Penido, 2015; Pinheiro *et al.*, 2010). Mas como o ELISA apresenta maior sensibilidade e especificidade e permite a análise de um maior número de amostras é muito utilizado nos Laboratórios para a deteção da infeção por CAEV (Rodrigues, 2014).

O teste de *Western Blotting* (WB) também serve para diagnóstico serológico mas é o menos usado apesar de ser considerado um “gold standard”, usa a eletroforese em gel para separar as proteínas alvo que se ligam aos anticorpos específicos e através de uma enzima há uma mudança de cor ou um sinal fotométrico (Penido, 2015; Pinheiro *et al.*, 2010). A sensibilidade do WB é igual ou mais sensível que o ELISA (Tu, 2017).

A técnica de PCR (*Polimerase chain reaction*) é referida como sendo a mais fidedigna nos resultados, uma vez que identifica a presença de DNA pró-viral, ou seja, amplifica segmentos específicos de DNA dentro de um genoma para análise (Peterson et al., 2008). É a técnica mais utilizada na ciência, agricultura e medicina devido à rapidez dos resultados e alta sensibilidade (Peterson *et al.*, 2008; Bustin *et al.*, 2009; Penido, 2015). A sensibilidade do diagnóstico por PCR é maior porque deteta resultados positivos mais rápido (aproximadamente 15 dias após a infeção) do que a AGID e o ELISA (40-60 dias pós-infeção), mesmo com baixas quantidades de DNA disponíveis é possível a sua aplicação e os falso-negativos só ocorrem quando a carga viral é mesmo muito baixa para ser detetada (Tu, 2017).

Existe outra técnica molecular para a detecção de DNA pró-viral do CAEV denominada “loop-mediated isothermal amplification” (LAMP). É um método de amplificação isotérmica que permite a detecção de ácidos nucleicos. A técnica LAMP possui vantagens sobre a PCR devido ao reduzido custo, fácil execução e não necessitar de utilizar o termociclador, pois é realizada em termobloco (Huang *et al.*, 2012; Balbin *et al.*, 2014). Devido à fácil execução desta técnica este método é ideal para ser usado pelos produtores em programas de erradicação e estudos epidemiológicos (Tu, 2017).

2.1.7. Prevenção e controle

Bezerra *et. Al*, (2014), sugere que a implementação de um programa sanitário é essencial para evitar a introdução e a disseminação de agentes infecciosos, como o CAEV, no rebanho. Para tal é necessário identificar quais os fatores de risco existentes para serem implementadas medidas para diminuir, ou até eliminar, a disseminação da doença no rebanho. A aplicação de boas estratégias serve para diminuir a prevalência da doença, dando a possibilidade às explorações de obterem o estatuto livre de doença.

O controlo do CAEV é muito difícil. Quando a prevalência de CAEV em um rebanho é de até 30%, está recomendado o refugo precoce dos animais positivos, que o efetivo se torne fechado, sem entrada de novos animais, e que se realize testagem periódica ao rebanho, para que os animais infetados possam ser identificados e separados dos saudáveis ou mesmo eliminados do rebanho (Feitosa, 2011).

Quando a prevalência da doença é maior que 30%, está recomendada a formação de um rebanho de animais negativos separado dos positivos, de forma a aplicar um rigoroso manejo sanitário dos animais negativos e de forma gradual proceder à eliminação do grupo dos animais infetados. No rebanho positivo, deve-se separar os cabritos imediatamente após o nascimento, evitando ao máximo o seu contato com as secreções da mãe; administrar colostro de cabras seronegativas por AGID, tratado termicamente a 56°C por 60 minutos, ou mesmo de vaca; alimentar os cabritos com leite de vaca ou leite de cabras pasteurizado; testar os cabritos a cada seis meses e separar os positivos (Callado *et al*, 2001; Pinheiro *et al.*, 1989; Silva, 2006).

Além disso, os novos animais quando entram no rebanho devem cumprir uma quarentena de até seis meses, durante esse período devem ser realizados dois testes para lentivirose e, também, para outras doenças infecciosas (Bezerra *et al.*, 2014; Pinheiro *et al.*, 1989).

A Universidade do Estado de Michigan em conjunto com Metzger (2018) recomendam a aplicação das seguintes regras para controlar a infecção por CAEV:

1. Prevenir a transmissão perinatal separando os cabritos à nascença para não permitir o contato com a mãe infectada;
2. Evitar a transmissão da doença pela ingestão de colostro ou leite infectado através da administração de colostro tratado termicamente a 56°C por 60 minutos ou leite pasteurizado. Deve ter-se atenção para atingir as temperaturas e os tempos adequados;
3. Manter um programa de testagem no rebanho para identificar as fêmeas positivas ao CAEV;
4. A separação dos animais positivos dos negativos deve ser completa;
5. A linha de ordenha deve manter a seguinte ordem: ordenhar primeiro os animais jovens seronegativos; em segundo adultos seronegativos e, por fim, animais seropositivos;
6. Limitar o contato entre os animais na altura da reprodução, pois existe a possibilidade de transmissão durante a reprodução natural;
7. Não partilhar agulhas, equipamentos de tatuagem, aplicador de brincos ou instrumentos de descorna e devem ser limpos e desinfetados quando partilhados entre animais com estatuto de CAEV desconhecido.

Em relação a Portugal, existe pouca informação descrita sobre a seroprevalência de CAEV, os fatores de risco associados à infecção e o impacto que a doença provoca nos efetivos. Por isso, o objetivo principal deste trabalho é estudar a seroprevalência da CAE em efetivos caprinos leiteiros da região Oeste de Portugal. Objetivos específicos incluem relacionar fatores de risco na exploração, nomeadamente raça, sistema de produção, compra de animais, taxa de refugo e taxa de mortalidade, com a ocorrência de infecção no efetivo.

3. Material e Métodos

3.1. População em estudo e Critérios de inclusão

O estudo retrospectivo da ocorrência de CAEV em rebanhos de caprinos de leite teve lugar na região Oeste de Portugal Continental, que compreende 12 concelhos (Figura 8), desde Alcobaça até Arruda dos Vinhos. O estudo incidiu num período de 24 meses, entre novembro de 2018 e novembro de 2020.

