



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**Estudo transversal das doenças abortivas de origem bacteriana  
no sistema de produção de bovinos leiteiros do concelho de  
Nordeste, São Miguel, Açores**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE PÚBLICA VETERINÁRIA

**Rui Daniel Ferreira Lima**

**Constituição do júri:**

**Presidente:** Doutor Armando Carvalho Louzã – Professor Catedrático da Faculdade de  
Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa

**Vogais:**

Doutor Virgílio da Silva Almeida – Professor Associado da Faculdade de  
Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa

Doutora Yolanda Maria Vaz – Professora Associada da Faculdade de Medicina  
Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa – Orientadora

Doutor João José Rato Niza Ribeiro – Professor Auxiliar Convidado do Instituto de  
Ciências Biomédicas de Abel Salazar – Universidade do Porto

2008

Lisboa

## RESUMO

O concelho de Nordeste, Ilha de S. Miguel - Açores, tem como principal actividade económica a pecuária de bovinos. Informações do Centro de Saúde de Nordeste indicavam que em 2005 as zoonoses registadas naquele concelho foram a brucelose e a leptospirose, podendo ambas ser transmitidas ao Homem a partir de bovinos infectados e de produtos de origem animal, nomeadamente, leite e lacticínios, entre outras fontes.

Definiram-se como principais objectivos deste estudo a determinação da seroprevalência de algumas zoonoses de origem bacteriana responsáveis por abortos em vacas (brucelose, leptospirose e clamidiose) nas explorações agrícolas leiteiras do concelho e o estudo das características do sistema de produção que possam favorecer a sua disseminação e manutenção.

Foram colhidos soros de 118 explorações leiteiras, seleccionadas aleatoriamente de uma forma proporcional ao número de efectivos existentes em 3 classes de tamanho, entre Novembro de 2006 e Maio de 2007.

Para a brucelose (*B. abortus*), o método de diagnóstico usado foram os testes oficiais do Rosa de Bengala e da Fixação de Complemento. A seroprevalência das explorações foi de 0,85% (1/118) (IC95% de >0 a 2,16%), e a animal foi de 0,18% (4/2252) (IC95% de 0,05 a 0,31%).

Para a leptospirose, as 2153 amostras de soro de vacas não vacinadas foram testadas pelo método do Teste de Micro Aglutinação (TAM) na diluição mínima de 1:100, e 393 foram positivas (18,3%; IC95% 17,7 a 19,5%). A prevalência de explorações seropositivas foi de 61,1% (IC95% de 53,1 a 68,0%). Foram testados 13 serovares, e identificados 9, mas não foi possível fazer o estudo da seroprevalência do serovar Hardjo, por este requerer diluições mais baixas, embora fosse suspeito de estar presente em infecção endémica. O serogrupo Sejroe foi o mais importante por apresentar a seguinte seroprevalência de serovares: Saxkoebing 67,9% e Wolffi 0,5%. O segundo serogrupo mais frequente foi o Icterohaemorrhagiae com os serovares Icterohaemorrhagiae, 14,8% e Copenhageni, 8,4%. Depois foram os serogrupos: Autumnalis (serovar Autumnalis 7,1%); Ballum (serovar Arborea 7,1%); Australis (serovar Bratislava 5,6%); Tarassovi (serovar Tarassovi 1,8%) e Canicola (serovar Canicola 1,8%). A coaglutinação com associação de *L. ballum arborea* e *L. autumnalis autumnalis* foi a que apresentou maior frequência, seguida da associação *L. icterohaemorrhagiae icterohaemorrhagiae* e *L. icterohaemorrhagiae copenhageni*.

Para a clamidiose, foi usado o método de ELISA indireto para a pesquisa de anticorpos da *Chlamydophila abortus* e a seroprevalência das explorações foi de 82,9% (IC95% de 76,7 a 89,1%) e a animal foi de 14,0% (IC95% de 12,9 a 15,1%).

O estudo do sistema de produção evidenciou práticas de manejo estatisticamente associados à presença de animais seropositivos. Para a leptospirose foram: manadas conjuntas (OR 3,8), épocas de parto superiores a 9 meses (OR 4,8), compra de fêmeas (OR 3,2), quer a outros produtores (OR 2,5), quer a impérios (OR 6,3). Para a clamidiose, foi: época de partos superior a 9 meses (OR 3,4). O problema de aborto em vacas secas sugeriu estatisticamente associado à leptospirose (OR 4,4), e à clamidiose surgiram associados os problemas de metrites (OR 10,3) e de mastites (OR 6,1).

São avançadas recomendações para o controlo destas doenças e para a protecção da saúde pública, no concelho do Nordeste.

Palavras-chaves: Açores; Nordeste; zoonose; brucelose; leptospirose; clamidiose.

## ABSTRACT

The Nordeste County of S. Miguel Island, Azores, presents as main economic activity the production of dairy cows. Information from Health Centre of Nordeste, indicated that in 2005 the most frequently reported zoonosis were brucellosis and leptospirosis, both transmitted to humans by infected bovines, milk and milk products, among other sources.

The main goals of this study were to determine the herd and animal serological prevalence of antibodies of some bovine bacterial zoonosis responsible for abortions in cows (brucellosis, leptospirosis and chlamydiosis) in the dairy herds of the county, and to study the characteristics of production system which can favour the occurrence and dissemination of these diseases.

Sera from 118 dairy herds were collected from November 2006 and May 2007, based on a random sample stratified proportionally by herd size.

For brucellosis (*Brucella abortus*) the tests used were the official RBT and CFT. Herd prevalence was 0.85% (1 in 118) (CI95% from >0 to 2.16%) and animal prevalence was 0.18% (4 positive sera in 2252) (CI95% 0.05-0.31%).

For leptospirosis diagnosis 2153 serum samples of non-vaccinated cows were tested by Microscopic Agglutination Test at a minimum dilution of 1:100 and 393 were positive (18.3%; CI95% 17.0-19.5%). Seroprevalence of positive farms were 61.1% (CI95% 53.1-68.0%). 13 serovars were tested but it was not possible to study the seroprevalence of serovar Hardjo, which is suspected to exist endemically in the region, because its diagnosis takes lower dilutions and more time was required than the available for the study. The serogroup Sejroe, the most important, presented the following seroprevalence of serovars: Saxkoebing 67.9% and Wolffi 0.5%. The second most important serogroup was the Icterohaemorrhagiae with the serovars Icterohaemorrhagiae, 14.8% and the Copenhageni, 8.4%. Other serogroups were found: Autumnalis (serovar Autumnalis 7.1%); Ballum (serovar Arborea 7.1%); Australis (serovar Bratislava 5.6%); Tarassovi (serovar Tarassovi 1.8%) and Canicola (serovar Canicola 1.8%). The coagglutination with association of *L. ballum arborea* and *L. autumnalis autumnalis* was the more frequent, followed by the association *L. icterohaemorrhagiae icterohaemorrhagiae* and *L. icterohaemorrhagiae copenhageni*.

The diagnosis of chlamydiosis used an indirect ELISA for detection of *Chlamydomphila abortus*. Herd serological prevalence was 82.9% (CI95% 76.7-89.1%) and the prevalence at animal level was 14.0% (IC95% 12.9 -15.1%).

The study of the production system identified several characteristics and management practices statistically associated with the presence of seropositive animals. For leptospirosis, they were: joint herds (OR 3.8), parturitions during more than 9 months (OR 4.8), purchase of females (OR 3.2), from other producers (OR 2.5), or from the "impérios" (religious institutions) (OR 6.3); for chlamydiosis it was the duration of parturitions for more than 9 months (OR 3.4). The problem of abortion in dry cows was statistically associated with leptospirosis (OR 4.4), and the problems of metritis (OR 10.3) and mastitis (OR 6.1), were statistically associated to chlamydiosis.

Recommendations for the control of these diseases and protection of public health at Nordeste county, are formulated.

Keywords: Azores; Nordeste; zoonosis; brucellosis; leptospirosis; chlamydiosis.

## AGRADECIMENTOS

Ao chegar ao fim deste trabalho quero aqui exprimir o meu profundo agradecimento a todos aqueles que contribuíram para a sua realização.

Ao Sr. Prof. Doutor Armando Louzã, coordenador deste mestrado, pela forma enlevada que demonstrou no apoio ao longo deste trabalho, o nosso muito obrigado.

À orientadora deste trabalho, Prof.<sup>a</sup> Doutora Yolanda Vaz, com quem foi um privilégio trabalhar, pela forma tão esclarecida e entusiástica que teve na transmissão dos ensinamentos, pela paciência que demonstrou para comigo ao longo de todo o período em que decorreu a elaboração, revisão do texto e o arranjo final da dissertação.

Ao Senhor Secretário Regional da Agricultura, Dr. Noé Rodrigues, por ter autorizado os apoios necessários para a realização deste trabalho.

Ao Sr. Director Regional do Desenvolvimento Agrário por ter apoiado a realização deste trabalho.

Ao colega e amigo Dr. Hernani Martins, Director dos Serviços Regionais de Veterinária, por ter compreendido desde o início o interesse deste trabalho para a pecuária no concelho de Nordeste e o ter apoiado determinadamente. Penso que sem este apoio não teríamos podido levar avante este projecto. A minha sentida gratidão.

À Dr<sup>a</sup> Lidia Flor, Directora do Laboratório Regional de Veterinária, pela sugestão sobre a escolha do tema, o seu apoio desde o primeiro momento e ao longo de todo o trabalho, principalmente, quando parecia impossível a concretização deste sonho e representou para mim a Esperança. E também pela transmissão preciosa de conhecimentos, sobre os temas do estudo.

Ao bom amigo Dr. Carlos Augusto Pinto pelas sugestões para este trabalho pela disponibilidade permanente no apoio dado com o fornecimento de informação e material de consulta e o suporte psicológico. Obrigado Carlos.

Ao Sr. Presidente da Câmara Municipal de Nordeste por nos ter apoiado com o combustível para a recolha de amostras de sangue para este estudo e nos ter permitido o gozo de férias de forma contínua que muito nos ajudou na finalização deste trabalho.

Ao Sr. Eng<sup>o</sup> Luís Viveiros, Director dos Serviços do Desenvolvimento Agrário de S. Miguel pelo apoio na realização deste trabalho.

Ao Dr. Luís Henrique Sequeira de Medeiros, Chefe de Divisão do Serviço de Higiene e Saúde Pública dos Serviços de Desenvolvimento Agrário de S. Miguel pelo apoio, dando prioridade ao concelho de Nordeste no rastreio à brucelose, quando havia outros concelhos da ilha de S. Miguel com muito maior necessidade. O meu bem haja.

À Sr.<sup>a</sup> Eng.<sup>a</sup> Sandra Benevides, do Laboratório Regional de Veterinária, por ter demonstrado, desde o início, carinho por este trabalho e o ter interiorizado como algo de pessoal que a levou a uma entrega absoluta na execução das análises laboratoriais, pelos ensinamentos e pelas palavras de encorajamento.

À Sr.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lurdes Clemente, do Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, que me sensibilizou desde os primeiros contactos para esta finalidade, por estar sempre disponível e de forma afável no imenso apoio com bibliografia, sugestões e ensinamentos sobre a clamidiose. Queira aceitar o meu enorme reconhecimento.

Ao Dr. Carlos Santos, Director do Serviço de Agricultura e Pecuária, pelo pronto apoio que sempre me deu.

À Bayer Portuguesa e ao Dr. D'Argent Figueiredo por tão gentilmente terem apoiado este trabalho com a oferta de tubos “vacuteiner” para a recolha de amostras de sangue.

Ao Doutor Mário Melo, da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, pela ajuda no cálculo de resultados dos parâmetros da dissertação e pela forma como me ajudou na execução prática deste trabalho.

À colega Dr.<sup>a</sup> Sofia Borrego, Mestre em Produção Animal, pelas sugestões oportunas e pela cedência de bibliografia.

Ao Dr. Jorge Morgado, Delegado de Saúde de Nordeste, pelo apoio na informação sobre as zoonoses do conelho e a cedência de um espaço físico no Centro de Saúde de Nordeste para a guarda de material deste trabalho, o meu obrigado.

Ao Sr. Eng<sup>o</sup>. Mário Fagundo, Responsável da Administração Florestal de Nordeste, o meu obrigado pela cedência de colaboradores para a recolha de material para este trabalho.

Aos Srs. Engenheiros Sandrine Resende, Sílvia Barros e Marco Barros do Laboratório Regional de Veterinária pela sua valiosa colaboração no diagnóstico laboratorial.

Ao Dr. Paulo Maciel Amaral pela ajuda sempre pronta e a colaboração com material para a elaboração deste trabalho. Bem hajás, Paulo.

À Dr.<sup>a</sup> Maria Inácia Corrêa de Sá do Laboratório Nacional de Investigação Veterinária pela forma tão cordial como sempre me atendeu e pelos conhecimentos transmitidos.

À funcionária da Câmara Municipal de Nordeste, Anabela Medeiros, pela disponibilidade constante em me ajudar com material de apoio.

Aos técnicos do Laboratório dos Serviços de Desenvolvimento Agrário de S. Miguel, Eng.<sup>a</sup> Sandra, D.<sup>a</sup> Maria, D.<sup>a</sup> Henriqueta e Sr. Paulo por toda a colaboração.

Ao Sr. Sancho Eiró, dos Serviços de Desenvolvimento Agrário de S. Miguel, pela ajuda na elaboração do mapa com a localização das explorações do estudo.

## ÍNDICE GERAL

RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
AGRADECIMENTOS .....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Justificação e objectivos .....	1
1.2. Breve caracterização geo-climática do Concelho de Nordeste .....	2
1.3. Revisão sobre as zoonoses abortivas de origem bacteriana estudadas .....	4
1.3.1. Brucelose .....	4
1.3.1.1. Agente etiológico e taxonomia .....	5
1.3.1.2. Hospedeiros e sobrevivência no ambiente.....	5
1.3.1.3. Patogenia e infecção .....	7
1.3.1.4. Transmissão .....	9
1.3.1.5. Diagnóstico .....	11
1.3.1.6. Prevenção e controlo .....	15
1.3.2. Leptospirose .....	19
1.3.2.1. Agente etiológico.....	21
1.3.2.2. Hospedeiros e sobrevivência no ambiente.....	21
1.3.2.3. Patogenia e infecção .....	22
1.3.2.4. Transmissão .....	24
1.3.2.5. Diagnóstico .....	27
1.3.2.6. Tratamento.....	31
1.3.2.7. Prevenção e controlo .....	32
1.3.2.8. Situação da leptospirose nos Açores .....	34
1.3.3. Clamidiose.....	37
1.3.3.1. Agente etiológico.....	38
1.3.3.2. Patogenia e infecção .....	40
1.3.3.3. Transmissão .....	42
1.3.3.4. Diagnóstico.....	43
1.3.3.5. Tratamento.....	46
1.3.3.6. Prevenção e controlo .....	47
1.3.3.7. Situação da clamidiose nos Açores .....	48
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	49
2.1. Rastreio de zoonoses .....	49
2.1.1. Amostragem .....	49
2.1.2. Recolha de amostras e de dados para o rastreio serológico.....	51
2.1.3. Análises laboratoriais .....	51
2.1.3.1. Brucelose .....	52
2.1.3.2. Leptospirose .....	53
2.1.3.3. Clamidiose.....	54

2.2. Estudo do sistema de produção .....	55
2.2.1. Amostragem .....	55
2.2.2. Entrevistas .....	55
2.3. Gestão e análise de dados .....	57
<b>3. RESULTADOS e DISCUSSÃO .....</b>	<b>58</b>
3.1. Resultados do rastreio.....	60
3.1.1. Prevalência de Brucelose.....	60
3.1.2. Prevalência de Leptospirose .....	60
3.1.3. Prevalência de Clamidiose .....	67
3.2. Caracterização das explorações pecuárias de Nordeste.....	69
3.2.1. Área, parcelas e pastagens utilizadas.....	69
3.2.2. Maneio alimentar .....	73
3.2.3. Estrutura da manada .....	77
3.2.4. Outros animais .....	79
3.2.5. Maneio de vitelos .....	80
3.2.6. Maneio de novilhas.....	81
3.2.7. Maneio reprodutivo .....	81
3.2.8. Lactação.....	85
3.2.9. Reposição do efectivo.....	85
3.2.10. Venda de animais.....	86
3.2.11. Problemas de saúde .....	89
3.3. Associação entre as características das explorações e os resultados do rastreio .....	92
3.3.1. Leptospirose .....	93
3.3.2. Clamidiose .....	95
<b>4. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES DE MEDIDAS DE DEFESA DA SAÚDE ANIMAL E DA SAÚDE PÚBLICA .....</b>	<b>96</b>
4.1. Brucelose .....	98
4.2. Leptospirose .....	98
4.3. Clamidiose.....	100
4.4. Medidas relativas à defesa da saúde animal e da saúde pública.....	101
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>109</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>114</b>
Anexo 1 – Leptospirose Humana nos Açores	
Anexo 2 – Inquérito epidemiológico	
Anexo 3 – Mapa das explorações estudadas	

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Nº de casos de leptospirose em humanos declarados nos Açores (2001-06)..	35
Tabela 2 – Lista dos antígenos vivos utilizados, por rotina, pelo LRV-Açores na Técnica de Aglutinação Microscópica .....	36
Tabela 3 – Classificação antiga e a recente dos membros da ordem das <i>Chlamydiales</i> .	38
Tabela 4 – Distribuição dos bovinos e explorações do concelho pelas sete Freguesias .	49
Tabela 5 – Animais a amostrar e explorações em cada classe de tamanho de explor....	50
Tabela 6 – Critérios de interpretação dos resultados segundo o rácio S/P obtido em amostras de soro, na pesquisa de anticorpos da <i>Chlamydiae abortus</i> .....	54
Tabela 7 – proprietários das manadas seleccionadas para o estudo .....	58
Tabela 8 – Questionários explorações e animais rastreados no âmbito do estudo .....	59
Tabela 9 – Explorações e animais rastreados por doença .....	59
Tabela 10 – Percentagem de explorações com resultados positivos a leptospirose .....	61
Tabela 11 – Percentagem de vacas com resultados positivos a leptospirose .....	61
Tabela 12 – Número de serovares diferentes encontrados por exploração .....	62
Tabela 13 – Número e % de explorações com mais de 1 serovar de <i>Leptospira</i> .....	63
Tabela 14 – Número de explorações com cada serovar de <i>Leptospira</i> .....	63
Tabela 15 – Distribuição dos resultados de acordo com os títulos, para cada serovar...	64
Tabela 16 – Distribuição dos títulos em infecções mono e polirreactivas .....	65
Tabela 17 – Distribuição de reacções serológicas individuais polirreactivas (n=40)....	66
Tabela 18 – Distribuição das co-infecções, entre serovares, dois a dois.....	66
Tabela 19 – Idade dos animais positivos a cada serovar .....	67
Tabela 20 – Percentagem de explorações com resultados positivos a clamidiose .....	67
Tabela 21 – Percentagem de vacas com resultados positivos à clamidiose .....	68
Tabela 22 – Área (ha) das explorações inquiridas, por freguesia.....	70
Tabela 23 – Densidade animal (total de bovinos por ha) .....	70
Tabela 24 – Número de explorações de acordo com o nº de parcelas.....	71
Tabela 25 – Nº de explorações de acordo com o nº de parcelas usadas para novilhas ..	71
Tabela 26 – Tamanho médio das parcelas .....	71
Tabela 27 – Distribuição de explorações com parcelas em diferentes cotas de altitude	72
Tabela 28 – Espécies forrageiras da composição das pastagens .....	73
Tabela 29 – Percentagem de explorações com cada tipo de infestantes .....	74
Tabela 30 – Utilização anual de salitre kg/ha.....	74
Tabela 31 – Utilização anual de adubo kg/ha.....	75
Tabela 32 – Produção de silagens, número e percentagem de produtores .....	76
Tabela 33 – Efectivo total das explorações .....	77

Tabela 34 – Vacas presentes nas explorações .....	77
Tabela 35 – Número de animais por classe, por freguesia .....	78
Tabela 36 – Indicadores populacionais .....	78
Tabela 37 – Presença de outros animais domésticos nas explorações .....	79
Tabela 38 – Presença de animais silváticos nas explorações .....	79
Tabela 39 – Presença de ratos nas explorações pecuárias .....	80
Tabela 40 – Morbilidade em vitelos notificada pelos produtores .....	80
Tabela 41 – Causas de morbilidade em vitelos, de acordo com os produtores .....	81
Tabela 42 – Percentagem de explorações relativa ao uso de métodos de reprodução ...	82
Tabela 43 – Vacas cobertas e com mais de 3 serviços .....	83
Tabela 44 – Distribuição das explorações, de acordo com o tempo médio entre o parto e a cobrição fecundante .....	83
Tabela 45 – Destino das secundinas .....	85
Tabela 46 – Distribuição das respostas sobre a duração da lactação.....	85
Tabela 47 – Número e % de explorações que compram fêmeas de substituição .....	86
Tabela 48 – Percentagem de produtores que adquire fêmeas de acordo com a origem .	86
Tabela 49 – Venda de vitelos para vitleiros.....	87
Tabela 50 – Idade de comercialização dos vitelos para os vitleiros .....	87
Tabela 51 – Venda de vitelos para outras explorações pecuárias.....	87
Tabela 52 – Idade de comercialização dos vitelos para outras explorações.....	88
Tabela 53 – Venda de vitelos relativamente às vacas existentes.....	88
Tabela 54 – Destino dos animais adultos (nº explorações e %) .....	88
Tabela 55 – Destino dos animais adultos (nº e % de animais*) .....	89
Tabela 56 – Explorações que declararam problemas de aborto e vacas abortadas .....	89
Tabela 57 – Número de abortos, por exploração.....	90
Tabela 58 – Taxa de abortos, de acordo com a opinião do produtor.....	90
Tabela 59 – Meses de gestação na altura do aborto .....	91
Tabela 60 – Idade das vacas na altura do aborto .....	91
Tabela 61 – Explorações com retenções placentárias .....	91
Tabela 62 – Número de retenções placentárias, por exploração .....	92
Tabela 63 – Problemas de saúde indicados pelos produtores.....	92
Tabela 64 – Características associadas com a seropositividade à <i>C. abortus</i> .....	95
Tabela 65 – Características associadas com a seropositividade a leptospirose.....	94

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – O Concelho de Nordeste (seg. J. C. Carreiro in Amaral, 2004).....	2
Figura 2 – Ciclo de desenvolvimento dos organismos da ordem <i>Chlamydiales</i> .....	40
Figura 3 – Potencial zoonótico de patogénicos da ordem <i>Chlamydiales</i> dos animais ...	43

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição das prevalências de leptospirose nas explorações .....	62
Gráfico 2 – Distribuição das prevalências de clamidiose nas explorações .....	69
Gráfico 3 – Distribuição das quantidades de salitre utilizadas .....	75
Gráfico 4 – Distribuição mensal da percentagem de partos .....	84

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- ADN – Ácido Desoxirribonucleico
- AEO – Aborto Enzoótico Ovino
- BVD – Diarreia Viral Bovina
- DDO-RAA – Sistema de registo de Doenças de Declaração Obrigatória da Região Autónoma dos Açores
- DO – Densidade Óptica
- DP – Desvio Padrão
- DRDA – Direcção Regional do Desenvolvimento Agrário
- EB – Corpo extracelular infectante de *Chlamydiae*
- ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
- FCT – Teste de Fixação de Complemento
- FPA – *Fluorescent Polarisation Assay*
- IC95% – Intervalo de confiança para 95%
- IBR – Rinotraqueíte Infecciosa Bovina
- LPS – Lipopolissacarídeo
- LRV – Laboratório Regional de Veterinária
- OIE – Organização Mundial de Saúde Animal
- OMS – Organização Mundial de Saúde
- OMP – Membrana Proteica Externa
- OPS – Oligopolissacarídeo
- OR – Odds ratio
- P – Prevalência
- PCR – Reacção de Polimerase em Cadeia
- RB – Corpo reticulado de *Chlamydiae*
- SDASM – Serviço de Desenvolvimento Agrário de S. Miguel
- SPG – Meio de transporte de Clamídea
- SREA – Serviço Regional de Estatística dos Açores
- SNIRB – Sistema Nacional de Identificação de Bovinos
- TAP – Teste de Aglutinação em Placa
- TAM – Teste de Aglutinação Microscópica
- TFC – Teste da Fixação do Complemento
- TRB – Teste de Rosa de Bengala

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Justificação e objectivos

O Concelho de Nordeste, Ilha de S. Miguel - Açores, tem como principal actividade económica a pecuária de bovinos. Estes animais são, por vezes, portadores de agentes patogénicos transmissíveis ao homem, constituindo para os criadores de gado, suas famílias e a população em geral um risco de doença.

De entre estas zoonoses e de acordo com a opinião dos médicos e veterinários do concelho, destacam-se pelo seu reflexo na saúde pública, a brucelose (em fase de erradicação em todo o Arquipélago dos Açores) e a leptospirose (em crescendo nos humanos no arquipélago). A clamidiose, embora desconhecida a sua existência quer nos humanos quer nos animais deste concelho, é um agente que importa investigar devido à elevada taxa de abortos nas vacas e conseqüentemente ao prejuízo económico associado.

O conhecimento da prevalência destas zoonoses e de possíveis práticas que favoreçam a sua transmissão ao Homem é fundamental para o delineamento de medidas de prevenção e controlo das doenças nos animais e de protecção da saúde pública (aconselhamento de boas práticas, vigilância de grupos de risco, etc.).

No âmbito das nossas funções de médico veterinário municipal como entidade sanitária concelhia com responsabilidades nas áreas da segurança alimentar e sanidade animal e pela nossa participação directa nas campanhas de luta contra a brucelose levadas a cabo pelos Serviço de Desenvolvimento Agrário de S. Miguel (SDASM) e ainda pelo interesse sobre o tema mostrado pelo edil camarário, achamos por bem escolher este tema para a dissertação do nosso mestrado.

Com este estudo, pretende-se contribuir para o conhecimento dos agentes bacterianos zoonóticos em circulação na população de bovinos do concelho de Nordeste e dar início ao levantamento do seu perfil epidemiológico. Foi dada particular relevância às doenças que provocam aborto em bovinos, com vista a contribuir para o reforço de medidas de controlo e vigilância das mesmas, de forma a proteger a saúde pública e reduzir os custos ao nível da produção pecuária. Gostaríamos de ter podido fazer novas colheitas de sangue para o conhecimento da dinâmica destas infecções bem como o isolamento dos agentes microbianos, mas tal estava fora do âmbito deste trabalho.



O concelho de Nordeste situa-se no Maciço Povoação-Nordeste e abrange pequenas áreas do Maciço das Furnas e a Achada dos Boiões. Portanto, uma zona caracterizada por uma orografia montanhosa onde se situa o ponto mais alto de S. Miguel, o Pico da Vara (1.103 m). Do ponto de vista geomorfológico o concelho divide-se em duas zonas bem distintas, condicionadas pela geologia local. A primeira zona desenvolve-se entre a ribeira Despe-te-que-Suas e o Lombo Gordo enquanto a segunda zona compreende o território existente entre aquela ribeira e a Salga (vertentes do Vulcão da Povoação). O concelho é essencialmente constituído por um empilhamento de basaltos ligados a um *vulcão em escudo* que esteve activo entre 4,01 e 1,86 milhões de anos assim se gerando a primeira ilha de S. Miguel, posteriormente desenvolvendo-se vulcanologicamente para oeste (V. H. Forjaz, 1983 in Amaral, 2004).

