

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



LEPTOSPIROSE: PREVALÊNCIA EM BOVINOS DA RAÇA FRÍSLIA HOLSTEIN NA ILHA
DE S.MIGUEL (AÇORES)

CARLA ALEXANDRA DE SOUSA SANTOS

ORIENTADOR:

Doutor João Nestor das Chagas e
Silva

TUTORA:

Dra. Patrícia Melo Miranda

2022

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



LEPTOSPIROSE: PREVALÊNCIA EM BOVINOS DA RAÇA FRÍSLIA HOLSTEIN NA ILHA
DE S.MIGUEL (AÇORES)

CARLA ALEXANDRA DE SOUSA SANTOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JURI

PRESIDENTE:

Doutora Maria Manuela Castilho
Monteiro de Oliveira

VOGAIS:

Doutora Ana Rita Barroso Cunha de
Sá Henriques
Doutor João Nestor das Chagas e Silva

ORIENTADOR:

Doutor João Nestor das
Chagas e Silva

TUTORA:

Dra. Patrícia Melo Miranda

2022

Anexo 3 – DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE OU DISSERTAÇÃO

Nome: Carla Alexandra de Sousa Santos

Título da Tese ou Dissertação:

Leptospirose: Prevalência em bovinos da raça Frísica Holstein na ilha de S. Miguel (Açores)

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2022

Designação do curso de
Mestrado ou de

Doutoramento:

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

Clínica

Produção Animal e Segurança Alimentar

Morfologia e Função

Sanidade Animal

Declaro sob compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

1. Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
2. Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

1. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
2. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
3. DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 28 de Julho de 2022

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura: Carla Alexandra de Sousa Santos

AGRADECIMENTOS

O curso de Medicina Veterinária foi sem dúvida a viagem mais longa e grandiosa que realizei. Foi um percurso com muitas alegrias, desafios, realizações pessoais e também, algumas tristezas. Contudo, esta viagem só foi possível graças à presença de determinadas pessoas que com o seu apoio e força me incentivaram a continuar a cada dia.

Queria deixar um profundo agradecimento a todos os familiares, amigos e professores que fizeram esta viagem comigo e contribuíram de alguma forma para o meu desenvolvimento pessoal e profissional, deixando em mim um pouco de si e tornando-me uma pessoa melhor a cada dia. De uma forma particular queria agradecer:

Aos meus pais e irmã.

À minha mãe, um exemplo de coragem e perseverança, muito obrigada por nunca desistires de mim.

Ao meu pai, o meu herói, tantas vezes acreditei em mim, porque tu acreditavas. Obrigada por me ensinares que todos os sonhos são possíveis de realizar, basta trabalhar.

À minha irmã, a companheira de uma vida, a minha alma gémea, obrigada. Fazes parte de mim.

Ao meu namorado e amigo, por toda a paciência, companheirismo e compreensão. Obrigada por estares comigo desde o primeiro ano desta aventura e por todas as palavras de encorajamento.

Ao meu orientador e professor, Doutor João Nestor Chagas e Silva, que aceitou prontamente ser o meu orientador e se mostrou sempre disponível para me ajudar. Obrigada também pelo incentivo e apoio na elaboração desta dissertação.

Um especial obrigado, à minha tutora e agora amiga, Dra. Patrícia Miranda por toda a paciência, partilha de conhecimento e carinho durante o meu estágio curricular.

Às “amigas Açorianas”, Maria Ana, Verónica Pires, Cristina Rita e Andreia Carvalho, obrigada por serem o meu suporte e a minha família longe de casa.

Aos amigos que me ajudavam a ter vontade de continuar e de regressar, a cada dia, à universidade, Joana Gomes, Beatriz Fernandes, Beatriz Mendoza, Sara Rocha, Catarina Pires, César Santos e Rui Batarda. Muito obrigada por tornarem a estadia em Lisboa mais leve e feliz.

E por último, às amigas de sempre, Liliana Pinto, Ana Silva, Sílvia Carvalho, Andreia Maia, Catarina Queirós, Sílvia “GNR”, Marlene Felisberto e Ana Resendes, obrigada por fazerem do meu sonho o vosso sonho, por todos os conselhos e apoio em cada regresso a casa.

RESUMO

Leptospirose: Prevalência em Bovinos da Raça Frísia Holstein na Ilha de S. Miguel (Açores)

A Leptospirose é uma zoonose referenciada a nível mundial, que é continuamente negligenciada ao longo dos anos, devido ao seu difícil diagnóstico.

A realização deste estudo tem como foco três objectivos principais: dar a conhecer aos produtores, através da utilização de um panfleto informativo, elaborado pela autora, o impacto desta doença para o Homem e seus animais; avaliar a prevalência da *Leptospira* através da pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e realização de um inquérito epidemiológico que permitisse a obtenção de informação mais detalhada do manejo produtivo das explorações.

Durante o período de Maio de 2021 a Fevereiro de 2022, foram colhidas 287 amostras sanguíneas de fêmeas da raça Frísia Holstein de 16 explorações, pretendendo obter-se uma amostra de 20% do efectivo de cada exploração.

Das amostras recolhidas, verificamos que 45 (15,7%) revelaram um resultado positivo para a presença de *Leptospira* e 242 (84,3%), um resultado negativo.

As explorações onde foi possível observar um maior número de casos positivos localizaram-se: na Achadinha, com 10 amostras positivas; nas Furnas, com 8 amostras positivas e em S. Brás com um total de 6 amostras positivas.

No total, verificou-se a presença de 17 serovares diferentes, sendo possível distinguir um maior número de reacções positivas nos serogrupos *L. interrogans* e *L. borpetersenii*.

No que concerne ao conhecimento da doença, embora os produtores estivessem conscientes sobre o que é a doença e as suas formas de transmissão, ainda existem factores relacionados com o manejo reprodutivo e produtivo da exploração que podem ser melhorados tendo em conta os resultados agora obtidos face ao inquérito realizado.

Em conclusão, sendo que a Leptospirose é considerada um problema de saúde pública de elevada importância nos Açores, este trabalho teve um papel relevante no conhecimento dos principais serovares que atingem as explorações estudadas, permitindo a adopção de medidas preventivas de forma a contribuir para uma melhoria das condições sanitárias de todos os indivíduos presentes na exploração.

Palavras-chave: Leptospirose, Açores, Prevalência, Saúde Pública, Bovino

ABSTRACT

Leptospirosis: Prevalence in Frísia Holstein cattle on S. Miguel inland (Azores)

Leptospirosis is a worldwide referenced zoonosis, continuously neglected over the years due to its difficult diagnosis.

This study focuses on three main objectives: to inform producers, through the use of an informative pamphlet created by the author, about the impact of this disease on humans and their animals; to evaluate the prevalence of *Leptospira* through the investigation of anti-*Leptospira* spp antibodies; and to carry out an epidemiological survey that allowed obtaining more detailed information on the productive management of farms.

From May 2021 to February 2022, 287 blood samples were collected from Frisian Holstein females from 16 farms to obtain a sample of 20% of the herd of each farm.

Of the samples collected, we found that 45 (15.7%) had a positive result for the presence of *Leptospira* and 242 (84.3%) had a negative one.

The farms where it was possible to observe the highest number of positive cases were the following: Achadinha, with ten positive samples; Furnas, with eight positives; and S. Brás, six positives.

Overall, we found 17 different serovars, where it is possible to distinguish a higher number of positive reactions in the serogroups *L. interrogans* and *L. borpetersenii*.

Regarding the knowledge of the disease, although the producers were aware of what it is and its forms of transmission, there were still factors related to the reproductive and productive management of the farm that could be improved, taking into account the results obtained from the survey.

In conclusion, since Leptospirosis is considered a public health problem of high importance in the Azores, this work was essential to know the main serovars that affect the studied farms. It also allowed for the adoption of preventive measures in order to contribute to an improvement in the sanitary conditions for all individuals present on the farm.

Key-Words: Leptospirosis, Azores, Prevalence, Public Health, Cattle

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE TABELAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
1. RELATÓRIO DA CASUÍSTICA.....	1
1.1. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO.....	13
1.2. CASUÍSTICA.....	2
2. INTRODUÇÃO À LEPTOSPIROSE	4
2.1. DEFINIÇÃO E HISTÓRIA	4
2.2. ETIOLOGIA	5
2.3. SEROVARES	6
2.4. EPIDEMIOLOGIA	7
2.5. TRANSMISSÃO	8
2.6. PATOGENIA	10
2.7. CONTROLO E PREVENÇÃO.....	11
2.8. UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA.....	12
2.9. DIAGNÓSTICO	14
2.10. TRATAMENTO.....	15
3. TRABALHO EXPERIMENTAL.....	17
3.1. OBJECTIVOS DO ESTUDO.....	17
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.2.1. AMOSTRAGEM POPULACIONAL EM ESTUDO	17
3.2.2. COLHEITA, ACONDICIONAMENTO E ENVIO DE AMOSTRAS.....	17
3.2.3. INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO	18
3.2.4. ANÁLISE DE DADOS.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20

4.1. LOCAL DA AMOSTRAGEM	20
4.2. PREVALÊNCIA DA <i>LEPTOSPIRA</i>	21
4.3. SEROVARES	23
4.4 ANÁLISE DESCRITIVA DO INQUÉRITO	24
4.4.1. CONHECIMENTO DO INDÍVIDUO SOBRE A DOENÇA.....	24
4.4.2. CARACTERIZAÇÃO E MANEIO DA EXPLORAÇÃO	28
4.4.3. REPRODUÇÃO.....	30
5. CONCLUSÃO.....	35
6. BIBLIOGRAFIA	36
ANEXO 1 – PANFLETO: LEPTOSPIROSE, MEDIDAS SIMPLES EVITAM A DOENÇA	42
ANEXO 2 – INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO REALIZADO AOS PRODUTORES.....	44
ANEXO 3 – AMOSTRAS DE SANGUE POSITIVAS À LEPTOSPIROSE E RESPETIVOS SEROVARES, RETIRADAS A BOVINOS DA RAÇA FRÍSIA HOLSTEIN NA ILHA DE S. MIGUEL	46

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Casos clínicos acompanhados ao longo do estágio.	2
Tabela 2 - Casos clínicos em vacas Frísias Holstein acompanhados durante o estágio.....	3
Tabela 3 - Hospedeiros de manutenção e acidentais mais importantes dos serovares de <i>L. interrogans</i> (Quinn et al. 2011)	8
Tabela 4 – Composição do painel de antígenos vivos utilizado na detecção de <i>Leptospiras</i> , por rotina, pelo Laboratório Regional dos Açores, com base na Técnica de Aglutinação Microscópica (Laboratório Regional de Veterinária, 2022)	18
Tabela 5 – Distribuição das explorações pelos concelhos e número de animais testados....	21
Tabela 6 – Frequência e percentagem de <i>Leptospira</i> nas explorações visitadas	21
Tabela 7 – Frequência de indivíduos que conheciam ou não a Leptospirose	25
Tabela 8 – Designação e quantificação de outras espécies animais presentes nas explorações para além dos bovinos de leite	29
Tabela 9 – Maneio Reprodutivo das 16 explorações estudadas para a presença da <i>Leptospira</i> nos bovinos da raça Frísia Holstein na Ilha de S. Miguel.....	30
Tabela 10 – Teste de Qui-quadrado elaborado no programa SPSS Statistics®, para estudo da relação existente entre a ausência ou presença de Leptospirose e a presença de mamites em bovinos de leite da raça Frísia Holstein na Ilha de S. Miguel.....	43
Tabela 11- Teste de Qui-quadrado elaborado no programa SPSS Statistics®, para o estudo da relação entre a ausência ou presença de Leptospirose e a ocorrência de abortos, em vacas de leite da raça Frísia Holstein na Ilha de S. Miguel	32
Tabela 12 -Teste de Qui-quadrado elaborado no programa SPSS Statistics®, para estudo da relação existente entre a ausência ou presença de Leptospirose e o destino dado às secundinas em vacas de leite da raça Frísia Holstein na Ilha de S. Miguel	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Electromiografia de <i>Leptospira</i> (45,0000x) (Vijayachari 2007).....	5
Figura 2 - Diferentes estratégias de controlo da Leptospirose (Adaptado deVijayachari et al. 2015).....	11
Figura 3 - Explorações estudadas relativamente à presença de <i>Leptospira</i> no sangue de vacas Frísia Holstein, na Ilha de S. Miguel (Google My Maps 2022).....	20

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Número de amostras positivas nas explorações das freguesias na ilha de S. Miguel	22
Gráfico 2 - Serovares/serogrupos detectados pelo método de diagnóstico de referência (MAT), nas amostras séricas obtidas de vacas da raça Frísia Holstein, na ilha de S. Miguel.....	24
Gráfico 3 - Frequência de indivíduos que tinham conhecimento relativamente à forma de transmissão da Leptospirose.....	25
Gráfico 4 – Frequência de indivíduos que revelaram um diagnóstico positivo para a Leptospirose.....	26
Gráfico 5 - Frequência do tipo de exploração estudada para a presença de <i>Leptospira</i>	28
Gráfico 6 - Qual o destino dado às secundinas após o aborto ou parto eutócico de uma vaca Frísia Holstein nas explorações estudadas na Ilha de S. Miguel	33

LISTA DE ABREVIATURAS

AJAM – Associação de Jovens Micaelenses

CAAT – Cross-Aglutinin Absorption Test

CFSPH - Center for Food and Security and Public Health

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EPI – Equipamento de Protecção Individual

IA – Inseminação Artificial

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

ILS – Sociedade Internacional de Leptospirose

IM – Intra-muscular

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

MAT – Microagglutination Test

OMS – Organização Mundial de Saúde

PV – Peso Vivo

1. RELATÓRIO DA CASUÍSTICA

1.1. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

O arquipélago dos Açores é constituído por nove ilhas. Entre elas destaco a ilha de São Miguel, que tem como uma das principais actividades económicas a produção de leite e lacticínios.

O meu estágio curricular, que visou a elaboração da dissertação de Mestrado Integrado de Medicina Veterinária realizou-se na Associação de Jovens Agricultores Micaelenses (AJAM), com sede no Centro de Bovinicultura, nos Arrifes (Ponta Delgada, São Miguel).

Através da realização de pesquisa e contactos com colegas Médicos Veterinários, produtores e residentes locais, a Leptospirose foi-me apontada como uma das zoonoses com maior impacto a nível de saúde pública nos Açores, devido ao elevado número de casos diagnosticados nos últimos anos, no arquipélago.

O estudo da prevalência desta zoonose, permite-nos realizar uma planificação de medidas de prevenção e de controlo em saúde pública através da implementação e aconselhamento de boas práticas e da gestão dos animais positivos e dos possíveis grupos de risco.

No seguimento da minha pesquisa, e dada a importância em termos de saúde pública em geral e da saúde animal em particular, para a AJAM, decidiu-se estudar a prevalência desta zoonose em explorações localizadas em diferentes zonas geográficas da ilha.

A realização deste estudo pretendeu ajudar os produtores a conhecer melhor o impacto desta zoonose no seu dia-a-dia, e minimizar as perdas económicas por ela causadas, por estar estreitamente relacionada com o aborto em bovinos de leite.

Os objectivos desta dissertação foram: (1) a avaliação da prevalência da Leptospirose através da pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp; (2) a divulgação junto aos produtores de um panfleto informativo, elaborado pela autora, que visava contextualizar, consciencializar e dar a conhecer o impacto da doença, tanto para o Homem, como para os seus animais, e por último, (3) a realização de um inquérito epidemiológico que permitisse dar a conhecer as características e o maneio das explorações estudadas.

Devido à existência de outros trabalhos anteriormente desenvolvidos na ilha, foi-me sugerido seguir um perfil epidemiológico que lhes desse seguimento, de forma a compreender o desenvolvimento desta zoonose em São Miguel, e obter-se uma imagem mais precisa da situação na ilha.