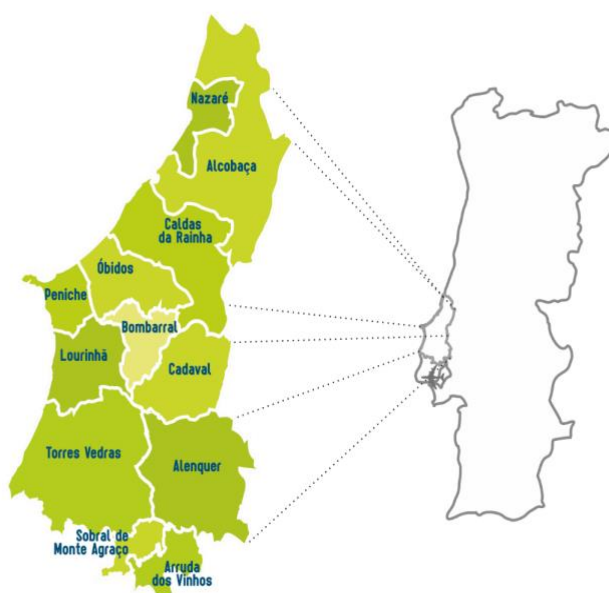


Figura 8: Região Oeste de Portugal (Retirado a 5 de Agosto de 2022 de <https://multisector.pt/2017/06/08/si2e-mais-concursos-para-mais-regioes-do-pais/>)

A população em estudo consistiu de seis explorações de produtores distintos que se dedicam à produção do leite de cabra, todos eles clientes do médico-veterinário João Vieira, clínico e supervisor externo desta dissertação. As amostras de sangue e análises foram realizadas em âmbito clínico, de forma a investigar possíveis causas de subperformance do efetivo. Os produtores concordaram com esta investigação, todos assinaram uma declaração de consentimento de participação neste estudo (Anexo 1), e suportaram os custos da testagem laboratorial.

Todas as fêmeas adultas com mais de 1 ano de idade e em lactação foram incluídas no estudo. As seis explorações em conjunto possuíam um total de 1420 caprinos em idade adulta,

dos quais 543 fêmeas se encontravam em lactação, cumprindo os critérios de inclusão no estudo.

Tabela 5: Número total de efetivo e número de fêmeas adultas em lactação.

Exploração	Efetivo em idade adulta	Fêmeas em estado de lactação
A	163	156
B	334	135
C	228	47
D	53	50
E	101	97
F	541	58
Total	1420	543

3.2. Testagem laboratorial

Aos 543 animais selecionados procedeu-se à colheita individual de uma amostra sanguínea, por punção venosa da veia jugular, em tubos de 10 mL (Vacutainer®, Becton Dickinson, Plymouth, Reino Unido) com ativador de coágulo usando uma agulha de 18 G. As amostras sanguíneas foram refrigeradas e enviadas no próprio dia através do serviço de correio expresso e entregues ao Laboratório de Sanidade Animal e Segurança Alimentar – Segalab para posterior análise.

O método utilizado neste laboratório para a deteção de anticorpos anti-CAEV é ELISA de competição do fabricante *Thermofisher Scientific*. O ensaio imunoenzimático (ELISA) baseia-se na deteção de anticorpos quando estes se ligam aos antígenos (Ag-Ac) da placa, através de um marcador enzimático, sobre um suporte, a reação Ag-Ac ficará imobilizada e poderá facilmente ser revelada mediante a adição de um substrato específico, que sob ação da enzima produzirá uma cor observável a olho nu e quantificado mediante o uso de um espectrofotómetro.

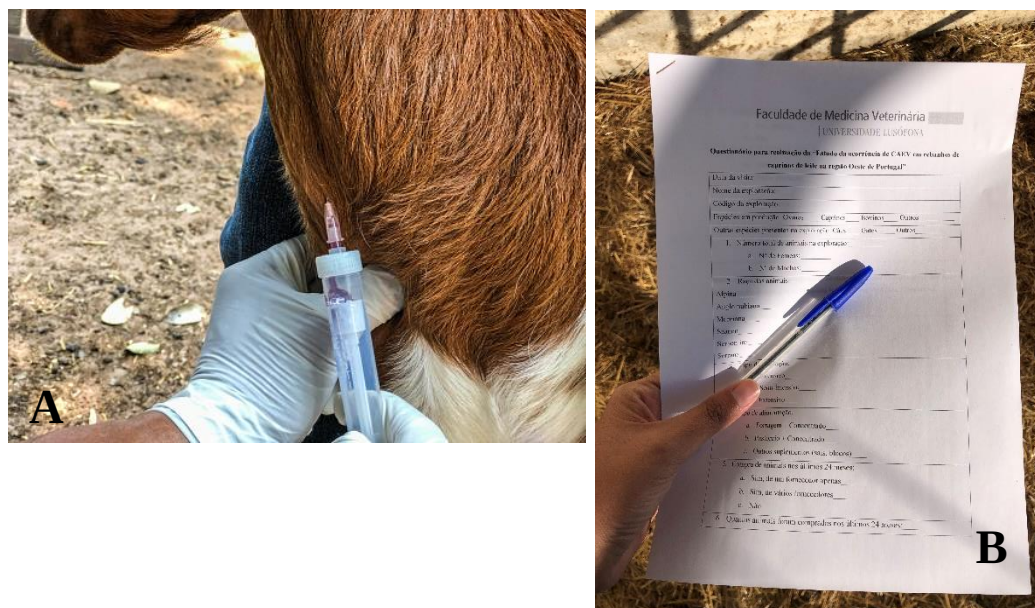


Figura 9: A) Colheita de sangue pela veia jugular. (Retirado a 5 de Agosto de 2022 de <https://www.istockphoto.com/br/foto/o-sangue-da-cabra-na-veia-jugular-gm1153468023-313287153>); B) Exemplar de um inquérito realizado ao produtor (Original da autora).