Os solos são do tipo Andossolo, Saturados, Insaturados e Ferruginosos deficientes em nitrogénio, fósforo e cobalto e cujo pH varia entre 5,5-6,5 podendo baixar para os 4,5 nos perfis situados em cotas de maior altitude, devido a maiores quedas pluviométricas. (Oliveira, 1989; SREA, 1998 in Pinto, 1999). Muito embora os solos possuam boa drenagem, o poder de retenção de água é elevado, apresentando um elevado teor de humidade (Borrego, 2006).

O concelho caracteriza-se, bem como toda a Ilha de S. Miguel, por um clima temperado e marítimo com baixas amplitudes térmicas com uma temperatura média anual de 18 °C ao nível do mar e por elevados índices de precipitação (900 a 3000 mm/ano). No mês de Agosto, a temperatura pode chegar aos 25 °C e em Fevereiro aos 10 °C. Como condicionantes térmicas temos a altitude, a exposição, a proximidade do mar e a cobertura vegetal (Amaral, 2004). A precipitação no final do Verão e todo o Outono é crítica pois produz valores máximos diários na ordem dos 200 mm, que poderão induzir variações rápidas no regime pluvial tendo como consequência imediata o desenvolvimento de drenagem do tipo torrencial. É bastante frequente a nebulosidade em todo o concelho, principalmente quando se passa das cotas 200/300 metros para zonas mais elevadas. A humidade atmosférica do concelho de Nordeste é condicionada pela deslocação para Norte (no Verão) de massas tropicais quentes e húmidas e de massas de ar polar marítimo deslocando-se para o sul no Inverno. A humidade relativa do ar apresenta valores médios mensais máximos no Inverno e valores médios mensais mínimos no Verão. Segundo dados do Instituto de Meteorologia às 9h, nos anos de 1979 a 1990 foi registada uma humidade média relativa do ar de 83%, enquanto, às 18h, nos anos entre 1973 e 1990, a humidade

média relativa do ar foi de 8%. Considerando a morfologia do concelho, os ventos provenientes de SW são de regime mais turbulento, podendo originar fortes estragos.

Os ventos soprando de NW-N frequentemente transportam massas de ar frio podendo originar granizo e muito raramente, nas zonas altas, alguma neve (Amaral, 2004).

A população de Nordeste, segundo o censo populacional de 2001, era de 5291 mil habitantes com uma distribuição maioritária dos indivíduos de idade compreendida entre os 15-30 anos (SREA, 2003). A agro-pecuária é a principal actividade económica e emprega 17,6% do total activo da população (SREA, 2003) em que o sector da pecuária de bovinos leiteiros é o mais importante com um efectivo de cerca de 9500 animais (SNIRB, 2005), sendo a maior parte da raça Holstein-Friesian. As explorações têm uma superfície muito dividida em pequenas parcelas, por vezes, descontíguas. É comum no sistema de manejo da pastagem as manadas serem controladas apenas por uma cerca eléctrica. As vacas são mudadas de pastagem frequentemente, dado à reduzida dimensão das parcelas e muitas vezes por excessivo encabeçamento e a ordenha é feita no campo usando máquinas amovíveis. No momento da ordenha as vacas recebem um suplemento de concentrado. Para além da agro-pecuária, existem outras actividades económicas como: a indústria de construção civil, cada vez mais importante, o turismo e o comércio tradicional, tipicamente familiar (SREA, 2003).

### **1.3. Revisão sobre as zoonoses abortivas de origem bacteriana estudadas**

#### **1.3.1. Brucelose**

A brucelose é uma doença infecciosa, altamente transmissível, que pode ser causada por várias bactérias do género *Brucella*.

A importância da doença é tanto de natureza económica, devido a ocorrência de abortos e infertilidade nos animais de produção e devido às restrições comerciais internas e internacionais, como de Saúde Pública por ser uma zoonose que causa no Homem uma doença crónica e debilitante, ocasionalmente fatal, denominada de Febre Ondulante ou Febre de Malta. As principais espécies de *Brucella* implicadas na infecção humana são a *B. abortus*, cujo reservatório são os bovinos, e a *B. melitensis* cujos reservatórios são a cabra e a ovelha. Este agente é responsável pela forma mais severa da doença.

A brucelose apresenta uma distribuição geográfica alargada, embora vários países da Europa (Chipre, Dinamarca, Finlândia, Holanda, Noruega, Reino Unido, Suécia e mais recentemente a França), a Austrália, o Canada, o Japão, a Nova Zelândia e Israel estejam livres da doença. Os países europeus do Mediterrâneo, Norte e Leste de África, países do Próximo Oriente, Índia, Ásia Central, México, da América Central e do Sul são especialmente afectados. Esta doença está classificada pela O.I.E (Organização Mundial de Saúde Animal) como doença a ser reportada pelo menos uma vez por ano.

A brucelose nos bovinos é causada pela *B. abortus*, menos frequentemente por *B. melitensis* e raramente por *B. suis* (OIE, 2002). Nos bovinos a *Brucella* infecta principalmente fêmeas em idade reprodutiva e eventualmente os machos (DEFRA, 2008).

#### **1.3.1.1. Agente etiológico e taxonomia**

As *Brucella* são bacilos curtos Gram-negativos (0,6-1,5 mm x 0,5-0,7 mm) que crescem em meios de cultura em condições microaerófilas. São microrganismos intracelulares facultativos, sem reprodução no exterior das células.

O género *Brucella* comporta várias espécies morfológicamente indistinguíveis (*B. abortus*, *B. suis*, *B. melitensis*, *B. neotomae*, *B. ovis* e *B. canis*). Recentemente, foram isoladas estirpes de *Brucella* em mamíferos marinhos que mostram uma relação genética estreita com plantas do género *Agrobacterium*, *Ochrobacterium* e *Rhizobium* (OIE, 2002). A distinção das espécies de *Brucella* é realizada por provas bioquímicas e serológicas. O Subcomité Taxonómico da FAO admite a existência de 9 biótipos de *B. abortus* para efeitos de estudos de epidemiologia molecular, diferentes quanto à patogenicidade e virulência.

#### **1.3.1.2. Hospedeiros e sobrevivência no ambiente**

Existe um grande número de hospedeiros domésticos e selvagens que podem infectar-se por *Brucella* spp. pois estas não tem um hospedeiro específico, podendo ser transmitidas por qualquer espécie susceptível sob determinadas condições (FAO, 2003)

Existem, no entanto, hospedeiros preferenciais para cada espécie de *Brucella* e podem ocorrer infecções cruzadas. As espécies onde a infecção por *B. abortus* é mais comum e

com importância nos Açores, são as discriminadas a seguir. Os bubalinos, cervídeos, camelos e equinos podem ser também infectados com este agente.

### **Bovinos**

São os hospedeiros preferenciais da *B. abortus* e a susceptibilidade apresenta relação com a idade e a natureza da exploração económica. Assim, relativamente à idade, a doença manifesta-se quando os animais atingem a maturidade sexual e quanto ao tipo de exploração económica ocorre mais frequentemente nas explorações intensivas de gado de leite e de corte confinado. Não existe relação de susceptibilidade com a raça (Coordenaria de Defesa Agropecuária, 2005).

### **Ovelhas e cabras**

A *B. abortus* parece ter uma baixa patogenicidade para as ovelhas e as cabras, apesar de terem ocorrido surtos epidémicos isoladas em ovelhas. Shaw citado por Nicoletti (1980) postulou que as ovelhas podem servir de reservatórios de manutenção. Nas cabras as infecções aparentes são muito raras. Porém, a baixa prevalência de *B. abortus* nestas duas espécies sugere que sejam de pouca importância como reservatórios de infecção para vacas (Nicoletti, 1980).

### **Cães**

Têm sido identificados como vectores mecânicos e biológicos de 4 espécies de *Brucella* (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* e *B. canis*), embora a *B. canis* seja auto-limitante. Também chegam a produzir sintomas clínicos inclusive o aborto. Estudos levados a cabo no Chile (Martin e Kuschel, 1978 in Nicoletti, 1980) demonstraram uma relação directa entre rácios de infecção por *B. abortus* em cães e em vacas leiteiras.

### **Ratos**

Vários estudos, demonstraram serem os ratos bastante resistentes à infecção por *B. abortus*, não constituindo um reservatório de infecção para a manutenção da doença nos animais domésticos (Nicoletti, 1980).

### **Homem**

O Homem é um hospedeiro acidental e quase sempre final da infecção por *Brucella*. A *B. abortus* é considerada menos patogénica para o Homem do que a *B. melitensis* ou *B. suis*.

O contacto directo com vacas infectadas é a fonte primária da infecção e a doença é ocupacional. A incidência nos humanos está directamente relacionada com a doença nas vacas. Um factor importante na epidemiologia da brucelose bovina é a decisão do produtor no que diz respeito à condução do maneio das explorações e no comércio de animais. As vias de infecção podem ser: a conjuntiva e lesões da pele, por contacto directo com tecidos, sangue, urina, descargas vaginais, fetos abortados ou placentas. A ingestão de produtos lácticos constitui também um risco para a saúde pública. Foram registadas infecções ocupacionais a partir do ar de laboratórios e matadouros, visto que a infecção pode dar-se a partir de aerossóis. Também se registaram infecções em humanos da inoculação acidental com vacinas. Existem relatos raros de infecções em humanos por infecção venérea e congénita (FAO, 2003). A doença pode variar do grau de ligeira a severa, podendo os pacientes apresentar um quadro de sintomas que incluem: febres, suores, dores de cabeça, dores musculares e das articulações (é provavelmente a complicação mais comum da doença) e uma extrema fraqueza e cansaço. Muitas vezes, a doença, passa ao estado crónico. Os órgãos reprodutores podem também ser afectados e podem ocorrer endocardites. Por vezes, aparecem recaídas algum tempo após a recuperação (DEFRA, 2008).

A manipulação laboratorial de culturas vivas ou de material contaminado proveniente de animais infectados deve ser tratado sob condições especiais de segurança de nível 3 na escala de biossegurança.

## **Ambiente**

As *Brucella* são muito resistentes às condições do ambiente (até 120 dias) desde que protegidas por matéria orgânica (restos placentários, produtos de aborto, fezes, leite, manteiga etc.), porém a acidez das estrumeiras destrói-as rapidamente. A luz solar directa destrói também rapidamente a bactéria. Desinfectantes usuais disponíveis no mercado são eficazes quando usados na concentração correcta, tempo e acção preconizada (Coordenaria de Defesa Agropecuária, 2005).

### **1.3.1.3. Patogenia e infecção**

A principal porta de entrada da *B. abortus* é a mucosa do aparelho digestivo, através da ingestão de água ou alimento contaminado, restos do produto de abortos ou descargas

uterinas de animais infectados. A virulência da *B. abortus* tem um papel muito importante na patogenia da infecção pela sua habilidade em sobreviver e crescer intracelularmente e devido aos mecanismos de sobrevivência do agente que incluem: oxidação de substratos como o glutamato, o metabolismo do eritritol, sobrevivência intracelular à fagocitose e a produção de endotoxinas (Nicoletti, 1980).

O início da infecção por *Brucella* depende da dose de exposição, da virulência do organismo e da resistência natural do animal à *Brucella*. A resistência à infecção é baseada na habilidade do hospedeiro em prevenir que se estabeleça uma infecção mucosal pela destruição do organismo invasor (FAO, 2003).

O intervalo que medeia entre o início da infecção e os sinais de aborto varia de 14 a 180 dias. Se a infecção ocorre nos primeiros 2/3 da gestação as bactérias invadem o útero grávido (feto e anexos embrionários-cotilédones) e originam aborto. Se a infecção se verifica no fim da gestação, normalmente não aparecem sinais clínicos, mas há excreção de bactérias na altura do parto, podendo a cria ficar infectada, além do que se registará provavelmente aborto na próxima gestação (Corrêa de Sá, 1988). Nas fêmeas a *Brucella* infecta outros órgãos de eleição que são: a glândula mamária, linfonodos supramamários e a medula óssea. Nos machos atinge células dos testículos, epidídimo, ampolas e vesículas seminais com conseqüente eliminação da *Brucella* pelo sêmen. Ocasionalmente podem alojar-se nas bainhas tendinosas, articulações (como as do tarso e do carpo) e bolsas serosas. Simultaneamente a estas localizações, a bactéria é encontrada em outros órgãos como fígado, baço, pilares do diafragma e tiróide. No entanto, os tecidos de eleição da *B. abortus* são o uterino e a glândula mamária (Nicoletti, 1980). Após atravessar a barreira intestinal e entrar na corrente sanguínea, a bactéria penetra nos macrófagos multiplica-se e dirige-se para o órgão de eleição (aparelho reprodutor) rico em células germinativas e de um composto natural do útero, o eritritol. Na corrente sanguínea, as bactérias são apresentadas pelos macrófagos aos linfócitos B, que elaboram anticorpos importantes para fins de diagnóstico indirecto (aglutininas, precipitinas e anticorpos que fixam o complemento). As bactérias são também apresentadas ao sistema imune celular mediado por linfócitos T que produzem linfocinas (em macrófagos) que causam lise celular (Nicoletti, 1980). Em muitas vacas a infecção passa a crónica (OIE, 2007).

A imunidade contra a brucelose, à semelhança de todas as bactérias de crescimento intracelular, é estabelecida pela Imunidade Mediada por Células (IMC) e é mediada, sobretudo por linfócitos e macrófagos. A reacção de hipersensibilidade retardada pode ser detectada por testes alérgicos subcutâneos. Portanto, a patogenia, cura clínica e protecção

específicas (vacinação) são consequências de uma vigorosa resposta das IMC. A imunidade humoral é importante do ponto de vista do diagnóstico serológico. As IgG são de dois tipos: IgG1 e IgG2, sendo a IgG1 predominante no leite. As IgG tem capacidade de opsonizar, aglutinar e precipitar os antígenos, mas só activam a cascata de Complemento se estiverem presentes em grande quantidade e numa configuração correcta para o antígeno. As IgM, a imunoglobulina em segunda maior concentração no soro sanguíneo, são mais eficientes na activação do Complemento, opsonização e aglutinação do antígeno. Por serem muito grandes ficam confinadas à circulação sanguínea e portanto pouco importantes na protecção de fluidos teciduais ou secreções do organismo (Coordenaria de Defesa Agropecuária, 2005).

Existem situações em que os animais, embora infectados não reagem aos testes serológicos de rotina, mas são disseminadores quando parem ou abortam (Corrêa de Sá, 1988). Uma determinada percentagem de novilhas que adquiriram a infecção in útero ou por ingestão de leite contaminado são negativas nos testes serológicos, mas normalmente abortam ou têm uma cria infectada na 1ª gestação. Vitelas nascidas de mães recentemente infectadas, podem ser fonte de infecção para novas manadas. Pouco se sabe sobre os factores que possam influenciar o estado de latência, apenas se sabe que dependem de factores como a severidade da infecção da mãe, o número de organismos e de anticorpos no leite e a administração de vacina. As infecções latentes são difíceis de diagnosticar atempadamente no decurso da doença e podem dificultar a eliminação da brucelose da exploração (Nicoletti, 1980).

#### **1.3.1.4. Transmissão**

Na prática as principais fontes de disseminação da doença numa manada são os produtos do aborto, produtos do parto, corrimentos vaginais e leite de vacas brucélicas (Corrêa de Sá, 1988).

Após o aborto ou parto da vaca infectada dá-se uma excreção massiva de organismos para o ambiente, podendo contaminar água e pastagens. A excreção de *Brucella* nestas descargas vaginais pode ocorrer até 21 (Morrow, 1986) a 39 dias depois do parto ou aborto (Philippon, 1970 in FAO, 2008).

A *Brucella abortus* pode ainda ser encontrada na urina, sémen, fezes e fluidos dos higromas (OIE, 2007).

Os animais susceptíveis são assim infectados quer por contacto directo e ingestão de bactérias presentes em fetos, placenta, descargas vaginais de vacas infectadas, quer através das pastagens ou água contaminadas (Ausvetplan, 2006).

Outras possíveis vias de transmissão são: inoculação intramamária, via reprodutiva e congénita, inalação, exposição conjuntival e contacto directo com soluções de continuidade da pele (Nicoletti, 1980). A glândula mamária, embora seja habitualmente colonizada durante o curso da infecção, também pode ser infectada pelo contacto directo do teto com materiais contaminados. Também é de referir a possibilidade de entrada de *Brucella* numa exploração, através de fomites presentes em veículos de transporte contaminados (DEFRA, 2008).

Para além dos factores intrínsecos, quer do hospedeiro, quer do agente, e a sua interrelação, a transmissão da brucelose também está dependente de factores extrínsecos que se relacionam com as condições de sobrevivência do agente no meio ambiente. Muitos factores externos tem um papel fundamental na transmissão da *Brucella*, como sejam: o manejo, o clima e a topografia do terreno. As condições atmosféricas e a estação do ano podem ter influência no manejo e na taxa de contacto entre animais infectados e susceptíveis (Nicoletti, 1980).

Relativamente ao manejo, manadas com uma grande concentração de animais, densidades elevadas nas pastagens e sem uma gestão correcta do pastoreio, terão maior possibilidade de disseminação de infecção, pelo potencial de exposição de animais susceptíveis, especialmente a seguir a um aborto ou parto infectado.

A proximidade de outras explorações deverá ser considerada na epidemiologia da brucelose. O contacto físico entre os animais de explorações próximas em que algumas delas possam estar infectadas, a proximidade de riachos, charcos ou bebedouros comunais podem fazer aumentar o risco de infecção em animais susceptíveis por contacto (Nicoletti, 1980).

O facto de existirem vacas nas quais os níveis detectáveis de anticorpos serem atingidos apenas após o parto ou aborto, facilita a perpetuação da doença, mesmo existindo medidas de controlo e uma boa higiene (Nicoletti, 1980).

### **1.3.1.5. Diagnóstico**

#### **Diagnóstico clínico**

Os sinais clínicos clássicos da brucelose no bovino são: a febre, que é um sinal de pouco significado, o aborto a partir do 5º mês de gravidez (o sinal mais importante da doença), placentite, metrite, infertilidade temporária e no macho epididimite e orquite. A glândula mamária e os linfónodos podem também estar infectados (Nicoletti, 1980).

A imunidade desenvolve-se gradualmente, razão pela qual pode ocorrer mais do que um aborto na mesma vaca. Na 1ª gestação, o aborto ocorre mais precocemente (5º ou 6º mês), na 2ª gestação pode ocorrer à volta do 7º mês e um 3º eventual aborto (raro) por volta do 8º mês, visto que a imunidade protectora instala-se perto do período correspondente ao 3º aborto. A partir daí, as gestações evoluem normalmente e os vitelos nascem de termo (Coordenaria de Defesa Agropecuária, 2005).

Em alguns países tropicais é comum o aparecimento de higromas nas articulações dos membros e por vezes é o único indicativo da infecção (OIE, 2002).

#### **Diagnóstico laboratorial**

Normalmente usam-se duas formas para detectar explorações infectadas: provas serológicas e isolamento e identificação do agente.

#### **Identificação do agente**

A evidência de brucelose é obtida pelo isolamento do agente a partir do feto abortado (baço, conteúdo estômecal, pulmões e se possível as membranas fetais dos cotiledones) ou de materiais recolhidos dos animais adultos (material do aborto, descargas vaginais, zaragoas vaginais recolhidas seis semanas após o aborto ou o parto, colostro e leite de cada quarto, tecidos recolhidos *post-mortem*: glândula mamária, útero, linfonodos supramamárias e ilíacos). Nas novilhas adicionalmente deve colher-se amostras do tecido esplénico. No macho de amostras de testículos, vesículas seminais, epidídimo, glândulas acessórias e também dos linfónodos do ílaco interno (OIE, 2002).

O isolamento de *Brucella* é especialmente importante quando haja suspeitas obtidas por provas serológicas. Após o isolamento obtido por técnicas bacteriológicas, é necessária a identificação da espécie e biovar, por vários métodos como a lise fágica, as provas de metabolismo oxidativo, as provas bioquímicas e o PCR (método de reacção em cadeia da polimerase) ou por provas ao ADN.

### **Testes serológicos**

Segundo as Directivas 64/432/EEC (Anexo C) e 98/46/E, relativas à fiscalização sanitária do comércio intracomunitário de bovinos e suínos, os métodos serológicos aprovados para o diagnóstico da brucelose nos bovinos são o Teste do Rosa de Bengala (TRB), o Teste da Fixação do Complemento (TFC), o Teste de Aglutinação em Placa (TAP) e o Teste do Anel em Leite (Milk Ring Test) e como teste complementar, o cELISA (*Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assays*). O *Fluorescent Polarisation Assay* (FPA) e o iELISA são testes preconizados pelo OIE (2002).

Existem relações antigénicas entre a *Brucella* e outros organismos. Por exemplo, têm sido encontradas aglutininas que são reactivas aos antigénios de *Brucella* nomeadamente: as de *Leptospira* spp., as da *Yersinia enterocolitica* (serótipo O:9) e as de *Pasteurella multocida* (Nicoletti, 1980). Assim, os soros dos animais que apresentem resultados positivos ao TRB, deverão ser sujeitos a confirmação por outros testes mais específicos como por exemplo o TFC, para o esclarecimento de resultados falso-positivos.

Por outro lado, em alguns animais infectados, particularmente os jovens, os testes podem resultar negativos, mesmo alguns meses após a infecção, até ao parto ou aborto (DEFRA, 2008).

Assim, nenhum teste serológico, por si só, é apropriado para todas as situações epidemiológicas e sendo a brucelose uma doença de manada, a interpretação dos resultados nas provas serológicas deve fazer-se em função do efectivo ao qual o animal pertence (Corrêa de Sá, 1988).

Os factores importantes para a selecção do método de diagnóstico e para a interpretação dos resultados dizem respeito não só às características dos testes de diagnóstico como também do estágio da infecção (incubação, aguda ou crónica), da imunidade individual (tipo de vacinação, idade do animal e período desde a vacinação, método e dose), possível heteroespecificidade anticorpo/antigénio e ainda o estatuto sanitário da exploração sobre a vacinação (número de animais vacinados) e/ou infecção e nível de contaminação ambiental (Nicoletti, 1980).

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 535/2002 e do Decreto-Lei n.º 157/98 (anexo C) de 9 de Junho, descritos no Manual de Procedimentos para Diagnóstico da Brucelose do LNIV, deve ser feita, anualmente, a pesquisa de anticorpos anti-*Brucella* pelo TRB a todos os bovinos com idade superior a 12 meses, para a manutenção da classificação sanitária dos efectivos.

Assim, nas manadas com estatuto sanitário de oficialmente indemnes (B4) ou indemnes (B3), aos animais com serologia positiva ao TRB deve ser realizado o TFC como teste de confirmação para determinar o abate. Nos efectivos bovinos não indemnes (B2/B2.1) realizam-se o TRB e TFC a todos os animais, sendo abatidos os positivos a qualquer das provas. Nestas explorações, após a determinação de positividade, o abate será imediatamente efectuado. No caso específico do concelho de Nordeste o estatuto sanitário das explorações é de B3.

O **TRB**, prescrito nas trocas comerciais internacionais, é muito sensível, especialmente nos animais vacinados e as provas positivas devem ser confirmadas por testes como o da fixação de complemento (TFC) ou por ELISA. O TRB consiste na aglutinação de uma suspensão bacteriana (antigénio) corada de vermelho pelo corante Rosa de Bengala em tampão ácido (pH 3,6) com os anticorpos presentes no soro a testar (Coordenaria de Defesa Agropecuária, 2005).

O **TFC** é um método confirmatório largamente aceite, mas complicado, que detecta anticorpos (Ac) anti-*Brucella* fixadores de complemento (IgG1, IgM) (OIE, 2002). Esta prova é constituída por duas fases: fixação e hemólise. Os Ac anti-*Brucella* presentes no soro, reagem com o antigénio e absorvem o complemento, não ficando este disponível para a reacção da segunda fase. Nesta, são adicionados os glóbulos vermelhos e a hemolisina, que na ausência do complemento, não produzirão hemólise. Um resultado negativo é então evidenciado pela hemólise.

O **cELISA** usa anticorpos monoclonais específicos (MAb) para um ou dois epitopos de *B. abortus*, os O-polissacarídeos (OPS), e possui uma especificidade mais elevada devido à selecção de um MAb com uma mais elevada afinidade do que os anticorpos de reacções cruzadas, geralmente IgM de fraca afinidade. O cELISA também é capaz de eliminar a

maior parte das reacções devidas aos anticorpos residuais produzidos em resposta à vacinação com *B. abortus* B19 (OIE, 2002).

O **FPA** é uma técnica simples que consiste no uso como antigénio, de uma conjugação de um fragmento de pequeno peso molecular (média de 22 kD) da OPS de *B. abortus* da camada lisa da LPS, marcada com o isocatoniato de fluoresceína que se junta ao soro ou outro fluido a ser testado para a presença de anticorpo (OIE, 2002). Baseia-se no princípio da rotação aleatória das moléculas em solução, em que maiores moléculas apresentarão uma rotação mais lenta. Ao estar conjugada a um fluorocromo, pode ser medida a intensidade de rotação de determinada molécula, através da medição da intensidade da luz polarizada em planos vertical e horizontal. Nesta prova, o antigénio é conjugado com um fluorocromo e o complexo que se formará na presença de anticorpo, resultará numa diminuição mensurável da sua taxa de rotação.

**Teste do anel em leite (*Milk Ring Test* - MRT).** Nas explorações de leite, um método eficaz e rápido para o diagnóstico é a testagem do leite do tanque, se bem que não é precoce na detecção da infecção. Uma suspensão de *B. abortus* mortas e coradas com hematoxilina é adicionada ao leite a testar e incubada a 37 °C, para a detecção de anticorpos aglutinantes excretados no leite. Os glóbulos de gordura no leite fazem com que os complexos ascendam na coluna de leite e se suspendam na interface leite gordura, sendo visíveis como um anel. Quando se encontra um resultado positivo, todas as vacas que contribuem para o leite do tanque devem ser submetidas a um teste serológico individual. Nas pequenas explorações (<100 vacas aleitantes) este método é eficaz mas tem a desvantagem de produzir falso positivos devido à presença de globulinas do colostro ou a globulinas associadas a casos de mastites. Esta desvantagem também existe nas explorações em que as vacas tenham sido vacinadas recentemente (menos de 4 meses) (OIE, 2002).

Nas grandes explorações pode ocorrer um decréscimo de sensibilidade, devido à diluição dos leites individuais. Nicoletti (1980) reporta detecção através do MRT a partir de 20% dos animais seropositivos e em certos casos apenas quando mais de metade da exploração é seropositiva, o que pode levar a que a infecção se instale sem ser detectada e que seja depois difícil de eliminar (Nicoletti, 1980). Para contornar este problema, o teste pode ser aplicado em sub-populações da manada.

Uma reacção positiva é indicada pela formação de um anel azul escuro, mais ou menos intenso, entre a coluna branca de leite e a camada de gordura. O teste é considerado negativo se a cor da coluna de leite excede a da camada da nata (OIE, 2002).