1.2. CASUÍSTICA

O estágio curricular realizado na AJAM teve a duração de seis meses na área de clínica e dez meses direccionados para a recolha de amostras e tratamento de dados relativamente à Leptospirose bovina. Nos primeiros seis meses de actividades clínicas acompanhei a minha tutora, Dra. Patrícia Miranda, participando na anamnese e contenção dos animais, nos exames físicos, na realização de pequenas e grandes cirurgias e, na discussão de diagnósticos diferenciais, do diagnóstico definitivo e das possíveis abordagens terapêuticas.

Nas tabelas 1 e 2 encontram-se discriminados 1141 casos clínicos, agrupados por área clínica, expressos em frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr). Os casos apresentados, tal como se pode verificar não correspondem apenas à espécie bovina (raça Frísia Holstein), mas também a outras espécies que nos iam aparecendo pontualmente ao longo do estágio.

Tabela 1 - Casos clínicos acompanhados ao longo do estágio.

Área Clínica	Doença/ Procedimento	Cavalos		Ovelhas		Cabras		Porcos		Cães	
		Fi	Fr (%)	Fi	Fr (%)	Fi	Fr (%)	Fi	Fr (%)	Fi	Fr (%)
Pneumologia	Pneumonia			5	71,42						
Reprodução	Cesariana					1	100				
Gastroenterologia	Diarreia			2	28,57			3	75		
Dermatologia											
Neurologia	Tétano	1	50								
Ortopedia	Fractura									2	3,33
	Claudicação							1	25		
Oncologia										2	3,33
Eutanásia		1	50							2	3,33
Total		2	100	7	100	1	100	4	100	6	100

Tabela 2 - Casos clínicos em vacas Frísias Holstein acompanhados durante o estágio

Área Clínica	Doença/Procedimento	Vacas		Touros		Vitelos		
		Fi	Fr (%)	Fi	Fr (%)	Fi	Fr (%)	
Pneumologia	Pneumonia	48	5,05	2	33,33	57	9,86	
Reprodução	Parto	Vivo	15	1,58				
		Nado-Morto	2	0,21				
	Cesariana	Vivo	3	0,31				
		Nado-Morto	1	0,11				
	Parto Distócico		8	0,84				
	Torção	Uterina	10	1,05				
	Prolapso	Uterino	3	0,32				
		Vaginal	2	0,21				
	Retenção Placentária		24	2,52				
	Diagnóstico de gestação		12	1,36				
	Mastites	Strep. Uberis	4	0,42				
		S. Áureus	1	0,11				
		E. coli	31	3,26				
Gangrenosa		9	0,95					
Traumática		1	0,11					
Gastroenterologia	Diarreia		23	2,42			44	30,77
	Deslocamento do abomaso (DA)	Direita	6	0,63				
		Esquerda	15	1,58				
	Correcção cirúrgica (DA)	Direita	2	0,21				
		Esquerda	12	1,36				
	Torção intestinal		2	0,21				
	Diarreia + Pneumonia		20	2,10			25	17,48
	Timpanismo		4	0,42				
	Prolapso Rectal		1	0,11				
	Reticulo peritonite traumática		2	0,21				
Cardiologia	Arritmias		3	0,32				
	Cardiomegália		1	0,11				
Urologia	Cistite		2	0,21				
Dermatologia	Abscesso		1	0,11			2	1,40
	Fotossensibilização		3	0,32	1	16,7	1	0,70
Doenças infecciosas	Meningite – <i>Streptococcus pneumoniae</i>						2	1,40
	Clostridiose – <i>Clostridium perfringens</i> tipo D		3	0,32				
Oftalmologia	Queratoconjuntivite traumática/infecciosa		4	0,42	1	16,7	6	4,20
	Carcinoma terceira pálpebra		9	0,95				
Ortopedia	Claudicação		3	0,32	1	16,7		
	Fractura		2	0,21	1	16,7	2	1,40
	Artrite		3	0,32			1	0,70
Oncologia			1	0,11				
Síndrome de Vaca Caída			31	3,26				
Eutanásia			20	2,10			3	2,10
Necrópsia			5	0,53				
Desparasitação			316	33,23				
Vacinação			283	29,76				
Total			951	100	6	100	143	100

2. INTRODUÇÃO À LEPTOSPIROSE

2.1. DEFINIÇÃO E HISTÓRIA

A leptospirose é uma zoonose com importância a nível mundial que tem sido negligenciada ao longo dos anos devido às dificuldades encontradas no diagnóstico clínico e laboratorial (Verma et al. 2019).

O agente da Leptospirose pertence ao género *Leptospira* e é constituído por 21 espécies (que são baseadas no grau de parentesco do seu ADN), 25 serogrupos e 250 serovares (Aqib et al. 2019), estimando-se uma incidência superior a 500.000 casos por ano em todos os continentes, à excepção da Antártida (Caetano 2012). O serovar é a unidade taxonómica básica utilizada para a classificação de *Leptospiras* (Machry et al. 2010), sendo que, o serogrupo é composto por serovares que possuem afinidade antigénica (Thomson, 1990).

A Leptospirose foi descrita pela primeira vez em 1886, por Adolph Weil em Heidelberg, que a caracterizou como síndrome de Weil devido à presença de sinais clínicos como esplenomegália, icterícia e nefrite (Levett 2001).

No ano de 1907 surge a designação de *Leptospira interrogans*, quando Stimson através da técnica de impregnação em prata, revela aglomerados de espiroquetas nos túbulos renais de um paciente. Esse nome foi atribuído pelo facto das espiroquetas terem terminais em forma de gancho que se assemelhavam a pontos de interrogação (Rodrigues 2008).

Em 1915, numa convenção no Instituto de Doenças Infecciosas de Kitasato, Inada refere que o organismo associado à Leptospirose é *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*. Dois anos depois, é anunciada a descoberta desta bactéria nos rins do rato castanho (*Rattus norvegicus*) e que a composição química da água e do solo contribuíam para o seu desenvolvimento (Ido et al. 1917).

O primeiro caso descrito em Portugal por Luís Figueira, data de 1931. Contudo só na década de 40 é que Fraga de Azevedo realiza um estudo epidemiológico e de diagnóstico que teve a duração de 30 anos e foi realizado no formato de um inquérito serológico de diferentes espécies animais. Nos anos oitenta, Collares-Pereira reinicia estes estudos, incluindo para além dos animais domésticos e silváticos os seres humanos (Gonçalves 2009). Todavia, apesar da realização de todos estes avanços, é só em 1987 que a Leptospirose se torna numa doença de declaração obrigatória em todas as espécies animais (Caetano 2012).

Em Portugal, para se proceder ao diagnóstico de Leptospirose é necessário contactar o Laboratório Nacional de Investigação Veterinária. Porém o Laboratório

Veterinário Regional dos Açores mantém uma unidade funcional desde 1993, para o auxílio no diagnóstico de animais do Arquipélago.

Nos bovinos, a Leptospirose foi diagnosticada pela primeira vez em 1940, na Rússia e em 1944, nos Estados Unidos por Jungherr. Posteriormente, na década de 80, a Leptospirose foi documentada como uma doença com grande impacto económico nos cães, bovinos, cavalos, ovelhas e cisnes (Adler 2015a).

A pesquisa sobre a *Leptospira*, nos últimos dez anos tem vindo a acentuar-se devido à descoberta de novas características biológicas, assim como pela compreensão de novos mecanismos de interacção entre este agente patogénico e os mamíferos a nível celular e molecular (Adler 2015).

Ao longo dos anos, foram várias as designações atribuídas à Leptospirose para além da síndrome de Weil tais como: na China, Icterícia dos apanhadores de arroz; no Japão, Febre outonal; nos Estados Unidos, Gripe dos trabalhadores dos esgotos; na Europa, Doença dos tratadores de porcos e, nas ilhas dos Açores como a Doença dos ratos (Gonçalves 2009).

2.2. ETIOLOGIA

A Leptospirose é um problema planetário de Saúde Pública, Veterinária e Humana, causada pela espiroqueta patogénica do género *Leptospira*, que é capaz de se disseminar pelos tecidos dos animais, podendo contribuir para o aparecimento de doença crónica nos animais hospedeiros (Júnior 2010).

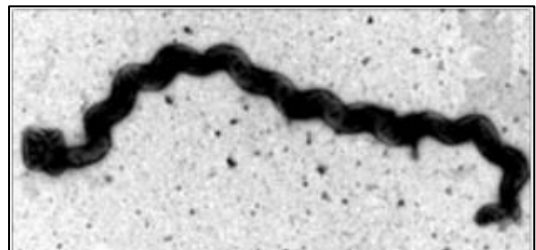


Figura 1 - Electromiografia de *Leptospira* (45,000x) (Vijayachari 2007)

O género *Leptospira* (Figura 1) é composto por espiroquetas móveis, gram-negativas, aeróbios obrigatórios da família *Leptospiraceae* com importância em Medicina Humana e Medicina Veterinária (Quinn et al. 2011; Goldstein 2010). A sua forma é filiforme, com aproximadamente 0,1 a 0,3 µm de diâmetro e um comprimento entre 6 a 20 µm. As suas extremidades têm uma forma de gancho podendo sobreviver no meio ambiente até 6 meses (Constable et al. 2017).

As bactérias pertencentes ao grupo *Leptospira* encontram-se normalmente num ambiente quente e húmido (Callan 2015), com um crescimento óptimo à temperatura de 28-30°C (Constable et al. 2017) e com um pH 7,2-8,0, sendo que a sua taxa de sobrevivência diminui quando as condições de temperatura estão abaixo dos 10°C não sobrevivendo ao congelamento (Callan 2015).

2.3.SEROVARES

A classificação taxonómica do género *Leptospira* é tida como confusa e de difícil percepção. Contudo, actualmente podem ser encontrados dois sistemas de classificação: o antigénico e o genotípico (Medeiros 2019).

No sistema de classificação antigénico, o serovar é considerado a unidade básica sistemática para classificar a *Leptospira* spp, sendo que geneticamente são agrupados em serogrupos (Constable et al. 2017). Estes serogrupos são compostos por serovares que partilham antigénios comuns, que durante a realização dos testes de detecção de anticorpos conduzem a reacções cruzadas (Greene et al. 2012).

Durante muitos anos foram reconhecidos dois grupos: *L. interrogans*, sensu lato, onde se encontravam identificados mais de 250 serovares patogénicos e a *L. biflexa*, sensu lato, que englobava as espécies saprófitas do organismo (Constable et al. 2017). Segundo Brenner et al. (1999), a *L. biflexa* pode ser encontrada na superfície de água doce e nos solos húmidos, sendo raramente isolada nos humanos ou animais.

Nos bovinos, os serogrupos indicados como tendo um carácter patogénico de maior relevância são: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola*, que podem ser transmitidos por hospedeiros não específicos e, *L. hardjo* transmitida por um hospedeiro específico (Thompson and Goodrich 2018).

A variedade de serovares existente é reconhecida através da realização de um teste de absorção de aglutinação cruzada (Cross-Aglutinin Absorption Test – CAAT). Contudo, este teste, é demorado e de difícil execução, existindo poucos laboratórios de diagnóstico que o realizam. Desta forma, os serovares não são determinados e no seu lugar, é determinado qual o serogrupo através do teste de aglutinação microscópica (Microagglutination Test – MAT). Os serogrupos, todavia não são valorizados a nível taxonómico, mas são relevantes na formulação de um diagnóstico e a nível epidemiológico (Constable et al. 2017).

No sistema de classificação genotípico/molecular a base de classificação utilizada é a espécie genómica e as Leptospiras são identificadas com base na hibridização ADN-ADN (Machry et al. 2010).

Das espécies genómicas foram reconhecidas dez espécies pertencentes ao grupo das Leptospiras patogénicas: *L. alexianderi*, *L. alstonii*, *L. borpetersenii*, *L. interrogans* (*sensu stricto*), *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. weilii*, *L. kmetyi* e *L. mayottensis*; seis espécies no grupo das Leptospiras intermédias: *L. fainei*, *L. inadai*, *L. broomii*, *L. licerasiae*, *L. venezuelensis*, e *L. wolffii*; e sete espécies pertencentes as Leptospiras não patogénicas/saprófitas: *L. idonii*, *L. biflexa* (*sensu stricto*), *L. terpstrae*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii* (Soares 2018).

Por outro lado, Thompson e Goodrich (2018) utilizam uma classificação diferente. Apresentam a existência de pelo menos 21 espécies que são organizadas em 3 grupos baseados em características como: a análise filogenética (no gene ribossomal 16S), a hibridação ADN-ADN, o seu crescimento *in vitro*, a patogenicidade e a virulência da espécie. Esta classificação vem pois contribuir para a evidência da complexidade mencionada anteriormente, na classificação da bactéria pertencente ao género *Leptospira*.

2.4. EPIDEMIOLOGIA

A Leptospirose pode ser encontrada em todo o mundo, aparecendo em zonas tropicais, subtropicais e em climas temperados (Sugunan 2007). Todavia, a presença de determinados serovares é específica de determinadas zonas geográficas (Ellis 1984).

A nível epidemiológico, fica mais fácil compreender a Leptospirose quando classificamos a doença em duas categorias relativamente ao seu grau de adaptação ao Hospedeiro, isto é, se o agente está ou não adaptado. Frequentemente, cada serovar está adaptado a determinado hospedeiro podendo, contudo, adaptar-se a vários hospedeiros e estes serem portadores de distintos serovares, em simultâneo. Isto acontece devido ao carácter dinâmico e complexo do ciclo de transmissão de cada serovar (Hartskeerl et al. 2011).

Antigamente, a Leptospirose era descrita como uma doença ocupacional devido à associação feita a indivíduos com actividade agro-pecuária, em minas, em esgotos, em zonas militares e na clínica veterinária (Bharti et al. 2003). Posteriormente, foi associada a elevados índices pluviométricos, encontrando-se melhores condições climáticas para o seu desenvolvimento nas regiões subtropicais e tropicais (Mottola et al. 2015).

Devido ao baixo poder económico, mau saneamento básico e baixo poder económico da população, alguns países como a Ásia, América Latina e África, são gravemente afectados (Mottola et al. 2015).

Na Europa, a situação relativamente à Leptospirose não sofreu alterações significativas nos últimos anos, contudo verificou-se um ligeiro aumento do número de casos, na França, Rússia, Alemanha e Itália, relacionados com alterações climáticas e outros factores ambientais (Pappas et al. 2008).

Em Portugal, especialmente na região Centro do Continente e nas ilhas de S. Miguel e Terceira, verificou-se que a Leptospirose tem sido apontada, nos últimos 20 anos, como sendo um problema emergente de saúde pública (Vieira et al. 2006).

No arquipélago dos Açores, as condições de temperatura e humidade médias justificam a elevada disseminação das Leptospiras, apontando-se para o aparecimento de um elevado número de casos, no intervalo entre Setembro e Janeiro. O grau de

conscientização dos clínicos e da população em geral, aliado ao número crescente de roedores na Ilha, são três dos factores importantes que contribuem para o aumento do número de casos já reportados (Mottola et al. 2015).

A Sociedade Internacional de Leptospirose (ILS) realizou uma pesquisa por vários países e verificou a existência de uma média anual de hospitalizações de casos severos de cerca de 10.000 indivíduos (Sugunan 2007).

2.5. TRANSMISSÃO

A Leptospirose é caracterizada como sendo uma infecção bacteriana zoonótica que se difunde entre diferentes espécies de animais de forma cíclica. Como a bactéria pode infectar diferentes hospedeiros animais, o ciclo é relatado como sendo complexo e dinâmico (Santos 2015).

A bactéria do género *Leptospira* foi encontrada em mais de 180 espécies de animais, e a transmissão ocorre através de mamíferos, apesar de já terem sido encontradas em aves e répteis (Guerra 2009).