3.3. Questionário

Para uma melhor caracterização das explorações foi realizado presencialmente um questionário (Anexo 2) a cada produtor. Este questionário teve o objetivo de recolher dados sobre potenciais fatores de risco nas explorações, e incluiu a seguinte informação:

- Identificação da exploração;
- Espécies em produção naquela exploração, como bovinos, caprinos, ovinos ou outros;
- Número do efetivo em idade adulta; incluindo fêmeas não-lactantes; fêmeas em lactação; e machos;
- Raça dos caprinos: Alpina, Anglo-nubiana, Murciana, Saanen, Serpentina, Serrana, entre outras;
- Sistema de produção: Intensivo (sem acesso ao exterior, alimentação à base de forragem e suplementação alimentar), semi-intensivo (acesso a pastagem mas com suplementação alimentar) ou extensivo (acesso a pastagem sem suplementação alimentar);
- Aquisição de novos animais nos últimos 24 meses;
- Número e identificação de animais refugados nos últimos 24 meses;

- Principais causas de refugo nos últimos 24 meses: Artrite, baixa produção, mamite, pneumonia ou outra;
- Número e identificação de animais mortos na exploração nos últimos 24 meses.

O número de animais seropositivos refugados e o número de animais seropositivos mortos na exploração nos últimos 24 meses foi calculado a partir do cruzamento da informação do questionário (animais refugados e mortos na exploração) e dos registos de testagem serológica.

3.4. Análise estatística

Todos os dados recolhidos foram organizados, limpos e processados através do programa Microsoft Excel. A análise estatística descritiva e inferencial dos dados foi realizada através do software SPSS-24.0 (Statistical Package for the Social Sciences).

Para a realização da análise descritiva dos diversos parâmetros, caracterização das explorações, prevalência de CAEV, compra de novos animais, refugo e mortalidade, recorreu-se à frequência absoluta e relativa.

A prevalência de CAEV em cada exploração foi calculada pelo número de animais seropositivos sobre o número de animais amostrados, ou seja, todas as fêmeas em lactação.

Também foi feita uma análise inferencial para estudar a relação entre seropositividade a CAEV (variável dependente) e compra de animais, número de animais de refugo, principais causas de refugo e número de animais mortos (variáveis independentes).

O teste Binomial foi utilizado para avaliar a significância estatística da incidência percentual de uma variável dicotómica, isto é, para testar a ocorrência de uma, das duas realizações de uma variável dicotómica, ou seja, para testar a proposição dessa ocorrência no total de ocorrências registadas (Maroco, 2014).

4. Resultados

4.1. Caracterização das explorações

A figura 10 apresenta a frequência absoluta dos animais em cada exploração, número de fêmeas, fêmeas em lactação e machos. É necessário referir que a amostra em estudo, após cumprir os critérios de seleção, são as fêmeas em lactação.

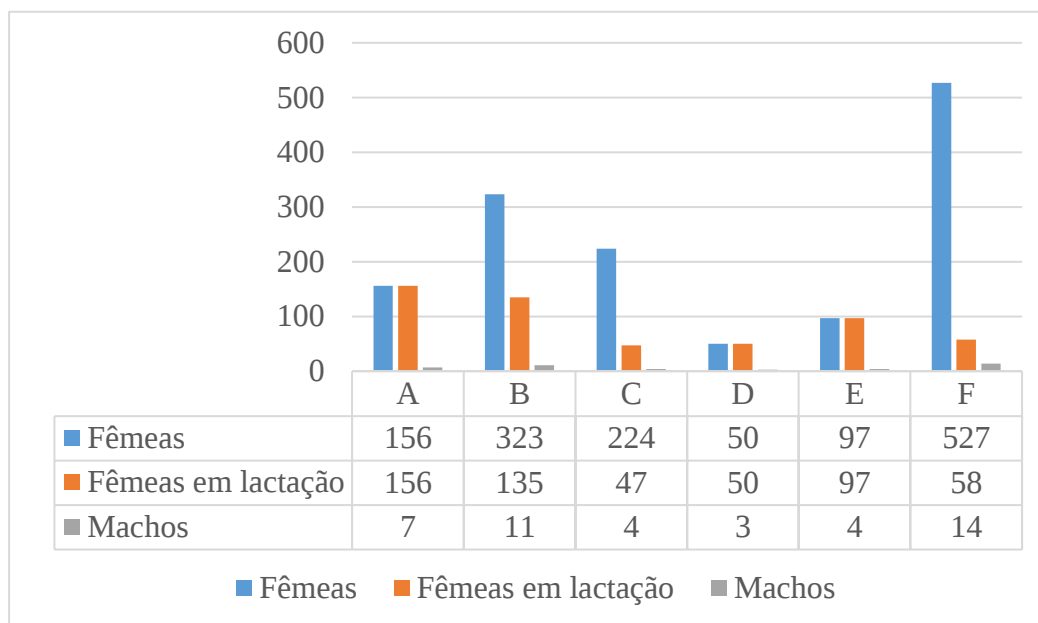


Figura 10: Caracterização da população em estudo.

Todas as explorações apresentavam um sistema de produção semelhante, semi-intensivo. Em relação às raças, todas as explorações apresentavam uma mistura das mesmas raças, nomeadamente um cruzamento entre a raça Saanen, Murciana e Serrana. Logo estes dois fatores (sistema de produção e raça) não foram considerados variáveis no estudo.

4.2. Prevalência de CAEV

A Tabela 6 apresenta o número absoluto das fêmeas em lactação nas seis explorações que foram testadas para CAEV durante os 24 meses do estudo, a frequência absoluta das fêmeas que testaram positivo a CAEV e a prevalência de CAEV na população estudada. A exploração com maior seropositividade é a A e decresce para a F, B, C, E e a D com menor seropositividade.

Tabela 6: Prevalência de CAEV na população estudada (número absoluto/ frequência relativa).