**iELISA no leite.** É o mais sensível e específico teste de “screening” no leite e está particularmente indicado para as grandes explorações (OIE, 2002). É realizado a partir de leite inteiro e utiliza um lipopolissacarídeo como antigénio, numa matriz de poliestireno, e um anticorpo monoclonal de ratinho, específico para um epitopo de IgG1 bovina, conjugado com horseradish peroxidase. Estudos realizados a partir de soros de explorações positivas na América latina determinaram sensibilidades de 95,2% (DP 3,7%) e 98,7% (DP 0,3%) e em amostras negativas de explorações do Canadá, uma especificidade de 99,5% (Nielsen *et al.*, 1996).

#### **1.3.1.6. Prevenção e controlo**

Os objectivos principais a atingir para o controlo da brucelose e a sua eventual erradicação são a diminuição progressiva do número de animais infectados, bem como a redução das descargas de microrganismos durante o parto ou o aborto e o aumento da resistência da manada à doença (Corrêa de Sá, 1988). Normalmente são recomendadas duas formas de prevenção e controlo: a profilaxia médica (vacinação) e a profilaxia sanitária (testagem, isolamento e abate dos animais positivos e a adopção de práticas de manejo que reduzam uma potencial exposição) (Nicoletti, 1980).

##### **Profilaxia médica**

Deve aumentar-se a resistência do organismo animal à infecção através da prática da vacinação. Porém, na utilização de uma vacina vários são os parâmetros a considerar: a vacinação reduz a infecção sem levar à erradicação da doença; a vacinação não protege os animais perante uma forte pressão de infecção (i.e. quando da excreção de bactérias na altura do parto ou do aborto de um animal infectado); a vacinação não protege animais já infectados; e, quando vacinados, nem todos os animais de uma manada ficam imunizados. As vacinas mais usadas são: a *B. abortus* estirpe B19 e a *B. abortus* estirpe RB51.

**Vacina B19.** É uma vacina viva, liofilizada que deve ser usada apenas em fêmeas com idade compreendida entre os 3 e 6 meses, numa única dose de  $5-8 \times 10^{10}$  de organismos viáveis (OIE, 2002), pois é patogénica para os machos originando frequentes lesões permanentes ao nível dos testículos. Como a estirpe vacinal é aglutinogénica, o soro de animais vacinados pode apresentar anticorpos detectáveis pelos testes serológicos de diagnóstico por período mais ou menos longo (Corrêa de Sá, 1988).

**Vacina RB51.** É uma vacina viva, de estirpe rugosa, que pode ser administrada sem que induza anticorpos detectáveis nos testes serológicos baseados em identificação de células inteiras ou LPS como antígeno. Porém, produz a formação de anticorpos detectáveis em provas especiais que indicam que o animal foi vacinado (Ausvetplan, 2006). As fêmeas devem ser vacinadas entre os 4 e 12 meses de idade com uma dose de  $1-3,4 \times 10^{10}$  com uma revacinação 12 meses depois (OIE, 2002). Esta é a vacina aplicada nos Açores, no âmbito do plano de controlo e erradicação da doença aprovado pela Comissão Europeia.

### **Profilaxia sanitária**

Como os animais infectados poderão ser portadores de *Brucella* por toda a vida útil, mesmo podendo os testes serológicos ser negativos, e porque existe uma localização preferencial dos microrganismos do género *Brucella* no útero grávido e a expulsão de um enorme número de bactérias na altura do parto ou do aborto, torna-se absolutamente necessário a eliminação rápida dos animais positivos nos testes serológicos (Corrêa de Sá, 1988). Nenhum tratamento é permitido às vacas com brucelose. O abate dos animais positivos deverá ser extensivo à descendência com idade inferior a um ano. A tipificação da bactéria deve ser feita após a colheita de órgãos e linfonodos nos matadouros aos animais positivos.

Em determinadas situações, o vazio sanitário é utilizado como medida de eliminação da infecção, tal como previsto nos Decretos-Lei n.º 244/2000, de 27 de Setembro, e 227/2004, de 7 de Dezembro, relativos às normas técnicas de execução do Programa de Erradicação da Brucelose.

Segundo o mesmo Decreto-Lei, os agricultores são obrigados a notificar os abortos e a apresentar nos serviços sanitários da ilha o feto abortado das vacas, sempre que possível.

As manadas com animais positivos devem ser retestados regularmente (entre 30 e 60 dias) até se obterem dois resultados negativos aos testes para que se possa considerar a

exploração livre de brucelose. Seis a doze meses depois, novos testes de vigilância epidemiológica deverão ser feitos a estas explorações.

Após o período de sequestro, todas as vacas deveriam ser testadas trinta dias depois do parto. Deve evitar-se a associação de grupos de animais de diferentes idades. Existe um grande risco na movimentação de vacas e novilhas com infecção latente e não deve ser ignorado o potencial risco do arrastamento de material infectado pelos cães e aves. Quando um animal aparece infectado deve fazer-se o estudo do seu percurso, começando pela última manada a que pertenceu, a fim de se identificar outras explorações potencialmente infectadas (a de origem, as de trânsito e outras que adquiriram animais na mesma origem). Deve realizar-se o mapeamento das explorações e estabelecer-se uma epidemovigilância às explorações vizinhas para a pesquisa de anticorpos anti-*Brucella abortus*, a fim de se detectarem explorações infectadas ainda não identificadas. Desta forma, reduz-se a disseminação da doença.

As actividades de gestão das explorações devem de ser sujeitas a exame dos registos de produção, de abortos e problemas reprodutivos (Ausvetplan, 2006).

Vacas importadas que abortem ou dêem crias, mesmo durante o trânsito, devem ser investigadas para pesquisa de brucelose. Quando as vacas são importadas de determinadas áreas, não declaradas livres de brucelose, deve fazer-se uma pesquisa de anti-corpos à brucelose num período não superior a 60 dias após a chegada. Deve colher-se amostras de sangue, leite e amostras a partir das paredes da vagina (DEFRA, 2008). É ainda fundamental o controlo de touros de reprodução que podem ser importantes na transmissão da doença.

As boas práticas de manejo e higiene da manada são extremamente importantes aquando da erradicação de uma infecção. Assim, as fêmeas, antes do parto, deveriam ser isoladas da manada sempre que possível. O isolamento pode ser feito mesmo na pastagem por meio de cercas eléctricas e de seguida desinfectar e destruir os produtos do parto ou do aborto. Os animais suspeitos devem ser ordenhados no final, com especiais cuidados, inclusive de higiene pessoal por parte do tratador (Corrêa Sá, 1988). A *Brucella abortus* é susceptível a vários produtos químicos incluindo: formalina a 0,03%, fenol a 1,0%, beta propiolactona a 0,01%, hipocloreto de sódio, hidróxido de sódio, iodinas, compostos de amónia quaternária, éter e clorofórmio.

Nas infecções Humanas por *Brucella* spp. interessa determinar se a fonte da infecção é de origem ocupacional ou da ingestão de alimentos contaminados e qual a origem dos mesmos. O controlo e fiscalização de alimentos de alto risco deve constituir uma rotina associada à obrigatoriedade da exigência da implementação de sistemas de segurança alimentar através de programas de HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) (FAO, 2003).

### **1.3.1.7. Situação da brucelose nos Açores**

No Arquipélago dos Açores a brucelose nos bovinos, é uma doença que tem persistido apesar das medidas de profilaxia médica e sanitária tomadas ao longo de muitos anos. É de realçar no entanto que a prevalência tem vindo a diminuir, tendo sido de 4,47% em 2000 e de 2,49% em 2007 (Martins, 2008). A taxa de incidência da brucelose no 1º trimestre de 2007 apresentou o valor de 0,59%, inferior ao mesmo período do ano anterior, 0,79% (SRAF-DRDA, 2007). Nas ilhas onde é maior a prevalência (ilhas de S. Miguel, Terceira e S. Jorge) a brucelose tem vindo a diminuir progressivamente, fruto do programa de vacinação com a vacina RB51 conjugado com teste e abate de animais seropositivos, que está em curso. Em 2007 a percentagem de explorações positivas em S. Miguel era de 9,6% (prevalência animal de 1,12%), na Terceira de 0,08% (prevalência animal de 0,005%),) e em S. Jorge de 0,7% (prevalência animal de 0,17%) (Martins, 2008). As ilhas Graciosa, Pico, Flores e Corvo mantêm o estatuto de “Ilhas Oficialmente Indemnes de Brucelose Bovina” ao abrigo da Decisão da Comissão nº 204/199/CE, de 27 de Fevereiro. Na ilha de S. Maria, esta doença está erradicada desde 2002 e na ilha do Faial não surgiram casos positivos durante o 1º trimestre de 2007 (SRAF-DRDA, 2007).

Em 2006, a brucelose bovina no Continente apresentava os seguintes indicadores: prevalência de explorações positivas: 0,51%; prevalência de animais positivos: 0,2% (DGV, 2007).

Em termos de brucelose humana, apesar de terem vindo a diminuir o número de casos nos Açores, de acordo com os dados notificados pelo sistema das Doenças de Declaração Obrigatória (DDO) da Secretaria Regional de Saúde, registaram-se no Arquipélago 4 casos em 2003, 1 em 2004, nenhum caso em 2005 e 1 em 2006 com maior incidência nas ilhas de S. Miguel e Terceira.

### 1.3.2. Leptospirose

A leptospirose é uma zoonose de distribuição ubíqua, embora, a prevalência seja maior nos países de clima tropical do que nos países das regiões temperadas, devido às condições de humidade e temperatura mais elevadas durante este período que favorecem a sobrevivência no ambiente e a transmissão das leptospiras.

Nas regiões tropicais, a leptospirose é geralmente endémica em áreas com grande precipitação pluviométrica e áreas com elevados níveis de água na superfície do solo. A China, o Sudeste Asiático, África e a América Central e do Sul possuem imensas áreas onde a doença é endémica (Dutta, 2005). Nas regiões tropicais a doença pode inclusivamente manifestar-se sob a forma de surtos epidémicos durante a ocorrência de inundações (Green-Mckenzie, 2001 in Barros, 2003).

Nas regiões temperadas, a doença tem um carácter sazonal com picos no Verão e no Outono (Levett, 2001).

As leptospiras podem afectar o Homem, mamíferos domésticos e silváticos e já foram isoladas em répteis e aves (Faine *et al.*, 1999).

É de salientar o carácter ocupacional desta afecção, predominando os casos clínicos nas profissões em que existe um estreito contacto com animais ou os seus excreta, assim como com águas contaminadas em que o agente possa persistir (Levett, 2001; Heath e Johnson, 1994 e Terry *et al.*, 2000 in Cavaco, 2003). É assim maior a prevalência da doença nos humanos adultos do género masculino (Sitprija, 2001 in Borrego, 2006). Profissionais como magarefes, criadores de gado, trabalhadores rurais, médicos veterinários, soldados, mineiros, pescadores, trabalhadores do saneamento básico, correm um risco acrescido de contrair a doença (Pacheco, 2000; Bharti, 2003 in Borrego, 2006)). Os participantes de actividades recreativas que envolvam imersão em água de rios, lagoas ou charcos contaminados como, por exemplo, as práticas de natação, canoagem e “rafting” também constituem grupos de risco, tal como os residentes de zonas degradadas das cidades onde a população de roedores tende a aumentar (Levett, 2001; Bharti, 2003 in Borrego, 2006).

Faine *et al.* (2000), citado por Collares Pereira *et al.* (2007), defeniram três padrões epidemiológicos para o Homem. O primeiro que ocorre em climas temperados onde poucos serovares estão envolvidos e a infecção humana normalmente acontece por contacto directo com animais infectados, como bovinos e suínos (doença ocupacional).

Neste caso, é possível exercer controlo através de imunizações (quer animais, quer humanas). O segundo padrão ocorre em zonas tropicais, onde existe um número muito superior de serovares a infectar pessoas e animais e um número mais elevado de espécies “reservatório”. Nesta situação, o controlo deve ser efectuado nos roedores e através da optimização de condições de higiene e de água potável. Por último, o terceiro padrão compreende as infecções provocadas por roedores nos meios urbanos. Normalmente, ocorre em países sub-desenvolvidos ou também como surtos epidémicos, em países ditos desenvolvidos, mas com problemas de saneamento básico.

Nos bovinos, a leptospirose, para além do risco sanitário, acarreta perdas económicas, visto que tem efeitos sobre a reprodução (infertilidade, abortos nos últimos meses de gestação, nados-mortos, nascimento de animais débeis, a morte de bezerros de 15-60 dias e a morte de animais adultos) e ainda quebra na produção leiteira (“síndrome da queda de leite” e desenvolvimento de mastites) (Ellis, 2006).

Nos suínos, considerados a nível mundial como os animais domésticos mais vulgarmente afectados pelas leptospiras (Torten, 1979 in Collares Pereira *et al.*, 2007), a infecção ocorre em todas as idades, embora seja mais frequente nas fêmeas reprodutoras, onde o aborto é a única manifestação clínica evidente (Pritchard, 1986 in Collares Pereira *et al.*, 2007). Em termos de Saúde Pública, a leptospirose suína pode constituir um problema mais grave do que a infecção bovina. Admite-se que a primeira resulte de uma maior proximidade humana e de sintomatologia pouco evidente, apesar da eliminação contínua e prolongada de leptospiras. Inquéritos serológicos confirmam que as aglutininas anti-*Leptospira* apresentam, nos suínos, uma elevada reactividade cruzada, exibindo padrões serológicos distintos consoante a sua distribuição geográfica (Hathaway *et al.*, 1983 in Collares Pereira *et al.*, 2007).

Alonso-Andicoberry *et al.* (2001), que cita Covalada *et al.* (1953) e Faine (1991) diz que é preciso contabilizar, além do risco sanitário, a vertente económica devido a gastos originados com cuidados médicos dos pacientes e outros custos como as baixas laborais e perda de produtividade e capacidade de trabalho, as roupas especiais de protecção, a vigilância e controlo dos locais de trabalho, os seguros médicos para o pessoal em risco, etc.

### **1.3.2.1. Agente etiológico**

A leptospirose é causada por espiroquetas patogénicas, móveis e flexíveis pertencentes ao género *Leptospira interrogans* sensu lato (s.l.), presentemente organizadas em mais de 200 serovares, dos quais, apenas um número limitado de serovares são patogénicos e endémicos de uma região ou País, aos quais os factores ecológicos, ambientais e sociais estão associados (Thiermann, 1984 in Cavaco, 2003).

Tradicionalmente, a classificação serológica das leptospirosas é feita segundo determinantes antigénicos (taxon básico) das características morfológicas e culturais dos serovares (Faine *et al.*, 1999) e até 1989, o género *Leptospira* era dividido em duas espécies: *Leptospira interrogans* que compreendia todas as estirpes patogénicas e *Leptospira biflexa* que continha todas as estirpes saprófitas isoladas no meio ambiente. A *Leptospira interrogans* está subdividida em 23 serogrupos aos quais pertencem mais de 220 serovares. Os serovares com semelhanças antigénicas, por questões de ordem prática, foram agrupados em serogrupos dentro do complexo da respectiva espécie, passando, neste caso, a ter a designação (*sensu lato*) por forma a distingui-los da espécie genómica homóloga (Levett, 2001; Bharti *et al.*, 2003).

### **1.3.2.2. Hospedeiros e sobrevivência no ambiente**

Os roedores representam a principal fonte de infecção e o principal vector de transmissão para humanos e outros animais domésticos, podendo ser reservatórios de distintos serovares patogénicos. As ratazanas (*Rattus* spp.) são geralmente hospedeiros de manutenção de serovares dos serogrupos Icterohaemorrhagiae e Ballum. Os murganhos (*Mus* spp.) para o serogrupo Ballum (Levett, 2001). Esta capacidade é devida ao facto da sua urina ser alcalina, podendo estes animais ser portadores de vários serovares patogénicos e eliminá-los durante meses, anos ou mesmo por toda a vida pela urina (Sitprija, 2001 in Barros, 2003). Os bovinos podem alojar, como hospedeiros de manutenção o serovar Hardjo (Ellis *et al.*, 1981 in Alonso-Andicoberry, 2001), não se conhecendo para este nenhum reservatório silvestre (Ellis, 1993 in Alonso-Andicoberry, 2001). Os canídeos domésticos podem manter os serovares Canicola e Bataviae; os bovinos podem também alojar os serovares Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippityphosa e Canicola; os ovinos, os serovares Hardjo e Pomona; os suínos, os serovares Pomona,

Tarassovi, Bratislava (OIE, 2007). Em Portugal Continental, foi já possível isolar o serovar Mozdok (serogrupo Pomona) de fetos de suínos (Rocha, in Collares Pereira *et al.*, 2007). Os equinos, considerados em regra “hospedeiros acidentais” das leptospiros, reflectem habitualmente o padrão epidemiológico da zoonose no ecossistema em que se inserem (Collares Pereira *et al.*, 2007). Muito recentemente, em Portugal Continental, foi isolado do rim de um cavalo o serovar Tsaratsovo do serogrupo Pomona (Rocha *et al.*, 2004). Outros serovares foram associados à doença nos equinos incluindo: Hardjo, Pomona, Canicola, Icterohaemorrhagiae (OIE, 2007).

Uma humidade relativa alta é determinante para a sobrevivência das leptospiros no meio ambiente e uma condição indispensável para a manutenção da infecção por serovares acidentais numa determinada região geográfica (Covaleda *et al.*, 1953; Van der Hoeden, 1958; Prescott, 1993 in Alonso-Andicoberry, 2001). As leptospiros sobrevivem, melhor em águas puras paradas, solos húmidos e alcalinos, lamas e vegetação, quando as temperaturas rondam os 22 °C (Levett, 2001).

As leptospiros são rapidamente danificadas pelo sol em incidência directa, a desidratação, o pH ácido e a salinidade (Miller *et al.*, 1991 e Ballows *et al.*, 1992 in Borrego, 2006).

A infecção do Homem com estes agentes é uma ocorrência acidental, sendo a prevalência de serovares de *Leptospira* na população humana, um reflexo da sua prevalência na população animal (Heath e Johnson, 1994 in Cavaco, 2003).

### **1.3.2.3. Patogenia e infecção**

Nos bovinos susceptíveis, após a infecção decorre um período de incubação de 4 a 10 dias seguido da fase de bacteriémia que pode durar de algumas horas a 7 dias (Eaglesome e Garcia, 1992 in Barros, 2003). Existem duas fases distintas da infecção por *Leptospira* spp. no organismo. A primeira de septicémia e a segunda associada ao desenvolvimento de imunidade. Durante a fase septicémica, as leptospiros são distribuídas pelo organismo e dá-se a penetração e invasão de tecidos. A proliferação e disseminação das espiroquetas resulta numa doença sistémica cuja manifestação clínica tem um largo espectro de sintomas (Levett, 2001). Nesta fase, as leptospiros entram e replicam-se em vários órgãos, consoante o tropismo da estirpe do serovar para determinados tecidos: fígado, baço, rins, aparelho reprodutivo, olhos, pulmões, glândulas, músculos, sistema nervoso central,

tecidos fetais e nódulos de drenagem linfática (Ellis, 2006). Durante esta fase as leptospiras podem ser isoladas a partir do sangue do líquido cefalorraquidiano e da maioria dos órgãos (Ellis, 1994).

Nos humanos, a forma ligeira da leptospirose assemelha-se a uma gripe com dores de cabeça e mialgia. A forma severa de leptospirose, caracteriza-se pelo aparecimento de icterícia, disfunções renais e diátese hemorrágica, referida como a Síndrome de Weil (Levett, 2001).

A localização e multiplicação das leptospiras nos tubos contornados proximais do rim, a sua sobrevivência no líquido cefalorraquidiano (ovelha), no humor aquoso do olho (cavalo), os órgãos genitais dos machos e das fêmeas sugere a incapacidade dos anticorpos de penetrarem nestes locais na ausência de inflamação (Prescott e Zuener, 1993 e Quinn *et al.*, 1994 in Barros, 2003), a permanência de leptospiras em determinados órgãos é devido ao facto de ser mínima a actividade dos anticorpos nesses órgãos (Barros, 2003).

A fase de bacteriémia cessa com o aparecimento de um marcado aumento de anticorpos circulantes IgG na urina, normalmente detectáveis a partir dos 10 dias após a infecção, embora as leptospiras se localizem e persistam nos tubos renais proximais e no aparelho reprodutivo feminino e masculino, podendo também persistir no olho e no sistema nervoso central (Ellis, 1994).

As leptospiras lesionam o endotélio vascular podendo provocar hemorragias. A membrana externa (OMPs) da leptospira contem LPS e várias lipoproteínas. O LPS leptospiral virulento estimula a aderência de neutrófilos às células endoteliais e plaquetas causando agregação e sugerindo um papel no desenvolvimento de uma trombocitopenia. Os neutrófilos passam a estar associados às leptospiras virulentas, mas não as destroem. As leptospiras são fagocitadas pelos macrófagos na presença de anticorpos específicos. A fagocitose só ocorre na presença de soro e do complemento, o que sugere que o envelope externo da leptospira possua um componente antifagocítico. A inibição da actividade macrofágica aumenta a sensibilidade à infecção (Levett, 2001). A persistência da infecção e a sua evolução dependem da adaptação do serovar ao hospedeiro. Quando o serovar se encontra adaptado ao hospedeiro (hospedeiro de manutenção), como é o caso do serovar Hardjo nos bovinos, a intensidade da excreção de leptospiras é elevada e constante nas primeiras 4 a 6 semanas, seguida por um período variável em que a taxa de excreção é baixa e por vezes intermitente podendo persistir por 6 a 12 meses ou até por toda a vida (Ellis, 1986).

A segunda fase, a da resposta humoral, também chamada de imuno fase, é específica para o serovar e coincide com o desaparecimento da leptospira do sangue. A imunidade encontra-se associada quer a anticorpos aglutinantes quer a anticorpos opsonizantes, estando pouco claro o papel da imunidade celular, devido à redução do número de linfócitos CD4+ e a sua correspondência em algumas mitógenes. Níveis de imunocomplexos anti-leptospiras circulantes foram relacionados com a severidade de sintomas e em pacientes cujo estado clínico melhorou, caíram os níveis dos imunocomplexos circulantes (Levett, 2001). Os anticorpos IgG conferem maior protecção que os IgM, podendo a imunidade durar cerca de um ano após a vacinação (Prescott e Zuerner, 1993 in Barros, 2003). Estudos recentes com (OMPs) que usaram OmpL1 e LipL41 têm demonstrado um grande potencial na imunidade protetiva cruzada que induz protecção sinérgica para subunidades de vacina (Levett, 2001).

A infecção do trato genital feminino pode ocorrer em fêmeas gestantes e não gestantes com diferentes sintomas clínicos. Em fêmeas gestantes com leptospirose o embrião pode ser infectado. Nos animais múltiparos nem todos os fetos poderão ser infectados ao mesmo tempo. Pode haver disseminação sequencial de um feto para outro. A infecção transplacentária é um evento crónico e ocorre algum tempo após a fase de bacteriemia, sem que ainda estejam compreendidos os factores que a controlam. Dependendo do momento em que ocorreu a infecção da placenta, assim são possíveis diferentes cenários. O estatuto fisiológico e imunológico da mãe parece ter influência em determinadas espécies, como por exemplo em porcos infectados com *L. bratislava* ou ovelhas infectadas com *L. hardjo* em que quase todos os abortos e nados-mortos acontecem na última semana ou menos da gestação e é provável que a imunossupressão associada a um estado avançado de gestação jogue um papel na patogénese da infecção fetal. Nos bovinos, se a infecção ocorre à volta do tempo de concepção, o embrião pode ser afectado (embora seja conflitual a evidência disso) e a vaca volta ao serviço. Uma certa proporção dos fetos infectados será expulsa, dando origem a abortos, nados-mortos e nascimentos prematuros (Ellis, 2006).

#### **1.3.2.4. Transmissão**

A leptospirose é mantida na natureza por infecção crónica dos túbulos renais dos hospedeiros de manutenção (Levett, 2001). Nestes túbulos há reabsorção de bicarbonato,

logo um pH intracelular mais elevado do que nas outras células o que favorece a sobrevivência das leptospiras (Sitprija, 2001 in Barros, 2003). As leptospiras podem, contudo, permanecer noutros locais como no cérebro e na câmara anterior do olho (Jeziar *et al.*, 2001 in Barros, 2003).

A urina dos animais infectados é a fonte de infecção mais comum. O sangue e o leite são também fontes de infecção (Pacheco *et al.*, 2000). Para Ellis (1994), com o serovar Hardjo a urina infectada, descargas uterinas pós-aborto, placenta infectada (transmissão vertical), contacto sexual e infecção uterina, são, provavelmente, as mais importantes vias de infecção.

A transmissão da leptospirose dá-se por via directa através do contacto com animais infectados ou mais frequentemente por via indirecta através do contacto com solos, superfícies de águas, vegetação e materiais contaminados com urina e excreções de mamíferos, tais como bovinos ou roedores infectados (Collares-Pereira *et al.*, 2000b). Este microrganismo utiliza como pontos de penetração no organismo a pele (através de feridas, erosões e, ocasionalmente, quando se encontre amolecida por contacto prolongado com a água) ou mucosas da boca, olhos, nariz e órgãos genitais (Faine *et al.*, 1999).

A infecção pode dar-se, embora em número reduzido de casos, por mordedura de animais infectados. A principall fonte de leptospírica intraespecífica sejam as vias alimentar e hídrica por contacto com a urina dos portadores crónicos (Levett, 2001). Normalmente a infecção é adquirida nas idades jovens e a prevalência da excreção crónica pela urina aumenta com a idade do animal (Levett, 2001).

A extensão da transmissão da infecção depende de muitos factores incluindo o clima, densidade populacional, prevalência da infecção e grau de contacto entre os hospedeiros de manutenção e os acidentais (Faine *et al.*, 1999).

As condições ambientais quentes e húmidas com valores de pH próximos da neutralidade ou ligeiramente alcalino são óptimas para a viabilidade e sobrevivência das leptospiras fora do hospedeiro o que facilita a transmissão indirecta da doença (Ellis, 1994).

Nos bovinos, a transmissão directa seria o mecanismo mais importante para a disseminação da *L. hardjo* entre os animais e entre as manadas e tem grande importância nas infecções por serovares mantidos em determinada espécie animal, assegurando a perpetuação de um determinado serovar e a prevalência da doença (Ellis, 1987).

Em algumas explorações leiteiras a disseminação da leptospirose está muitas vezes relacionada com a passagem de vacas pela sala de ordenha, local que reúne condições de

temperatura e humidade propícias à formação de aerossóis a partir da urina infectada (André-Fontaine e Ganière, 1990 in Barros, 2003).

Artrópodes (moscas, ixodídeos, pulgas, ácaros e piolhos) bem como aves, anfíbios, répteis e outros invertebrados poderão ter um papel relevante na transmissão indirecta da leptospirose como vectores mecânicos embora seja incerto o seu papel (Faine *et al.*, 1999).

Os hospedeiros classificam-se em hospedeiros de manutenção ou reservatórios e hospedeiros acidentais. Considera-se como hospedeiro de manutenção aquele que assegura a perpetuação de uma população determinada de agentes infecciosos, sem a intervenção de nenhum hospedeiro acidental. É a espécie na qual a infecção é endémica e é normalmente transferida de animal a animal por contacto directo (Levett, 2001). Portanto, a população de manutenção será aquela população de uma ou de várias espécies animais que actuam como reservatórios contínuos de um serovar, num ecossistema determinado (Little, 1986 in Cavaco, 2003).