Alguns serovares são capazes de se adaptar ao hospedeiro, passando estes a denominar-se hospedeiro de manutenção/hospedeiro reservatório. Nestes casos, o animal não apresenta qualquer sinal clínico, mas continua a libertar grandes quantidades de *Leptospiras*, sendo também designados por portadores crónicos (Guerra 2009).

Os hospedeiros de manutenção são responsáveis pela contaminação ambiental e de outros indivíduos, sendo estes últimos denominados de hospedeiros acidentais (Tabela 3).

Tabela 3 - Hospedeiros de manutenção e acidentais mais importantes dos serovares de *L. interrogans* (Quinn et al. 2011)

Serovar	Hospedeiro de Manutenção	Hospedeiro Acidental
<i>Bratislava</i>	Porco, Ouriço, Cavalo	Cão
<i>Canicola</i>	Cão	Porco e Vaca
<i>Grippityphosa</i>	Roedor	Porco, Vaca, Cão e Cavalo
<i>Hardjo</i>	Vaca (ocasionalmente ovelha) e Cervo	Humanos
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Rato	Animais domésticos e Humanos
<i>Pomona</i>	Porco e Vaca	Ovelha, Cavalo e Cão

Os hospedeiros acidentais, quando contaminados pela *Leptospira* spp., apresentam normalmente uma baixa susceptibilidade para o desenvolvimento da doença, comportando-se como transmissores pouco eficientes da mesma (Quinn et al. 2011).

Nos humanos, as portas de entrada para *Leptospira* podem ser cortes, abrasões ou as mucosas (oral, conjuntival e vaginal) (Haake and Levett 2015). A sua transmissão pode ocorrer de uma forma directa, de animais para humanos, através da urina, placenta ou leite (Vijayachari et al. 2015; Aquib et al. 2016) ou mais comumente de uma forma indirecta, através do ambiente, pelo contacto com o solo ou água, contaminados com a urina de indivíduos infectados (Greene et al. 2012; Haake and Levett 2015). No entanto, este tipo de transmissão implica que a bactéria tenha capacidade de sobreviver por longos períodos de tempo no ambiente e que consiga de alguma forma, adaptar-se às diferentes condições do ambiente e do hospedeiro (Santos 2015).

Recentemente, demonstrou-se que existem determinadas Leptospiras patogénicas que não são resistentes quando se encontram no meio ambiente, como por exemplo os serovares na espécie *L. borpetersenii*. Em contraste, a espécie *L. interrogans*, demonstra uma sobrevivência prolongada, nomeadamente quando se encontra em águas superficiais. É relevante referenciar, que existem factores como o serovar e o estado imunológico/susceptibilidade do hospedeiro, que vão influenciar o quadro clínico final nos diferentes hospedeiros (Haake and Levett 2015).

A Leptospirose é descrita como sendo uma doença ocupacional (Mottola et al. 2015) observando-se um maior número de casos em determinadas profissões de risco como os Médicos Veterinários, os cientistas, os caçadores e os trabalhadores de matadouros, de explorações leiteiras e de abrigos de animais. Contudo o risco descrito, está dependente da frequência, grau e prevalência da Leptospirose (Haake and Levett 2015). Num estudo realizado nos Açores, foi demonstrado que 92% dos doentes eram do sexo masculino, associando-se esta percentagem ao facto do desempenho das profissões acima descritas, serem preponderadamente, realizadas por indivíduos do sexo masculino (Mottola et al. 2015).

A transmissão directa nos humanos, pode ser evitada, quando se procede à formação dos trabalhadores e através da utilização de equipamento de protecção individual (EPI) como por exemplo, bata, luvas e óculos de protecção (Haake and Levett 2015).

Nos bovinos, a transmissão pode ocorrer de forma directa ou indirecta. A transmissão directa, ocorre quando os hospedeiros portadores assintomáticos transmitem *Leptospira* spp. a um novo hospedeiro por via transplacentária, por via hematogénica ou por contacto com fluidos corporais como a urina ou o leite (Vijayachari et al. 2015). Os machos são uma importante fonte de contaminação para as fêmeas devido à possibilidade de o

sémen estar contaminado. Todavia, também é possível a ocorrência de transmissão no sentido contrário, através de corrimentos vaginais de fêmeas contaminadas (Loureiro and Lilenbaum 2019).

Há estudos realizados ao nível da reprodução de bovinos que reportam a possibilidade da transmissão de *Leptospira* spp. aquando a realização da inseminação artificial, devido à resistência do agente à temperatura de congelação. Porém, a transmissão pode ser controlada por adição de antibióticos aos diluidores do sémen (por exemplo, a estreptomicina) aos quais *Leptospira* spp. é sensível (Loureiro and Lilenbaum 2019).

2.6. PATOGENIA

A manifestação desta doença bacteriana, está directamente relacionada com a presença de serovares e sua adaptação aos hospedeiros intermediários presentes nas imediações de uma exploração ou mesmo à presença de serovares nos animais da própria exploração (Grégoire et al. 2020).

Quando o organismo penetra num hospedeiro susceptível, entra na circulação sistémica por via hematogénica onde se vai multiplicar e instalar-se nos tecidos e órgãos (Hookey 2010). Contudo, o Sistema Imunitário, através do recrutamento de células inflamatórias - as células fagocitárias, tenta debelar a sua multiplicação, mas as Leptospiras possuem uma grande resistência àquelas. Esta resistência irá facilitar a disseminação das Leptospiras por via hematogénica, causando lesões em todo o organismo, com preferencial ênfase, no fígado, nos rins, no pulmão e no Sistema Nervoso (Turnier and Epelboin 2018).

Nas vacas, a manifestação da Leptospirose pode observar-se de três formas distintas: a aguda, a subaguda e a crónica. Contudo, estas estão mais associadas aos serogrupos *L. Hardjo* ou *L. Pomona* (Quinn et al. 2011; Constable et al. 2017).

Na forma aguda e severa, também reconhecida como fase de leptospirémia, a doença pode apresentar um quadro de septicémia, febre (40,5 – 41,5°C), presença de petéquias nas mucosas, endotoxémia, hemorragias, hepatite, nefrite, meningite, ou uma queda abrupta na produção de leite, que pode revelar-se mais espesso, de cor vermelha ou contendo coágulos de sangue (Constable et al. 2017). Na sua forma subaguda e moderada, é possível verificar um quadro semelhante ao anterior contudo os sinais clínicos não são tão marcados e não aparecem em simultâneo nos animais infectados. Na forma crónica, ocorre um quadro de abortos sucessivos, nados mortos ou infertilidade (Quinn et al. 2011).

A fase de incubação da doença ocorre durante sete a doze dias, com uma variação de 3 a 30 dias (Hanson 1960; Colville and Berryhill 2007). A fase de leptospirémia dura aproximadamente uma semana, quando ocorre a produção de anticorpos (Ferreira 2016).

Após a fase aguda, as Leptospiras vão-se instalar nos rins, mais precisamente nos túbulos renais proximais, onde se encontram em constante multiplicação sendo posteriormente excretadas por via urinária. A duração da excreção vai variar com a espécie, com o animal e com o serovar presente, podendo ser excretada ao longo de 2 anos, de uma forma intermitente e de baixa intensidade (Ellis 2015).

Os humanos, habitualmente são descritos como hospedeiros acidentais, em que após a penetração da bactéria através da pele, ocorre a disseminação hematogénica, tal como nos animais. Quando são atingidos elevados níveis de Leptospiras no organismo, são activados mecanismos de resposta pela Imunidade Inata, que permitem ao corpo, desenvolver uma resposta sistémica, levando a resultados graves como septicémia ou falência orgânica múltipla (Haake and Levett 2015).

O fígado é referido como o principal órgão alvo das Leptospiras, onde estas se vão alojar e causar a rotura dos hepatócitos. Isto origina uma saída da biliar para os vasos sanguíneos, o que responsável pela bilirrubinémia registada na forma ictérica da doença (Arean 1962).

A colonização renal e a severidade com que a bactéria atinge estes órgãos é que vai definir se o paciente apenas apresenta uma disfunção renal ou se apresenta uma falha renal completa, também conhecida como Síndrome de Weil (Arean 1962).

2.7. CONTROLO E PREVENÇÃO

Numa perspectiva de melhorar o conhecimento existente sobre a Leptospirose e também de melhorar as estratégias de controlo, torna-se necessário conseguir estabelecer uma relação entre os Humanos, os Animais e o Ecossistema, sendo um excelente exemplo do princípio de “One Health” (Schneider et al. 2013).

“One Health” foi um conceito idealizado e implementado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), na medida em que pretende alcançar uma prevenção e controlo de doenças animais, em interface com os Humanos, animais e ambiente.

Revelando-se adequada a sua utilização nesta temática, visto que a infecção humana está amplamente relacionada com a intensa interação

entre os humanos e os animais e o aumento da “invasão” dos habitats naturais dos animais,

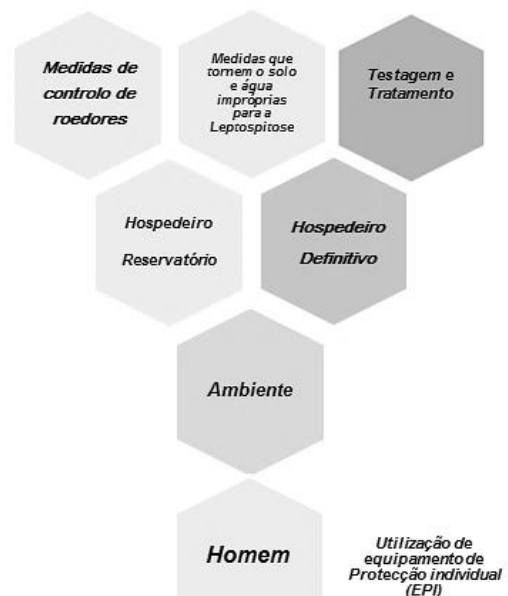


Figura 2 – Diferentes estratégias de controlo da Leptospirose (Adaptado de Vijayachari et al. 2015)

implicando uma exposição directa a animais ou ambientes por estes contaminados (Pal et al. 2021).

Em Portugal Continental, o controlo da doença baseia-se na prevenção, devido ao impacto significativo na incidência/prevalência da doença humana (Mottola et al. 2015).

Numa perspectiva preventiva, o primeiro aspecto a ter em conta, será descobrir a fonte de infecção e interromper a transmissão da Leptospirose dos animais para os humanos, procurando-se por hospedeiros reservatórios, hospedeiros definitivos ou possíveis fontes de infecção ambiental. Seguidamente deve estabelecer-se a devida formação dos grupos de risco e, por fim, realizar a vacinação de animais de risco (Mottola et al. 2015; Constable et al. 2017).

Nos Açores, a vacinação de bovinos de leite, é proposta aos agricultores numa perspectiva da manutenção do estado sanitário da exploração. Esta vacinação torna-se imperativa para que seja possível a quebra do ciclo entre os bovinos de leite e os ratos, pois estes são uma praga na Ilha, de difícil controlo e portadores dos serovares com efeitos mais nefastos para os agricultores (Rego 2001).

A vacinação para a Leptospirose pode ser realizada em humanos, bovinos, cães e porcos e a imunidade induzida, é restrita a determinados serovares, sendo que existem diferentes vacinas, para diferentes grupos de serovares. Por isso torna-se relevante, realizar o estudo dos serovares presentes em cada região, de forma a se proceder a uma vacinação adequada (Petrakovsky and Antonuci 2018).

2.8. UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA

A evidente existência de facilidade de contaminação e, numa escala maior da aproximação entre os humanos, animais e seus habitats, vêm aumentar a probabilidade de o ser humano ficar infectado por Leptospirose ou qualquer outra doença zoonótica, como já referido anteriormente. Com isto, uma das problemáticas apontadas, está relacionada com o comércio de animais exóticos e selvagens, em que os indivíduos envolvidos na venda e compra destes animais podem ser facilmente expostos à doença (Guerra 2013).

Pavli e Maltezou (2008) referem que a procura por condições mais “eco-friendly” e a oferta do ecoturismo, são outros dos problemas apresentados para a população devido ao contacto mais próximo com a Natureza. Guerra (2013) explica ainda, que a aproximação à água doce e a solos húmidos em combinação com as mudanças climáticas globais, isto é, a elevação das temperaturas, o maior número de inundações e o registo de maior ocorrência de furacões, vai resultar numa maior exposição à bactéria, conduzindo a uma maior propagação e disseminação da doença.

Numa forma de conscientização e protecção da Saúde Pública tornam-se

necessárias medidas preventivas, de forma a minimizar o impacto desta doença. Nesse sentido, devem ser realizadas formações orientadas para os grupos de risco e população em geral, sobre os meios de propagação de *Leptospira*; realizar exames de rotina a indivíduos que tenham ocupações que impliquem o contacto directo com animais e ambientes susceptíveis de estarem contaminados e por fim, estudar os serovares de indivíduos infectados, de maneira a conhecer os focos de infecção e disseminação da doença de uma determinada região (Mgode et al. 2014).

Numa tentativa de enquadrar estes três aspectos, foi elaborado um panfleto informativo (Anexo 1), que serviu de base para uma exposição da doença aos produtores de S. Miguel, permitindo-lhes debater qualquer dúvida relacionada com esta temática e discutir possíveis mudanças nas suas explorações, que sendo viáveis poderiam ser implementadas de forma a assegurar a sua protecção futura.

2.9. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico definitivo da Leptospirose é realizado através de exames laboratoriais específicos. Isto porque, os sinais clínicos presentes, são inespecíficos, podendo ser facilmente confundidos com sinais clínicos apresentados em outras doenças. Os testes de diagnóstico a realizar devem ser escolhidos, tendo em conta, o estágio da doença. A detecção de *Leptospiras* pode ocorrer através da obtenção de amostras de sangue, urina ou líquido cefalorraquidiano (LCR) (Koizumi and Picardeau 2020).

Existem, portanto, dois tipos de testes, os directos e indirectos. O teste directo pode ser realizado durante o período de infecção, onde se pode observar a presença da bactéria no sangue, através da observação em microscópio de fundo escuro. Porém, a sensibilidade deste teste é reduzida e, para que seja possível a sua detecção são necessárias 1×10^4 *Leptospiras*/mL/campo (Toyokawa et al. 2011).

A realização de uma cultura bacteriana é outro dos testes directos possíveis, todavia, devido ao crescimento lento de *Leptospira*, é necessário esperar várias semanas para se obter uma amostra positiva, o que torna este teste, na prática, ineficaz (Turnier and Epelboin 2018).

Os testes indirectos disponíveis são: o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA-Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) e o MAT, sendo este último, considerado o método de eleição para o diagnóstico definitivo (Jayasundara et al. 2021).

O teste ELISA tem a capacidade de distinguir os anticorpos Imunoglobulina M (IgM) durante a primeira fase de infecção e, Imunoglobulina G (IgG), numa fase mais tardia, sendo mais rápido e mais sensível. Este teste, utiliza *Leptospiras* mortas diminuindo assim o risco de infecção dos profissionais do laboratório. Contudo para uma maior precisão, deve realizar-se posteriormente, o MAT (Medeiros, 2019).

O MAT é considerado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como o teste referência para a obtenção do diagnóstico serológico de Leptospirose. Utiliza *Leptospiras* vivas e detecta anticorpos aglutinantes específicos para serogrupos IgM e IgG, aquando da mistura do soro sanguíneo com um painel de antigénios que contemple os serovares representativos de todos os serogrupos presentes em determinada região geográfica (Blanco et al 2019; Jayasundara et al. 2021). O tempo e o custo associados a este teste, assim como a existência de resultados falso-negativos, devem ser levados em conta, como um aspecto negativo do mesmo. Estes podem ocorrer devido à possibilidade de o animal estar infectado, mas o serovar presente pode não estar incluído no painel de *Leptospiras* utilizado (Medeiros, 2019).

2.10. TRATAMENTO

Nos bovinos, raramente se observam casos agudos da doença e para que seja possível controlar a doença, é imperativo identificar os portadores com excreção urinária de *Leptospira*, pois estes encontram-se aparentemente saudáveis (Lilenbaum and Martins 2014).