Exploração	Fêmeas testadas	Positivos	%
A	156	122	78%
B	135	48	36%
C	47	15	32%
D	50	3	6%
E	97	11	11%
F	58	26	45%
Total	543	225	

4.3. Compra de animais e Seropositividade

A figura 11 apresenta a frequência absoluta dos animais comprados em cada exploração. Das seis explorações, apenas uma (D) não comprou animais no período estudado, sendo esta a exploração com menor número de casos positivos ao CAEV (tabela 6), mas também a exploração com um menor efetivo total. Também é importante referir que as explorações C, F e B são as que mais adquiriram novos animais.

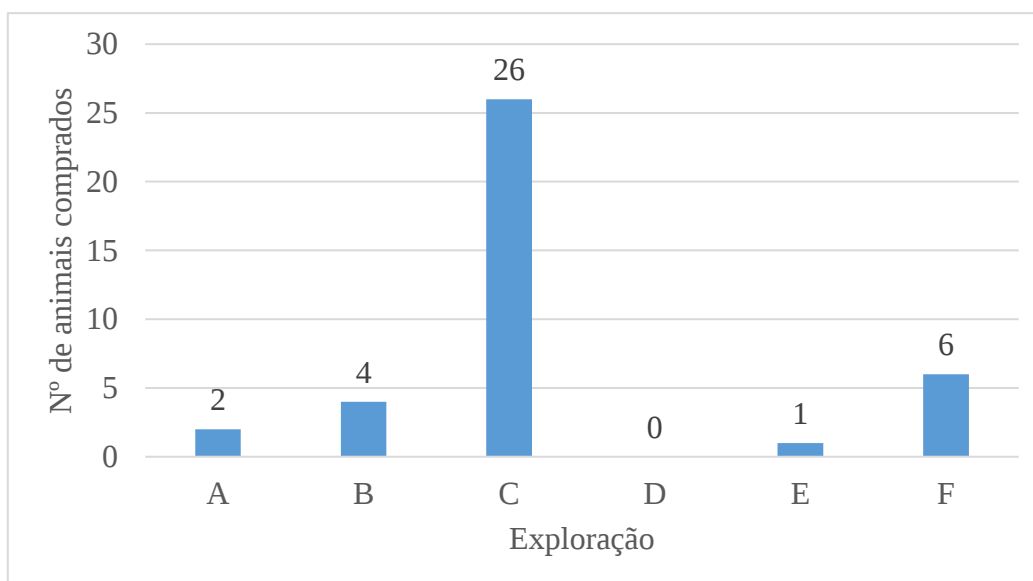


Figura 11: Frequência absoluta de animais comprados nos últimos 24 meses em cada exploração.

4.4. Refugo e Seropositividade

Os dados relativos ao número de animais refugados nas seis explorações e quantos desses animais testaram positivo ao CAEV estão demonstrados na tabela 7, tal como a frequência relativa de animais refugados seropositivos e a prevalência de CAEV em cada efetivo estudado.

Tabela 7: Frequência absoluta e relativa e relativa do número de animais refugados e de animais refugados positivos a CAEV.

Exploração	Número de animais refugados	Número de animais refugados seropositivos a CAEV	% de animais refugados seropositivos a CAEV	Prevalência de CAEV no efetivo testado
A	22	22	100%	78%
B	48	42	85%	36%
C	63	11	17%	32%
D	1	1	100%	6%
E	2	2	100%	11%
F	110	14	13%	45%
Total	246	92		

As explorações com maior seropositividade são a A, F, B e C e observando a tabela 7 estas são as explorações com maior número de animais refugados seropositivos, a E e D são as explorações com menor seropositividade e também são as com menor número de animais refugados seropositivos.

Tabela 8: Número de animais de Refugo em função do resultado do teste ao CAEV (Vírus da Artrite Encefalite Caprina) ser (Positivo ou Negativo).

Teste binomial					
	Categoria	N	Proporção observada	Proporção de teste	Sig exata (bilateral)
Refugo CAEV	Grupo 1	Positivo	92	,37	,000
	Grupo 2	Negativos	154	,63	
	Total		246	1,00	

Relativamente à amostra de animais refugados (n=246) em função do resultado do teste ao CAEV (Vírus da Artrite Encefalite Caprina), conforme apresentado na tabela 8, os resultados indicam que a percentagem de animais refugados seropositivos foi de 37% (n=92) e a percentagem de animais refugados com seronegativos foi de 63% (n=154). Esta diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,000$; $N=246$).

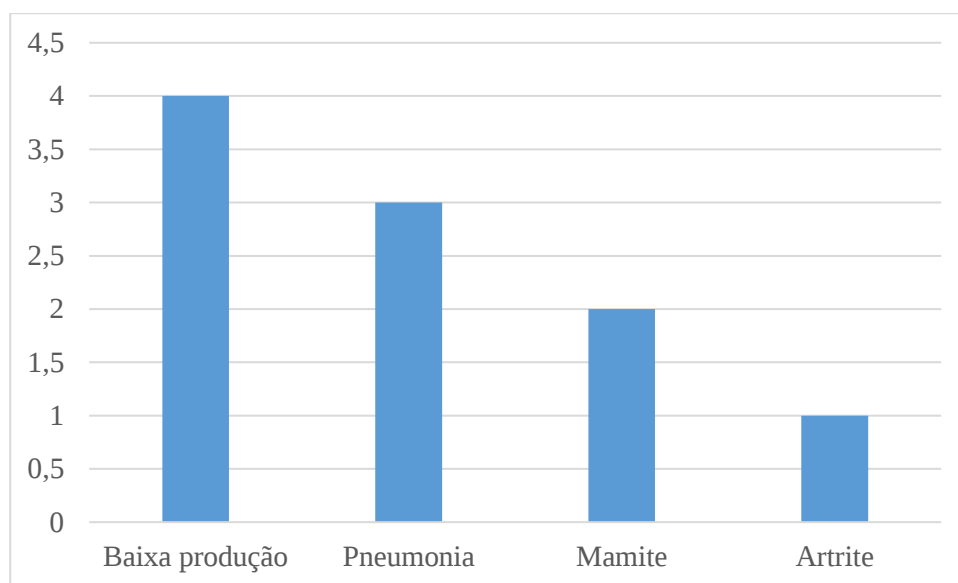


Figura 12: Causas de refugo.