Os pequenos mamíferos são os hospedeiros de manutenção mais importantes para as leptospirosas podem transferir a infecção aos animais de produção das explorações, cães e humanos (Levett, 2001). As leptospirosas têm capacidade de sofrer alterações de especificidade de hospedeiro e de virulência (Heath e Johnson, 1994 in Cavaco, 2003).

Assim, diferentes estirpes patogénicas de leptospirosas podem afectar, potencialmente, um grande número de espécies animais que actuarão como hospedeiros de manutenção ou acidentais em função do serovar (Little, 1986 in Cavaco, 2003).

Uma aplicação prática importante dos estudos das populações “reservatórios” de agentes de doença que afectam o Homem é a integração dos dados obtidos em modelos preditivos que permitam, aos responsáveis pela gestão da saúde pública e ambiental, identificar locais ou momentos específicos de risco (Mills 1990 in Collares Pereira *et al.*, 2007). No caso das populações de roedores que são afectadas por factores ambientais, bióticos e abióticos directa ou indirectamente, esses modelos preditivos deverão assumir uma postura dinâmica, pois são construídos com base no conhecimento actual, sempre em evolução. O seu sucesso depende da precisão dos estimadores utilizados, os quais, por seu lado, decorrem da qualidade dos dados obtidos por quem desenvolve o trabalho, em pesquisas de campo e laboratoriais no âmbito da ecologia dos roedores (Collares Pereira *et al.*, 2007).

Nas infecções por leptospirosas existem o grupo das infecções causadas por serovares adaptados ao hospedeiro e o grupo das infecções causadas por serovares não adaptados ao

hospedeiro. As primeiras tomam um carácter subclínico com prevalências relativamente altas e as segundas, responsáveis por casos clínicos isolados ou surtos epidémicos, com alguma gravidade, apresentando prevalências muito mais baixas (Heath e Johnson, 1994 in Cavaco, 2003).

Teoricamente qualquer serovar pode infectar qualquer espécie animal, mas na prática depende da presença de factores de risco que predisponham à entrada da infecção na manada. Habitualmente a compra e trânsito de animais, partilha de pasto com outras espécies como ovinos, acesso a rios, riachos e mananciais de água onde co-habitam outras manadas ou outras espécies e ainda a reposição de novilhas que constituem uma fonte constante de infecção aos bovinos susceptíveis (Levett, 2001). A introdução de animais nas explorações pela compra de reprodutores constitui um relevante factor de risco (Levett, 2001).

#### **1.3.2.5. Diagnóstico**

##### **Diagnóstico clínico**

A leptospirose não apresenta sinais clínicos patognomónicos, sendo variável o seu quadro clínico nos animais, o que dificulta o seu diagnóstico. Assim, Faine (1999) propõe a combinação de aspectos clínicos e laboratoriais, tendo em conta as dificuldades de ambos, como a base para um bom diagnóstico (Faine *et al.*, 1999).

Nos bovinos a leptospirose clínica pode apresentar-se de formas diferentes, consoante a idade do animal, seu estado fisiológico, a estirpe infectante, sua patogenicidade, variação da patogenicidade da estirpe, dose infectante, tipo de hospedeiro, tropismo para certos órgãos e as características da população animal (i.e. idade, sexo, maturidade sexual, susceptibilidade da espécie, estatuto imunitário do indivíduo ou da exploração), práticas de manejo e presença de doenças intercorrentes como por exemplo a Diarreia Viral Bovina e os circavirus nas explorações de suínos (Ellis, 2006). Em todas as espécies, a maior parte das infecções por leptospirosas são aparentemente subclínicas (Ellis, 2006). A forma clínica desta doença pode ser dividida em duas fases distintas: a primeira fase - a aguda - que coincide com a fase de bacterémia e a segunda fase - a crónica - mais tardia em que os efeitos se fazem sentir predominantemente a nível do aparelho reprodutivo (Ellis, 2006). O aborto pode ocorrer em qualquer estágio de gestação, mas normalmente é no 6º mês. A seguir a um aborto devido a infecção por *L. hardjo*, há um aumento da probabilidade de

retenção placentária e são excretadas leptospiras nas descargas uterinas para além das 2 semanas. A fase aguda é mais frequente e severa nos vitelos cujo quadro clínico se apresenta com pirexia, septicemia grave, anorexia, anemia hemolítica, hemoglobínúria, icterícia e por vezes meningite e morte. Caso haja recuperação, o período de convalescença é longo podendo ocorrer lesões graves (Faine *et al.*, 1999).

Nas vacas, as principais manifestações clínicas da leptospirose, estão ligados à esfera reprodutiva como abortos, nados-mortos, reabsorção fetal, nascimento de animais debilitados e infertilidade (Faine *et al.*, 1999). Há ainda relatos de casos de mastite clínica e subclínica com presença de flacidez do úbere e leite amarelado, por vezes, com estrias de sangue (serovar Pomona) ocasionando elevada redução na produção (Faine *et al.*, 1999).

A agalaxia pode durar de 2 a 10 dias, a partir do qual a produção de leite volta ao normal, excepto quando a infecção ocorre na última fase da lactação em que a produção de leite pode cessar (Ellis, 1986; Faine *et al.*, 1999). O quadro clínico subagudo está geralmente associado à infecção pelo serovar Hardjo, podendo, porém ser causado por estirpes pertencentes a outros serogrupos (Ellis, 1986). Na observação clínica, para a forma hemolítica da leptospirose, devem ser consideradas outras condições que causem hemólise, hemoglobínúria e lesões renais ou hepáticas como por exemplo: envenenamento por colza ou couve, babesiose, hemoglobínúria pós-parto, hematúria enzoótica dos bovinos e clostridiose (Baskerville, 1986 in Cavaco, 2003). Na agaláxia devem ser investigadas outras patologias: mastite por *Mycoplasma bovis*, febre da carraça, privação de água e rinotraqueíte infecciosa bovina (Ellis, 1986 in Barros, 2003). Nas situações de aborto: a brucelose, a campilobacteriose genital, a tricomonose e outras patologias que causam aborto (Carte e Chengapa, 1993 in Barros 2003).

### **Diagnóstico laboratorial**

No diagnóstico laboratorial da leptospirose são usados dois métodos: o directo e o indirecto, ambos com vantagens e desvantagens, por isso, a combinação de testes permite melhorar, em muito, a fiabilidade do diagnóstico. Pelo método directo é possível a demonstração de leptospiras no sangue ou no leite de animais com sintomatologia clínica de doença aguda. Nos animais mortos, o diagnóstico, é possível pela detecção de leptospiras nos órgãos (rim, fígado, pulmão, cérebro, olho e líquidos orgânicos) bem como em fetos abortados, o que é indicativo de doença crónica da mãe (OIE 1992 e 2000). Pelo método directo de diagnóstico, a presença do agente pode ser detectada por cultura directa ou após inoculação em animais, em meios selectivos para leptospirose, por microscopia de

fundo escuro ou de contraste de fase por coloração pela prata, por imunofluorescência por imunoperoxidase, por hibridação de ADN e/ou amplificação de ADN pela técnica do PCR. O PCR é um meio importante quer no início quer no caso de infecções crónicas e detecção de portadores (Van Eys *et al.*, 1989 in Borrego, 2006). O PCR ao permitir um diagnóstico precoce através da confirmação da presença de ADN leptospírico, quando ainda não existe uma resposta imunológica detectável, permite antecipar o início da terapêutica, o que leva a uma melhoria no prognóstico da doença (Borrego, 2006).

Para o método indirecto, baseado na serologia, existem diversas técnicas de rastreio de anticorpos específicos para o género na fase inicial: Teste de Aglutinação Microscópica (TAM), Técnica de Aglutinação Macroscópica, ELISA que pode ser utilizado na detecção de anticorpos do leite e no soro, permitindo, para além disso diferenciar entre IgG e IgM (Thiermann, 1983; Smith *et al.*, 1994 in Alonso-Andicoberry, 2001).

O teste de **ELISA** tem vantagens por não apresentar riscos biológicos para os operários, ser de fácil standardização e ser uma prova na qual as reacções cruzadas são pouco frequentes. A principal desvantagem é que são normalmente testados serovares específicos com os quais não se pode obter informação sobre uma possível infecção por outros serovares, o que não permite diferenciar entre anticorpos vacinais e de infecção. Apesar disso, é uma prova eficaz e está considerada actualmente como a prova serológica mais sensível (Thiermann, 1983; Thiermann e Garret, 1983 in Alonso-Andicoberry, 2001).

O **TAM** é o teste mais utilizado na identificação do serogrupo presuntivo a que pertence o serovar da estirpe infectante, embora seja uma técnica complicada, dado à reactividade cruzada entre serovares, títulos de anticorpos induzidos pela vacinação (não diferencia os anticorpos vacinais dos da infecção), à falta de consenso quanto aos títulos de aglutininas indicativos de infecção activa e devido à inexistência de correlação entre a prevalência microbiológica e serológica em algumas situações (Ellis, 1994). Para o diagnóstico, tanto de infecções recentes como passadas, esta prova revela uma sensibilidade excelente em humanos e em animais desde que se utilizem estirpes representativas de todos os serogrupos existentes na Região ou preferencialmente de todos os serogrupos conhecidos. O TAM é considerado o método de referência pela OMS para o serodiagnóstico na determinação de títulos de anticorpos quer para a fase aguda quer para estágios de convalescência da infecção e o estudo epidemiológico da leptospirose. Requerer a obtenção do isolado “*in vitro*” e a respectiva tipagem para a caracterização dos serovares circulantes

numa determinada espécie animal e área geográfica (OIE, 1990 in Collares Pereira *et al.*, 2007). Tem a desvantagem de requerer grande perícia e a manutenção viva dos serovares de leptospiras usadas como antigénio (OIE, 1990 in Collares Pereira *et al.*, 2007). Na leptospirose animal resulta pior, visto que muitos hospedeiros naturais não têm anticorpos contra os serovares que albergam (Hartskeerl, 2006).

O TAM apresenta algumas vantagens como por exemplo, a sua aplicabilidade geral, i.e., a independência relativamente à espécie infectada e sua habilidade para evidenciar o serogrupo infectante (Hartskeerl, 2006). Nesta técnica, muitas vezes, o soro de um animal suspeito apresenta reacções múltiplas com diferentes serovares quer dentro do mesmo serogrupo quer entre serogrupos diferentes. Assim, a infecção por um serovar que apresente maior título é a que se assume, de uma forma geral, como a provável, sendo o resultado apresentado em função do serogrupo a que pertence esse serovar, visto que a técnica de referência é específica para esse serogrupo (Barros, 2003).

A OMS (1987) considera um título igual ou superior 1:100 na técnica de aglutinação microscópica com valor de diagnóstico para a leptospirose desde que o animal não tenha sido vacinado previamente, sendo este considerado seropositivo (Barros, 2003). No caso do serovar Hardjo, deve interpretar-se com algumas reservas os títulos serológicos porque habitualmente produzem títulos baixos. Na altura do aborto, o título de anticorpos circulantes pode ter caído para níveis muito baixos e até não detectáveis (Ellis, 1986). Nos animais que abortaram, em explorações infectadas por *L. hardjo*, quando são detectados títulos individuais de anticorpos de 1:1000 ou superiores, existe uma elevada probabilidade (80%) de o feto se encontrar infectado. O contrário pode, no entanto, não ser verdadeiro, i.e. a presença de um título positivo baixo ou mesmo não detectável (<1:10) de anticorpos maternos contra a *L. hardjo* não exclui a possibilidade de aborto por leptospirose (Ellis, 1994 in Rocha, 1991).

Orr *et al.* (1978) citado por Rocha (1991) diz ter sido isolado *L. hardjo* da urina de bovinos com títulos na micro-aglutinação inferiores a 1:100, animais considerados seronegativos na testagem usada internacionalmente. Por vezes, na pesquisa sorológica de anticorpos em infecções por *L. hardjo* é frequente observarem-se reacções cruzadas com os membros dos serogrupos Hebdomadis, Sejroe e Mini dado à estreita relação antigénica entre eles (Rocha, 1991).

Ainda como provas indirectas pode referir-se: a Imunofluorescência, a Hemoaglutinação, a Contraímuneletroforese, a Fixação de Complemento, a Aglutinação em Microcápsula e o Lepto-Dipstick (Levett, 2001; Rao *et al.*, 2003 in Borrego, 2006).

O imunodiagnóstico tem algumas limitações como por exemplo: a administração de antibióticos suprime o desenvolvimento de anticorpos, a vacinação prévia pode interferir com a interpretação dos resultados e a prevalência de níveis de anticorpos significativos em áreas endémicas (Hunter e Herr, 1994 in Borrego, 2006).

### **1.3.2.6. Tratamento**

As leptospiras são sensíveis praticamente a todos os antimicrobianos, à excepção das sulfamidas, cloranfenicol e cefalosporinas (Greene *et al.*, 1998 in Cavaco, 2003). Nos animais, as penicilinas são os antibióticos de eleição para a redução da bacteriémia, mas não eliminam o estado de portador (Collares Pereira *et al.*, 2007). Porém, o antimicrobiano mais usado nos bovinos é a estreptomicina e o seu homólogo a dihidroestreptomicina na dose de 25 mg/Kg de peso vivo (Ellis, 2006). Quando usados na fase aguda da infecção, a estreptomicina e misturas antibióticas combinadas com a dihidroestreptomicina, apesar de não evitarem a quebra na produção de leite, podem reduzir o número de abortos. Terão, no entanto pouco efeito quando já tenham começado a ocorrer os abortos (Prescott, 1991 in Alonso-Andicoberry, 2001).

Outros antibióticos podem ser utilizados como é o caso da eritromicina, oxitretaciclina, amoxicilina, ampicilina e doxicilina em vários regimes de dosagem, podendo substituir a estreptomicina no tratamento de infecções crónicas, mas que não eliminam o estado de portador renal (Faine *et al.*, 1999). As tetraciclinas, os aminoglicosídeos e as fluoroquinolonas, após o tratamento inicial, deverão ser usados para eliminar o estado de portador (Truccolo *et al.*, 2002 in Cavaco 2003).

Nas infecções agudas, ocorre desidratação e choque nos animais com lesões severas pela perda de fluidos. Poderá estar presente oligúria havendo, por isso, a necessidade de corrigir os desequilíbrios com rehidratação e nas oligúrias, por vezes é preciso fazer-se a administração de diuréticos (Greene *et al.*, 1998 in Cavaco, 2003).

### 1.3.2.7. Prevenção e controlo

O controlo da leptospirose nos bovinos deve prender-se essencialmente com razões económicas e com a necessidade de minimizar o risco de infecção humana, principalmente dos profissionais ligados à produção bovina (Ellis, 1994). Para isso, é fundamental fazer estudos da prevalência serológica e microbiológica de forma a se conhecerem as explorações infectadas e os serovares envolvidos (Barros, 2003).

Para o controlo e a redução da transmissão de agentes patogénicos dos hospedeiros naturais ao Homem é também necessário uma compreensão básica da dinâmica populacional do hospedeiro e das vias de circulação dos agentes causais ao nível das populações (Collares Pereira *et al.*, 2007).

Nas infecções por serovares adaptados aos bovinos é importante conhecer a epidemiologia da infecção e os meios de transmissão e identificar os principais factores de risco. Requer-se assim, um programa que previna a manifestação clínica da doença e evite a sua disseminação pela urina aos animais susceptíveis expostos a diferentes serovares de leptospirosas (Ellis, 1994).

Segundo Ellis, (2006), um programa de controlo da leptospirose nos bovinos, deve estar assente em três vertentes, a saber:

1. Profilaxia com o fim de prevenir a exposição;
2. Vacinação;
3. Tratamento selectivo.

A profilaxia higio-sanitária é essencial no controlo da leptospirose numa manada, inserida num programa geral de controlo, juntamente com a vacinação e o tratamento de animais com sintomatologia clínica, visto que nenhuma destas medidas, isoladamente, é eficaz (Alonso-Andicoberry *et al.*, 2001).

De entre as medidas higio-sanitárias consideradas essenciais para o controlo dos hospedeiros de manutenção silvestres ou domésticos temos: a desratização da exploração; evitar o uso de fontes de água comunais; evitar o uso de touro na cobrição, dada a possibilidade de transmissão venérea; adopção de uma política de “exploração fechada”, submetendo a quarentena os animais de reposição por forma a evitar a entrada da leptospirose na exploração através de bovinos infectados subclínicamente; reduzir o pastoreio conjunto com outras espécies domésticas e com outras manadas de gado bovino e

ovino por este também poder ser hospedeiro do serovar Hardjo (van der Hoeden, 1958; Faine, 1982; Ellis, 1994; Heath e Johnson, 1994 in Alonso-Andicoberry, 2001 *et al.*, 2001). Borrego (2006) citando (Witmer *et al.*, 2004) sugere que no controlo de roedores estejam incluídas não apenas a desratização, mas também medidas anti-ratos que conduzam a uma diminuição da disponibilidade de fontes de alimentos e habitats, nomeadamente a melhoria do saneamento básico, higiene dos locais e a construção de edifícios à prova de roedores.

Na profilaxia médica, a vacinação dos animais domésticos, em particular, nos bovinos, constitui o método mais eficaz e prático no controlo dos efectivos, uma vez assegurada a manutenção de um teor de anticorpos protectores contra os serovares patogénicos presentes localmente, quer ao nível da espécie bovina como de outras, susceptíveis de induzirem infecção por *Leptospira* spp. na população a proteger (Le Febvre, 1987; OIE, 1990 in Collares Pereira *et al.*, 2007). Assim, um programa de vacinação deveria ser instituído e a longo termo, quando se vier a obter uma vacina eficaz contra as estirpes locais da *Leptospira* spp. adaptadas ao bovino.

Muitos países têm vindo a implementar programas de vacinação contra a leptospirose no gado bovino para evitar que animais susceptíveis se infectem e se tornem disseminadores de leptospiras na urina, passando a constituir uma fonte de infecção para o Homem (Pritchard, 1986 in Barros, 2003). As vacinas apresentam, porém uma série de desvantagens. Em primeiro lugar as vacinas comerciais são bacterinas e não proporcionam uma protecção cruzada face a diferentes estirpes de um mesmo serovar (Ellis, 1986). Os serovares e as estirpes variam geograficamente (entre países e regiões) pelo que a protecção dada por algumas vacinas elaboradas com estirpes de outros países ou regiões é pouco eficaz (Thiermann, 1984 in Alonso-Andicoberry *et al.*, 2001). Em segundo lugar, vários estudos demonstraram que a vacinação contra o serovar Hardjo com vacinas monovalentes ou pentavalentes, não evitam a infecção, a migração para o útero e oviduto nem a persistência da infecção renal e portanto não evitam a eliminação de leptospiras na urina nem o nascimento de vitelos débeis e nados-mortos (Bolim *et al.*, 1989 in Alonso-Andicoberry, 2001). Assim, a implementação de programas de vacinação completos e regulares, visam o controlo da infecção dos bovinos pelo serovar Hardjo com benefícios indirectos para a saúde pública (Rocha, 1991). Segundo estudos realizados por Little *et al.* (1992) (in Alonso-Andicoberry *et al.*, 2001), é possível o controlo das infecções por *L.hardjo* e a sua eliminação da manada com um programa de vacinação de toda a manada durante cinco anos. A implementação de um programa de vacinação adequado, segundo

Rocha (1991), depende do estatuto epidemiológico de uma população animal. Quando a população da área tem um nível endémico médio, os animais de todas as idades introduzidos na população devem ser vacinados previamente em especial os mais novos. Quando o nível endémico da população da área é alto, todos os animais introduzidos nela, sem excepção, devem ser vacinados e revacinados com uma segunda dose aplicada 15 dias mais tarde, se possível (Mazzoneli, 1984 in Rocha, 1991). Ellis (2006) preconiza como metodologia de trabalho a vacinação sob duas perspectivas:

1. Infecções no hospedeiro de manutenção, em casos clínicos agudos e em caso de aborto, deve vacinar-se e tratar com a dihidroestreptomomicina (DHS) na dose de 25 mg/kg de peso vivo;
2. Controlo a longo prazo apenas pela vacinação, caso haja uma vacina eficaz.

A profilaxia da leptospirose significa não apenas controlar um foco, mas também interromper o risco potencial da transmissão ao Homem (Rocha, 1991). Assim aconselha-se a utilização de vestuário e calçado protector; adopção de medidas de higiene pessoal, em situações ou actividades de risco; a descontaminação dos locais; a drenagem dos solos e pastagens; a vedação dos pontos de água potencialmente contaminados e o esclarecimento da população sobre a doença, através de acções de educação e saúde, em particular, junto dos grupos de risco (Levett, 2001).

#### **1.3.2.8. Situação da leptospirose nos Açores**

Nos Açores a leptospirose é uma doença com importância reconhecida pelo aumento do número de casos registados nos seres humanos, por vezes, com desfecho fatal. As óptimas condições climáticas para o desenvolvimento das leptospiros patogénicas, acrescidos de outros factores ambientais, introduzidos pela mão do Homem como as lixeiras a céu aberto e silos para a conservação/armazenamento de alimentos para os animais, favorecem a proliferação de roedores e aves, uma das principais fontes de dispersão e de transmissão desta antropozoonose, directamente aos humanos (Collares-Pereira *et al.*, 1996). A distribuição da doença nos humanos regista casos em todos os meses do ano, porém os picos de incidência vão de Outubro a Janeiro (inclusive) (Figueiredo *et al.*, 2006). Tem-se vindo a verificar uma crescente taxa de incidência de ano para ano, o que pode significar uma maior sensibilização das populações para a sintomatologia desta patologia e uma

melhoria dos métodos de diagnóstico ou ainda por condições ecológicas mais favoráveis à dispersão das leptospiros na natureza, confirmados por resultados de investigação integrada desenvolvida nos reservatórios silváticos (Collares-Pereira *et al.*, 2000a).

É nos Açores que se observam as mais altas taxas de incidência registados no país, 13,19 casos/100.000 habitantes (DGS, 2007) (Anexo I). Dados oficiais (DGS, 2007) indicam, para cerca de 257 casos declarados nos últimos 15 anos dos quais 30,4% na Terceira e 59,5% em S. Miguel com maior expressão no género masculino, certamente ligada à actividade profissional e o contacto com potenciais fontes de infecção. A taxa de mortalidade foi de 8,5% (Collares-Pereira *et al.*, 2007). Devido ao seu ressurgimento nos últimos 6 anos (2001-2006), onde se notificaram 141 casos (Tabela 1), com as maiores incidências em S. Miguel e Terceira, tornou-se necessário a identificação de potenciais fontes de infecção na cadeia de transmissão aos humanos para a criação de mecanismos de intervenção ao nível das medidas de prevenção e controlo desta doença no actual contexto desta patologia e uma significativa publicitação das mesmas (Figueiredo *et al.*, 2006).

Estudos realizados sobre a presença das três espécies de roedores na ilha de S. Miguel, permitiram informação espacial e temporal sobre estas populações, indicando as que apresentam maior probabilidade de ocorrência em determinado habitat, os períodos de maior abundância, as características demográficas das populações investigadas e o ciclo reprodutor de cada espécie, além do papel das mesmas como reservatórios de leptospiros patogénicas para o Homem (Collares Pereira *et al.*, 2007).

Tabela 1 – Nº de casos de leptospirose em humanos declarados nos Açores (2001-2006)

Ano	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Nº casos	24	12	29	20	18	32

Fonte: DDO-RAA- Secretaria Regional da Saúde dos Açores (2007)

Num estudo realizado por Collares-Pereira (2000a) em 43 pacientes internados no Hospital de Ponta Delgada, em S. Miguel, para as formas ictéricas da leptospirose estiveram mais frequentemente representados os serogrupos Icterohemorrhagiae (58%), Sejroe (14%) e Ballum (9%), enquanto que nas formas anictéricas num total de 33 doentes, apareceram os serogrupos Icterohemorrhagiae e Ballum (33%) cada um, seguidos do serogrupo Sejroe (15%). Paralelamente a estes estudos, foi conduzida uma investigação para determinar a prevalência da leptospirose em outros mamíferos silváticos que concluiu que o o ratinho caseiro (*Mus musculos*) foi o principal reservatório do serovar Arborea do serogrupo

Ballum, a ratazana preta (*Rattus rattus*) confirmou ser reservatório dos serovares Arborea, Copenhageni e Icterohaemorrhagiae, enquanto que a ratazana castanha (*Rattus norvegicus*) foi a principal responsável pela disseminação do serovar Icterohaemorrhagiae, tendo sido estes os serogrupos mais implicados no aumento do número de casos em humanos em S. Miguel. O resultado serológico mostrou títulos específicos de TAM (1:40-5120) anti-leptospiras dos serogrupos dominantes: TMG Ballum=356 e TMG Icterohaemorrhagiae=147. Considerando a reactividade específica do hospedeiro, *Mus domesticus* evidenciou um alto valor, TMG Ballum=457 e para *Rattus rattus* TMG Ballum=180; TMG Icterohaemorrhagiae=147. Porém, quando apenas são considerados renais, há um ligeiro aumento de valores foi observado na reactividade ao Ballum, TMG *M. domesticus*=486, TMG *R. rattus*=213), contrastando com o obtido para o Icterohaemorrhagiae (TMG *R. rattus*=750) (Collares-Pereira *et al.*, 2000a).

Tabela 2 – Lista dos antigénios vivos utilizados, por rotina, pelo LRV-Açores na Técnica de Aglutinação Microscópica

Serogrupo	Sorovar	Estirpe
Australis	Bratislava	Jez bratislava
Autumnalis	Autumnalis	Akiyami
Ballum	Arborea	Arborea
Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
Grippotyphosa	Valbuzzi	Valbuzzi
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	M20
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
Javanica	Poi	Poi
Pomona	Pomona	Pomona
Sejroe	Hardjo	Hardjobovis
Sejroe	Saxkoebing	Mus 24
Sejroe	Wolffi	
Tarassovi	Tarassovi	Perpelitsin (Mitis Jonhson)

Estirpes cedidas pelo IHMT (Instituto de Higiene e Medicina Tropical)

Fonte: Direcção Regional do Desenvolvimento Agrário dos Açores – Laboratório Regional de Veterinária (2007)

Segundo Flor (2006), nos Açores, a leptospirose bovina está sub-diagnosticada devido à falha na monitorização serológica específica para a confirmação das estirpes patogénicas

em circulação. Estudos efectuados em vacas na Terceira por esta autora para títulos específicos na diluição de 1:100 ou mais para cada um dos 12 serovares de referência da *Leptospira interrogans* (*s.l.*) testados no LRV apresentaram os seguintes rácios para anticorpos: Saxkoebing (18,3%), Copenhageni (2,0%), Ballum (1,0%), Autumnalis (0,7%), Australis (0,4%), Grippytyphosa (0,3%), Icterohaemorrhagiae (0,3%), Canícola, Javanica, Pomona e Tarassovi (0,1%), Hardjo (0%) e indeterminado (3,9% com co-aglutinação). Pode observar-se uma maior frequência de resposta do serovar Saxkoebing do serogrupo Sejroe (Flor, 2006).