Numa abordagem inicial, quando se suspeita de uma exploração positiva, é sugerido aos produtores que mudem os animais de pastagem, realizem a vacinação do seu efectivo e que realizem o controlo serológico dos animais que tenham abortado. Desta forma, consegue-se a eliminação/controlo do serovar ou serovares, presentes na exploração (Stilwell 2013; Lilenbaum and Martins 2014).

Quando se decide pelo tratamento médico da Leptospirose, é pertinente informar ao produtor que a maioria dos antibióticos utilizados, vão originar resíduos no leite, que deverá ser eliminado, obedecendo-se ao intervalo de segurança. Contudo, por exemplo, se estiver presente o serovar *Agalactiae*, para além de o antibiótico originar resíduos no leite, o agente em causa irá provocar efeitos nefastos e irreversíveis na glândula mamária da fêmea, sendo por isso, importante realizar o controlo serológico, no tratamento desta patologia (Hanson 1960).

Relativamente à escolha do antibiótico a utilizar, devemos ter em conta que o seu uso é específico para determinados serovares. Todavia, quando ocorre um diagnóstico positivo, o antibiótico de eleição é normalmente, a Estreptomicina (25mg/kg pv, IM, durante 5 dias) (Stilwell 2013). Existem porém, outras possibilidades a citar como o uso da oxitetraciclina, tetraciclina (doxiciclina), penicilina, ceftiofur (2,2 mg/kg pv, IM, uma vez ao dia, durante 5 dias, que se mostrou eficaz no tratamento do serovar *Hardjo*) e os macrólitos (tilmicosin 10 mg/kg pv, SC; ou a tulatromicina 2,5 mg/kg pv, SC) (Callan 2015; Aiello and Moses 2016).

As vacinas contra a Leptospirose apareceram um ano após o primeiro isolamento, tendo sido utilizadas pela primeira vez em 1916. Desde então, foi admitida a sua utilização em humanos, vacas, cães e porcos (Adler 2015b).

O plano de vacinação recomendado sugere a inoculação de todos os animais com mais de 4 meses de idade, sendo que se inicia com uma dupla vacinação e posterior reforço anual ou semestral, dependendo se se está numa zona geográfica de elevado risco (Stilwell 2013).

Em relação à doença nos humanos, o benefício do tratamento através da utilização de antibióticos ainda não foi confirmado cientificamente. Porém, muitos autores reconhecem que o seu uso é necessário, quando surgem casos severos da doença (CFSPH 2014).

O tratamento vai depender, sobretudo, da severidade da doença e dos sintomas manifestados. Nos pacientes que apresentam sintomatologia moderada, normalmente o tratamento é sintomático. Por outro lado, quando estamos perante indivíduos que manifestam a forma severa da doença, isto é, a forma ictérica, deve proceder-se à hospitalização dos mesmos (Levett 2001). Durante a hospitalização dos pacientes, para além da administração de antibióticos, devem ser prestados cuidados primários, o devido suporte respiratório, fluidoterapia e transfusões sanguíneas, se necessárias (CFSPH 2014).

A fluidoterapia é altamente recomendada, visto que a presença de *Leptospira* está fortemente relacionada com o aparecimento de Doença Renal, podendo ocorrer nefrite intersticial crónica e fibrose (Callan 2015).

3. TRABALHO EXPERIMENTAL

3.1. OBJECTIVOS DO ESTUDO

A realização do presente estudo, teve como objectivos os já enunciado na introdução deste trabalho e visaram (1) a amostragem, através da realização da recolha de amostras sanguíneas de bovinos do sexo feminino, da raça Frísia Holstein; (2) a gestão dos dados recolhidos e (3) o estudo da produção e respectiva análise de dados, no período de Maio de 2021 a Fevereiro de 2022, na ilha de São Miguel - Açores.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. AMOSTRAGEM POPULACIONAL EM ESTUDO

Para a elaboração deste trabalho, foram seleccionadas apenas explorações leiteiras que trabalhavam com a AJAM (ver Fig. 3).

As explorações foram escolhidas tendo como principais critérios de selecção, a localização geográfica, a disponibilidade e a pretensão dos produtores em participar no estudo. Aliado a estes critérios, ainda existiram dois factores limitativos na recolha das amostras: o estado pandémico pelo qual o nosso país passava, bem como o facto de, quando se fez o pedido ao Director dos Serviços de Desenvolvimento Agrário de São Miguel, o Sr. Pedro Hintze Ribeiro, para a realização da análise das amostras no Laboratório da Ilha Terceira, ter sido condicionado o volume da amostragem, com a imposição de um limite máximo de amostras permitidas por mês.

3.2.2. COLHEITA, ACONDICIONAMENTO E ENVIO DE AMOSTRAS

As amostras sanguíneas foram recolhidas pela autora, apenas a fêmeas da raça Frísia Holstein, após a ordenha, no período de Maio de 2021 a Fevereiro de 2022, sendo que nenhuma delas estava vacinada, até ao momento da recolha, para qualquer tipo de serovar de *Leptospira*.

Cada amostra foi retirada por punção da veia coccígea, através de um sistema de vácuo, utilizando-se uma agulha, adaptador e um tubo de vidro sem anticoagulante de 5mL (vacutainer) esterilizado, sendo mantidas sob refrigeração com o auxílio de placas de gelo, numa caixa térmica, durante o seu transporte até à entrega no Serviço de Desenvolvimento Agrário de Ponta Delgada.

Posteriormente, as amostras de sangue foram reencaminhadas para o Laboratório Regional de Veterinária de Angra do Heroísmo, na Ilha Terceira, para a realização da pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* através da utilização da técnica de referência (MAT). As amostras foram mantidas congeladas (-20°C) em congeladores laboratoriais, que são

sujeitos a ensaios de perfil térmico, sendo posteriormente descongeladas à temperatura ambiente para a realização da MAT pela Dra. Lídia Flor. As leituras foram realizadas utilizando-se um microscópio de campo escuro, com o auxílio de lâmina, na objetiva de 20x, para a constatação de presença ou ausência de aglutinação. Na triagem os soros foram testados a partir da diluição de 1:100, sendo considerados positivos aqueles que apresentaram aglutinação igual ou superior a 50%, em comparação com o controlo.

O painel de antigénios utilizado para a testagem das amostras enviadas encontra-se descrito na tabela 4.

Tabela 4 – Composição do painel de antigénios vivos utilizado na detecção de *Leptospiras*, por rotina, pelo Laboratório Regional dos Açores, com base na Técnica de Aglutinação Microscópica (Laboratório Regional de Veterinária, 2022)

Espécie- Serovar	Serogrupo	Serovar
<i>L. borpetersenii</i>	Ballum	Arborea (Açores)*
<i>L. borpetersenii</i>	Ballum	Arborea
<i>L. borpetersenii</i>	Sejroe	Saxkoebing
<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislaba
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae (Açores)*
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni
<i>L. noguchii</i>	Grippothyphosa	Valbuzzi
<i>L. Kirschneri</i>	Pomona	Mozdoc
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Hardjo
<i>L. borpetersenii</i>	Sejroe	Hardjobovis
*Isolados dos Açores		

3.2.3. INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

O inquérito epidemiológico foi realizado, pela autora, num formato de entrevista e registado em papel (Anexo 2), após a recolha das amostras de sangue. O modelo do inquérito realizado aos produtores consistiu em 25 perguntas, que poderiam variar entre a utilização de resposta rápida ou recorrendo a opções de respostas providenciadas, do tipo abertas ou fechadas. O inquérito foi dividido em 6 secções: identificação do inquirido; conhecimento do individuo sobre a doença; caracterização e manejo da exploração, reprodução, alimentação e abeberamento; e programa vacinal. A testagem do inquérito foi realizada por dois colegas Médicos Veterinários, um Engenheiro Zootécnico e dois produtores.

3.2.4. ANÁLISE DE DADOS

De forma a obter uma melhor gestão dos resultados obtidos, a autora criou uma base de dados no Microsoft® Office Excel 365 para Windows®. Nela, constam o nome do proprietário, o número de exploração, a idade dos 287 animais testados e os tópicos relacionados com o inquérito apresentado no ponto imediatamente anterior.

A análise de dados, analítica e descritiva foi efectuada no programa SPSS Statistics®, de forma a avaliar a prevalência de casos positivos na ilha de S. Miguel, assim como a relação existente entre aquela e a forma de produção existente em cada exploração.

Para isso, recorreu-se a várias ferramentas disponíveis no programa, tais como a elaboração de tabelas e gráficos com o intuito de facilitar o tratamento de dados.

A comparação entre as questões foi realizada através da utilização do Teste Qui-quadrado e do Teste Exacto de Fisher para verificação de uma possível relação ou associação estatisticamente significativa entre as categorias das respostas dos inquéritos realizados, considerando-se um intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e um nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. LOCAL DA AMOSTRAGEM

A Leptospirose é conhecida pela sua endemicidade, tendo sido apontada como um problema de Saúde Pública crescente na Ilha de S. Miguel. Isto deve-se à elevada taxa anual de incidência em climas semitropicais com condições atmosféricas favoráveis, como observado na Ilha, proporcionando condições propícias à sobrevivência e transmissão das Leptospiras (Esteves et al 2014). Tendo isto em conta e para abranger um maior número de explorações, de forma a ser praticável uma maior representatividade da prevalência da Leptospirose, durante o presente estágio curricular, foram escolhidas 16 explorações, que se encontram assinaladas no mapa da Figura 3, que prontamente se voluntariaram a participar no estudo, após uma primeira abordagem explicativa com recurso a um panfleto, elaborado pela autora, sobre a Leptospirose (Anexo 1).

Nas 16 explorações, foram retiradas, aleatoriamente, amostras sanguíneas de 20% do efectivo da exploração, o que permitiu realizar, um total de 287 recolhas de sangue.

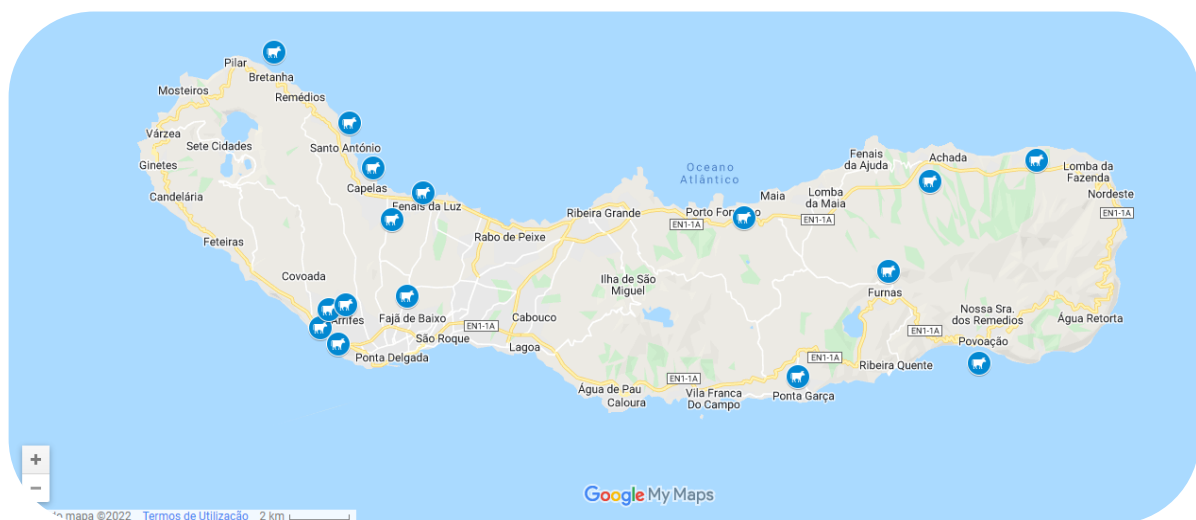


Figura 3 – Explorações estudadas relativamente à presença de *Leptospira* no sangue de vacas Frísias Holstein, na Ilha de S. Miguel (Google My Maps 2022)

Como se pode observar, de acordo com os dados apresentados na tabela 5, a maioria das amostras foram retiradas na freguesia de Arrifes (21,3%), devido a proximidade geográfica à AJAM e a uma maior disponibilidade revelada por esses produtores.

Tabela 5 – Distribuição das explorações pelos concelhos e número de animais testados

Exploração	Concelho	Freguesia	Sala de ordenha	Nº total de fêmeas em ordenha	Nº de fêmeas testadas	Fr (%)
A	Ponta Delgada	Ajuda da Bretanha	Fixa	65	13	4,5
B	Ponta Delgada	Santo António	Fixa	130	26	9,1
C	Ponta Delgada	Arrifes	Fixa	84	17	5,9
D	Ponta Delgada	Fajã de Baixo	Fixa	40	8	2,8
E	Ponta Delgada	São Vicente Ferreira	Móvel	120	25	8,7
F	Ponta Delgada	Arrifes	Fixa	78	16	5,6
G	Ponta Delgada	Arrifes	Fixa	100	20	7,0
H	Ponta Delgada	Fenais da Luz	Fixa	120	26	4,2
I	Nordeste	São Pedro de Nordestinho	Fixa	75	20	7,0
J	Ponta Delgada	Vila das Capelas	Fixa	50	12	4,2
K	Vila Franca do Campo	Ponta Garça	Móvel	120	25	8,7
L	Nordeste	Achadinha	Fixa	98	20	7,0
M	Ponta Delgada	Arrifes	Móvel	38	8	2,8
N	Ribeira Grande	São Brás	Fixa	70	15	5,2
O	Vila da Povoação	Furnas	Fixa	72	16	5,6
P	Vila da Povoação	Povoação	Fixa	100	20	7,0

4.2. PREVALÊNCIA DA *LEPTOSPIRA*

Das 287 amostras de sangue recolhidas e analisadas, no âmbito do diagnóstico laboratorial de Leptospirose, verificou-se a seguinte distribuição: 242 (84,3%) com cultura negativa para *Leptospira* e 45 (15,7%) com cultura positiva (Tabela 6).

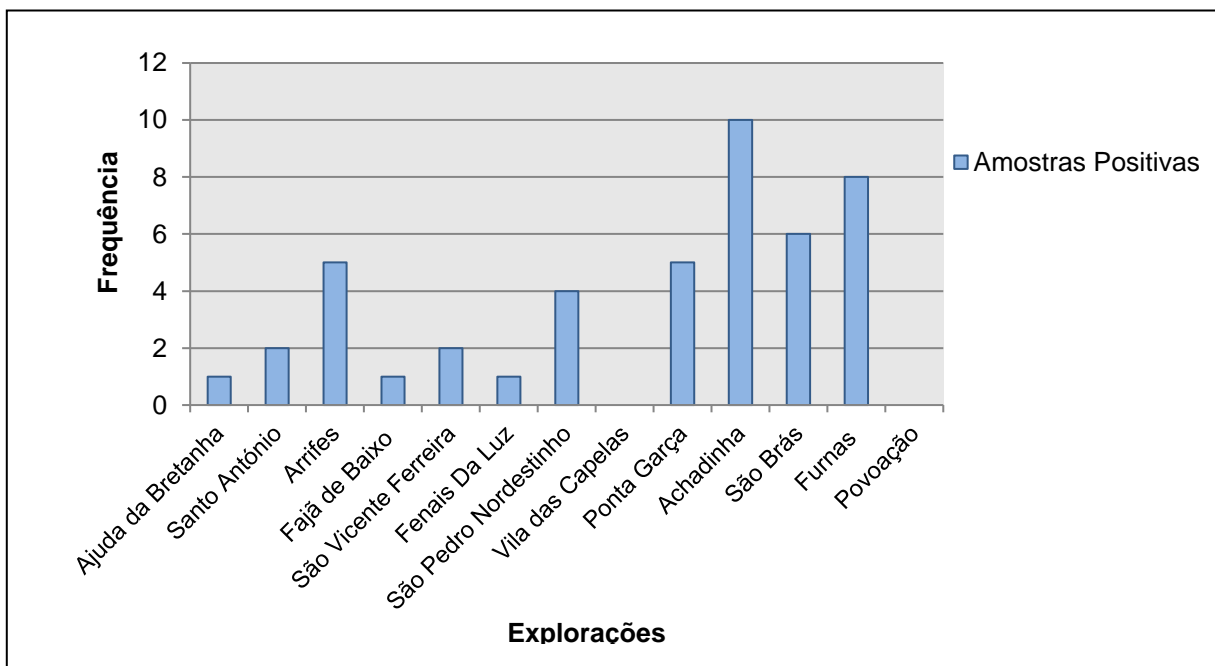
Tabela 6 – Frequência e percentagem de *Leptospira* nas explorações visitadas

	Frequência	Percentagem
Ausente	242	84,3
Presente	45	15,7
Total	287	100,0

O facto de estarmos perante uma percentagem elevada de casos positivos pode assentar em factores como: a presença de roedores, as principais actividades económicas da região serem a pecuária/agricultura e a presença de outros animais domésticos nas explorações. Sendo estes referenciados como alguns dos factores que propiciam o aumento e a dispersão do número de casos de Leptospirose (Zakeri et al 2010; Azevedo, 2013). A Ilha de S. Miguel, é mencionada como tendo uma elevada densidade de roedores, que são descritos como um dos principais hospedeiros de manutenção da bactéria, que posteriormente disseminam a doença por outros animais (animais domésticos e de produção) e pelos humanos, dada à existência de um conjunto de factores físicos, químicos e biológicos que favorecem a sua expansão (Borrego 2009).