A figura 12 representa as causas de refugo com maior impacto nas seis explorações reportadas pelos produtores, por ordem decrescente foram: baixa produção de leite (assinalado em 4 das 6 explorações), pneumonia (assinalado em 3 das 6), mamite (assinalado em 2 das 6) e artrite (assinalado em 1 das 6).

Tabela 9: Animais refugados seropositivos e as suas principais causas.

Exploração	Animais refugados seropositivos	Principais causas de refugo
A	22	Baixa produção e artrite
B	42	Baixa produção e pneumonia
C	11	Baixa produção e pneumonia
D	1	Mamite
E	2	Mamite
F	14	Baixa produção e pneumonia

A tabela 9 mostra em cada exploração o número de animais refugados seropositivos e as principais causas de refugo selecionadas pelo produtor, ou seja, 67 animais seropositivos

foram refugados por baixa de produção e pneumonia, seguindo a baixa de produção e artrite com 22 animais refugados e, por fim, a mamite com 3 animais refugados.

4.5. Mortalidade e Seropositividade

Os dados relativamente ao número de animais mortos na exploração e ao número de mortos seropositivos a CAEV em cada exploração, no período estudado, estão demonstrados na tabela 10.

Tabela 10: Frequência absoluta do número de mortes e número de mortes positivas a CAEV reportadas pelo produtor em cada exploração.

Exploração	Número de animais mortos na exploração	Número de animais mortos na exploração seropositivos a CAEV	% de animais mortos na exploração seropositivos a CAEV
A	31	31	100%
B	66	6	9%
C	171	4	2%
D	2	2	100%
E	12	2	17%
F	133	12	9%
Total	415	57	

As explorações com maior seropositividade são a A, F, B e C (tabela 6) e observando a tabela 10 estas também são as explorações com maior número de animais mortos seropositivos, a E e D são as explorações com menor seropositividade (tabela 6) e também são as com menor número de animais mortos seropositivos.

Tabela 11: Número de animais mortos com CAEV (Vírus da Artrite Encefalite Caprina).

Teste binomial						
		Categoria	N	Proporção observada	Proporção de teste	Sig exata (bilateral)
Mortes CAEV	Grupo 1	Positivo	57	,14	,50	,000
	Grupo 2	Negativos	358	,86		
	Total		415	1,00		

Relativamente ao número de animais mortos na exploração, conforme apresentado na tabela 11, os resultados indicam que a percentagem de animais que morreram na exploração seropositivos foi de 14% (n=57) e a percentagem de animais que morreram seronegativos foi de 86% (n=358). Esta diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,000$; $N=415$).

5. Discussão de resultados

Como todas as explorações apresentavam um sistema de produção semi-intensivo, ou seja, com acesso ao pastoreio na parte da manhã, após a primeira ordenha do dia, e suplementação alimentar fornecida após o regresso dos caprinos às instalações. E em relação às raças, como todas as explorações apresentavam uma mistura das mesmas, nomeadamente um cruzamento entre a raça Saanen e Serrana, pois estas conjugam entre si a elevada rusticidade e adaptação ao meio ambiente (Serrana) com a boa conformação do úbere e tetos para a produção de leite (Saanen) (Almendra, 1996). Estes dois fatores (sistema de produção e raça) não foram considerados variáveis no estudo.

De acordo com a OIE, (2018), o CAEV tem uma distribuição mundial e a sua ocorrência é mais alta nos países industrializados. O estudo epidemiológico de Bezerra *et al.*, (2014), reuniu amostras de soro de 14 países, 112 localizações, integrando 3.729 amostras e apresentou uma prevalência de 33,9% de animais seropositivos comprovando a distribuição cosmopolita da artrite encefalite caprina. Os resultados da tabela 6 mostram que todas as explorações (A, B, C, D, E e F) estudadas têm fêmeas positivas ao CAEV e que a exploração A é a exploração com maior seropositividade decrescendo para a F, B, C, E e a D com menor seropositividade. Apesar de em Portugal os rebanhos infetados com CAEV serem comuns, a obtenção de dados oficiais relativamente à sua prevalência são difíceis de obter mas através dos resultados da tabela 6 é possível observar que esta doença é uma realidade na região Oeste de Portugal apoiando a ideia transmitida por Jesse, (2018), que o CAEV tem uma alta prevalência, entre 80 a 95% em reprodutores, nos países em desenvolvimento.

Relativamente à relação entre a compra de novos animais e seropositividade ao CAEV é possível observar na figura 11 que das seis explorações, apenas uma (D) não comprou animais no período estudado, sendo esta a exploração com menor número de casos positivos ao CAEV (Tabela 6), mas também é a exploração com um menor efetivo total. Também é importante referir que a exploração C, F e B são as que mais adquiriram novos animais e, por consequência, pertencem também às explorações com maior seropositividade ao CAEV, esta condição é concordante com a bibliografia de Penido *et al.*, (2017), e de Metzger, (2018), uma vez que estes autores sugerem que uma das formas mais comuns de propagação da doença é a introdução de caprinos infetados nos rebanhos.

A diferença estatisticamente significativa entre o número de animais refugados seropositivos e o número de animais refugados seronegativos (Tabela 8) pode estar relacionada com o fato de os efetivos com elevados níveis de infecção terem produções de leite abaixo do desejável para o produtor e, por isso, os produtores virem-se forçados a reter mais cabras em produção, de forma a contribuírem para mais leite para o tanque. Pode também dever-se ao fato de a recria não ser tão eficiente, devido a perda de cabritos por causa da infecção por CAEV, e por isso haver falta de animais de reposição nesses efetivos. Este estudo não teve capacidade de elucidar acerca destas hipóteses. Por isso, Silva, (2006), defende que os animais identificados, ou seja, seropositivos devem ser separados dos saudáveis ou como Pinheiro *et al.*, (1989), e Callado *et al.*, (2001), defendem devem ser de forma gradual eliminados do rebanho.