### 1.3.3. Clamidiose

A clamidiose é uma doença causada por uma bactéria da ordem *Chlamydiales* que abrange um grupo diverso de organismos de grande importância para a saúde do Homem e dos animais e que à escala global representa uma das doenças de maior impacto económico (Longbottom e Livingstone, 2006).

Inicialmente, as clamídias foram associadas a doenças de bovinos quando McNut isolou estes organismos de manadas com encefalomielite esporádica (JunBae *et al.*, 2004). Mais tarde, com o uso do método da cultura das *Chlamydiales* em ovos embrionados, por volta de 1955, ficou demonstrada a presença de *Chlamydiales* em outras doenças agudas como, por exemplo, o aborto epizootico dos bovinos e o aborto enzoótico ovino (Storz *et al.*, 1968 in JunBae *et al.*, 2004).

Pelos conhecimentos actuais, sabe-se que o Homem é susceptível à *C. pneumoniae* e *C. trachomatis*, e a outras *Chlamydiales* zoonóticas como *C. abortus* (causa de aborto na mulher), *C. psittaci* (psitacoses), *C. felis* que é causa comum de conjuntivite aguda e crónica (Johnson, 1983, Sykes, 2001 in Longbottom e Coulter, 2003).

A maior parte dos laboratórios limita-se a pesquisar *C. trachomatis* nas conjuntivites pelo que são raramente assinaladas conjuntivites por outros agentes desta ordem, exceptuando os laboratórios de referência (Lietman *et al.*, 1998; Hartley *et al.*, 2001 in Longbottom e Coulter, 2003). Muito pouco se sabe acerca do potencial zoonótico das outras *Chlamydiales* patogénicas para animais (Storz, 1988 in Longbottom e Coulter, 2003), não estando provado que *C. caviae*, *C. pecorum*, *C. suis* e *C. muridarum* sejam zoonóticas (OIE, 2005).

### 1.3.3.1. Agente etiológico

O agente etiológico da clamidiose é uma bactéria intracelular obrigatória (incapaz de se replicar fora da célula do hospedeiro eucariótico), Gram-negativa de distribuição ubiquitária (Storts, 1971 in Kaltenboeck *et al.*, 2005).

Em 1999, Everett e colegas, após a sequenciação genética do DNA clamidial, propuseram uma reclassificação da ordem das *Chlamydiales* baseada em análises filogenéticas dos genes 16S e 23S do rRNA e também no fenótipo, morfologia e informação genética da membrana maior externa proteica (MOMP) (Longbottom *et al.*, 2002). Até então, baseando-se numa característica das clamídias, estas eram colocadas na ordem das *Chlamydiales*, contendo uma única família, *Chlamydiaceae* (Rake, 1957 in Longbottom e Coulter, 2003) com um único género simples, *Chlamydia* (Jones *et al.*, 1945 in Longbottom e Coulter, 2003) e duas espécies, *C. trachomatis* e *C. psittaci* (Storz e Page, 1971 in Longbottom e Coulter, 2003).

Tabela 3 – Classificação antiga e recente dos membros da ordem das *Chlamydiales*

Classificação anterior	Nova classificação
Ordem: Chlamydiales	Chlamydiales
Família: Chlamydiaceae	Chlamydiaceae (mais Simkaniaceae; Parachlamydiaceae; Waddliaceae)
Género: Chlamydia	Chlamydia                      Chlamydophila
Espécie: <i>C.trachomatis</i> : Trachoma Biovar*	<i>C.trachomatis</i> : Trachoma Biovar*
LGV Biovar	LGV Biovar
Murine Biovar	<i>C.muridanun</i>
Porcine Biovar	<i>C.suis</i>
<i>C.pneumoniae</i> : Human Biovar	<i>C.pneumoniae</i> : TWAR B.**
Koala Biovar	Koala B.**
Equine Biovar	Equine B.**
<i>C.psittaci</i> : Avian subtype	<i>C.psittaci</i>
Abortion subtype	<i>C.abortus</i>
Feline subtype	<i>C.felis</i>
Guinea-pig subtype	<i>C.caviae</i>
<i>C.pecorum</i> :	<i>C.pecorum</i>

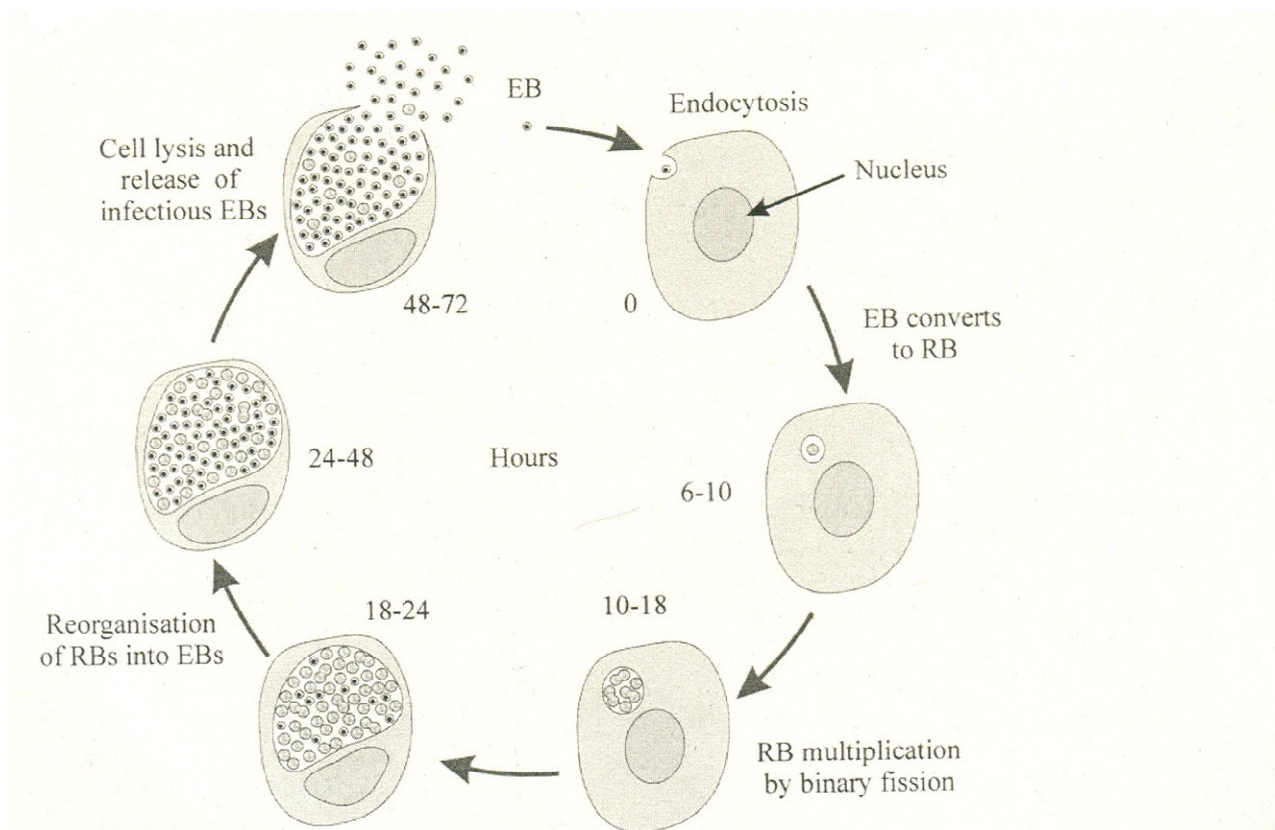
\*A Trachomona Biovar compreende os serovares de A a C associados à trachomona e serovares de D a K associados às infecções transmitidas sexualmente. \*\* Biovar

Fonte: Longbottom e Coulter (2003)

A recente reclassificação da ordem das *Chlamydiales* (Tabela 3) identifica quatro famílias: *Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae*, *Waddliaceae* e *Chlamydiaceae* (Everett *et al.*, 1997 in Everett, 2000). A família *Chlamydiaceae*, que inicialmente continha um único género *Chlamydia*, foi dividida para a diferenciação genética em dois géneros: *Chlamydia* e *Chlamydophila*. O género *Chlamydia* passou a estar dividido em três espécies: *Chlamydia trachomati* (humanos); *Chlamydia suis* (porcinos); *Chlamydia muridarum* (ratos e hamsters). O género *Chlamydophila* ficou dividido em seis espécies: *Chlamydophila psittaci* (aves); *Chlamydophila pneumoniae* (humanos); *Chlamydophila pecorum* (mamíferos); *Chlamydophila felis* (gatos); *Chlamydophila caviae* (cobaias) e *Chlamydophila abortus* (mamíferos) (Everett, 2000). Mais recentemente, foram identificadas por PCR mais de cem novas *Chlamydia* de 16S sequências o que sugere uma enorme diversidade da ordem *Chlamydiales* (Meijer e Ossewaarde, 2002 in Longbottom e Coulter, 2003).

Biologicamente, a *Chlamydiae* caracteriza-se por duas formas morfológicas distintas (Figura 2): um pequeno corpo extracelular infectante (EB) (0,3 µm de diâmetro) e um corpo intracelular reticulado não infectante, metabolicamente activo (RB) (0,5-1,6 µm) como forma intermédia. O desenvolvimento do ciclo começa com os endocitos EB em células eucarióticas, transformando-se depois em corpo reticulado RB, iniciando-se então a replicação por fissão binária (Ward, 1988 e Moulder, 1991 in Longbottom e Coulter, 2003). Vinte e quatro a quarenta e oito horas depois, dependendo da espécie, as RB transformam-se em EB infecciosos, metabolicamente inactivos. Dá-se a ruptura da célula hospedeira e as novas EB invadem as células vizinhas, começando um novo ciclo, caso as condições do meio ambiente da célula assim o permitam. Os corpos elementares são caracterizados pela sua resistência quer a factores físicos quer a factores químicos no ambiente extracelular, bem como a sua inactividade metabólica. Esta resistência surge como uma consequência da rigidez da célula envolvente que é, simultaneamente, osmoticamente estável e pouco permeável e com uma diminuta área de superfície, comparativamente aos corpos reticulados (Longbottom e Coulter, 2003).

Figura 2 – Ciclo de desenvolvimento dos organismos da ordem *Chlamydiales*



Fonte: Longbottom e Coulter (2003)

### 1.3.3.2. Patogenia e infecção

São ainda escassos os estudos sobre a infecção das *Chlamydia* nos mamíferos não humanos. Os vitelos recém-nascidos são altamente sensíveis devido à obstrução da transferência dos anticorpos maternos pela placenta sindesmocorial dos bovinos que os torna mais vulneráveis, principalmente se não tiverem tomado colostro (Barrington *et al.*, 2001 e Eugster *et al.*, 1971 in JunBae *et al.*, 2004). Pensa-se que à semelhança do que se passa na ovelha a infecção primária estabelece-se em primeiro lugar na amígdala, a partir da qual é disseminada pelo sangue ou linfa para outros órgãos (Jones e Anderson, 1988 in Longbottom e Coulter, 2003). O habitat da *Chlamydia* é no trato intestinal onde o microrganismo estabelece uma espécie de infecção crônico-latente que pode conduzir a um episódio clínico, caso se verifique uma alteração do equilíbrio agente/hospedeiro quer de origem endógena quer de origem exógena (Wittenbrink *et al.*, 1993 in Cavirani *et al.*, 2001). A presença de *Chlamydia* no trato intestinal provoca uma resposta imunológica. A detecção de seropositividade é considerada uma indicação de infecção clamidial, mas não

necessariamente de doença (Cavirani *et al.*, 2001). A infecção nos animais não gestantes instala-se no tecido linfóide, através de um processo mediado por citocinas, particularmente a citocina gama-interferão pro-inflamatória (IFN- $\gamma$ ) (Brown *et al.*, 1996 in Longbottom e Coulter, 2003). A *C. abortus* invade as células do epitélio coriônico de vários placentomas, onde se replica, formando inclusões intracitoplasmáticas. A infecção dissemina-se para regiões intercotiledonárias do córion, causando lesão epitelial, edema e inflamação. Estas alterações resultam em coloração avermelhada e espessamento das membranas da placenta, característico da doença (Entrican *et al.*, 1998; Longbottom e Coulter, 2003; Navarro *et al.*, 2004 in Ciência Rural, 2006). Após a instalação da infecção na manada, os índices de aborto são superiores a 30% no primeiro ano, permanecendo entre 5-10% nos anos seguintes se não forem adotadas medidas de controlo (Longbottom e Coulter, 2003). Com o desenvolvimento de imunidade específica contra *C. abortus*, dificilmente um animal infectado aborta duas vezes, entretanto, alguns animais podem desenvolver imunidade incompleta e abortarem novamente, elevando o percentual de abortamentos na manada no segundo ano de infecção (Papp *et al.*, 1994 in Ciência Rural, 2006). A eliminação intermitente de *C. abortus* nestes animais pode ocorrer por até três anos (Keer *et al.*, 2005 in Ciência Rural, 2006).

Especificamente em bovinos, outros sinais clínicos como repetição de cio em intervalos irregulares, aumento no intervalo de partos e de número de serviços ou de inseminação é observado nas manadas infectados (Shewen, 1980; Wittenbrink *et al.*, 1993b in Ciência Rural, 2006).

O aborto enzoótico dos bovinos que, à semelhança do clássico aborto ovino, é causado pelo *C. abortus* (Kaltenboeck *et al.*, 2005), pode ocorrer nas últimas 2-3 semanas antes do parto, associado a membranas da placenta necróticas e inflamadas, que é suficiente para se suspeitar da infecção por *Chlamydiales* (Martin *et al.*, 2000 in Longbottom e Coulter, 2003).

Os animais, na maior parte das vezes, têm infecções subclínicas que em circunstâncias específicas acabam em manifestações clínicas que podem revelar-se de forma severa, mas rara, tais como a pneumonia, enterite, poliartrite, encefalomielite esporádica, aborto, infertilidade (Shewen, 1980; Storz, 1971 in Kaltenboeck, 2005) e mastites (Corner, 1968 e Ronsholt *et al.*, 1981 in JunBae *et al.*, 2004).

Nas vacas, a presença concomitante de duas espécies de *Chlamydiales* (*C. abortus* e *C. pecorum*), apesar de muitas das vezes não haver sinais de doença e serem raros os abortos,

pode ter um impacto mais profundo na saúde e na fertilidade dos animais, do que a forma clínica da clamidiose (Kaltenboeck *et al.*, 2005).

No Homem, as clamídias constituem uma causa proeminente de cegueira e de doenças sexuais transmissíveis, podendo também causar infecções respiratórias e têm sido muitas vezes implicadas em doenças cardiovasculares (Saikku *et al.*, 1988; Schachter, 1999 in Longbottom *et al.*, 2002). As infecções na mulher durante a gravidez podem resultar em aborto espontâneo e nados-mortos, precedidos por sintomas de gripe. Pode existir falha renal, disfunção hepática, coagulação intravascular generalizada e há a possibilidade de morte (Buxton, 1986 e Hyde e Benirschke, 1997 in Longbottom e Livingstone, 2006).

A *C. pecorum* tem sido associada a um grande número de doenças, incluindo pneumonia, conjuntivites, poliartrites, infecções intestinais inaparentes, mastites e metrites em muitos animais, incluindo carneiros, cabras, vacas, suínos e cavalos (Storz, 1988 in Longbottom e Coulter, 2003).

### **1.3.3.3. Transmissão**

Muitos organismos da ordem das *Chlamydiales* coexistem num estado assintomático com vertebrados específicos ou amebas e acredita-se que estes hospedeiros constituam um reservatório para estas espécies (Everett, 2000).

Na fase de latência os organismos de *Chlamydiales* não são detectáveis (Jones, 1995 in Longbottom e Coulter, 2003). Durante a fase de gestação, pensa-se que se dá uma imuno modulação que liberta estes organismos do estado de supressão, permitindo-lhes multiplicar-se, dando origem a um pequeno grau de clamidemia que inicia a infecção da placenta (Studert, 1968 in Longbottom e Coulter, 2003).

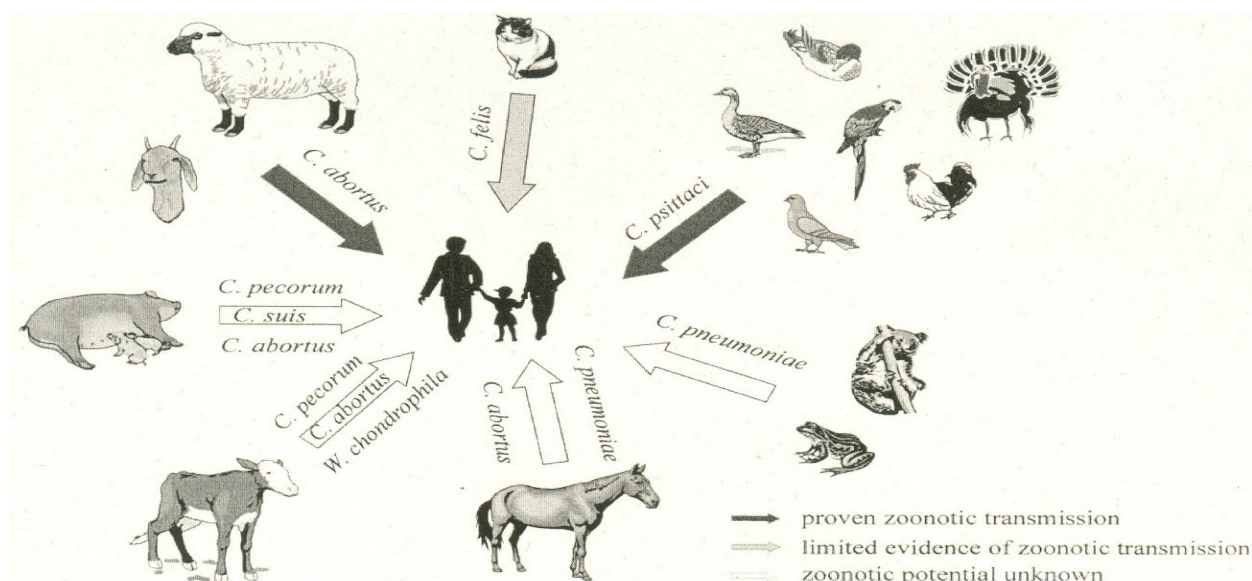
As fontes de infecção mais comuns são os fetos abortados, a placenta e as descargas uterinas. Após o aborto ou parto, *C. abortus* são eliminadas em grande número nos fluidos, nos envoltórios fetais e na placenta e continuam sendo eliminadas até 7-14 dias nas secreções vaginais (Longbottom e Coulter, 2003). A transmissão pode ser vertical, por infecção congênita do feto, horizontal e por contaminação direta por via alimentar, conjuntival ou genital. A infecção por ingestão de EB é a via de transmissão mais importante (DeGraves *et al.*, 2004 in Ciência Rural, 2006).

Em bovinos, trabalhos experimentais demonstraram a participação da via sexual na epidemiologia da doença, resultando em redução dos índices de fertilidade (Bowen *et al.*, 1978; Papp; Shewen, 1996; Jones, 1999). DeGraves *et al.* (2004), demonstraram que novilhas que receberam *C. abortus* diretamente no útero apresentaram um risco 8,5 vezes maior de desenvolver infertilidade quando comparado às fêmeas que não foram expostas à bactéria (Ciência Rural, 2006).

Estudos em vacas que usaram como método de diagnóstico as técnicas de ELISA e PCR revelaram alta seroprevalência, próximo dos 100%. Os ADN genômicos clamidiais foram associados na ordem dos 50%-60% a infecções clínicas inaparentes por *Chlamydophila abortus* e *Chlamydophila pecorum* (Kaltenboeck, 2005).

O potencial zoonótico da ordem *Chlamydiales* é bem conhecido para alguns organismos e menos para outros, como expresso na Figura 3.

Figura 3 – Potencial zoonótico de patógenos da ordem *Chlamydiales* dos animais



Fonte: Longbottom e Coulter (2003).

#### 1.3.3.4. Diagnóstico

Vários estudos têm demonstrado elevadas prevalências de infecção por organismos da ordem *Chlamydiales* ou de anticorpos clamidiais nos bovinos, associadas ao aumento da prevalência de doenças como a endometrite, desordens da fertilidade e aborto epizoótico

bovino (Cavirani *et al.*, 2001; Domeika *et al.*, 1994, Wang *et al.*, 2001; Winttenbrink *et al.*, 1998 in JunBae *et al.*, 2004). Nas infecções por *Chlamydiales* a relação parasita-hospedeiro está bem equilibrada o que representa uma natureza comum, com uma infecção inaparente ou latente, que em situação de stress leva os portadores a disseminarem um grande número de organismos ou os conduz a um episódio clínico (JunBae *et al.*, 2004). Assim, um diagnóstico atempado e cuidadoso da causa do aborto na fase final da gestação associado a uma placenta que se apresente inflamada e necrótica é fundamental para a implementação de medidas de controlo que possam limitar ou prevenir a disseminação do agente, embora outros organismos como *Coxiela burnetii*, *Campylobacter fetus* ssp. *Fetus* e *Toxoplasma gondii* possam também causar estas lesões na placenta (Martin *et al.*, 2000 in Longbottom e Coulter, 2003).

O diagnóstico das *Chlamydiales* deve começar pela observação microscópica da placenta fresca para a pesquisa laboratorial de placentite necrótica. No muco viscoso dos cotilédones infectados faz-se a pesquisa de organismos *Chlamydiales*. O envio de material para o laboratório deve ser em meio de transporte para clamídia (SPG) que é um meio composto de glutamato-fosfato-sacarose suplementado com soro de vitela a 10% e antibióticos (estreptomicina, gentamicina, mas sem penicilina) (Spencer *et al.*, 1983 in Longbottom e Coulter, 2003).

Os vitelos recém nascidos são particularmente susceptíveis à infecção por estes agentes, pelas razões atrás referidas, caso não recebam colostro, constituem uma população ideal para a pesquisa da infecção por *Chlamydiales* (JunBae *et al.*, 2004).

Para o isolamento de *C. abortus*, o crescimento do agente é feito em amostras de tecidos tais como: cotilédones infectados, membranas intercotiledonárias e fígado do feto, bem como material vaginal recolhido em zaragatoa; em ovo embrionado ou células de rim de hamster (Aitken, 2000 in Longbottom e Coulter, 2003). A *C. pecorum* é usualmente encontrada nas fezes, embora estas duas espécies possam ser detectadas por análise de fragmento amplificado do genóma por PCR (Longbottom e Coulter, 2003). É preciso ter em conta, contudo, a possível presença de inibidores nas amostras de zaragatoas e de cotilédones infectados que podem dar falso-negativos (Caul e Sillis, 1998 in Longbottom e Coulter, 2003).

São vários os métodos usados para o diagnóstico de *Chlamydiales*. Assim, podem ser detectados: por pesquisa do agente após crescimento em meio de cultura, atrás referido; por pesquisa de anticorpos no soro sanguíneo através de Kits comerciais baseados num

ELISA ou por teste de anticorpos fluorescentes (FAT) e ainda por PCR (Herring, 1993, Rodolakis *et al.*, 1998 e Aitken, 2000b in Longbottom e Coulter, 2003).

Em pacientes cronicamente infectados nos quais já não é possível detectar localmente a bactéria, um resultado serológico positivo por vezes é o único indicativo de envolvimento clamidial (Bas *et al.*, 2001).

Após o aborto, o título de anticorpos maternos pode ser medido pelo teste de fixação de complemento (TFC) (Stamp *et al.*, 1952 e Aitken, 2000b in Longbottom e Coulter, 2003).

O TCF detecta apenas as imunoglobulinas IgG1 persistentes por 3-4 semanas após a infecção. Entre os diferentes testes para a detecção de anticorpos, o de fixação de complemento é o mais utilizado no diagnóstico de rotina, sendo o teste recomendado pelo OIE. Ele detecta anticorpos produzidos contra o epítipo do antígeno lipopolissacarídeo presente em todas as espécies da família *Chlamydiaceae* (Everett, 2000). O TFC, baseado na pesquisa do lipopolissacarídeo (LPS) específico dos genes *Chlamydophila abortus*, é usado no diagnóstico do aborto enzoótico das ovelhas, mas pode ser complicado pela possibilidade de reacções cruzadas pela presença de anticorpos de outras infecções, tais como infecções intestinais inaparentes pela *C. pecorum* e outras reacções serológicas cruzadas por bactérias Gram-negativas (Longbottom *et al.*, 2002). O TFC tem como principais componentes a proteína de membrana externa maior (MOMP) e o LPS que são os dois antígenos das *Chlamydiales* mais comuns nas reacções cruzadas o que lhe induz uma baixa especificidade (Longbottom *et al.*, 2002).

O método **ELISA** detecta outras subclasses de anticorpos (Shemer *et al.*, 1987 in Cavirani *et al.*, 2001). Para além disso o método ELISA é preferível no diagnóstico serológico pela sua alta sensibilidade, grande objectividade e simplicidade de procedimento (Cavirani *et al.*, 2001).

Existem 2 testes de ELISA no mercado: o competitivo ELISA (cELISA) baseado em anticorpos monoclonais específicos da *C. abortus* anti MOMP (Salti-Montesanto *et al.*, 1997 in Longbottom *et al.*, 2002) e o ELISA-indireto (iELISA) que se baseia no fragmento de uma proteína recombinada a partir da proteína da membrana externa polimórfica do *C. abortus* (POMP) (Longbottom *et al.*, 2001 in Longbottom e Coulter, 2003) e consiste no uso de proteínas solúveis de *C. abortus* ou péptidos sintéticos derivados da MOMP do agente como antígeno (Kaltenboeck *et al.*, 1997 in Buendía *et al.*, 2001).

A vantagem do uso da família das proteínas do POMP é que estão expressas nas superfícies das EB e das RB e no serodiagnóstico ligam-se fortemente aos anticorpos de *C. abortus* de soro de ovelhas infectadas o que não acontece com o soro sanguíneo de ovelhas infectadas com *C. pecorum*. Como estas proteínas são glicosadas constituem uma subunidade candidata à preparação de vacinas (Longbottom e Coulter, 2003).

O **PCR** constitui o mais promissor método para a pesquisa de antígenos da ordem *Chlamydiales* quer a partir da serologia quer a partir de culturas destes organismos de cotilédones infectados, zangãos, etc. (Caul e Sillis, 1998 in Longbottom e Coulter, 2003). O PCR que congrega os testes MOMP gene, tRNA-gly, 23S rRNA, 23ADN TaqMan permite reconhecer todas as *Chlamydiaceae* (Everett, 2000).

Também, pelo método RFLP-PCR (fragmento restrito da cadeia polimorfa analisada em PCR aumentado) que serve para distinguir a espécie *C. abortus* de *C. pecorum* (Den mur *et al.*, 1991 in Longbottom e Coulter, 2003). As análises moleculares são correntemente consideradas a melhor via para um diagnóstico definitivo de infecções por *Chlamydiales*. Para completar as análises e dado os baixos níveis de ADN genómico extraível ou a presença de moléculas inibidoras, a tipificação molecular é geralmente melhorada com o isolamento da bactéria (Clemente *et al.*, 2007).