Observando o Gráfico 1, podemos verificar que das 45 amostras positivas, a exploração com maior número de casos situa-se na Achadinha com 10 amostras (22,2%), seguida pelas Furnas com 8 amostras (17,8%) e São Brás com 8 amostras (13,3%).

Gráfico 1 - Número de amostras positivas nas explorações das freguesias na Ilha de S. Miguel



4.3. SEROVARES

O Gráfico 2 mostra os resultados relativos aos serovares que apresentaram reação de aglutinação, pela técnica de MAT, podendo constatar-se a existência de 17 serovares diferentes, nos 45 animais que apresentaram reação positiva à presença de *Leptospira*. No Anexo 3 podemos verificar que 23/45 (51,1%) dos animais testados positivos, revelaram um resultado positivo para dois ou mais serovares.

Dos 17 serovares encontrados nos animais testados para a presença de *Leptospira*, os que obtiveram uma maior incidência pertenciam ao serogrupo *interrogans* – serovar *Icterohaemorrhagiae* (21%). O serogrupo *borpetersenii* segue-se a este, apresentado maior incidência nos serovares *Arborea* (18%) e *Hardjobovis* (11%), seguindo-se pelos serovares *Copenhagenii* (9%) e *Hardjo* (9%), pertencentes ao serogrupo *interrogans*. Os serovares *Icterohaemorrhagiae* (6%) e *Copenhagenii* (6%) pertencentes ao serogrupo *icterohaemorrhagiae*; os serovares *Bratislava* (4%) e *Autumnalis* (3%) pertencentes ao serogrupo *interrogans* e o serovar *Saxkoebing* (3%) pertencente ao serogrupo *borpetersenii*, aparecem com menor frequência nos animais testados, contudo não deixa de ser relevante a sua presença nestes animais.

De acordo com Langoni (1999) a elevada presença do serovar *Icterohaemorrhagiae* está intimamente relacionada com a elevada percentagem de roedores na ilha. O aumento da população de *Rattus norvegicus*, também conhecido como rato dos esgotos, veio provocar uma maior disseminação desta zoonose, uma vez que, este roedor elimina *Leptospiras* pela urina, por longos períodos de tempo. É, pois, uma das fontes mais importantes de disseminação da doença para os humanos, animais selvagens e domésticos e daí, ser pertinente um eficaz controlo desta praga (Shalfbauer et al. 2019).

Lau et al. (2015) referem que o aparecimento da *Leptospira borpetersenii* serovar *Arborea*, ocorre pela primeira vez em Itália em 1955 e desde então, têm sido reportados casos em animais e humanos em diversos países, tais como: Barbados, França, Argentina, Eslováquia, Nova Zelândia, Austrália e Açores, estando por isso em concordância com os resultados apresentados neste estudo. Os ratos, *Mus domesticus* e *Rattus rattus* são considerados como sendo os reservatórios predominantes do serovar *Arborea* o que vem acentuar a importância da disseminação já referida anteriormente (Lau et al, 2015).

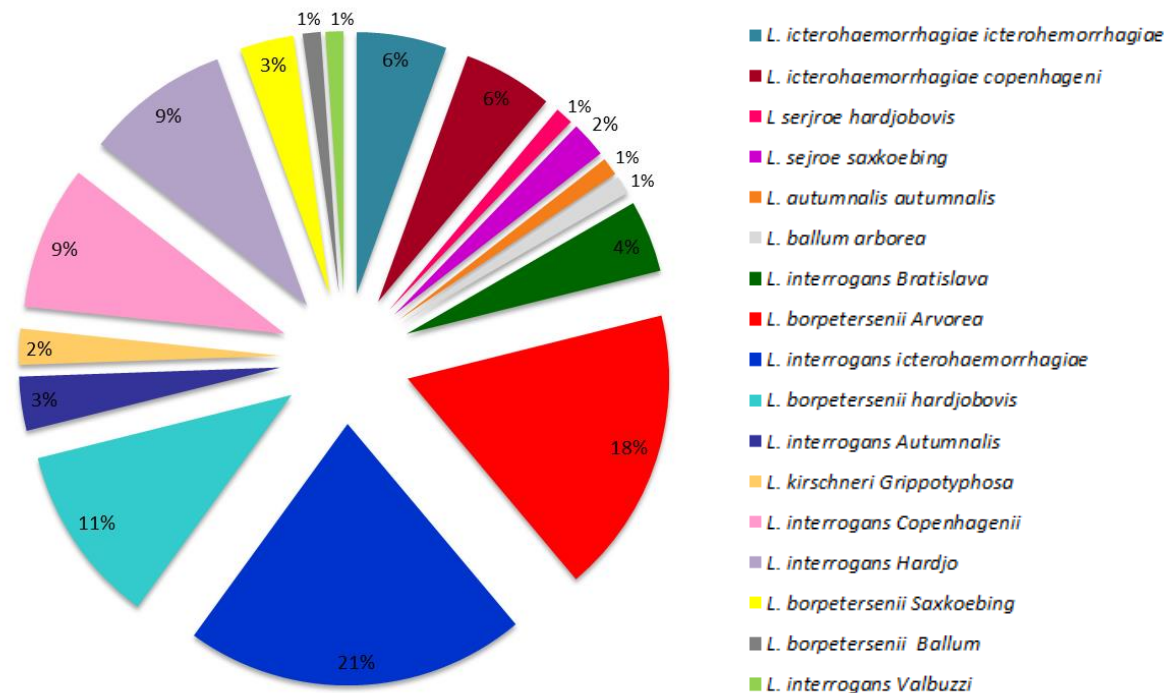
O serovar *Hardjobovis* e *Hardjo* têm como hospedeiro de manutenção os bovinos. O primeiro, encontra-se amplamente distribuído por todo o mundo, mas apenas reportado no Chile, Brasil e Uruguai, segundo Koval et al (2019). Podendo, presentemente, registar-se a sua presença em 11% dos animais positivos neste estudo.

A seroprevalência de *Leptospira Hardjo* (9%) tem justificação, uma vez que a sua transmissão pode ocorrer através do contacto com outros bovinos contaminados, através da

placenta para o feto, ou por contacto directo com a urina e/ou membranas fetais (Schafbauer et al. 2019).

A presença do serovar *Bratislava* está relacionada com infecções acidentais, que ocorrem, possivelmente, por envolvimento directo ou indirecto dos bovinos e de outros animais, mais especificamente, os equinos (Velo, 2004).

Gráfico 2 - Serovares/serogrupos detectados pelo método de diagnóstico de referência (MAT), nas amostras séricas obtidas de vacas da raça Frísia-Holstein, na ilha de S. Miguel



4.4 ANÁLISE DESCRITIVA DO INQUÉRITO

O inquérito foi dividido em 6 secções: identificação do inquirido; conhecimento do indivíduo sobre a doença; caracterização e manejo da exploração, reprodução, alimentação e abeberamento e vacinação.

4.4.1. CONHECIMENTO DO INDÍVIDUO SOBRE A DOENÇA

De forma a perceber se os produtores das explorações visitadas estavam informados sobre o tema abordado, foram formuladas algumas questões pessoais relativamente ao seu conhecimento e envolvimento com esta doença.

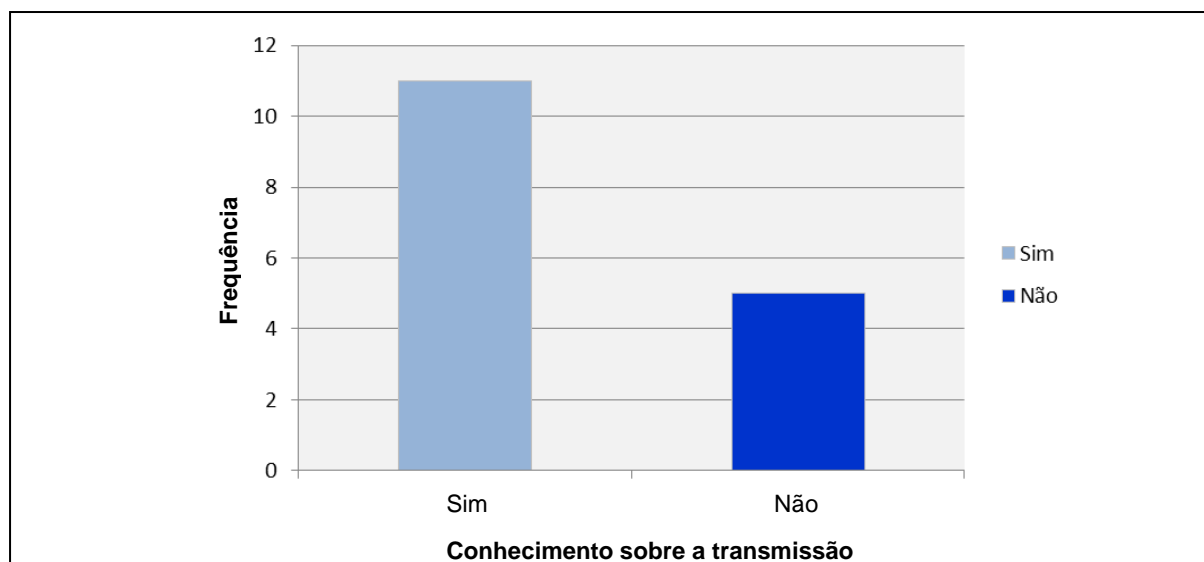
Por análise da Tabela 7, podemos verificar que na questão relacionada com o conhecimento, por si só, sobre o que é esta doença, 14 dos inquiridos (87,5%) afirmaram que já a conheciam e, 2 dos inquiridos (12,5%) referiram que não sabiam do que se tratava.

Tabela 7 – Frequência de indivíduos que conhecia ou não a Leptospirose

	Frequência	Porcentagem
Sim	14	87,5
Não	2	12,5
Total	16	100,0

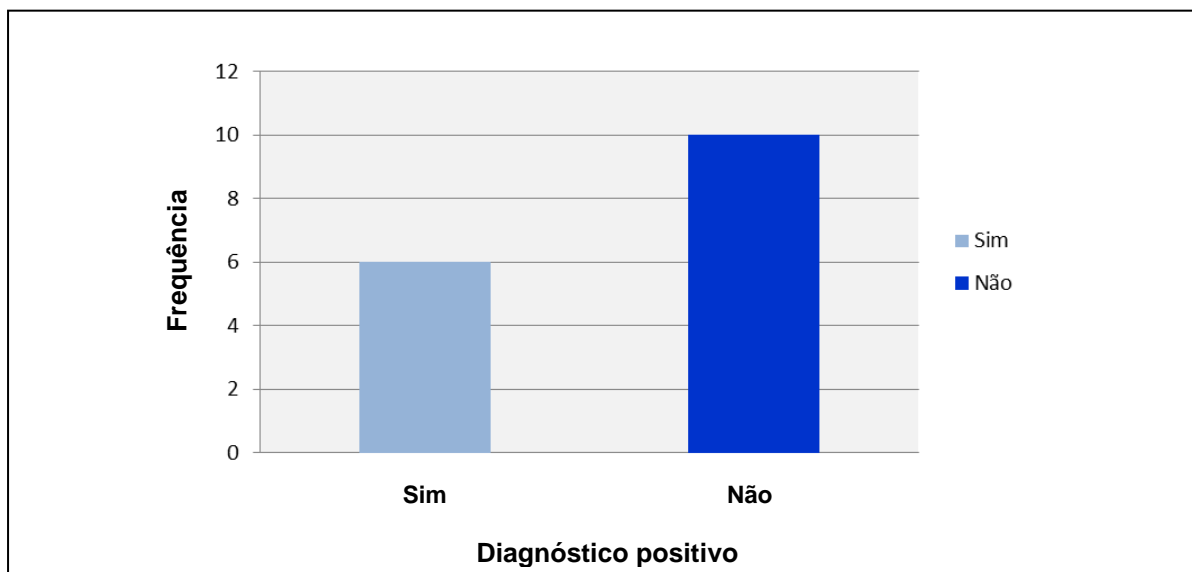
No que diz respeito às formas possíveis de transmissão da doença, através da análise do Gráfico 3, podemos verificar que 11 dos inquiridos (68,8 %) afirmaram saber de que forma as bactérias do género *Leptospira* eram transmitidas entre animais, e entre estes e o Homem, enquanto que, 5 dos inquiridos (31,3%), afirmam não saber de que forma a doença era transmitida.

Gráfico 3 - Frequência de indivíduos que tinham conhecimento relativamente à forma de transmissão da Leptospirose



Por forma a entender-se, se existiria uma relação entre os bovinos positivos de cada exploração e os produtores das mesmas, questionou-se os inquiridos se já alguma vez tinham sido diagnosticados com Leptospirose e, pela análise do Gráfico 4, verificou-se que 10 dos indivíduos (62,5%) não tinham sido contaminados, mas os restantes 6 (37,5%), sim. Após a realização de um teste ANOVA para verificar se haveria alguma relação ou associação estatisticamente significativa entre a percentagem de animais positivos numa exploração e os donos terem sido ou não contaminados, chegou-se à conclusão que não houve uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,8$).

Gráfico 4 – Frequência de indivíduos que revelaram um diagnóstico positivo para a Leptospirose



No que concerne à utilização de EPI durante a realização da ordenha, verificámos que 12 dos produtores (75%) admitiram que o não utilizavam, enquanto que os 4 produtores restantes(25%), responderam que utilizavam. No entanto, após a realização do teste ANOVA constatou-se que não existia uma diferença estatisticamente significativa entre a presença ou ausência de doença e o uso de proteção individual na ordenha ($p=1,00$). Sendo que, seria de se esperar que os produtores que utilizavam EPI's não fossem contaminados na mesma medida dos produtores que não o utilizam. Dito isto, para uma maior veracidade dos resultados agora obtidos, a realização da ordenha deveria ter sido acompanhada pela autora, de forma a certificar-se se, de facto os EPI's estavam a ser utilizados ou se por outro lado, estavam a ser utilizados em condições inapropriadas (como por exemplo, verificar se os produtores trocavam de luvas com frequência e mantinham a integridade das mesmas de forma a proteger-se de uma possível contaminação).