Na tabela 9 os produtores reportaram que a maioria dos refugos ocorreu devido a baixa de produção e pneumonia (67 animais seropositivos refugados), seguindo a baixa de produção e artrite (22 animais seropositivos refugados) e por mamite (3 animais seropositivos refugados). Apesar da forma artrítica ser o quadro clínico mais frequente de CAEV (Silva, 2006), esta condição não mostrou ser importante para os produtores. A baixa produção de leite, ou seja, a supressão da produção de leite como Silva, (2006), descreve pode estar associada à forma mamítica pois esta caracteriza-se por uma mamite intersticial e em algumas explorações chega a atingir mais de 60% das cabras provocando baixo rendimento das fêmeas devido à infecção pelo CAEV (Tu, 2017).

Relativamente ao número de animais mortos e seropositividade a CAEV (Tabela 11), a diferença estatisticamente significativa entre a percentagem de animais que morreram na exploração e eram seropositivos (14%) e a percentagem animais que morreram e eram seronegativos (86%) pode dever-se ao fato de a única forma fatal da doença ser a forma encefalítica (Metzger, 2018), mas a dor e as infecções bacterianas oportunistas ganham importância na debilitação dos animais, provocando a morte dos animais seropositivos e, por essa razão, esta doença tem um impacto económico muito relevante na produção de caprinos leiteiros (Blacklaws *et al.*, 2004).

Apesar do teste serológico ELISA, utilizado pelo Laboratório Segalab, apresentar uma maior sensibilidade e especificidade a utilização de apenas um único teste de diagnóstico num estudo é um risco devido à possibilidade de falso-negativos por causa da diluição do soro, da seroconversão tardia, de anticorpos indetetáveis entre outras causas (Adams, 1980;

Rodrigues, 2014). Andrés, (2005), afirma que a utilização de uma combinação entre ELISA e PCR proporciona uma maior precisão de diagnóstico na deteção de animais com infeções agudas e crónicas.

Nenhum estudo é ausente de limitações por isso é importante referir que os dados recolhidos neste estudo são apenas de seis explorações e as conclusões do mesmo só são aplicáveis a estas. Para a realização de um estudo mais completo da ocorrência de CAEV em Portugal era necessário abranger mais regiões, e não só a zona oeste do continente, pois a amostra em estudo é reduzida. Certamente que uma amostra mais significativa e representativa da população permitia uma maior legitimidade ao estudo.

A análise estatística poderia também ter estudado diferenças entre explorações e relacionado com possíveis fatores de risco, nomeadamente a compra de animais, a higiene das instalações e outros fatores de manejo importantes para obter mais informação sobre o CAEV.

Também os animais jovens (até seis meses de idade) não foram incluídos no estudo, devido a uma possível interferência dos anticorpos colostrais nos testes serológicos. Isso implica ignorar um importante grupo de animais que são fundamentais para a transmissão de CAEV e apresentam como principal sinal da doença encefalomielite.

A ocorrência de outras doenças infecciosas, que afetam o desempenho produtivo das explorações também podiam ter sido estudadas, como agalaxia contagiosa, chlamidiose, toxoplasmose, paratuberculose, entre outras.

Em relação ao questionário podiam ter sido realizadas outras questões interessantes para este estudo como:

- Se os produtores tinham algum tipo de formação na área de produção animal;
- Alguma vez os produtores ouviram falar desta doença, CAEV, e das suas consequências;
- Os produtores isolavam os animais doentes e qual o seu respetivo tratamento;
- A realização de quarentena aos novos animais associada ao rastreio sorológico prévio;

- Os caprinos confinados (estabulação) tinham um contacto próximo entre eles ou o produtor respeitava a capacidade (em animais) da exploração e o respetivo encabeçamento;
- Os caprinos com acesso ao exterior (pastoreio) tinham contacto com animais de outras explorações;
- Os caprinos partilhavam bebedouros e comedouros com animais de outras espécies;
- Os cabritos bebiam o colostro direto das próprias mães ou bebiam colostro sintético;
- Os cabritos são separados das mães à nascença ou têm algum tipo de contacto;
- Quais as práticas de desinfeção e higienização praticadas nas instalações;
- Entre outras.

Ainda assim, mesmo com a falta de informação que podia ter contribuído para o aprofundamento deste estudo foi possível mostrar que a ocorrência de CAEV é uma realidade, tornando este estudo relevante para a consciencialização dos clínicos e produtores para o controlo desta doença.

6. Conclusão

Os caprinos assumem cada vez mais um lugar importante na produção pecuária nacional e mundial, devido à produção de leite e/ou carne, contribuindo para o desenvolvimento socioeconómico.

A Artrite Encefalite Caprina é uma doença infecciosa e contagiosa causada por um vírus que afeta os caprinos, principalmente os da raça leiteira. A sua transmissão ocorre, principalmente, através da ingestão de colostro e de leite de cabras infetadas. A infeção é considerada multissistémica, isto é, afeta vários órgãos ou sistemas. Esta doença contribui para que haja perdas económicas através da diminuição da produção láctea nos casos de mamite, progressiva perda de peso ou até morte.

Através do cumprimento dos objetivos deste estudo é possível observar o verdadeiro impacto e mostrar que as doenças infecciosas, em especial a artrite-encefalite caprina (CAE), têm um impacto económico muito relevante na produção de caprinos. Por isso é necessário, que haja uma maior disponibilidade da parte do produtor para o controlo desta doença muita vez negligenciada.

As perspetivas futuras deste trabalho salientam a importância da testagem de todos os animais nas explorações em estudo para que os resultados fossem mais assertivos. Além disso, seria interessante incorporar um maior número de explorações, assim como, obter mais informações sobre as mesmas, nomeadamente quais os cuidados com a inserção de novos animais nos rebanhos, a regularidade de testagem e qual o procedimento no caso de surgir um caso positivo.

Por fim, o desenvolvimento desta dissertação proporcionou à autora a oportunidade de aprofundar conhecimentos teóricos e adquirir novas competências na área de investigação.