#### **1.3.3.5. Tratamento**

As infecções por *Chlamydiales* podem ser tratadas satisfatoriamente por antibióticos do grupo das tetraciclínas e eritromicina, cujo efeito não é a cura, mas a redução da multiplicação e disseminação dos organismos *Chlamydiales* (Longbottom e Coulter, 2003). Um diagnóstico atempado é importante para uma melhor resposta à terapêutica (Caul e Sillis, 1998 in Longbottom e Coulter, 2003).

Nos bovinos, embora não esteja conhecida a importância epidemiológica das várias infecções por *C. pecorum*, dado à sua natureza assintomática, mas certamente com grande impacto na indústria pecuária, particularmente em termos de falha reprodutiva que é enorme, estas infecções devem ser tratadas com antibióticos, mas não de forma rotineira para controlar a infecção, apenas em situações circunstanciais. Como o uso de antibióticos não elimina a doença, as infecções seriam melhor controladas com uma combinação da

melhoria de métodos de detecção e a vacinação das manadas (Longbottom e Coulter, 2003).

Presentemente são comercializados dois tipos de vacina, uma vida atenuada e outra inativada de organismos inteiros. Nenhuma delas induz uma imunização absoluta mas reduzem fortemente a excreção da *Chlamydia* spp. e a prevenção de aborto podendo vir a ser usadas no controlo da doença.

Mais recentemente foram feitas experiências com vacinas de ADN, também chamadas vacinas genéticas, que apresentam uma série de vantagens. Este novo método de imunização induz respostas imunitárias humoral e celular, embora necessite ser optimizada com mais investigação para que possa beneficiar de maior sequenciação genómica em termos de identificação de novos antígenos (Hécharde *et al.*, 2003).

No mercado português existe presentemente a vacina inativada Bedsa-vac-Merieux para a estirpe *C. abortus*.

#### **1.3.3.6. Prevenção e controlo**

Para a prevenção e o controlo da clamidiose é importante a identificação dos animais infectados e uma monitorização anual das manadas, bem como um maneio correcto das mesmas com observância de regras de “exploração fechada” evitando a entrada de animais infectados, a aquisição de novos animais só em explorações livres da infecção por *C. abortus* e *C. pecorum* ou após vacinação. Outras medidas a ter em conta após o parto e/ou um aborto devem ser o isolamento imediato das vacas e a destruição dos fetos mortos, placentas e as camas desses animais para limitar o risco de propagação da doença. É necessário que haja o cuidado de lavar as mãos após o contacto com animais infectados e antes de tocar noutra animal (Longbottom e Coulter, 2003).

A vacinação das manadas tem um duplo objetivo: 1º, o da profilaxia e terapêutica das infecções por *Chlamydia* spp. e 2º, a avaliação do impacto da infecção subclínica na reprodução dos bovinos pela melhoria da fertilidade, redução de processos respiratórios e mastites (Kaltenboeck *et al.*, 2005). Para a pesquisa de uma vacina, têm sido feitos muitos testes a partir do ADN do MOMP (forte candidata a uma vacina genética) da *C. abortus*, em vários hospedeiros, mas os resultados até á data são inconclusivos (Pal *et al.*, 1999 in Kaltenboeck *et al.*, 2005).

### **1.3.3.7. Situação da clamidiose nos Açores**

Não existem dados quer a nível humano, por não ser doença de declaração obrigatória, quer a nível dos efectivos pecuários sobre esta doença na Região Autónoma dos Açores.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Para os objetivos enunciados na introdução do trabalho referiremos as metodologias utilizadas em relação a:

1. Rastreio de zoonoses (amostragem, recolha de amostras, análises laboratoriais, gestão de dados);
2. Estudo do sistema de produção (amostragem, entrevistas, gestão e dados);
3. Análise de dados.

### 2.1. Rastreio de zoonoses

#### 2.1.1. Amostragem

À data do desenho deste estudo, Outubro de 2005, encontravam-se inscritos no SNIRB (Sistema Nacional de Identificação e Registo de Bovinos, Dec. Lei nº 142/2006 de 27 de Julho) 9344 bovinos (5070 vacas), em 530 explorações pecuárias, distribuídas pelas sete freguesias do Concelho de Nordeste com uma média de 18 animais por exploração (Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição dos bovinos e explorações do concelho pelas sete Freguesias

Freguesia	Nº explorações	Total animais	Média de animais
Achada	70	1268	18,11
Achadinha	73	1279	17,52
Lomba da Fazenda	87	1391	15,99
Nordeste	119	1940	16,30
Nordestinho	103	1856	18,02
Salga	49	942	19,22
Santana	29	668	23,03
Total	530	9344	17,63

Deste efectivo e com base na listagem de explorações, obtida no SDASM, e nos dados relativos à distribuição dos animais por classe e sexo, apurou-se que apenas 317 explorações apresentavam vacas e a partir deste universo delineou-se a amostragem aleatória simples utilizada no estudo, tendo como unidade epidemiológica a exploração, uma vez que o foco deste estudo era as zoonoses abortivas.

Para o cálculo da dimensão da amostra foi usada a fórmula proposta por Thrusfield (2001) e que é a seguinte:

$$n = \{ Z^2 \times [P_{exp}(1-P_{exp})] \} / L^2$$

Onde: n = dimensão da amostra; Z = 1,96 (95% de nível de confiança); P<sub>exp</sub> = prevalência esperada; L = precisão absoluta desejada.

Assim, para uma prevalência esperada de 20%, uma precisão absoluta de 5% e um nível de confiança de 95%, a amostra necessária era de 138 explorações (para estes cálculos usou-se o programa Win-episcopo 2). Este número resultaria em 2208 soros tomando em consideração a média geral de Nordeste de 16 vacas por exploração, o que estaria acima das 2000 amostras que foram determinadas como o limite da capacidade analítica do laboratório. Assim, foi necessário elaborar um esquema de amostragem dos animais em cada exploração participante no estudo, pretendendo-se identificar pelo menos 1 animal positivo (com a confiança de 95%), se a prevalência dos animais infectados na exploração for igual ou superior a 10%. Assim, as 138 explorações foram distribuídas por classe de tamanho de forma que a proporção de animais amostrados por classe fosse correspondente à distribuição de vacas na população de acordo com os dados da Tabela 5.

Tabela 5 – Animais a amostrar e explorações em cada classe de tamanho de exploração

Classes de explorações No. animais	Nº animais a amostrar / exploração	Nº explorações a amostrar	Nº total de animais a testar na classe de tamanho	Distribuição proporcional de animais na amostra %
1 a 10	Todos	52	182*	10,33
11 a 20	15	28	420	44,27
Mais de 20	20	58	1160	45,40
Total		138	1762	100,00

(\*) a média de animais utilizada para esta classe foi de 3,5

As explorações a amostrar foram seleccionadas gerando-se para cada grupo de tamanho do efectivo, números aleatórios, no programa Excel, aos quais se fizeram corresponder o nº de ordem da listagem das explorações. Foram identificadas produtores suplentes para substituição em caso de necessidade.

### **2.1.2. Recolha de amostras e de dados para o rastreio serológico**

A recolha de materiais para as análises serológicas teve como base a recolha de amostras de sangue feita pelo Serviço de Desenvolvimento Agrário de S. Miguel (SDASM) e foi realizado por duas brigadas das quais o autor também fez parte.

A partir desta recolha foram seleccionados os soros incluídos na amostra aleatória, estratificada por tamanho de exploração, determinada para o estudo.

Esta operação foi realizada de Novembro de 2006 a Maio de 2007, por punção da veia caudal, em tubos de vidro esterilizados de 5ml (vacutainer) sem anticoagulante.

Nenhum dos animais fora em qualquer momento vacinado contra qualquer serovar da *L. interrogans*.

A idade dos animais variava entre 1,5 e os 15 anos. No laboratório do SDASM o coágulo foi centrifugado a 2500 r.p.m. durante 10 minutos. Em seguida, o soro foi transferido para microtubos de 1 ml e congelado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  e, posteriormente, enviado para o Laboratório Regional de Veterinária (LRV) em Angra do Heroísmo onde foram realizados os testes laboratoriais. As amostras eram acompanhadas de uma folha de registo de dados contendo: marca oficial da exploração; nome do produtor; nº de identificação fiscal; nº do B.I.; localização da exploração; efectivo; classificação do estatuto sanitário da manada; marca auricular dos animais; sexo; idade e a data da intervenção.

### **2.1.3. Análises laboratoriais**

No laboratório do SDASM, sob a orientação da médica veterinária, Dr<sup>a</sup> Filomena Medeiros, após a separação do soro, uma parte deste, foi usada para os testes de Rosa de Bengala, no rastreio à brucelose, e a outra foi enviada para o Laboratório Regional de Veterinária (LRV) em Angra do Heroísmo, onde se procederam aos testes laboratoriais para a pesquisa de anticorpos à leptospirose, clamidiose, IBR, BVD e *Neospora caninum*. Também seguiram para o LRV os soros positivos ao Rosa de Bengala para o teste de Fixação de Complemento. Considerou-se efectivo contaminado a manada que, ao ser rastreada, apresente animais com resultados positivos ao TFC.

### **2.1.3.1. Brucelose**

#### **Teste de Rosa de Bengala**

O TRB efectua-se em placa, onde se misturam volumes iguais de soro e de antigénio. A reacção deste antigénio com os eventuais anticorpos presentes na amostra de soro ensaiada, leva à formação e visualização de complexos imunes ao fim de 4 minutos. A interpretação dos resultados é baseada na presença ou ausência de aglutinação (Regulamento CE nº 535/2002 de 21/3/2002 e Decreto-Lei nº 227/2004, de 7/12/2007). A sensibilidade do teste é elevada de 98,1% e a especificidade é paralela (EFSA, 2006).

Os resultados são dados da seguinte forma:

Resultado Negativo – soro sem qualquer aglutinação ao fim dos 4 minutos (-).

Resultado Positivo – soro com qualquer grau de aglutinação até ao fim de 4 minutos (+, ++, +++).

#### **Teste de Fixação de Complemento**

O TFC às amostras positivas ao teste Rosa de Bengala, foi realizado sob a orientação do Sr. Engº Zootécnico Marco Barros. Baseia-se na detecção e quantificação de anticorpos anti-*Brucella* fixadores de complemento.

Na primeira fase deste teste, ao soro problema é-lhe adicionado uma quantidade fixa de antigénio. Se estiverem presentes anticorpos no soro formam-se complexos imunes antigénio-anticorpo. Junta-se de seguida o complemento. Se os complexos antigénio-anticorpo estão presentes, o complemento será fixado e não poderá reagir na segunda fase.

Na etapa final as células indicadoras (glóbulos vermelhos de carneiro) e uma quantidade de anticorpos anti-eritrócitos (hemolisina) são adicionados á prova. Se restou complemento, os eritrócitos serão lisados e a reacção é negativa; se o complemento foi totalmente consumido pelos complexos imunes, os eritrócitos não serão lisados e a reacção é positiva. O grau de hemólise surgido em consequência da lise globular é a base para a interpretação dos resultados. O grau de hemólise é comparado com valores standardizados de 0, 25, 50, 75 e 100%. Os resultados devem ser expressos em unidades internacionais do teste de fixação de complemento (ICFTU) calculado em relação ao obtido em titulação paralela ao de um trabalho com um soro nacional standartizado calibrado contra o soro standart internacional da OIE (OIEISS) que contenha 1000 ICFTU (OIE, 2002).

O “cut-off” utilizado foi de 20 ICFTU/ml com uma sensibilidade de 96% e uma especificidade semelhante (EFSA, 2006). São considerados positivos todos os soros cujo grau de hemólise, surgido em consequência da lise globular, tenha sido igual ou superior a 20 (OIE, 2002).

### **2.1.3.2. Leptospirose**

Na pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira*, realizado sob a orientação da Sr<sup>a</sup> Eng<sup>a</sup>. Zootécnica Sandrine Resende, foi utilizada a técnica de aglutinação microscópica (TAM), preconizado pela OMS como método de referência para a pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* (base do diagnóstico) e classificação serológica de estirpes isoladas (OMS, 1987).

Este teste baseia-se na observação do grau de aglutinação do soro suspeito, após sua diluição em soro fisiológico (Cloreto de Sódio 8,5g e 1000 ml de água destilada) a 1:50 com um conjunto de estirpes patogênicas de referência que apresentam uma elevada reactividade dentro do mesmo serogrupo, e, por outro lado, uma reactividade cruzada mínima com serogrupos heterólogos (OMS, 1987). O rastreio serológico deve ser efectuado a baixas diluições de soro (OMS, 1987 e Collares-Pereira, 1992, in LRV, 2007). O serovar Hardjo, para uma diluição de 1:100, apresenta uma sensibilidade de 0,41 e especificidade de 1.0 (Ellis e Little, 1986 in LVR, 2007).

Neste teste os dois principais factores que intervêm na reprodutibilidade inter ou intra-laboratorial são a densidade do antigénio e a interpretação do ponto terminal da reacção (OMS, 1987). O ponto terminal da reacção é definido como a maior diluição final do soro que apresente 50% ou mais leptospiros aglutinadas, i.e., até 50% de leptospiros livres. Inicialmente, os soros foram rastreados numa diluição de 1:100 e só depois se procedeu à titulação seriada até à diluição de 1:3200 dos soros positivos frente aos antigénios aglutinantes (quando existiam 50% ou mais de leptospiros aglutinadas) e para a determinação do título final-última diluição que apresentou até 50% das leptospiros livres. Os soros polireactivos foram considerados com todas as diluições dos diferentes serovares aos quais eram positivos.

### 2.1.3.3. Clamidiose

O teste à clamidiose foi executado pela Eng<sup>a</sup> Zootécnica Sandra Benevides pela técnica de ELISA indirecto com o KIT comercial Ruminants Serum Chlamydiosis da marca LSI (Laboratoire Service Internacional) Lissieu, França cujas bases gerais foram enunciados no ponto 1.3.3.4. Diagnóstico da clamidiose.

De acordo com o fabricante contactado especificamente para este assunto pelo LRV, o método é mais sensível e menos específico do que o teste de fixação de complemento, não tendo sido, no entanto, possível obter, concretamente, os valores de sensibilidade e especificidade deste teste.

Assim, os resultados foram obtidos de acordo com as fórmulas propostas pelas instruções do fabricante (Ruminants serum chlamydiosis LSI KIT).

O cálculo do rácio S/P das amostras foi determinado segundo a fórmula seguinte, onde DO é a densidade óptica:

$$S/P = (DO \text{ amostra} - DO \text{ média controlo negativo}) / (DO \text{ média controlo positivo} - DO \text{ média controlo negativo})$$

Os resultados podem ser expressos por títulos de acordo com a fórmula:

$$\text{Título} = S/P \times 100$$

Para títulos negativos é possível obter S/P ou título negativo.

Os resultados são válidos quando a DO média controlo positivo é maior que 0,400 e quando a DO média controlo positivo é maior que 2 vezes a DO média controlo negativo.

Os resultados foram classificados como positivos ou negativos de acordo com a Tabela 6.

Tabela 6 – Critérios de interpretação dos resultados segundo o rácio S/P obtido em amostras de soro, na pesquisa de anticorpos da *Chlamydiae abortus*

<b>Título</b>	<b>Interpretação</b>
Título ≤ 25	Negativo
25 < Título ≤ 35	Positivo +
35 < Título ≤ 60	Positivo ++
60 < Título ≤ 100	Positivo +++
Título > 100	Positivo ++++

## 2.2. Estudo do sistema de produção

### 2.2.1. Amostragem

A amostragem para a realização desta parte do trabalho foi a já descrita no ponto 2.1, para o rastreio das zoonoses.

### 2.2.2. Entrevistas

A recolha de dados foi feita pelo autor através de entrevista pessoal realizada, várias vezes, ao fim da tarde, hora de maior disponibilidade dos produtores. O questionário foi realizado com visita à exploração para avaliação pessoal das características da mesma. Os dados foram registados em papel, num questionário apresentado em Anexo II.

Para a caracterização das explorações do concelho considerou-se como informação importante:

- a) **Altitude da localização das explorações**, visto saber-se previamente que está bastante fragmentada a exploração agrícola por vezes em pequenas parcelas a diferentes cotas altimétricas com as implicações inerentes de pastagens mais pobres quando se localizam em zonas mais altas, transumâncias frequentes com os riscos de contacto com animais de outras explorações e grande dispêndio de energia , ainda, obter informação sobre o sistema cooperativo de manadas conjuntas;
- b) **Alimentação**: as espécies forrageiras predominantes e plantas tóxicas conhecidas presentes, a fertilização das pastagens, em que iríamos procurar saber as quantidades de salitre e adubos compostos empregues, no maneio alimentar quais os alimentos de base utilizados e qual a forma de conservação dos mesmos: em silagem, feno ou outro, bem como, o estado de maturidade do alimento ao corte, presença de infestantes e quais e o tipo de defeitos que habitualmente apresentavam os alimentos conservados em anos anteriores, i.e., humidade ou podridão;
- c) **Presença ou não de caprinos** e se eram abrangidos pela campanha de saneamento, uma vez que podem ser reservatórios de *Brucella* e outros agentes;
- d) **Existência de grotas (declives e/ou ribanceiras) e ribeiros** nos terrenos da exploração por constituírem, muitas vezes, vazadouros de detritos e em alguns

casos até de placentas ou o produto de abortos podendo constituir verdadeiros focos de infecção;

- e) **Estrutura da manada** em que se queria saber quais os diferentes lotes de bovinos, o sexo, a idade e o número de elementos que as compunham, se haviam animais de outras espécies com os riscos da presença de animais de outras espécies que poderiam escapar ao rastreio das zoonoses do nosso estudo;
- f) **Maneio das novilhas** se pastavam separadas das vacas quer das que estavam em produção quer das secas, em pastagens das terras altas e se entravam no lote das vacas em produção antes ou depois do parto, no intuito de se saber qual o risco que elas correm de contrair alguma destas zoonoses durante a gestação;
- g) **Maneio dos vitelos** se mamavam colostro, durante quanto tempo, o tipo de leite que bebiam após o desmame e qual a idade com que são separados da mãe;
- h) **Maneio reprodutivo** se faziam ou não inseminação artificial, transferência de embrião, se havia touros na exploração e, no caso afirmativo, se próprios ou emprestados (neste caso o nome do proprietário);
- i) **Estado de fertilidade** o número de vacas cobertas, o número de vacas com 3 ou mais serviços, o número de serviços por fecundação (estimativa aproximada do número de serviços que é necessário para uma gestação), a média de dias entre o parto e a 1ª cobertura, a média de dias entre o parto e a cobertura fecundante, a idade do 1º parto, a taxa de abortos (vacas abortadas relativamente ao total de vacas na exploração), a duração média da lactação e o número de fêmeas que pariram no ano anterior;
- j) **Distribuição de partos** para conhecer e interpretar a distribuição dos partos se era regular ou se havia meses de maior concentração e o porquê de tal situação, ver se havia registos de cobrições para possíveis futuras intervenções no maneio reprodutivo, se ocorriam retenções placentárias, se ocorriam abortos, metrites agudas e quais os efeitos clínicos após o aborto, qual o tempo de gestação das vacas abortadas e a data do aborto;
- k) **Maneio das vacas secas** se eram separadas ou se estavam juntas com as novilhas, se nelas ocorriam abortos, qual o local do parto delas (manada ou em separado);
- l) **Destino das secundinas** se eram ignoradas, queimadas, dadas aos cães ou enterradas;
- m) **Cão da manada** se se fazia a colheita de sangue para o rastreio destas zoonoses;

- n) **Problemas ou doenças observados nas vacas não abortadas ou novilhas** nos 4 meses antecedentes ao surto de abortos;
- o) **Problemas ou doenças dos vitelos recém-nascidos, desde o início do surto de abortos** a natureza do problema e a taxa;
- p) **Vacinações** se as faziam e em caso positivo quais os programas de vacinação utilizados;
- q) **Reposição do efectivo** se importavam ou se usavam novilhas da própria exploração, se as compravam a outros produtores e em caso positivo a quem e a idade dos animais adquiridos, se compram na feira e/ou nos Impérios (Irmandades religiosas);
- r) **Saída de animais** a idade, a quantidade e o destino;
- s) **Locais de abeberamento** se da rede pública, fonte, charco, ribeiro ou outro.

### 2.3. Gestão e análise de dados

Para a gestão de dados criou-se uma base de dados no programa Excel organizada por exploração. Nesta base de dados constam o número oficial da exploração, o nome do proprietário e os tópicos do questionário apresentados no ponto anterior.

As bases de dados foram revistas para a identificação e resolução de erros derivados da introdução de dados. A análise de dados foi feita utilizando as ferramentas do Excel para a parte descritiva e os programas StatCalc do EpiInfo 2000 e SPSS v.15.0 para a parte analítica.

No cálculo da prevalência estimada -se a fórmula seguinte (Thrusfield, 2001):

$$\text{Prevalência (P)} = \frac{\text{Número de amostras positivas} \times 100}{\text{Total de amostras}}$$

A prevalência foi expressa com intervalos de confiança (IC) de 95%, para amostras superiores a 10% em relação à população, segundo a fórmula:

$$P \pm Z \sqrt{(1-f) * P(1-P) / n}$$

Onde: P = prevalência estimada; Z = 1,96 (95% de nível de confiança); n = dimensão da amostra; f = fracção amostral (n/ N (dimensão da população)).

### 3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Os 138 proprietários seleccionados para a amostra foram identificados e visitados, resultando num total de 118 explorações estudadas, uma vez que 68 (57,6%), apresentaram as manadas em conjunto, constituindo assim uma única unidade epidemiológica. Quarenta manadas estavam registadas separadamente em nome de marido e mulher, 11 manadas estavam registadas em nome de 2 proprietários, 15 em nome de 3 proprietários e ainda duas manadas estavam registadas em nome de 4 proprietários. As 118 manadas estudadas estão assim registadas em nome de 205 proprietários.

Tabela 7 – Proprietários das manadas seleccionadas para o estudo

	Explorações	Nº proprietários das manadas				Total	
		2	3	4	casal	mais que 1 proprietário	%
Achada	12	2	3	1	2	8	66,7
Achadinha	12		3		6	9	75,0
Lomba da Fazenda	18	2			6	8	44,4
Nordeste	27	2	4		10	16	59,3
Nordestinho	27	3	2	1	9	15	55,6
Salga	13		3		4	7	53,8
Santana	9	2			3	5	55,6
Total	118	11	15	2	40	68	57,6

A Achadinha é a freguesia onde esta situação ocorre com maior frequência (75%). Normalmente quando a associação é apenas por duas pessoas, trata-se de marido e mulher e é uma associação meramente administrativa, salvo algumas excepções. Aquelas formadas por três ou mais pessoas é quando terceiros se juntam ao casal e constituem a verdadeira conjunção de manadas. A freguesia onde se registou uma menor proporção de manadas conjuntas foi a da Lomba da Fazenda (44%).

A Tabela 8 resume o trabalho realizado e no Anexo III é apresentada a distribuição geográfica das explorações estudadas.

Das 118 manadas identificadas, em 7, não foi possível realizar o questionário, quer por recusa do proprietário quer por problemas de identificação de um responsável. Assim, a taxa de resposta ao questionário foi de 94%.

Tabela 8 – Explorações e animais rastreados no âmbito do estudo

	Explorações da amostra (rastreadas)	Questionário realizados	Nº animais existentes nas explorações da amostra	Nº vacas testadas
Achada	12	12	635	257
Achadinha	12	11	729	319
Lomba da Fazenda	18	18	511	224
Nordeste	27	26	1182	499
Nordestinho	27	25	1248	506
Salga	13	10	490	303
Santana	9	9	320	145
Total	118	111	5016	2252

Foram testadas 2252 vacas, de idades compreendidas entre os 1,5 e os 13 anos.

Estas vacas representam 78,28% das vacas existentes nas explorações (2877) e representam 44,9% dos bovinos existentes.

Tabela 9 – Explorações e animais rastreados por doença

Freguesia	Brucelose		Clamidiose		Leptospirose	
	Explor. testadas	Vacas testadas	Explor. testadas	Vacas testados	Explor. testadas	Vacas testadas
Achada	12	257	12	257	12	257
Achadinha	12	319	11	294	10	274
Lomba da Fazenda	18	224	16	220	16	221
Nordeste	27	499	26	477	25	475
Nordestinho	27	506	26	503	24	484
Salga	13	303	13	300	12	302
Santana	9	145	9	136	9	140
Total	118	2252	113	2185	108	2153
% da amostra	100	78,28	94,07	75,95	91,53	74,83

Para o rastreio da clamidiose e da leptospirose, analisaram-se menos animais ou porque alguns soros não foram referenciados no SDASM como fazendo parte das amostras a enviar para a ilha Terceira ou porque ficaram inutilizados no LRV.

## **3.1. Resultados do rastreio**

### **3.1.1. Prevalência de Brucelose**

Apenas em 1 das 118 explorações testadas foi encontrado resultado positivo à brucelose. Foram testados 2252 soros e apenas 4 foram positivos ao TRB e ao TFC.

Esta exploração do Nordeste, com 67 animais, apresentou também resultados positivos à leptospirose e à clamidiose e a presença de hematúria enzootica e problemas de mastites. É uma exploração pertencente a dois proprietários com área de pastagem acima da média e com pastagens nas 3 diferentes cotas registadas. Aproveita como recursos alimentares, a pastagem, faz silagem de erva e de milho e faz feno. As novilhas pastam com as vacas secas nas pastagens mais altas. O abeberamento é realizado em captação de água e a propriedade apresenta grotas e ribeiras. Tem caprinos e cães e touro próprio, praticando somente a cobrição natural. Nesta exploração 3 vacas abortaram de um total de 50 vacas, no ano de 2006 (todas entre os 7 e os 8,5 meses). Faz a reposição do efectivo com fêmeas da própria exploração, não adquirindo animais. Estas vacas positivas não estavam vacinadas com RB51.

De acordo com estes resultados a prevalência da brucelose, na amostra será de 0,85% (1 exploração em 118) com um intervalo de confiança (95%) que irá até aos 2,16%. Se tomarmos em consideração apenas as explorações testadas no Nordeste (27) então a prevalência da brucelose nesta Freguesia será de 3,7% (IC95% de >0 a 9,8%). A prevalência ao nível animal é de 0,18% (IC95% 0,05 a 0,31%).

A baixa prevalência de brucelose no Nordeste, talvez se deva ao facto deste concelho ser do tipo montanhoso, com acessos difíceis, o que de certa forma restringe a movimentação de animais. Durante muitos anos o pastoreio fez-se à corda, dificultando o contacto entre as manadas, evitando, desta forma, a dispersão da doença.

Este foco localiza-se na vizinhança de 2 explorações infectadas, por compra de animais infectados de fora do concelho, e em sequestro no ano anterior.

### **3.1.2. Prevalência de Leptospirose**

No diagnóstico serológico da leptospirose, devido à baixa especificidade dos antigénios e pela técnica utilizada, a do TAM, os resultados são apresentados como presuntivamente

positivos ao serogrupo infectante. Uma reacção positiva indica apenas exposição e uma reacção negativa deve ser tratada com precaução, visto que animais portadores e excretores podem ser seronegativos (Faine *et al.*, 1999).

Neste estudo, a percentagem de explorações positivas à leptospirose (com pelo menos um soro positivo) foi de 61,1% (IC95% 53,1 a 68,0%).