Como já foi referenciado anteriormente, uma das vias de possível transmissão da Leptospirose das vacas para o Homem, é através do leite. Magnusson et al. (2006) mencionam que, são utilizadas técnicas diferentes de limpeza dos tetos na pré-ordenha, por todo o Mundo, com o intuito que a mesma reduza significativamente, a contagem de bactérias no leite.

De forma a avaliar um dos passos mais importantes na higienização dos tetos na pré-ordenha, ou seja, a secagem propriamente dita destes, perguntou-se ao produtor que tipo de toalha utilizava nesta fase do processo, isto é, se utilizava toalhas de papel

descartáveis ou se utilizava uma toalha de pano. Como resultado, verificou-se que 8 dos produtores (50%), afirmaram que usavam toalhas de papel descartáveis e, a outra metade respondeu que utilizava uma toalha de pano. Atento a isto, após a realização do teste ANOVA, para verificar se haveria uma relação da prevalência da doença e a utilização dos dois diferentes métodos, acusou uma diferença estatisticamente significativa ($p= 0,04$), verificando-se uma prevalência da doença numa média de 10,2 das vacas quando se utilizava toalhas de papel descartáveis comparativamente, à prevalência da doença numa média de 21,5 das vacas quando era utilizada a toalha de pano.

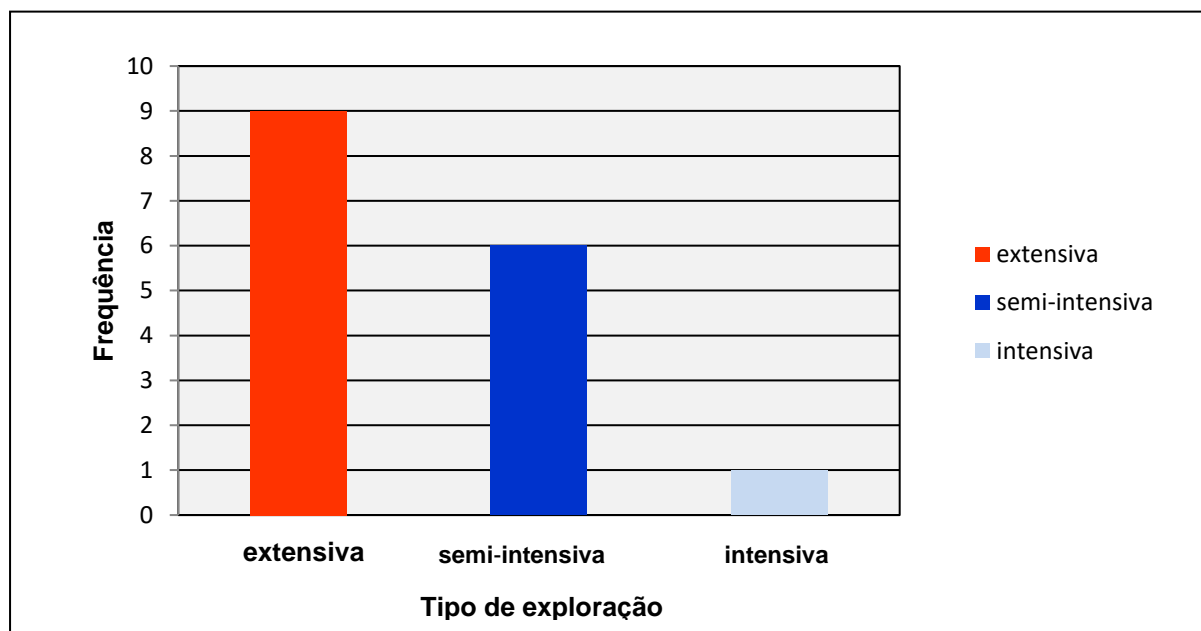
Curiosamente, Magnusson et al. (2006) referem ser preferível a utilização de toalhas de pano húmidas, relativamente às toalhas de papel secas, explicando que, a diminuição da contagem de bactérias é superior com as primeiras. Todavia, está implícito, que ambas (papel e pano) devem ser descartáveis, o que não aconteceu nas explorações estudadas, onde a utilização da toalha de pano, era empregue de uma forma contínua entre diferentes vacas, na sala de ordenha.

4.4.2. CARACTERIZAÇÃO E MANEIO DA EXPLORAÇÃO

O Gráfico 5, caracteriza quanto ao tipo, as explorações estudadas e, a partir da sua análise, verifica-se que, 9 explorações (56,3%), das explorações visitadas foram maioritariamente de produção extensiva, seguindo-se 6 explorações de sistema semi-intensivo (37,5%) e por fim, apenas uma de regime intensivo (6,3%). Todavia, a variação desigual de explorações visitadas quanto ao tipo de sistema de produção, não permitiu estabelecer uma relação entre o número de animais positivos e o tipo de exploração estudada, sendo necessário para tal, testar um maior número de animais de um maior número de explorações, tendo como factor a ter em conta, o sistema de produção.

Porém, pode referir-se, que o aumento crescente e a existência de incentivos económicos para a manutenção e melhoria das explorações pecuárias em sistema extensivo ou a sua transformação para o mesmo, veio a contribuir para um melhor controlo da doença. Rodríguez et al. (2017), referem que as práticas agrícolas e pecuárias inadequadas, a má utilização da água, o sistema de produção intensivo, o aumento de doenças emergentes e re-emergentes, resultam num aumento da transmissão da Leptospirose. Aliado a isto, estudos realizados na Europa, defendem a importância de uma mudança do sistema de produção intensivo para o extensivo ou semi-intensivo com acesso ao ar livre, visando uma melhoria do bem-estar animal (Ngugi et al. 2019).

Gráfico 5 - Frequência do tipo de exploração estudada para a presença de *Leptospira*



Outro aspecto a considerar no manejo de uma exploração, está relacionado com a presença de outros animais, tendo em conta que estes podem ser fontes de transmissão da Leptospirose.

Na Tabela 8 encontram-se os resultados obtidos nos 16 inquéritos realizados aos produtores, sobre a existência de outras espécies animais na exploração que estes conseguissem identificar como “seus”. Verificou-se que a predominante era o gato, com um total de 38 felinos (55,9%), seguindo-se o cão, com o registo de 23 animais (33,8%).

No que se refere aos gatos, estes aparentam ter uma menor susceptibilidade à doença, quando comparados com os cães. Porém ambas as espécies são consideradas importantes fontes de transmissão da doença, tanto para os humanos como para os bovinos, visto que os gatos são exímios caçadores de ratos (Ribeiro et al. 2018).

Após a realização do Teste de Qui-quadrado, confirmou-se que $p < 0,05$ ($p=0,001$), rejeitando-se assim a hipótese nula e, por isso, pode afirmar-se que existe uma associação estatisticamente significativa entre a presença de *Leptospira* e a presença de outros animais, o que vem validar a afirmação de Azevedo (2013), que refere a importância de vigilância e vacinação dos animais de companhia presentes nas explorações de forma a quebrar o ciclo de transmissão da doença.

Tabela 8 – Designação e quantificação de espécies animais presentes nas explorações para além dos bovinos de leite

Exploração	Cão		Gato		Cavalo		Porcos		Número total de animais	
	Fi	Fr (%)	Fi	Fr (%)	Fi	Fr (%)	Fi	Fr (%)	Fi	Fr (%)
A	2	8,7	5	13,2	0	0	0	0	7	10,3
B	2	8,7	10	26,3	0	0	0	0	12	17,6
C	1	4,3	0	0	2	100	0	0	3	4,4
D	0	0	9	23,7	0	0	0	0	9	13,2
E	0	0	0	0	0	0	3	0,6	3	4,4
F	1	4,3	4	10,5	0	0	0	0	5	7,4
G	2	8,7	7	18,4	0	0	0	0	9	13,2
H	4	17,4	0	0	0	0	2	0,4	6	8,8
I	2	8,7	2	52,6	0	0	0	0	4	5,9
J	1	4,3	0	0	0	0	0	0	1	1,5
K	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N	1	4,3	0	0	0	0	0	0	1	1,5
O	2	8,7	1	2,6	0	0	0	0	3	4,4
P	5	21,7	0	0	0	0	0	0	5	7,4
Total	23	33,8	38	55,9	2	2,9	5	7,4	68	100

No que diz respeito às restantes variáveis categóricas do questionário relacionadas com esta temática, não foi registada qualquer relação ou associação estatisticamente significativa, isto é, com significância $p < 0,05$.

4.4.3. REPRODUÇÃO

No que confere ao manejo reprodutivo, os indicadores reprodutivos foram recolhidos através da informação verbal fornecida pelo produtor, não tendo sido possível o acesso a qualquer tipo de registos escritos sobre os mesmos.

Na Tabela 9 pode verificar-se que 8 das explorações visitadas (50,0%) possuíam touro de cobrição, que era utilizado no primeiro cio ou nos retornos ao cio após a inseminação artificial (IA). Esta técnica reprodutiva era utilizada por 5 das explorações (31,2%) como sendo a única forma de beneficiação das fêmeas, tendo sido referido que o serviço era prestado por inseminadores da AJAM. O recurso à transferência de embriões foi referenciado por 3 produtores, que explicaram recorrer a esta técnica, apenas em circunstâncias como alternativa à cobrição pelo touro ou a IA.

Tabela 9 – Maneio Reprodutivo das 16 explorações estudadas para a presença da *Leptospira* nos bovinos da raça Frísia Holstein na Ilha de S. Miguel

Reprodução	Frequência absoluta	Frequência Relativa
IA	5	31,2
IA + Cobrição	8	50,0
IA + Cobrição + Transferência de embriões	3	18,7

Através da realização do teste ANOVA, verificou-se existir uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,02$) na prevalência média da doença entre os diferentes tipos de reprodução, sendo superior na IA associada à cobrição. Este resultado é defendido por Givens (2018), que refere que a *Leptospira* pode ser isolada do tracto genital de touros com evolução subclínica da doença, sendo a transmissão feita através do sémen aquando da cópula e, com menos frequência, mas também possível, de se verificar, por IA com sémen criopreservado contaminado.

Relativamente à existência de vacas com mamites, em resposta ao questionário registou-se que 12 dos produtores (75,0%) afirmaram que os seus animais sofriam desta doença, enquanto que apenas 4 produtores (25,0%) referiram uma ocorrência mais pontual. Após a realização do teste Qui-quadrado, cujos resultados estão apresentados na Tabela 10, pode verificar-se que não existe uma diferença estatisticamente significativa

entre a presença ou ausência da Leptospirose e a presença de mamites, sendo que $p = 0,63$.

Porém, este resultado é contestado por inúmeros autores, que afirmam que *Leptospira interrogans* é uma das causas de mamites e da diminuição da produção do leite. Neste caso, a infecção localiza-se principalmente no útero e na glândula mamária, podendo ocorrer febre, anorexia, leite de cor amarelo-alaranjada podendo ter grumos (Rosa 2010).

Mazzotta et al. (2021) vão ainda mais longe no estudo da presença de *Leptospira* no aparelho reprodutor, ao avaliarem a sua possível presença no leite cru e a possibilidade de transmissão aos humanos, concluindo que é possível ter o leite cru (armazenado a 3-4 C°) contaminado, mas que por via dos tratamentos antimicrobianos aplicados pela indústria para a elaboração de alimentos, esse agente patogénico é eliminado.

Tabela 10 – Teste de Qui-quadrado elaborado no programa SPSS Statistics®, para estudo da relação existente entre a ausência ou presença de Leptospirose e a presença de mamites em bovinos de leite da raça Frísia Holstein na Ilha de S. Miguel.

		Presença de mamites		Total	Sig.
		Raro	Sim		
Presença da doença	Ausente	0	3	3	0.63
	Presente	4	9	13	
Total		4	12	16	

No que diz respeito à ocorrência de abortos nas explorações, 15 dos produtores (93,8%) referiram terem registados abortos nas suas explorações e apenas 1 produtor (6,3%) referiu o contrário. Após a análise da Tabela 11, pode dizer-se que, com a realização do teste de Qui-quadrado, se verificou que não existiu uma diferença estatisticamente significativa entre a presença ou ausência de doença e a ocorrência de abortos ($p = 1,00$).

O aborto é reconhecido em vários países como sendo uma sequela da infecção por *Leptospira* em vacas gestantes (Fennestad e Borg-Petersen 1958). Estudos anteriormente realizados, referem que, após a análise de fetos provenientes de vacas infectadas com *Leptospira*, foi possível obter resultados positivos para a pesquisa de *Leptospira* a partir de fetos, demonstrando ser possível a infecção por via transplacentária. Porém, verificaram que alguns dos fetos testados ainda não tinham desenvolvido anticorpos contra a bactéria, sugerindo que isso pode ser uma indicação de que o aborto pode ocorrer nas vacas gestantes, logo nas primeiras 2 a 5 semanas após a sua exposição destas ao agente (Slee et al. 1983, Grégoire et al. 2020).

Ferguson et al. 1957 defendem uma teoria, relativamente à ausência do isolamento de Leptospiras nos fetos abortados, esclarecendo que, o que acontece na verdade, é que o feto não é invadido pela bactéria, mas sim por uma substância tóxica por ela libertada que é combatida no organismo materno através da produção de anticorpos, e que passa por via transplacentária e vai lizando os eritrócitos fetais, provocando uma anóxia seguida de aborto.

Tendo tudo isto em consideração, e com a consciência de que o aborto é uma das principais consequências da Leptospirose em vacas, os resultados agora obtidos não estão em concordância com os reportados por diferentes autores. Isto pode ser explicado, simplesmente porque a amostra estudada foi demasiado pequena e/ou por os dados recolhidos se basearem na informação verbal dos produtores.

Tabela 11- Teste de Qui-quadrado elaborado no programa SPSS Statistics®, para o estudo da relação entre a ausência ou presença de Leptospirose e a ocorrência de abortos, em vacas de leite da raça Frísia Holstein na Ilha de S. Miguel

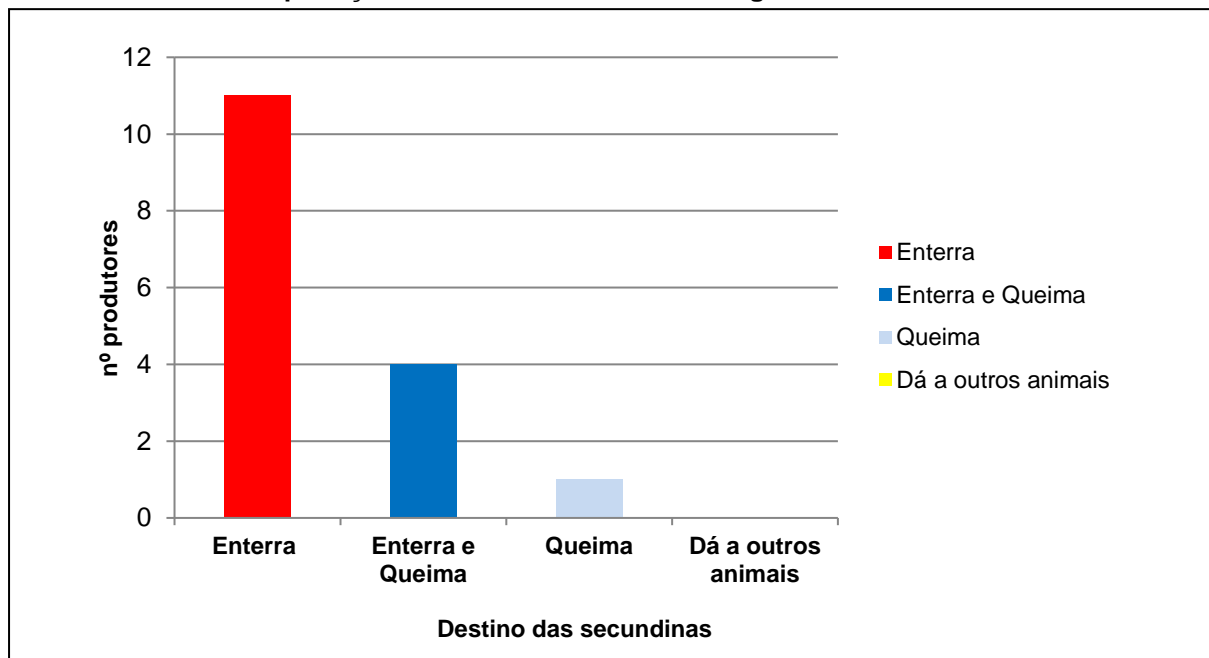
		Ocorrência de abortos		Total	Sig.
		Não	Sim		
Presença da doença	Ausente	0	3	3	1,00
	Presente	1	12	13	
Total		1	15	16	

A retenção placentária, é uma doença que resulta da permanência de partes ou mesmo da totalidade das membranas fetais no lúmen uterino, sendo uma das complicações mais frequentes em bovinos de leite, quando não é expulsa até no máximo 12 horas após o parto. Os mecanismos que levam a ocorrência da retenção placentária têm em conta factores fisiológicos, ambientais, nutricionais e patológicos, como por exemplo a Leptospirose (Bernardi et al. 2019). Tendo isto em conta, os produtores foram questionados quanto à ocorrência de retenções placentárias na sua exploração, de forma a tentar relacioná-las com a presença da bactéria. Contudo, verificou-se não existir uma diferença estatisticamente significativa entre a presença de Leptospirose e a da retenção placentária ($p=0,77$).