7. Bibliografia

- Adams, D. S., Crawford, T. B., Banks, K. L., McGuire, T. C. & Perryman, L. E. (1980). Immune Responses of Goats Persistently Infected with Caprine Arthritis-Encephalitis Virus. *Infection and Immunity*, May 1980, Vol. 28, No. 2, p. 421-427.
- Ali, M. Z. *et al.* (2012). Goat uterine epithelial cells are susceptible to infection with Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV) in vivo. *Veterinary Research*. BioMed Central Ltd, 43(1), p. 5. doi: 10.1186/1297-9716-43-5.
- Almendra (1996). A cabra Serrana Transmontana origem, caracterização da raça e sistemas de produção. *Sociedade Portuguesa e Ovinotecnia e Caprinotecnia, Colectânea S.P.O.C.*
- Andrés, D., Klein, D., Watt, N. J., Berriatua, E., Torsteinsdottir, S., Blacklaws, B. A. & Harkiss, G. D. (2005). Diagnostic test for small ruminant lentiviruses. *Veterinary Microbiology*, v. 107, p. 49-62.
- Balbin, M. M. *et al.* (2014). Caprine arthritis encephalitis virus detection in blood by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay targeting the proviral gag region. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. Elsevier Inc., 79(1), pp. 37–42. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.12.012.
- Bezerra, A. O. *et al.* (2014). Artrite encefalite caprina no Município de Alegre. *PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia*, 8(21).
- Blacklaws, B. A. (2012). Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. Elsevier Ltd, 35(3), pp. 259–269. doi: 10.1016/j.cimid.2011.12.003.
- Blacklaws, B.A. *et al.* (2004). Transmission of small ruminant lentiviruses. *Vet. Microbiol.*, Amsterdam, v.101, p. 199-208.
- Bustin, S. A. *et al.* (2009). The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*, 55(4), pp. 611–622. doi: 10.1373/clinchem.2008.112797.
- Cabo, P., Matos, A., Fernandes, A. & Ribeiro, M. (2017). Evolução da produção e

comercialização de produtos tradicionais qualificados de ovinos e caprinos (2003-2012). *Revista de Ciências Agrárias*, 2017, 40(Especial): 329-344.

Callado, A. K. C., Castro, R. S. de and Teixeira, M. F. da S. (2001). Lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-Visna): revisão e perspectivas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 21(3), pp. 87–97. doi: 10.1590/s0100-736x2001000300001.

Cruz, J. (2009). Monitoramento sorológico e da presença do DNA pró-viral do lentivírus caprino (CAEV) no sangue e sêmen de reprodutores infectados. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária.

Feitosa, A. (2011). Caracterização molecular de lentivírus de pequenos ruminantes isolados no Brasil. Universidade Estadual do Ceará. Faculdade de Veterinária. Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias. Tese de doutoramento.

Fields, B. N., Knipe, D. M. and Howley, P. M. (2007) *Fields virology*. 5th edn. Edited by P. : W. K. H. W. & Wilkins.

Fieni, F. *et al.* (2002). Presence of caprine arthritis ± encephalitis virus (CAEV) infected cells in flushing media following oviductal-stage embryo collectio. *Theriogenology*, 57, pp. 931–940. doi: 0093-691X/02/\$.

Henriques, AM., Fevereiro, M., Prazeres, DMF., Monteiro, GA. (2007) Development of a candidate DNA vaccine against Maedi-Visna virus. *Vet Immunol Immunopathol.* 119(34):222–232. doi:10.1016/j.vetimm.2007.05.004.

Huang, J. *et al.* (2012). Development of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of caprine arthritis-encephalitis virus proviral DNA. *Archives of Virology*, 157(8), pp. 1463–1469. doi: 10.1007/s00705-012-1322-y.

Idres, T. *et al.* (2019). Serological diagnosis of lentivirus infection in goats raised in Algeria. *Journal of Veterinary Research (Poland)*, 63(1), pp. 27–33. doi: 10.2478/jvetres-2019-0001.

Jesse, F.F.A., Bitrus, A.A., Abba, Y., Raju, V.N., Hambali, I.U., Peter, I.D., Haron, A.W., Lila, M.A.M. & Norsidin, J.M. (2018). Seroprevalence of small ruminant caprine arthritis encephalitis lentivirus among goats from selected small ruminant farms in Selangor. Malaysia. *Vet. World*, 11(2): 172.

- Kaba, J. *et al.* (2012). Role Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV) Infection in The Occurrence of Particular Clinical Symptoms in Adult Goats. *Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences-SGGW, Nowoursynowska 159c*, 02-776
- Maclachlan, N. J. and Dubovi, E. J. (2010) *Fenner's Veterinary Virology*. 5th edn. Academic Press.
- Madruga, C. R., Araújo, F. R. and Soares, C. O. (2001). Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária. *Embrapa Gado de Corte*, p. 360.
- Maroco, J. (2014). Análise Estatística: Com o SPSS Statistics (6ª ed.). Lisboa: ReportNumber. ISBN 978-989-96763-4-3
- Martins, M., (2019). Lentivírus de pequenos ruminantes: Artrite-encefalite caprina e Maedi-visna. Porto, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Relatório final de estágio, Tese de mestrado.
- Matos, C.A.P., (2000). Recursos genéticos animais e sistemas de exploração tradicionais em Portugal. *Archivos de zootechnia*, vol. 49, p. 363-383.
- Metzger, M. (2018). Caprine arthritic encephalitis virus in goats. Acedido em 30 de Março de 2022 em <https://www.canr.msu.edu/news/caprine-arthritic-encephalitis-virus-in-goats>.
- Mselli-lakhal, L. *et al.* (1999). Goat Milk Epithelial Cells Are Highly Permissive to CAEV Infection in Vitro. *Virology*. 73, pp. 67–73.
- Murphy, B. G. *et al.* (2006). TNF α and GM-CSF-induced activation of the CAEV promoter is independent of AP-1. *J. Virol.* 352, pp. 188–199. doi: 10.1016/j.virol.2006.04.017.
- OIE. (2017) Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (Mammals, Birds and Bees), 5th Edition, Vol. 1 & 2. em <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access/>.
- OIE Terrestrial Manual. (2018) Disease: Caprine arthritis - encephalitis & Maedi-visna, Chapter 3.7.2, p. 1420.
- Outor-Monteiro, D. and Azevedo, J. M. T. (2005). A Raça Caprina Serrana. *ResearchGate*. doi: 972-669-656-9.