Tabela 10 – Percentagem de explorações com resultados positivos a leptospirose

Freguesia	Explorações testadas	Explorações positivas	% explorações positivas
Achada	12	7	58,33
Achadinha	10	7	70,00
Lomba da Fazenda	16	7	43,75
Nordeste	25	19	76,00
Nordestinho	24	13	54,17
Salga	12	8	66,67
Santana	9	5	55,56
Total	108	66	61,11

Esta percentagem variou, por freguesia entre os 43,8% da Lomba da Fazenda e os 76,0% no Nordeste. Esta freguesia juntamente com a Achadinha e a Salga, tiveram valores acima da média para o Nordeste.

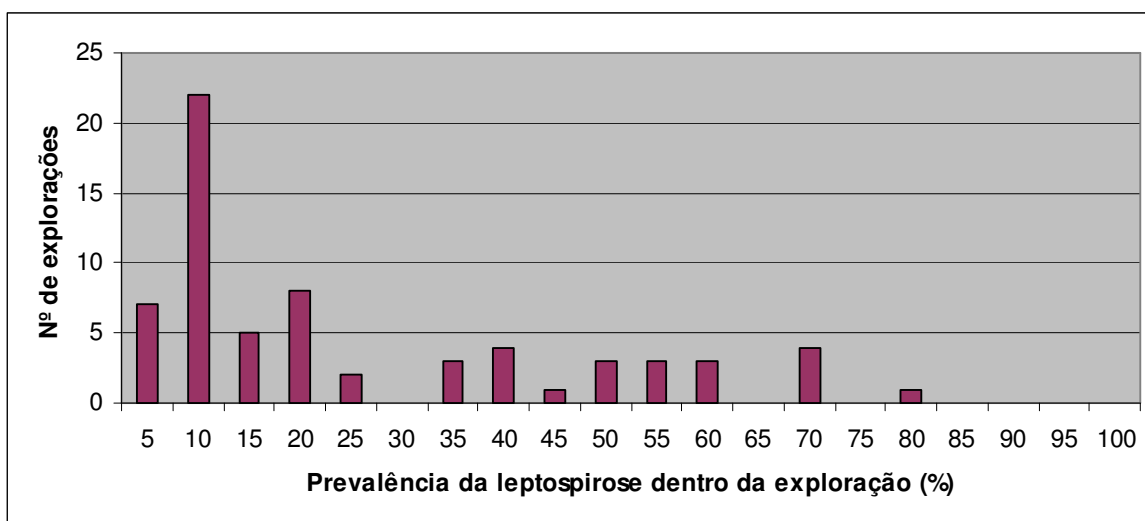
Foram encontrados cerca de 18,3% (IC95% 17,0 a 19,5%) de vacas positivas, variando este indicador de 5,7 a 35,4%, respectivamente em Santana e na Achadinha (Tabela 11).

Tabela 11 – Percentagem de vacas com resultados positivos a leptospirose

Freguesia	Vacas testadas	Vacas positivas	% vacas positivas
Achada	257	22	8,56
Achadinha	274	97	35,40
Lomba da Fazenda	221	22	9,95
Nordeste	475	154	32,42
Nordestinho	484	37	7,64
Salga	302	53	17,55
Santana	140	8	5,71
Total	2153	393	18,25

A prevalência dentro das 66 explorações positivas variou entre 3 e 80%, com uma média de 24,2% (DP 21,9%).

Gráfico 1 – Distribuição das prevalências de leptospirose nas explorações



O maior número de explorações apresenta prevalências entre os 5 e os 10% de animais seropositivos, mas encontram-se explorações com várias proporções de animais seropositivos, até aos 80%.

Em relação aos serogrupos encontrados, 43,9% das explorações positivas apresentam apenas 1 serovar enquanto que as restantes apresentam entre 2 e 6 serovares (Tabela 12).

Tabela 12 – Número de serovares diferentes encontrados por exploração

Freguesias	1	2	3	4	5	6	Total
Achada	1	3		3			7
Achadinha	2	3		1		1	7
L. Fazenda	5	1		1			7
Nordeste	10	2	3	3		1	19
Nordestinho	7	2	1	3			13
Salga	2	4	1			1	8
Santana	2	1	1	1			5
Total	29	16	6	12	0	3	66

Lomba da Fazenda é a freguesia com menor diversidade de serovares enquanto Achada apresentou reactividade para mais do que 1 serovar em 6 das suas 7 explorações positivas.

Tabela 13 – Número e % de explorações com reactividade para mais de 1 serovar de *Leptospira*

Freguesias	Mais que 1 serovar	%
Achada	6	85,7
Achadinha	5	71,4
Lomba da Fazenda	2	28,6
Nordeste	9	47,4
Nordestinho	6	46,2
Salga	6	75,0
Santana	3	60,0
Total	37	56,1

O serovar Saxkoebing do serogrupo Sejroe foi o que mais se destacou, aparecendo em 32 das 66 explorações (48,5%), o que concorda com o facto de ser o gado bovino hospedeiro de manutenção deste serogrupo (Tabela 14). A seguir os serovares com maior frequência foram: o Icterohaemorrhagiae (42,4%) e Copenhageni (34,8%) do serogrupo Icterohaemorrhagiae; o serovar Autumnalis (27,3%) e o serovar Arborea (25,8%) do serogrupo Ballum. Collares Pereira e colaboradores (1996) pela técnica TAM, em S. Miguel e na Terceira, encontrou nos ratos os serogrupos Icterohaemorrhagiae, serovar Icterohaemorrhagiae e o serogrupo Ballum, serovar Arbórea, como os mais prevalentes nessas espécies e também como sendo os que mais têm afectado os humanos nos Açores (Collares Pereira *et al.*, 2000a).

Tabela 14 – Número de explorações com cada serovar de *Leptospira*

Freguesia	<i>L. Sejroe Saxkoeb</i>	<i>L. icter-haemor.</i>	<i>L. icteroh. copenh</i>	<i>L. autum-nalis</i>	<i>L. ballum arborea</i>	<i>L. australis</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. tarasso-vi</i>	<i>L. sejroe wolffi</i>
Achada	1	3	3	5	4	3			
Achadinha	6	4	2	2	2	1	1		
L. Fazenda	4	2	2	2		1			
Nordeste	18	7	5	1	3	4	3		
Nordestinho	2	5	5	6	4	1		2	1
Salga	1	5	4		2	2	3	2	
Santana		2	2	2	2	3			
Total	32	28	23	18	17	15	7	4	1

Barros (2003), na ilha Terceira, encontrou em bovinos seropositividade ao serogrupo Icterohaemorrhagiae o que sugere uma importância crescente destes serogrupos na cadeia ecológica, cujos serovares são mantidos na natureza maioritariamente por micromamíferos, nomeadamente roedores. Borrego (2006), diagnosticou em S. Miguel, nos cães não

vacinados, os serovares Copenhageni (71%, n=35) e Icterohaemorrhagiae (89%, n=31) do serogrupo Icterohaemorrhagiae, que foi mais frequente (94%, n=35).

Na ilha Terceira, Flor (2006) encontrou nos bovinos o serovar Saxkoebing do serogrupo Sejroe com maior frequência (18,3%). Também na ilha Terceira, estudos efectuados em soros de bovinos por Barros (2003), foi diagnosticado o serovar Saxkoebing do serogrupo Sejroe como o serogrupo presuntivo com maior frequência (23,3%) (n=100).

Uma investigação retrospectiva do período compreendido entre Janeiro de 1989 e Dezembro de 1998, realizado por Pacheco *et al.* (2000) em paciente internados no Hospital de Ponta Delgada, indicava as estirpes dos serogrupos patogénicos Icterohaemorrhagiae, Ballum e Sejroe (serovar Hardjo) como os principais responsáveis pelo número crescente de infecções humanas.

Apesar de não ter sido procurado neste estudo o serovar Hardjo, pertencente ao serogrupo Sejroe, sabemos que ele existe nos Açores. Collares Pereira (1996) num estudo em rins de bovinos da ilha Terceira, obteve uma taxa de isolamento de 10% (2/20) do serovar Hardjo e Barros (2003) em rins de bovinos também da ilha Terceira obteve uma taxa de isolamento de 3% (n=100). Alguns autores consideram que títulos detectados para outros serovares do serogrupo Sejroe (Sejroe, Saxkoebing, Wolffi) podem ser de Hardjo, devido à grande semelhança antigénica existente entre serovares do mesmo serogrupo (Barros, 2003). Flor (1998), encontrou num inquérito sorológico em bovinos de S. Miguel, pela técnica de TAM, os serovares Hardjo (16%, TGM=133), Sejroe (31%, TGM=163), Ballum (13%, TGM=116) e Bratislava (12%, TGM=153).

Segundo Ellis *et al.* (1998), muitas vezes, este serovar é detectado em títulos baixos ou é mesmo difícil de detectar, por ser pouco reactivo, sendo o animal no entanto portador de leptospiras.

Em relação aos títulos encontrados, a sua distribuição é apresentada na Tabela 15.

Tabela 15 – Distribuição dos resultados de acordo com os títulos, para cada serovar

Serovar	1:100	1:200	1:400	1:800	Total	% vacas+ (n=393)
<i>L.sejroe saxkoebing</i>	110	81	47	29	267	67,94
<i>L.icterohaemorrhagiae</i>	35	14	5	4	58	14,76
<i>L.icteroh.copenhageni</i>	12	11	6	4	33	8,40
<i>L.autumnalis</i>	18	6	3	1	28	7,12
<i>L.ballum arborea</i>	15	10	2	1	28	7,12
<i>L.australis</i>	12	6	3	1	22	5,60
<i>L.canicola</i>	4	1	2		7	1,78
<i>L.tarassovi</i>	3	3	1		7	1,78
<i>L.sejroe wolffi</i>	2				2	0,51
Total = 452	211	132	69	40	452	---

Estes resultados são apresentados separadamente para as infecções monoreactivas e polireactivas, na Tabela 16. Foi encontrada 1 vaca com infecções aguda (>1:800) a dois serovares, em simultâneo, para *L. icterohaemorrhagiae copenhageni* e *L. autumnalis autumnalis*.

Os soros polireactivos são comuns e podem ser devidos a múltiplos factores, nomeadamente reacções serológicas cruzadas entre diferentes serovares sugerindo uma baixa especificidade entre eles, por possuírem um *pool* de antigénios comuns. Podem ser também devidos a reacções paradoxais e ao estágio da doença, como o início de infecção ou convalescência. Quando se encontram este tipo de reacções num soro, estas deveriam ser confirmadas pela continuação de estudos serológicos ou pelo isolamento do organismo, preferencialmente (Barros, 2003).

Tabela 16 – Distribuição dos títulos em infecções mono e polireactivas

Serovar	Infecções monoreactivas = 352				Infecções polireactivas = 100			
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:100	1:200	1:400	1:800
<i>L. sejroe saxkoebing</i>	109	76	46	28	1	5	1	1
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	24	6	2	1	11	8	3	3
<i>L. icteroh.copenhageni</i>	7	3	1	1	5	8	5	3
<i>L. autumnalis</i>	13	3	2		5	3	1	1
<i>L. ballum arborea</i>	7	5		1	8	5	2	
<i>L. australis</i>	5	1			7	5	3	1
<i>L. canicola</i>	2		1		2	1	1	
<i>L. tarassovi</i>	3	3					1	
<i>L. sejroe wolffi</i>	2							
Total	172	97	52	31	39	35	17	9

A distribuição de reacções serológicas polireactivas, obtidas em 40 animais é apresentada na Tabela 17, por ordem decrescente do número de animais que as apresentam.

No padrão de co-aglutinação os mais frequentes são as *L. ballum arborea* e *L. autumnalis*, seguidas das *L. icterohaemorrhagiae icterohaemorrhagiae* e *L. icterohaemorrhagiae copenhageni*.

Tabela 17 – Distribuição de reacções serológicas individuais polirreactivas (n=40)

Serovares	Nº
<i>L. autumnalis</i> <i>L. ballum arborea</i>	7
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. icteroh.copenhageni</i>	6
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. icteroh.copenhageni</i> <i>L. australis</i>	4
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. australis</i>	4
<i>L. icteroh.copenhageni</i> <i>L. australis</i>	3
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. sejroae saxkoebing</i>	2
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. icteroh.copenhageni</i> <i>L. canicola</i>	2
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. icteroh.copenhageni</i> <i>L. ballum arborea</i>	2
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. canicola</i>	1
<i>L. australis</i> <i>L. sejroae saxkoebing</i>	1
<i>L. ballum arborea</i> <i>L. sejroae saxkoebing</i>	1
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. australis</i> <i>L. ballum arborea</i>	1
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. australis</i> <i>L. sejroae saxkoeb.</i>	1
<i>L. icteroh.copenhageni</i> <i>L. ballum arborea</i> <i>L. sejroae saxkoeb.</i>	1
<i>L. autumnalis</i> <i>L. ballum arborea</i> <i>L. sejroae wolffi</i>	1
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. icteroh.copenhageni</i> <i>L. autumnalis</i> <i>L. australis</i>	1
<i>L. icteroh.copenhageni</i> <i>L. australis</i> <i>L. ballum arborea</i> <i>L. saxkoeb</i>	1
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> <i>L. icteroh.copenhageni</i> <i>L. australis</i> <i>L. canicola</i> <i>L. saxk.</i>	1

Quando se estudam as associações dos serovares que surgem em conjunto, dois a dois, nos animais polireactivos, em 83 associações identificadas, são as mais frequentes a dos serovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni (19,3%), seguida das associações *L. icterohaemorrhagiae* e *L. australis* (14,5%), *L. icterohaemorrhagiae copenhageni* e *L. australis* (12,1%) e *L. ballum arborea* e *L. autumnalis* (10,8%).

Tabela 18 – Distribuição das co-aglutinações, entre serovares, dois a dois

Serovar	<i>L.ictero-haemorr.</i>	<i>L.icteroh.copenhag.</i>	<i>L.autum-nalis</i>	<i>L.ballum arborea</i>	<i>Leptospira australis</i>	<i>Leptospira canicola</i>	<i>Leptospira tarassovi</i>
<i>L.sejroae saxkoeb.</i>	4	3	0	3	3	1	0
<i>L.icterohaemorr.</i>	---	16	1	3	12	4	0
<i>L.icteroh.copenhag</i>		---	1	4	10	3	0
<i>L.autumnalis</i>			---	9	1	1	1
<i>L.ballum arborea</i>				---	2	0	1
<i>L.australis</i>					---	0	0
<i>L.canicola</i>						---	0
<i>L.tarassovi</i>							---

A idade dos animais positivos a cada serovar de leptospira é apresentada na Tabela 19. O desconhecimento sobre a distribuição etária da população não nos permite inferir da existência de relação entre a seropositividade e a idade dos animais.

Tabela 19 – Idade dos animais positivos a cada serovar

	1,5	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	15	Total
<i>L.tarassovi tarassovi</i>				1	5								1		7
<i>L.autumnalis autumn</i>		1	2		3	4	1				1			1	13
<i>L.ballum arborea</i>		1	1	1		3	2	2	3				1		14
<i>L.canicola canicola</i>	1							1							2
<i>L.icter. copenhageni</i>		2	2	7	1	2	1	1							16
<i>L.icter. icterohaemor</i>		10	4	1	6	9	3	2			4				39
<i>L.sejroe saxkoebing</i>		23	14	38	51	44	29	24	8	5	11	2	2		251
<i>L.sejroe wolffi</i>		1	1												2
<i>L.aust. bratislava</i>		1			4		1		1						7
Total geral	1	39	24	48	70	62	37	30	12	5	16	2	4	1	351

Foram realizados estudos sobre leptospiros, em diferentes regiões do Continente português, por vários autores, como sejam Rocha e Collares Pereira (1987), Rocha (1988) e Paiva Cardoso (2000) (citados por Cavaco, 2003). No estudo realizado por Paiva-Cardoso (2000) a taxa de seropositividade nas amostras estudadas do Continente foi de 19% (40/210). A região onde foram recolhidas mais amostras, a de Trás-os-Montes, apresentou 19% de seropositividade (22/115). Neste estudo a taxa de seropositividade encontrada para os Açores foi de 42% (13/31) e os serogrupos foram Sejroe, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae e Mini (Paiva-Cardoso, 2000).

Noutros países europeus, em estudos realizados entre 1963 e 1993, a seroprevalência encontrada apresentou os valores mais baixos na Alemanha 2,4% (n=11 081) e o mais alto foi no Reino Unido 34,4% (n=47 031) (Cavaco, 2003).

### 3.1.3. Prevalência de Clamidiose

Foi encontrada uma elevada prevalência de explorações com pelo menos 1 animal seropositivo a organismos da ordem *Chlamydeales* de 82,9% (IC95% 76,7 a 89,1%).

A Tabela 20 apresenta o número de explorações testadas e positivas, assim como a proporção de explorações positivas por freguesia.

Tabela 20 – Percentagem de explorações com resultados positivos a clamidiose

Freguesia	Explorações testadas	Explorações positivas	% explorações positivas
Achada	12	10	83,33
Achadinha	11	9	81,82
Lomba da Fazenda	15	11	73,33
Nordeste	26	22	84,62
Nordestinho	25	22	88,00
Salga	13	12	92,31
Santana	9	6	66,67
Total	111	92	82,88

Relativamente à proporção de animais seropositivos da amostra, os resultados encontrados foram de 14,0% (IC95% 12,9 a 15,1%), com a distribuição por freguesia apresentada na Tabela 21.

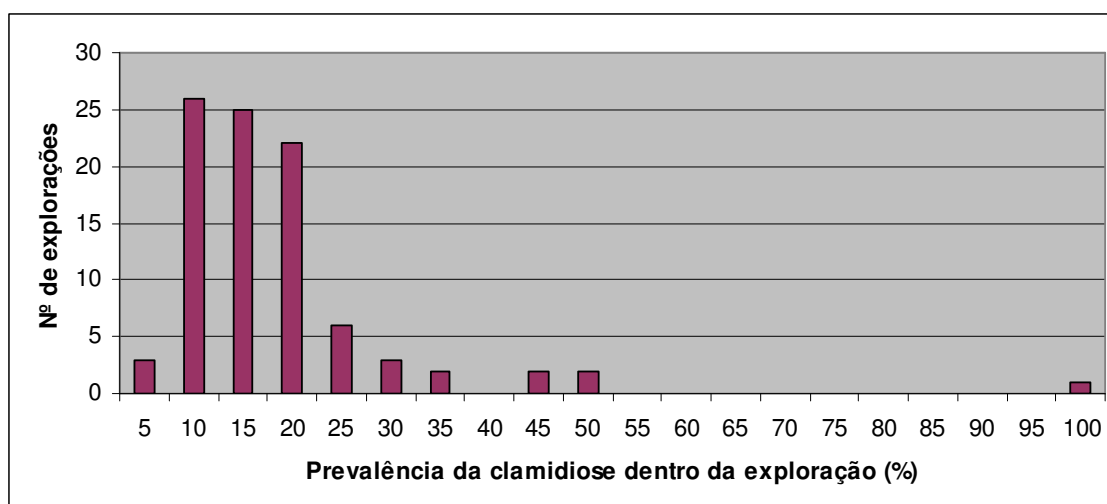
A freguesia que apresentou o valor mais elevado foi o Nordeste com uma prevalência de 18,24% e a mais baixa foi Santana com 7,32%. As restantes freguesias apresentaram valores de prevalência de vacas seropositivas semelhantes.

Tabela 21 – Percentagem de vacas com resultados positivos à clamidiose

Freguesia	Vacas testadas	Vacas positivas	% vacas positivas
Achada	255	32	12,55
Achadinha	294	45	15,31
Lomba da Fazenda	217	24	11,06
Nordeste	477	87	18,24
Nordestinho	497	59	11,87
Salga	300	47	15,67
Santana	123	9	7,32
Total	2163	303	14,01

As prevalências individuais nas 92 explorações positivas foram analisadas, resultando numa média de 16,6% (DP 12,8%), variando entre os 5 e os 100%, como se apresenta no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Distribuição das prevalências de clamidiose nas explorações



As prevalências dentro de exploração mais frequentes estão na classe 5-10%, seguindo-se as classes até aos 20% de animais positivos por exploração. A exploração com prevalência de 100% apresenta apenas 1 animal.

Num estudo realizado por Clemente (2007) a partir do produto de abortos de vacas, do continente português, provenientes de diferentes explorações com historial clínico de abortos, mas sem sinais clínicos de infecção por *Chlamydiales*, a taxa de infecção por *C. abortus* foi de 29,4% (n=34).

As infecções por *Chlamydophila* spp. são endémicas podendo não provocar sinais clínicos nas vacas infectadas ou apresentar apenas sinais subtis da doença, com raros casos de aborto, mas com potencial para causarem substanciais perdas, mais profundas do que na situação de doença declarada, quer por redução da fertilidade, quer pelo impacte na saúde da manada por poder provocar mastites e problemas respiratórios a vitelos recém-nascidos (Kaltenboeck *et al.*, 2005).

## 3.2. Caracterização das explorações pecuárias de Nordeste

### 3.2.1. Área, parcelas e pastagens utilizadas

Das 111 explorações onde se realizou o inquérito, 110 forneceram dados relativos à área de pastagem da exploração, num total de 2259,87 ha.

A freguesia mais representada em termos de área, nesta amostra é o Nordeste e a menos representada a freguesia de Santana (Tabela 22).

Tabela 22 – Área (ha) das explorações inquiridas, por freguesia

Freguesia	Nº explorações	Área (ha)	Média	DP	Minimo	Máximo
Achada	12	334,90	27,91	17,43	7,58	53,97
Achadinha	10	355,71	35,57	19,33	9,30	70,12
Lomba Fazenda	18	330,83	18,38	17,90	0,85	66,17
Nordeste	26	449,51	17,29	11,86	3,28	53,00
Nordestinho	25	458,57	18,34	13,62	1,40	42,53
Salga	10	172,51	17,25	10,28	7,39	39,02
Santana	9	157,84	17,54	9,00	4,40	25,79
Total	110	2259,87	20,54	15,24	0,85	70,12

As freguesias com maior média de área de pastagem são a Achada e Achadinha e a menor dimensão de pastagem encontrada foi de 0,85 ha numa exploração na Lomba da Fazenda.

A maior exploração, em área de pastagem foi de 70,12 ha, na Achadinha.

A média da área da pastagem foi de 20,5 ha, próximo da encontrada por Pinto (1999), num estudo em S. Miguel, com uma média 28,3 ha por exploração (n= 70).

Tabela 23 – Densidade animal (total de bovinos por ha)

Freguesias	Nº explorações	Média Bov/ha	DP Bov/ha	Mínimo Bov/ha	Máximo Bov/ha
Achada	12	2,13	0,83	0,37	3,97
Achadinha	10	2,04	0,47	1,06	2,55
Lomba Fazenda	18	2,22	0,97	0,12	3,89
Nordeste	26	2,69	1,00	0,43	5,33
Nordestinho	25	3,26	2,53	1,14	14,34
Salga	10	2,66	1,19	1,31	4,67
Santana	9	2,10	0,62	1,33	3,37
Total	110	2,57	1,49	0,12	14,34

Em relação à densidade animal, foi encontrada uma média de 2,6 animais por ha, sendo o Nordeste a freguesia de maior densidade média, nesta amostra.

É no Nordeste que se encontra uma exploração com a maior densidade, 14,3 animais por ha de pastagem.

No Nordeste, tal como no resto da Ilha de S. Miguel, o parcelamento das pastagens é elevado. A Tabela 24 descreve o parcelamento encontrado nesta amostra.

Tabela 24 – Número de explorações de acordo com o nº de parcelas

Freguesia	até 5 parcelas	6 a 10	11 a 20	21 a 50	50 a 100	mais de 100
Achada			2	10		
Achadinha		2	2	5	2	
Lomba Fazenda	2	1	4	8	3	
Nordeste		2	6	15	2	1
Nordestinho	1	2		11	10	1
Salga		2	5	3		
Santana		2		3	4	
Total	3	11	19	55	21	2

A classe de 21 a 50 parcelas, apresenta a maior frequência. Mas com mais de 50 parcelas estão apenas 21,1% das explorações.

Foi também recolhida informação sobre as parcelas que são utilizadas como pastagem para as novilhas (Tabela 25).

Tabela 25 – Nº de explorações de acordo com o nº de parcelas usadas para novilhas

Freguesia	até 5 parcelas	6 a 10	11 a 20	21 a 35
Achada	7	2		
Achadinha	9		2	
Lomba Fazenda	8	3	1	1
Nordeste	18	3	1	
Nordestinho	11	8	2	
Salga	9			
Santana	1	4	1	1
Total	63	20	7	2

Apesar do número de parcelas de pastagem ser elevado numa exploração, apenas um pequeno número é utilizado como pastagens para novilhas. Raramente são usadas mais de 10 parcelas da exploração, para esta classe de animais.

Tabela 26 – Tamanho médio das parcelas

Freguesias	Nº explorações	Média	DP	Minimo	Máximo
Achada	12	0,99	0,63	0,42	2,45
Achadinha	10	1,27	0,56	0,53	2,07
Lomba Fazenda	18	0,83	1,64	0,13	7,35
Nordeste	26	0,66	0,52	0,26	2,94
Nordestinho	25	0,40	0,19	0,14	0,94
Salga	10	1,11	0,37	0,63	1,75
Santana	9	0,52	0,22	0,16	0,87
Total	110	0,75	0,81	0,13	7,35

As parcelas têm uma média de tamanho de 0,75 ha, variando entre 0,4 ha no Nordeste e os 1,27 ha na Achadinha.

Devido à orografia montanhosa do concelho e à disponibilidade de terrenos para pastagens as explorações distribuem-se por parcelas localizadas em diferentes cotas de altitude. Grande parte das explorações apresenta fendas ou grotas 88% (100% na Achada e Achadinha), muitas vezes usadas para a deposição de resíduos.

As explorações foram classificadas em relação à presença de pastagens em zonas de altitude baixa, média ou alta, utilizando nomeadamente até 100 metros do nível do mar, 100 a 350 metros acima do nível do mar e mais de 350 metros. Foi encontrada a seguinte distribuição de pastagens.

Tabela 27 – Distribuição de explorações com parcelas em diferentes cotas de altitude

Freguesia	B	M	A	BM	MA	BMA
Achada						10
Achadinha				1	1	7
Lomba Fazenda		5		4	2	6
Nordeste	1	10		3	6	2
Nordestinho		1	2	2	2	18
Salga		1		2	1	6
Santana					1	8
Total	1	17	2	12	13	57

Com cotas de Baixa altitude teremos 70 explorações (em 68,6% das 102 explorações com estes dados), com cotas de Média altitude temos 99 (97,1%) e de Alta altitude temos 72 explorações (70,6%). Chama-se a atenção que estes dados não se referem a áreas de pastagens nas diferentes altitudes, mas à existência ou não de parcelas nessas altitudes.

As parcelas em zonas Altas, normalmente são reservadas aos animais jovens, machos e fêmeas antes do parto e eventualmente às vacas secas, por serem pastagens menos férteis e também com um pasto de menor valor nutricional. Nesta amostra 50,6% das explorações indicaram utilizarem pastagens de Alta cota para o pastoreio de novilhas enquanto que apenas 31,3% o fazem em pastagens de Baixa altitude. A proporção de explorações com pastagens de novilhas em cotas Médias é de 68,7%.