Por outro lado, através da análise estatística foi possível verificar que a presença de retenção placentária esta correlacionada com o tipo de ordenha da exploração, registando-se uma associação estatisticamente significativa entre elas ($p= 0,007$), com 100% de casos positivos de retenção de placenta nas salas de ordenha fixa, versus 33,33% de casos com os equipamentos móveis de ordenha.

Tendo em conta o carácter zoonótico da Leptospirose e ao facto da relação da doença com a presença da bactéria em situações de retenção placentária, os produtores foram questionados sobre o destino que davam as secundinas, numa tentativa de perceber se se protegiam, a si e aos restantes animais da sua exploração, quer quando havia um aborto, quer após um parto normal. Por análise do Gráfico 6, apurou-se que 11 dos produtores (68,8%) enterravam as secundinas, 4 produtores (25,0%) enterravam ou incineravam e, apenas 1 produtor (6,3 %) afirmou que incinerava sempre as secundinas. A opção “dá as secundinas a outros animais” foi colocada no questionário dado que este acto foi presenciado pela autora durante o estágio curricular. Contudo, nenhum dos produtores a quem foi colocada esta questão respondeu positivamente.

Gráfico 6 - Qual o destino dado às secundinas após o aborto ou parto eutócico de uma vaca Frísia Holstein nas explorações estudadas na Ilha de S. Miguel



Após a realização do Teste de Qui-quadrado, expresso na Tabela 12 e relativo à análise da relação entre a presença ou não da doença e o destino dado às secundinas, verificou-se não haver qualquer diferença estatisticamente significativa ($p= 0,09$). Estes valores são concordantes com a bibliografia sobre a matéria dado que, como já foi referido anteriormente, existem outros mecanismos que levam à retenção de placenta, para além da presença de *Leptospira*.

Tabela 12 -Teste de Qui-quadrado elaborado no programa SPSS Statistics®, para estudo da relação existente entre a ausência ou presença de Leptospirose e o destino dado às secundinas em vacas de leite da raça Frísia Holstein na Ilha de S. Miguel

		Destino das secundinas			Total	Sig.
		Enterra	Enterra + inciner.	Inciner.		
Presença de doença	ausente	0	2	1	3	0,09
	presente	11	2	0	13	
Total		11	4	1	16	

No que respeita à nutrição e ao abeberamento, todos os produtores descreveram o mesmo tipo de alimentação, do qual fazia parte uma dieta à base de silagem de milho, feno silagem de erva, concentrado, erva verde e *aporte ad libitum* de água da rede pública.

A vacinação contra a Leptospirose, ainda não é realizada em nenhuma das espécies animais presente nas explorações visitadas, podendo este ser um ponto fulcral, no que concerne à prevenção e erradicação da doença, no âmbito da visão “uma só saúde”.

5. CONCLUSÃO

Como conclusão, a partir da observação dos resultados obtidos após a realização da parte prática deste trabalho, conseguiu-se: 1) perceber quais os serovares mais prevalentes nas vacas da raça Frísia Holstein, em 16 explorações da Ilha de S. Miguel (Açores); 2) sensibilizar os produtores através de uma abordagem explicativa sobre o que é e de que forma se transmite a Leptospirose, 3) e ainda, conseguiu-se obter respostas relativamente ao manejo produtivo e reprodutivo das explorações, facto que possibilita um maior e melhor entendimento das possíveis causas que levam ao aparecimento da *Leptospira* e ao seu desenvolvimento, o que poderá ajudar os produtores no combate à esta doença.

Relativamente à prevalência da *Leptospira* nas explorações visitadas, pode verificar-se que a sua presença se encontra acima do que era esperado pela maioria dos produtores, o que vem apoiar os estudos que referem que a Leptospirose é uma doença de saúde pública negligenciada e, muitas vezes não notificada nos Açores.

No que se refere as respostas ao questionário, conclui-se que para maior veracidade das mesmas, estas deveriam assentar em dados recolhidos *in loco* pela autora, durante as visitas às explorações, ou então, contando com os dados informatizados resultantes da gestão computadorizada dos efectivos, por parte dos produtores.

Outro aspecto a otimizar seria a realização de um maior número de colheitas de sangue num maior número de explorações da Ilha, de modo a conseguir obter uma melhor imagem da prevalência de *Leptospira*, por zona, o que implicaria, para tal, um período de tempo mais alargado para a realização do estágio e, colheita e processamento das amostras.

Todavia, a realização deste trabalho, veio demonstrar a importância de continuar a sensibilizar os produtores quanto à presença de zoonoses nas suas explorações e incentivar à continuação da sensibilização para esta problemática. Podendo estas ações serem realizadas através de futuras palestras e/ou publicações elucidativas nas redes sociais, que possibilitem a união de toda a classe de profissionais com actividades de risco, de forma a conseguirmos alargar o foco de combate desta doença, e todos juntos diminuir o número de casos na Ilha de S. Miguel.

6. BIBLIOGRAFIA

Adler B, editor. 2015a. History of leptospirosis and *Leptospira*. In: *Leptospira* and leptospiroses. Heidelberg (DE): Springer; p. 1-9.

Adler B, editor. 2015b. Vaccines against leptospirosis. In: *Leptospira* and leptospiroses. Heidelberg (DE): Springer; p. 251-272.

Aiello SE, Moses MA, editors. 2016. The merck veterinary manual. Eleventh edition. Indiana (USA): Merck & Co.

Aquib AI, Ijaz M, Farooqi SH, Shoaib M, Kulyar MFA, Yasmeen K. 2019. Leptospirosis: rising nuisance for cattle and threat to public health. In: Kaoud HAE, editors. Bacterial Cattle Diseases. London (GB): intechopen; p. 59-75.

Arean VM. 1962. The pathological anatomy and pathogenesis of fatal human leptospirosis (Weil's disease). *Am J Pathol.* 40(4): 393-423.

Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lavett MA, Levett PN, Gilman RH, Willing MR, Gotuzzo E, et al. 2003. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis.* 3:757-771.

Azevedo V. Leptospirose e Fasciolose: interações imunológicas no polimorfismo do quadro clínico de doentes de São Miguel (Açores). [dissertação de mestrado]. Lisboa (PT): Universidade Nova de Lisboa - Instituto de Higiene e Medicina Tropical.

Bernardi F, Possa MG, Neto AP, Oliveira W, Mota MF, Merlini LS, Martinez AC, Souza RM. 2019. Risk factors involved in retained placenta of dairy cows from family agriculture herds. *Braz J of Develop.* 5(10): 18670-18681.

Blanco MR, Santos LF, Galloway RL, Romero EC. 2019. Is the microagglutination test (MAT) good for predicting the infecting serogroup for leptospirosis in Brazil? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 44:34-36.

Borrego SB, 2009. Controlo de roedores: respostas simples e perguntas frequentes [Internet]. Açores: Secretaria Regional da Agricultura e Florestas [accessed 2022 Jan 22]. https://jovemagricultor.azores.gov.pt/Storage/News/65/Docs/DOC_14-08-2020_13-37-186211155.pdf

Brenner DJ, Kaufmann AF, Sulzer KR, Steigerwalt AG, Rogers FC, Weyant RS. 1999. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospiraceae* with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. *Int J Syst Bacteriol.* 49: 839-858.

Caetano CAR. 2012. Leptospirose: uma zoonose reemergente [dissertação de mestrado]. Lisboa (PT):FMUL – Faculdade de Medicina de Lisboa.

Callan RJ. 2015. Leptospirosis. In: Smith BP, editor. Large animal internal medicine. Fifth edition. St. Louis (US): Elsevier; p. 873-917.

Colville JL, Berryhill DL. 2007. Handbook of zoonoses: identification and prevention. St. Louis (US): Mosby Elsevier.

[CFSPH] Center for Food and Security and Public Health. 2013. Leptospirosis [Internet]. Ames (US): Iowa State University - College of Veterinary Medicine [accessed 2021 Aug 9]. <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/leptospirosis.pdf>

Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W. 2017. Infectious diseases of the kidney. In: Veterinary medicine. Eleventh edition. St. Louis (US): Elsevier; p. 1095-1154.

Ellis WA. 1984. Bovine leptospirosis in the tropics: Prevalence, pathogenesis and control. *Prev Vet Med.* 2 (1984): 411-421.

Ellis WA. 2015. Animal leptospirosis. In: Adler B, editor. *Leptospira* and Leptospirosis, current topics in microbiology and immunology. Heidelberg (DE): Springer; p. 100-114.

Esteves LM, Bulho SM, Branco CC, Mota FM, Paiva C, Cabral C, Vieira ML, Vieira LM. 2014. Human Leptospirosis: Seroreactivity and Genetic Susceptibility in the Population of São Miguel Island (Azores, Portugal). *PLoS ONE* 9(9):1-9.

Fennestad KL, Borg-Petersen C. 1958. Fetal Leptospirosis and abortion in cattle. *OUP.* 102(3): 227-236.

Ferguson LC, Ramage JC, Sanger VL. 1957. Experimental Bovine Leptospirosis. *Am J Vet Reserch.* 18(66): 43-49.

Ferreira ASA. 2016. Molecular and serological aproches fot the detection and typing of *Leptospira* [tese de doutoramento]. Porto (PT): Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto.

Givens MD. 2018. Review: Risks of disease transmission through semen in cattle. *Animal.* 12(51): 165-171.

Goldstein RE. 2010. Leptospirosis. In: Ettinger SJ, Feldman EC, editors. *Textebook of veterinary internal medicine.* Seventh edition. St. Louis (US): Saunders; p. 863-868.

Gonçalves ATS. 2009. Leptospirose em São Miguel: caracterização dos primeiros isolados humanos de *Leptospira* spp. e diferenciação molecular de estirpes isoladas dos principais reservatórios silváticos. [dissertação de mestrado]. Lisboa (PT): Faculdade de Medicina de Lisboa.

Google My Maps. 2022. Mapa da Ilha de S.Miguel. [accessed 2022 April 1]. <https://www.google.com/maps/d/u/0/edit?mid=1sg35ZvHKTmJOeVQ5RMeFtneNQILvo3H&ll=37.820127293525644%2C-25.477409250000004&z=11>

Greene CE, Sykes JE, Moore GE, Goldstein RE, Schultz RD. 2012. Leptospirosis. In: Green CE, editors. *Infectious diseases of the dog and cat.* Fourth edition. St. Louis (US): Elsevier; p. 431-447.

Grégoire F, Bakinahe R, Petitjean T, Boarbi S, Delooz L, Fretin D, Saulmont M, Mori M. 2020. Laboratory diagnosis of bovine abortions caused by non-maintenance pathogenic *Leptospira* spp.: necropsy, serology and molecular study out of a Belgian experience. *Pathogens.* 9 (6): 413.

Guerra MA. 2009. Zoonosis update: leptospirosis. *JVAMA.* 234(4): 472-478.

- Guerra MA. 2013. Leptospirosis: Public health perspectives biologicals. 41(5): 295-297.
- Haake DA, Levett PN. 2015. Leptospirosis in Humans. In: Adler B, editor. *Leptospira* and Leptospirosis current topics in microbiology and immunology. Heidelberg (DE): Springer; p. 65-97.
- Hanson LE. 1960. Bovine leptospirosis. A review. J Dairy Sci. 43(4): 453-462.
- Hartskeerl RA, Collares-Pereira M, Ellis WA. 2011. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. Clin Microbiol Infect. 17: 494-501.
- Hookey JV. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. Journal of Biological Education. 25(3): 169-172.
- Ido Y, Hoki R, Ito H, Wani H. 1917. The rat as a carrier of spirochaeta *Icterohaemorrhagiae*, the causative agent of Weil's disease (spirochaetosis icterohaemorrhagica). J Exp Med. 26(3):341-353.
- Jayasundara D, Gamage C, Senavirathna I, Warnasekara J, Matthias MA, Vinetz JM, Agampodi S. 2021. Optimizing the microscopic agglutination test (MAT) panel for the diagnosis of Leptospirosis in a low resource, hyper-endemic setting with varied microgeographic variation in reactivity. PLoS Negl Trop Dis 15(7):1-15.
- Júnior EAW. 2010. Patogênese da Leptospirose: Estudo sobre os factores envolvidos na virulência e disseminação do agente durante a infecção no modelo animal de hamster. [dissertação]. Salvador – Bahia (BR): Fundação Oswaldo Cruz- Centro de pesquisa Gonçalo Moniz.
- Koizumi N, Picardeau M, editors. 2020. *Leptospira* spp.: methods and protocols. New York (NY): Humana Press.
- Koval AA, Brihuega FB, Loffter SG, López S, Martín MS, Lagioia GG, Insaurat JR. Primer aislamiento de *Leptospira borgpetersenii* serovar *Hardjo* tipo *Hardjo bovis* a partir de un caso clínico en Argentina. Ver Argent Microbiol. 52(3): 198-201.
- Laboratório Regional de Veterinária (LRV) (2022). Procedimento Técnico do Laboratório Regional de Veterinária para a Pesquisa de *Leptospira* pela TAM. Vinha Brava, Ilha Terceira – Açores: Direção Regional do Desenvolvimento Agrário (DRDA).
- Langoni H. 1999. Leptospirose: aspectos de saúde animal e de saúde pública. COII/III/ol/s Edl/ca/ioll JOI/rna/ CRMV-SP. 2(1): 52-58.
- Lau CL, Skelly C, Dohnt M, Smyrhe LD. 2015. The emergence of *Leptospira borgpetersenii* serovar *Arborea* in Queensland, Australia, 2001 to 2013. 15: 230.
- Levett PN. 2001. Leptospirosis. Clinical Microbiology Reviews. 14(2): 296-326.
- Lilenbaum W, Martins G. 2014. Leptospirosis in Cattle: A Challenging Scenario for the Understanding of the Epidemiology. Transbound Emerg Dis. 61(1):63-68.

Loureiro AP, Lilenbaum W. 2019. Genital bovine leptospirosis: a new look for na old disease. *Theriogenology*. 141(2020): 41-47.

Machry L, Ribeiro RL, Vital-Brazil JM, Balassiano IT, Oliveira ICM, Avelar KES, Pereira MM. 2010. Caracterização de cepas de referência de *Leptospira* sp. utilizando a técnica de *pulsed field gel electrophoresis*. *Rev Soc Bra Med Trop*. 43(2): 166-169.

Magnusson M, Christiansson A, Svensson B, Kolstrup C. 2006. Effect of Different Premilking Manual Teat-Cleaning Methods on Bacterial Spores in Milk. *J Dairy Sci*. 89(10):3866-3875.