Patton, K. *et al.* (2012). Fatal Caprine arthritis encephalitis virus–like infection in 4 Rocky Mountain goats (*Oreamnos americanus*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 24(2), 392–396.

Penido, P. M. P. do N. (2015) *Vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) no trato reprodutivo de cabras naturalmente infectadas e risco de transmissão pela transferência de embriões*.

Penido, P. M. P. N. *et al.* (2017). Ocorrência do vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) em cabras leiteiras produzidas em sistema intensivo confinado no estado de Minas Gerais. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(6), pp. 577–581. doi: 10.1590/S0100-736X2017000600007.

Peterson, K. *et al.* (2008). Presence of pro-lentiviral DNA in male sexual organs and ejaculates of small ruminants. *Theriogenology*, 69(4), pp. 433–442. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.10.013.

Pinheiro, R. *et al.* (1989) ‘Artrite Encefalite Caprina Viral (CAEV)’, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Nº19, Agosto/89, pp. 1-5.

Pinheiro, R. R. *et al.* (2010). Avaliação De Antígenos Para O Diagnóstico De Lentivírus Em Rebanho Caprino Sob Programa De Controle. *Arquivos do Instituto Biológico*, 77(1), pp. 133–137. doi: 10.1590/1808-1657v77p1332010.

Pugh, D. G. (2004) *Clinica de Ovinos e Caprinos*. 1st edn. Edited by Roca.

Quérat, G. and Vigne, R. (2000) *Encyclopedia of Virology*. 2º. Edited by A. Granoff and R. Webster. doi: 9780080547978.

Ravazollo, A. P. and Costa, U. (2007) *Virologia Veterinária*. 2ed edn. Edited by S. M. : Editora.

Reina, R., de Andrés, D., Amorena, B. (2013). Immunization against small ruminant lentiviruses. *Viruses*. 5(8):1948–1963. doi:10.3390/v5081948.

Rodrigues, AS., Brito, RLL., Pinheiro, RR., et al. (2014). Padronização do Elisa indireto e Western Blot para diagnóstico da artrite-encefalite caprina. *Arq Bras Med Vet Zootec*; 66: 417-424.

Sanna, E. *et al.* (1999). Proviral DNA in the Brains of Goats Infected with Caprine Arthritis-encephalitis Virus. *J. Comp. Pathol.* 121, pp. 271–276.

Solaiman, S. (2010). Goat Science and Production. Iowa: Blackwell Publishing. 1st edition, pp. 3-18.

Silva, J. B. A. (2006). *Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) em folículos pré-antrais de cabras naturalmente infectadas*. Universidade Estadual do Ceará - UECE.

Silva, J. *et al.* (2007). Estudo e desenvolvimento de estratégias para prevenção dos riscos associados ao clima quente, nas explorações de pequenos ruminantes, em Portugal. Em: Pacheco F, Morand-Fehr P, editores. 6º Seminário Internacional da Rede FAO-CIHEAM sobre Ovinos e Caprinos; 15-17 novembro; Ponte de Lima, Portugal.

Tu, P., Shiau, J., Lai, F., Yang, S. & Wang, P. (2017). Diagnostic tests for caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) infection. *Journal of Rare Disease Research & Treatment*, 2(5): 13-17.

Varea, R. *et al.* (2001). Early detection of maedi-visna (ovine progressive pneumonia) virus seroconversion in field sheep samples. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 13(4), pp. 301–307. doi: 10.1177/104063870101300404.

Anexos

Anexo 1

Faculdade de Medicina Veterinária 
| UNIVERSIDADE LUSÓFONA

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Tema do estudo: “Estudo da ocorrência das principais doenças infecciosas em rebanhos de caprinos de leite na região Oeste de Portugal”

Eu _____,
responsável pela exploração denominada _____,
autorizo a recolha de dados no âmbito académico e de investigação para a realização da dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária com o tema acima descrito.

Eu declaro ainda que tenho conhecimento que estes dados serão tratados e utilizados de forma anónima com o objetivo de posterior análise e publicação científica.

Assinatura do responsável da exploração:

Contacto telefónico: _____

Data: ____ / ____ / ____

Autor do estudo: Filipa Nascimento

Anexo 2

Faculdade de Medicina Veterinária

| UNIVERSIDADE LUSÓFONA

Questionário para realização do “Estudo da ocorrência de CAEV em rebanhos de caprinos de leite na região Oeste de Portugal”

Data da visita:
Nome da exploração:
Código da exploração:
Espécies em produção: Ovinos____ Caprinos____ Bovinos____ Outros____
Outras espécies presentes na exploração: Cães____ Gatos____ Outros____
1. Número total de animais na exploração:____ a. Nº de Fêmeas:____ b. Nº de Machos:____
2. Raça dos animais: Alpina____ Anglo nubiana____ Murciana____ Saanen____ Serpentina____ Serrana____
3. Tipo de produção: a. Intensivo____ b. Semi-intensivo____ c. Extensivo____
4. Tipo de alimentação: a. Forragem + Concentrado____ b. Pastoreio + Concentrado____ c. Outros suplementos (sais, blocos)____
5. Compra de animais nos últimos 24 meses: a. Sim, de um fornecedor apenas____ b. Sim, de vários fornecedores____ c. Não

6. Quantos animais foram comprados nos últimos 24 meses:_____
7. Refugo de animais nos últimos 24 meses: a. Sim, quantos:_____
b. Não
8. Após os resultados das análises terem saído: Quais animais refugados eram seropositivos?
9. Principais causas de refugo: a. Artrite_____
b. Baixa produção_____
c. Mamite_____
d. Pneumonia_____
e. Outra_____
10. Número de mortes nos últimos 24 meses: a. Sim, quantos_____
b. Não_____
11. Após os resultados das análises terem saído: Quais mortes eram de animais seropositivos?

Muito obrigada pela sua colaboração na elaboração deste trabalho científico para a realização da dissertação do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária.

Assinatura do responsável da exploração:_____

Data:_____