Medeiros RS. 2019. Leptospirose: uma doença endêmica em São Miguel. [dissertação de mestrado]. Covilhã (PT): Universidade da Beira Interior – Ciências da Saúde.

Mgode GF, Mhamphi GG, Katakweba AS, Thomas M. 2014. *Leptospira* infections in freshwater fish in Morogoro Tanzania: a hidden public health threat. *Tanzan J Health Res*. 16(2): 112-117.

Mottola C, Alho AM, Rafael T, Gonçalves T, Seixas R. 2015. Leptospirose em Portugal: situação actual e importância das medidas de controlo no contexto de Saúde Pública. *REDVET*. 16(2): 1-16.

Ngugi JN, Fèvre EM, Mgode GF, Obonyo M, Mhamphi GG, Otieno CA, Cook EAJ. 2019. Seroprevalence and associated risk factors of leptospirosis in slaughter pigs; a neglected public health risk, western Kenya. *BMC Veterinary Research*. 15(1): 403.

Pal M, Bulcha Mr, Bune WM. 2021. Leptospirosis and One Health perspective. *Am J Public Health Res*. 9(4): 180-183.

Pappas G, Papadimitriou P, Soizopoulou V, Christou L, Akritidis N. 2008. The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *Int J Infect Dis*. 12: 351-357.

Pavli A, Maltezou HC. Travel-Acquired leptospirosis. *J Travel Med*. 15(6): 447-453.

Petrakovsky J, Antonuci A. 2018. Leptospirosis and “One Health” the importance of multisectorial collaboration. *J vet med res*. 5(4): 1131.

Quinn PJ, Marley BK, Leonard FC, FitzPatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ. 2011. Spirochaetes. In: *Veterinary microbiology and microbial disease*. Second edition. Oxford (UK): Wiley- Backwell; p. 354-366.

Rego JS. 2001. Relatório da situação existente na região relativamente à leptospirose de acordo com a resolução nº 4/2001/A da Assembleia Legislativa Regional do Açores e proposta de resolução. Horta- Região Autónoma dos Açores (PT): Assembleia Legislativa Regional.

Ribeiro TMP, Santos HD, Sousa SAP, Galvão SR, Reis TS, Jayme VS. 2018. Infecção por *Leptospira* spp. em Gatos (*Felis silvestris catus*). Uma Revisão. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*. 12(1): 101-109.

Rodrigues AMA. 2008. Leptospirose canina: diagnóstico etiológico, sorológico e molecular e avaliação da proteção cruzada entre os serovares *Icterohaemorrhagiae* e *Copenhageni*. [dissertação de mestrado]. São Paulo (BR): Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Rodríguez H, Gómez A P, Villamil LC. 2017. Implicaciones de las prácticas agropecuarias urbanas y rurales sobre la transmisión de la leptospirosis. *Agrociencia*. 51(7): 1-17.

Rosa AH. 2010. Mastite – Síndrome da queda do leite e infecção por *Leptospira interrogans* em ovelhas de raça Santa Inês. [dissertação de mestrado]. Brasil (Br): Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária.

Santos LM. 2015. *Leptospira interrogans* sorovar *Copenhageni* e *Icterohaemorrhagiae*: relação evolutiva, diferenças genéticas e associação com desfecho clínico [tese de doutoramento]. Salvador – Bahia (BR): Fundação Oswaldo Cruz – centro de pesquisas Gonçalo Moniz.

Schafbauer T, Dreyfus A, Hogan B, Rakotozandrindrainy R, Poppert S, Starubinger RK. 2019. Seroprevalence of *Leptospira* spp. infection in Cattle from Central and Northern Madagascar. *Int J Environ Res Public Health*. 16(11): 2014.

Schneider MC, Jancoes M, Buss DF, Aldighieri S, Bertherat E, Najera P, Galan DI, Durski K, Espinal MA. 2013. Leptospirosis: a silent epidemic disease. *Int J Environ Res Public Health*. 10(12): 7229-7234.

Slee KJ, McOrist S, Skilbeck NW. 1983. Bovine abortion associated with *Leptospira interrogans* serovar *Hardjo* infection. *Aust Vet J*. 60(7): 204-206.

Soares PM. 2018. Situação da leptospirose em bovinos destinados ao abate no triângulo mineiro: sorologia, isolamento e epidemiologia. [dissertação]. Minas Gerais (BR): Universidade Federal de Uberlândia – Faculdade de Medicina Veterinária.

Stilwell G. 2013. Clínica de Bovinos. Lisboa (PT): Publicações Ciência e Vida, Lda.

Sugunan AP. 2007. Epidemiology of leptospiroses. In: World Health Organization (WHO), editors. *Leptospirosis laboratory manual*. India (IN): WHO India; p. 13-21.

Thompson BS, Goodrich EL. 2018. Miscellaneous infectious diseases. In: Peek SF, Divers TJ, editors. *Rebhun's diseases of dairy cattle*. Third edition. St. Louis (US): Elsevier; p. 737-783.

Thompson RG. 1990. *Patologia Veterinária especial*. São Paulo (Br): Artmed, 753p.

Toyokawa T, Ohnishi M, Koizumi N. 2011. Diagnosis of acute leptospirosis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 9(1):111-121.

Turnier PL, Epelboin L. 2018. Mise au point sur la leptospirosis: update on leptospiroses. *Rev Med Interne*. 40(5):306-312.

Veloso I. 2006. Tipos de exploração pecuária e infecção por *Leptospira interrogans* em Minas Gerais, 1998-2002 [tese de doutoramento]. Belo Horizonte (BR): Escola de Veterinária – UFMG.

Verma A, Beigel B, Smola CC, Kitts-Morgan S, Kish D, Nader P, Morgan J, Roberson J, Christmann U, Gruszynski K, et al. 2019. Evidence of *Leptospira* presence in the Cumberland gap region. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 13(12):1-12.

Vieira ML, Gama MJ, Pereira MC. 2006. Leptospirose em Portugal: um problema de saúde pública?: concurso ao prémio Ricardo Jorge de saúde pública [Internet]. Lisboa (PT): Universidade Nova de Lisboa; [accessed 2021 July 5]. https://www.researchgate.net/publication/311273847_in_Portuguese_Leptospirose_em_Portugal_Um_problema_de_Saude_Publica.

Vijayachari P. 2007. *Leptospira*. In: World Health Organization (WHO), editors. Leptospirosis laboratory manual. India (IN): WHO India; p. 8-12.

Vijayachari P, Sugunan AP, Shriram AN. 2015. Leptospirosis: an emerging global public health problem. *J Biosci*. 33(4): 557-569.

Zakari S, Sepahian N, Afsharpad M, Esfandiari B, Ziapour P, Djadid ND. 2010. Molecular Epidemiology of Leptospirosis in Northern Iran by Nested Polymerase Chain Reaction/Restriction Fragment Length Polymorphism and Sequencing Methods. *Am J Trop Med*. 82(5): 899-903.

ANEXO 1 – PANFLETO: LEPTOSPIROSE, MEDIDAS SIMPLES EVITAM A DOENÇA



NOS AÇORES

Número de casos em humanos tem aumentado

Maior registo de casos entre Outubro a Janeiro

Maior número de casos notificados em S. Miguel comparativamente com Portugal Continental

257 novos casos nos últimos 15 anos

Leptospirose bovina está sub-diagnosticada devido à falha de monitorização

BIBLIOGRAFIA

Lima RGF. 2008. Estudo transversal das doenças abortivas de origem bacteriana no sistema de produção de bovinos leiteiros do concelho do Nordeste, São Miguel, Açores. [dissertação de mestrado]. Lisboa: FMV - Universidade Técnica de Lisboa

Medeiros RS. 2019. Leptospirose: uma doença zoonótica em São Miguel. [dissertação de mestrado]. Covilhã: Universidade da Beira Interior - Ciências da Saúde

Sinaia/Meu. 2019. [acesso 2020 Setembro 10]. <https://www.sinaimed.com/victoria-de-infectologia-leptospirose-ocipio-biologico>

CONTACTOS

Faculdade de Medicina Veterinária
Av. Universidade Técnica 1300-477 Lisboa

carla-a-santos@hotmail.com

LEPTOSPIROSE

MEDIDAS SIMPLES EVITAM A DOENÇA

O QUE É?

É uma zoonose, isto é, pode ser transmitida de humanos para animais e de animais para humanos

Afeta Humanos, animais domésticos e silváticos, aves e répteis

Bactéria (mais comum: *Leptospira interrogans*).

Os ROEDORES são a principal fonte de infecção para humanos e outros animais

SINAIS CLINICOS

(nos bovinos)

Febre
Diarreia
Anemia
Icterícia
Aborto
Nados mortos
Infertilidade
Mastites

CONTAMINAÇÃO

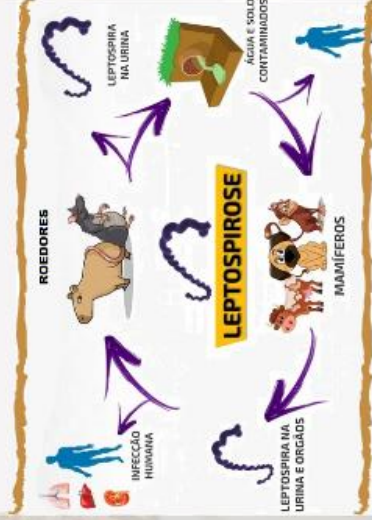
Direta - Animais Infetados
Indireta - Solos e Água

HUMANOS

Urina
Leite
Sangue

ANIMAIS

Urina
Leite
Sangue
Placenta
Contacto Sexual
Infecção Uterina



NAS EXPLORAÇÕES

Associados a:

Presença de ratos na exploração

Condições de Higiene na Sala de ordenha

Local e condições de Temperatura e Humidade ótimas

Placentas infetadas

Camas Contaminadas

CONTROLO

Profilaxia Higiene-sanitária (desratização)

Tratamento selectivo

Vacinação (animais domésticos - cães e Bovinos)

ANEXO 2 – INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO REALIZADO AOS PRODUTORES

Inquérito Epidemiológico Prevalência de Leptospirose em bovinos da raça Holstein-Frísia São Miguel – Açores	Nº Inquérito: Nº Exploração: Data: / / Nº total de sócios:
---	---

Identificação do produtor	Nome		
	Género (M/F)	Data de Nascimento / /	Telefone:
	Localização da Exploração		

Conhecimento da doença	Sabe o que é a Leptospirose? Sim (); Não ()
	Conhece as formas de transmissão da doença? Sim (); Não ()
	Já alguma vez foi diagnosticado com Leptospirose? Sim (); Não ()
	Utiliza protecção individual na ordenha? Sim (); Não ()
	De que forma realiza a limpeza de tetos na ordenha? Panos (); Papel ()

Caracterização e Maneio da exploração	Tipo de Exploração: Intensiva () Semi- Intensiva () Extensiva ()
	Efectivo da Exploração (nº): Vacas: Vitelas: Vitelos: Novilhas: Novilhos: Touros: Cães:
	Outros: _____
	Tipo de ordenha: Fixa (); Móvel ()
	Reposição do Efectivo
	<input checked="" type="checkbox"/> Importa novilhas (S/N) <input checked="" type="checkbox"/> Compra a outros Produtores (S/N) <input checked="" type="checkbox"/> Compra animais em feira (S/N) <input checked="" type="checkbox"/> Compra nos impérios (S/N) <input checked="" type="checkbox"/> Outros:
	Saída de Animais
	<ul style="list-style-type: none"> • Matadouro • Feira • Autoconsumo • Viteiros Outro:
	Novilhas
	Separa das vacas? Sim (); Não () Junta com as vacas antes de parir? Sim (); Não ()
Vitelos	
Mamam o colostro? Sim (); Não () Quanto tempo: Quando são separados da mãe:	

Reprodução	Natural () Inseminação Artificial () Transferência de Embriões () Outro:	
	Nº total de vacas cobertas _____	Idade ao 1º parto _____
	Duração média de lactação _____	
	Mamites (S/N)	Retenção Placentária (S/N) nº _____
	O que faz as secundinas: Enterra () Queima () Cão () Outras:	
	Abortos (S/N) nº _____	
Com que tempo de gestação: Menos de três meses () Entre os 3-6 meses () Mais de 6 meses ()		

Alimentação e Embeberamento	
Forragens utilizadas:	
Pastoreio () Silagem de Erva () Silagem de Milho () Feno () Outro:	
Local de Embeberamento:	
Rede de água Pública () Fonte() Charco () Ribeira () Outro:	

Vacinação	
Bovinos: Sim () ; Não () Cães: Sim () ; Não ()	

Tipos de Vacinas	Vacas	Novilhas	Vitelos
Vacina utilizada			
Dosagem			
Via de Administração			

ANEXO 3 – AMOSTRAS DE SANGUE POSITIVAS À LEPTOSPIROSE E RESPECTIVOS SEROVARES, RETIRADAS A BOVINOS DA RAÇA FRÍSIA HOLSTEIN NA ILHA DE S. MIGUEL

Animais testados	Serovares
319849271	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae
118422766	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii
518718053	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. sejroe</i> Hardjobovis
923058697	<i>L. sejroe</i> Saxkoebing
819850333	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii
819830453	<i>L. sejroe</i> Saxkoebing
019872919	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii
919858183	<i>L. autumnalis</i> Autumnalis
122363555	<i>L. ballum</i> Arborea
422372416	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii
719828880	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii
517059299	<i>L. interrogans</i> Bratislava; <i>L. borpetersenii</i> Arborea; <i>L. interrogans</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Hardjobovis
623686660	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae
718605753	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Arborea; <i>L. interrogans</i> Autumnalis
918669617	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Arborea
618765073	<i>L. borpetersenii</i> Arborea
419976443	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Arborea; <i>L. kirschneri</i> Grippotyphosa
819976446	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Arborea; <i>L. interrogans</i> Autumnalis; <i>L. interrogans</i> Bratislava
522362846	<i>L. borpetersenii</i> Hardjobovis
523050235	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii
718522178	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Arborea; <i>L. interrogans</i> Hardjo; <i>L. borpetersenii</i> Hardjobovis; <i>L. interrogans</i> Bratislava; <i>L. interrogans</i> Autumnalis; <i>L. borpetersenii</i> Saxkoebing
218785134	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Arborea; <i>L. interrogans</i> Hardjo; <i>L. borpetersenii</i> Hardjobovis
919810280	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. interrogans</i> Hardjo
419823907	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. interrogans</i> Hardjo
319848748	<i>L. borpetersenii</i> Arborea
719873571	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Arborea; <i>L. borpetersenii</i> Hardjobovis
623046964	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Arborea
623046969	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Arborea; <i>L. borpetersenii</i> Hardjobovis; <i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii
623302039	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae; <i>L. borpetersenii</i> Arborea
123417122	<i>L. borpetersenii</i> Hardjobovis
819859688	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii
218761817	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae
819810337	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii
923678531	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii; <i>L. borpetersenii</i> Saxkoebing; <i>L. borpetersenii</i> Hardjobovis; <i>L. interrogans</i> Hardjo; <i>L. borpetersenii</i> Arborea
223689090	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii
023689091	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii; <i>L. borpetersenii</i> Saxkoebing; <i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae
523865969	<i>L. borpetersenii</i> Ballum
318588435	<i>L. borpetersenii</i> Hardjobovis
718757501	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae
219812315	<i>L. icterohaemorrhagiae</i> Icterohaemorrhagiae
522004796	<i>L. interrogans</i> Bratislava
122008630	<i>L. interrogans</i> Valbuzzi
122364422	<i>L. interrogans</i> Hardjo
222394896	<i>L. interrogans</i> Hardjo; <i>L. borpetersenii</i> Arborea; <i>L. borpetersenii</i> Hardjobovis
423075335	<i>L. interrogans</i> Hardjo; <i>L. borpetersenii</i> Arborea; <i>L. icterohaemorrhagiae</i> Copenhagenii