A questão da utilização de pastagens altas para as novilhas foi colocada directamente aos entrevistados e 64,8% responderam positivamente, variando entre os 79% no Nordeste e os 30% na Salga.

As novilhas entram para a manada das vacas em produção antes do parto em 88,7% das explorações e o pastoreio passa a ser feito em conjunto em 78% dos casos (variando de 59% na Lomba da Fazenda a 100% na Salga).

A disponibilidade de água no concelho de Nordeste é elevada, com 64% das explorações inquiridas com ribeiras (100% na Lomba da Fazenda).

### 3.2.2. Maneio alimentar

#### Pastagens: composição, plantas infestantes e fertilização

O sistema de produção é em regime semi-extensivo e o pastoreio directo é a forma mais comum de alimentar as vacas. A flora predominante que compõe as pastagens dessas zonas, é constituída por:

1. Zonas baixas e médias - trevo branco e amarelo (*Lolium tripholium* e *Lolium repens*) e azevém (*Lotus uliginosus*)
2. Zonas altas - trevos branco e amarelo, erva mole (*Holcus lanatus*), podendo aparecer, espontaneamente, em menor percentagem a erva santa (*Anthoxanthum odoratum*), a erva carouça (*Arrenatherum elatius*) e a salsa parrilha (*Smilax aspera*).

A composição de espécies encontrada na amostra estudada é apresentada na Tabela 28.

O trevo, erva mole e azevém estão presentes em quase todas as explorações.

Tabela 28 – Espécies forrageiras da composição das pastagens

Espécie	Explorações	%
Erva Mole	98	91,59
Erva Santa	3	2,80
Erva Carouça	2	1,87
Azevém	89	83,18
Azevém aveia	2	1,87
Azevém baixo	12	11,21
Azevém azevinho	2	1,87
Trevo	107	100,00
Salsaparrilha	2	1,87
Total	107	--

As plantas infestantes que aparecem mais frequentemente, quer isoladamente quer concomitantemente com outras, são: a lábacea (*Rumex ulmifolius*) presente em 97,3% das explorações, o feto (*Pteridium aquilinum*) em 80,4% das explorações, o marrolo (*Mentha* spp.) em 77,5% das explorações, a silva (*Rubus ulmifolius*) presente em 71,0% das bordaduras ou cercas das pastagens e a junça (*Cyperus esculentus*) presente em apenas 15,5% nas terras altas.

Tabela 29 – Percentagem de explorações com cada tipo de infestantes

Freguesias	Total	Labácea %	Feto %	Marrolo %	Silvas %	Junça %
Achada	12	100,0	75,0	83,3	7,2	
Achadinha	11	100,0	72,7	81,8	6,1	
Lomba Fazenda	18	100,0	88,9	94,4	13,8	14,5
Nordeste	26	92,3	73,1	42,3	14,2	
Nordestinho	25	96,0	80,0	92,0	16,3	49,1
Salga	10	100,0	90,0	70,0	8,6	
Santana	9	100,0	100,0	100,0	4,0	25,0
Total	111	97,3	80,4	77,5	71,0	15,5

O grau de infestação varia de pouco a muito, de acordo com as espécies e parece estar relacionado com o pH ácido dos solos (4,5-5,5) o que se explica pela sua formação geológica de origem vulcânica com uma composição de base sílico-argilosa (solos Andassol), o que pode ser agravado pelo uso excessivo de fertilizantes não correctivos dos solos, em especial aqueles com baixo teor ou sem cálcio na sua composição.

Os fertilizantes mais empregues são: o salitre com 20,5% e 26,5 % de nitrogénio (N) e os adubos de 18% de fósforo (PH) e o 15-15-15 (N-P-PH).

Nesta amostra apenas três explorações não usaram o salitre (Tabela 30).

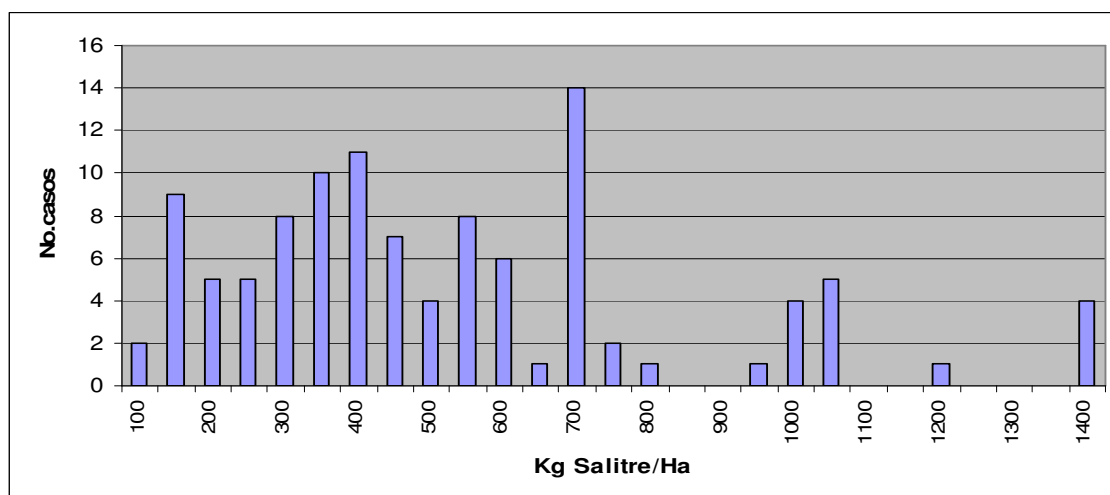
Tabela 30 – Utilização anual de salitre kg/ha

Salitre, kg/ha	Achada	Acha- dinha	Lomba Faz	Nordeste	Nordes- tinho	Salga	Santana	Total
n	12	11	17	26	23	10	9	108
média	746,1	419,7	500,8	401,8	609,3	375,6	499,3	507,3
DP	363,4	141,6	296,1	298,2	294,1	331,8	305,1	311,6
Minimo	346,5	116,2	50	100	175	140	140	50
Máximo	1400	693	1050	1400	1400	1050	1155	1400

A média de utilização do salitre é de 507,3 kg/ha (n=108) com um desvio padrão de 311,6 kg, em que o mínimo aplicado foi de 50 kg/ha na Lomba da Fazenda e o máximo de 1400 kg/ha nas freguesias de Achada, Achadinha e Nordestinho.

A frequência das quantidades de salitre utilizadas é expressa no Gráfico 3.

Gráfico 3 – Distribuição das quantidades de salitre utilizadas



Dos adubos compostos, a média de aplicação é de 313,2 kg/ha (DP 184,7 kg/ha). Na Achadinha, onde se verificou o uso da dose mais baixa, 70 kg/ha e a mais alta na Vila do Nordeste com a aplicação de 1400 kg/ha.

Tabela 31 – Utilização anual de adubo kg/ha

Adubo, kg/ha	Achada	Achadinha	Lomba Faz	Nordeste	Nordestinho	Salga	Santana	Total
n	9	9	16	23	18	8	4	87
média	330,6	293,2	308,4	338,9	252,6	319,4	451,5	313,2
DP	162,4	189,2	92,0	267,5	156,3	63,3	205,0	184,7
Mínimo	175	70	87,5	87,5	87,5	175	231	70
Máximo	700	700	357	1400	700	350	700	1400

A quantidade quer de salitre quer de adubo é exagerada nalgumas freguesias visto que pela Directiva nº 91/96/CE, transposta para a Portaria nº 38/2007 de 21 de Junho, quanto à observância do uso de fertilizantes, a média deveria ser de 850 kg/ha, nas condições dos Açores. Ora, o não cumprimento destas normas constitui um sério risco para a saúde pública pela inquinação dos lençóis freáticos que alimentam a rede de abastecimento público de água e uma grande perda económica pelo desperdício em fertilizantes.

### Silagens

Para a conservação de alimentos para os animais a silagem em silos à superfície e a fenação em fardos são as técnicas mais usuais. Recentemente apareceu o método de enfardar em rolos que alguns agricultores também usam como método para ensilar, escolhendo para o momento do corte da erva aquele em que esta possui um grau de humidade adequado.

Tabela 32 – Produção de silagens, número e percentagem de produtores

Freguesias	n	Erva	%	Feno	%	Milho	%
Achada	12	12	100,00	10	83,33	12	100,00
Achadinha	11	9	81,82	10	90,91	9	81,82
Lomba Fazenda	18	13	72,22	14	77,78	9	50,00
Nordeste	26	26	100,00	22	84,62	19	73,08
Nordestinho	25	22	88,00	15	60,00	13	52,00
Salga	10	9	90,00	9	90,00	8	80,00
Santana	9	8	88,89	8	88,89	6	66,67
Total	111	99	89,19	88	79,28	76	68,47

A silagem é normalmente de erva, de feno e de milho. Da nossa amostra apenas 12 explorações não fizeram silagem de erva o que resulta 89% de uso desta silagem. A silagem de feno foi feita por 79% das explorações e a de milho por 69%.

A totalidade das explorações da Achada e do Nordeste fizeram silagem de erva; a silagem de milho só foi feita por todos os produtores na Achada. Nem sempre o corte da erva, feno ou milho para ensilar é feito no momento mais adequado, quer pela indisponibilidade do equipamento de corte quer por incúria no seu fabrico, o que acarreta, em alguns casos, enormes prejuízos de ordem material pela deterioração da silagem por excesso de humidade ou a sua falta que não permite a fermentação necessária a uma boa conservação da mesma, originando a presença de fungos e podridão com a agravante de poder causar distúrbios digestivos aos animais.

Neste estudo foi encontrado em 72% dos casos silagens deteriorada com negro de fungos e em 65% das explorações inquiridas, silagem apodrecida com bolores.

### Abeberamento

O abeberamento dos animais é feito, em todas as explorações, a partir de fontes. Em apenas 1 caso na Achada era utilizado também o ribeiro.

### 3.2.3. Estrutura da manada

As manadas são constituídas por 6 classes de bovinos, segundo a idade, sexo e fase produtiva: touros, novilhos (de um a dois anos de idade), vitelos (até 1 ano de idade), vacas (fêmeas com mais de 2 anos em produção ou secas), novilhas (gueixas) e vitelas (até 1 ano de idade).

O touro, quando existe, ou está preso por estaca no lote das vacas em produção ou está preso isoladamente. Em certos casos ele é colocado na manada das vacas secas e novilhas. Foram identificados 5047 bovinos, com uma média de 45 animais por exploração (DP 34), em que a maior exploração se encontrava no Nordestinho com 185 bovinos e a mais pequena na Lomba da Fazenda com 3 animais.

Tabela 33 – Efectivo total das explorações

Freguesias	Total	Média	DP	Min	Max
Achada	635	52,92	33,72	19	120
Achadinha	728	66,18	45,51	14	150
Lomba da Fazenda	511	28,39	21,84	3	73
Nordeste	1153	44,35	30,75	5	120
Nordestinho	1225	49,00	40,13	6	185
Salga	444	44,40	25,45	14	73
Santana	320	35,56	17,92	8	55
Total	5016	45,19	33,56	3	185

Como a amostragem realizada definia como necessária a presença de vacas, todas as explorações tinham pelo menos 1 vaca.

Tabela 34 – Vacas presentes nas explorações

Freguesias	Total	Média	DP	Min	Max
Achada	376	31,33	19,43	12	72
Achadinha	405	36,82	27,57	2	90
Lomba da Fazenda	296	16,44	16,37	1	60
Nordeste	649	24,96	15,96	1	70
Nordestinho	687	27,48	22,52	1	87
Salga	305	30,50	17,82	9	54
Santana	159	17,67	10,62	1	30
Total	2877	25,92	19,72	1	90

A média de vacas foi de 26 (DP 20) por exploração (total de 2877 vacas) com o número mais elevado de vacas (90) numa exploração da Achadinha e explorações houve com apenas 1 vaca, nas freguesias de Nordeste, Lomba da Fazenda, Nordestinho e Santana. A média de vacas por exploração, encontrada por Pinto (1999), foi de 45 vacas.

As novilhas apresentaram uma média de 11 animais (DP 10) por exploração (total de 1132) com um máximo de 46 novilhas numa exploração do Nordestinho e um mínimo de 1 no Nordeste, Lomba da Fazenda e Nordestinho.

As vitelas foram em média de 5 (DP 4) por exploração (total de 532) num máximo de 20 vitelas numa exploração da Achadinha e um mínimo de 1 em explorações do Nordeste, Lomba da Fazenda, Nordestinho, Santana, Achada e Salga.

A Tabela 35 apresenta o número total de animais de cada classe, por freguesia.

Tabela 35 – Número de animais por classe, por freguesia

Freguesias	Vacas	Novilhas	Vitelas	Vitelos	Novilhos	Touros
Achada	376	142	54	30	25	8
Achadinha	405	206	74	29	8	6
Lomba da Fazenda	296	91	47	46	52	9
Nordeste	649	292	132	38	27	15
Nordestinho	687	237	138	91	60	13
Salga	305	72	49	14	2	1
Santana	159	92	38	17	10	5
Total	2877	1132	532	265	184	57
%	57,00	22,43	10,54	5,25	3,65	1,13

Esta população é composta de 90% de fêmeas e 10% de machos. A proporção de novilhas em relação a vacas é de 39%, o que é mais elevado do que a usual taxa de substituição de 20-25%.

A Tabela 36 apresenta alguns indicadores populacionais.

Tabela 36 – Indicadores populacionais

	Média	DP	Min	Max
Novilhas/vaca	0,43	0,49	0	3,5
Vitelas/vaca	0,22	0,22	0	1,5
Vacas/touro (n=16)*	34,53	29,90	9	133,0

\* foram tomadas em consideração apenas as explorações que não usam IA ou touros emprestados

### 3.2.4. Outros animais

Relativamente a outras espécies de animais, 57% das explorações apresentam cães, 47% têm caprinos e apenas 1% apresenta ovelhas.

Tabela 37 – Presença de outros animais domésticos nas explorações

Freguesia	Explor. com cães	Nº cães	Explor. com caprinos	Nº cabras	Explor. com ovelhas	Nº ovelhas
Achada	12	15	7	17		
Achadinha	6	12	6	17		
Lomba Fazenda	7	11	9	24		
Nordeste	13	30	11	16		
Nordestinho	15	27	11	24		
Salga	8	15	5	26	1	4
Santana	2	4	3	9		
Total	63	114	52	133	1	4

As explorações que possuem cabras aproveitam o seu leite para o fabrico de queijo quer para autoconsumo quer para venda. Apenas 8% das explorações fizeram a sanidade dos caprinos. Existe ainda trânsito de cabreiros em 25% das explorações da amostra.

Tabela 38 – Presença de animais silváticos nas explorações

	Sim	%
Milhafres	103	93,64
Gaiotas	96	87,27
Ratos	95	86,36
Furões	28	25,45
Ouriços cacheiros	28	25,45
Coelhos	2	1,82
Não têm	5	4,55

A fauna silvática referenciada pelos donos das explorações é composta predominantemente por: 3 espécies de roedores (a ratazana preta *Rattus rattus*, a ratazana castanha *Rattus norvegicus* e o ratinho caseiro *Mus musculus*) em 86% das explorações e por aves, milhafres (*Buteo buteo*) e gaiotas (*Larus* sp) em 94% e 87% respectivamente. Aparecem em menor número o furão (*Mustela furo*) e o ouriço cacheiro (*Erinaceus europeus*). Em cinco explorações, os inquiridos não referiram a presença de qualquer espécie.

A presença de ratos tem a distribuição por freguesia apresentada na Tabela 39.

Tabela 39 – Presença de ratos nas explorações pecuárias

	n	Sim	%
Achada	12	11	91,7
Achadinha	11	11	100,0
Lomba Fazenda	18	18	100,0
Nordeste	26	26	100,0
Nordestinho	24	17	70,8
Salga	10	5	50,0
Santana	9	7	77,8
Total	110	95	86,4

Na freguesia da Salga, apenas metade dos inquiridos notificou a presença de ratos enquanto nas freguesias de Achadinha, Lomba da Fazenda e Nordeste, todos os produtores referiram a presença destas espécies.

### 3.2.5. Maneio de vitelos

Por norma o vitelo é separado da mãe entre o 1º e o 8º dia de nascimento, porém 82% deles são apartados logo no 1º dia. Todos eles tomam colostro que poderá ser até aos 8 primeiros dias de vida (média 5,6 dias, DP 2,2 dias; moda 4 dias).

Os vitelos do género masculino são vendidos na sua maioria entre os 8 e 15 dias de vida.

Os vitelos seleccionados para ficarem na exploração são amamentados com leite de vaca até aos três meses de idade, altura em que é feita a desmama. O leite de substituição é usado em apenas 4 de 109 produtores (3,7%).

Foram recolhidos elementos sobre a morbilidade em vitelos. Dos 57 produtores que responderam, resultou um valor médio de morbilidade de 41,6% (DP 28,7%), variando de 2 a 100%. Acima da média encontram-se o Nordestinho, a Lomba da Fazenda e a Achada, com respectivamente 43,3, 44,6 e 46,3% de morbilidade em vitelos.

A distribuição da morbilidade em vitelos por classe é apresentada na Tabela 40.

Tabela 40 – Morbilidade em vitelos notificada pelos produtores

	<=25%	26 a 50%	51 a 75%	76 a 100%
Achada	3	3		2
Achadinha	2	3		
Lomba Fazenda	2	4		2
Nordeste	3	6		
Nordestinho	10	4	1	5
Salga	2		1	1
Santana	2	1		
Total	24	21	2	10

Os problemas mais comuns de saúde em vitelos, identificados pelos produtores estão indicados na Tabela 41.

Tabela 41 – Causas de morbidade em vitelos, de acordo com os produtores

	Nº explorações	%
Diarreias	77	97,47
Broncopneumonias	54	68,35
Processos oftálmicos	7	8,86
Dermatofitose	3	3,80
Papilomatose	3	3,80
Morte súbita	1	1,27
Claudicações	1	1,27
Indigestões	1	1,27
Total de explorações com respostas	79	--

As diarreias surgem como o problema mais importante, seguidos das broncopneumonias.

### 3.2.6. Maneio de novilhas

Em 64,8% das explorações as novilhas pastam nas parcelas das terras altas, conjuntamente com as vacas secas e em 88,7% das explorações entram antes do parto no lote das vacas em produção para se habituarem à prática da ordenha mecânica. Em apenas 11,3% das explorações, é que só após o parto, elas entram no lote das vacas em produção. A idade ao primeiro parto é, em 86,9% das explorações, entre os 24 e os 30 meses.

### 3.2.7. Maneio reprodutivo

Os indicadores reprodutivos foram recolhidos da informação verbal prestada pelos criadores. Neste inquérito 68,5% das explorações fazem a inseminação artificial (IA) embora 53% possuam um touro de cobrição. Tal representa que muitos dos empresários agrícolas que fazem IA usam também o touro nas repetições do cio. Ainda persiste a prática de pedir o touro emprestado em 15,3% das explorações.

A transferência de embrião só é feita por 2,7% das explorações.

A Tabela 42 representa estas características de maneio, por freguesia.

Tabela 42 – Percentagem de explorações relativa ao uso de métodos de reprodução

Freguesia	Expl.	Inseminação Artificial %	Touro próprio %	Touro emprestado %	Transferência embriões %
Achada	12	100,0	50,0	8,3	8,3
Achadinha	11	90,9	36,4	9,1	
Lomba Fazenda	18	27,8	61,1	27,8	
Nordeste	26	69,2	65,4	7,7	3,8
Nordestinho	25	64,0	64,0	16,0	
Salga	10	100,0	10,0	10,0	
Santana	9	55,6	44,4	33,3	11,1
Total	111	68,5	53,2	15,3	2,7

Nesta amostra 22% das explorações faziam o diagnóstico de gestação pela ausência de manifestação de cio. De facto não existe ainda a prática do diagnóstico técnico de gestação, quer em vacas quer em novilhas. É procedimento comum, os criadores calendarizarem depois a data do parto da vaca gestante a partir do momento em que a vaca é coberta ou inseminada e não repita o cio. Esta prática é difícil no caso em que as novilhas estão em contacto permanente com novilhos ou com o touro de cobrição.

Tabela 43 – Combinações de métodos de reprodução

Inseminação artificial	Touro próprio	Touro emprestado	Transferência de embriões	No. Produtores
S	N	N	N	37
S	S	N	N	33
N	S	N	N	21
N	N	S	N	12
S	S	S	N	2
S	N	S	N	2
S	S	N	S	2
N	S	S	N	1
N	N	N	S	1

A reprodução das fêmeas adultas é assegurada pela utilização da IA sozinha ou em combinação com um touro próprio em 63,1% das explorações. Se a estas acrescentarmos os produtores que apenas usam o touro próprio, obtemos 82% dos produtores recorrendo apenas a um destes dois recursos, a IA ou o touro próprio. Em 10,8% das explorações, o touro emprestado é o único recurso para a cobrição.

As explorações sem IA (n=35) apresentam uma médias de vacas de 16,6 (DP 18,3), totalizando um efectivo de 581 vacas, contra a média de 30,2 (DP 19,0) vacas das explorações com IA (n=76) que totalizam um efectivo de 2296 (80%). Os efectivos que

usam exclusivamente IA (n=34) apresentaram uma média de dias entre parto-cobrição fecundante de 64,9 dias (DP 19,9) contra os 60,8 dias (DP 18,4) das explorações que recorrem à utilização de IA mais touro (n=41, que inclui 3 produtores com touro que não indicaram a sua utilização).

A reprodução das novilhas é normalmente assegurada pelo contacto permanente com um novilho.

A Tabela 44 apresenta a proporção de vacas cobertas e as vacas com mais de 3 serviços presentes na exploração à altura do inquérito.

Tabela 44 – Vacas cobertas e vacas com mais de 3 serviços

Freguesia	Vacas	Vacas cobertas	%	Vacas com + 3 serviços	%
Achada	376	222	59,0	54	24,3
Achadinha	405	270	66,7	65	24,1
Lomba Fazenda	296	229	77,4	18	7,9
Nordeste	649	585	90,1	51	8,7
Nordestinho	687	568	82,7	67	11,8
Salga	305	265	86,9	43	16,2
Santana	159	152	95,6	30	19,7
Total	2877	2291	79,6	328	14,3

Cerca de 80% das vacas são cobertas, variando este indicador entre 95,6% em Santana e os 59% na Achada.

Segundo as respostas obtidas, 70% das vacas precisarão de apenas 1 serviço para a concepção e apenas 30% precisarão de mais de 1 serviço.

O número médio de dias entre o parto e a 1ª cobrição foi de 55,5 dias (DP 19,4 dias), variando entre 21 e 120 dias (moda 45 dias).

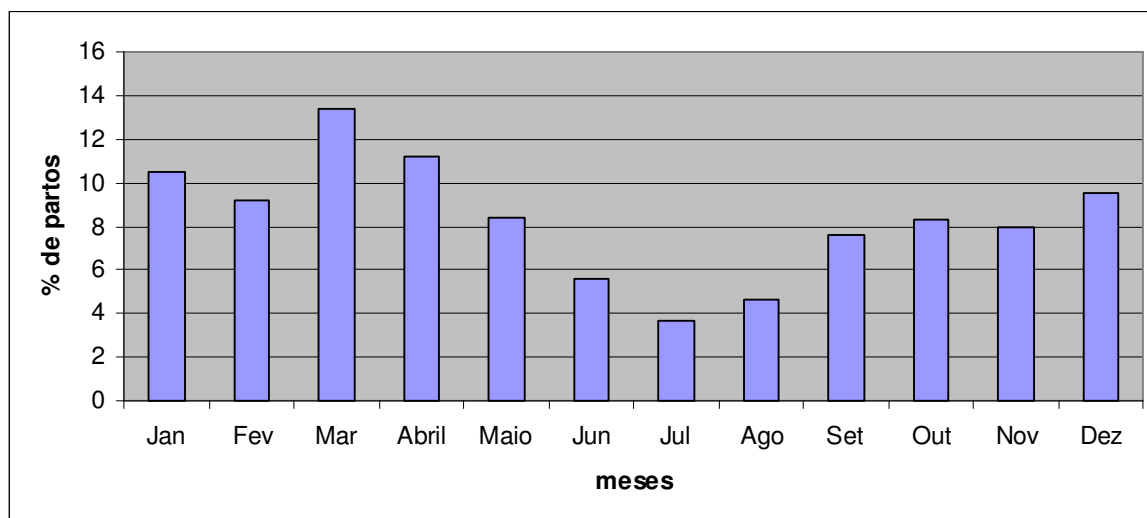
A média de dias entre o parto e a cobrição fecundante foi de 63,7 dias (DP 30,6), variando entre 21 e os 296 dias (moda 45 dias). A distribuição deste indicador é apresentada na Tabela 45.

Tabela 45 – Distribuição das explorações, de acordo com o tempo médio entre o parto e a cobrição fecundante

Período parto-cobrição fecundante	Explorações	%
Até 1 mês	3	2,80
1,5 meses	33	30,84
2 meses	38	35,51
3 meses	26	24,30
4 meses	5	4,67
Mais de 4 meses	2	1,87

O número total de fêmeas paridas no ano anterior foi de 2641, o que representa aproximadamente 92% relativamente às vacas existentes. A distribuição dos partos pelos meses do ano é apresentada no Gráfico 4.

Gráfico 4 – Distribuição mensal da percentagem de partos



Os partos registaram-se ao longo de todo o ano com valores máximos entre os meses de Dezembro e Maio o que se explica pela majoração do preço de leite pago ao produtor nesse período, para evitar a concentração da produção nos meses de Verão, quando há maior oferta de alimentos.

Os partos em regra fazem-se já no lote das vacas em produção com a entrada das vacas uns dias antes. As vacas, deveriam ser isoladas desde o parto até cinco dias depois, para que não haja contacto das outras fêmeas com os corrimentos uterinos, sendo este período estendido, no caso da retenção placentária até a resolução do problema (SRAF-DRDA, 2008). Esta separação, nesta amostra é praticada por apenas 3,6% dos produtores.

É prática comum os agricultores enterrarem as secundinas, o que acontece em 82,9% das explorações. Alguns há que as deixam à disposição dos cães da manada ou as atiram para as grotas e ribeiras com o risco de contaminação destas. Por outro lado, não é feita a

sanidade aos cães das manadas podendo estes constituir fontes de infecção para os animais e para o Homem.

Tabela 46 – Destino das secundinas

Freguesias	Expl.	Enterra	%	Dá aos cães	%
Achada	12	7	58,33	2	16,67
Achadinha	11	10	90,91	3	27,27
Lomba Fazenda	18	15	83,33	1	5,56
Nordeste	26	24	92,31	7	26,92
Nordestinho	25	21	84,00	2	8,00
Salga	10	10	100,00		
Santana	9	5	55,56		
Total	111	92	82,88	15	13,51

### 3.2.8. Lactação

A lactação dura em média 280,9 dias (DP 26,8 dias), variando entre 210 e 370 dias, de acordo com as respostas obtidas de 97 produtores.

A distribuição das respostas relativas à duração da lactação é apresentada na Tabela 47.

Tabela 47 – Distribuição das respostas sobre a duração da lactação

Duração da lactação	Explorações	%
210	1	1,03
240	4	4,12
258	14	14,43
273	37	38,14
289	23	23,71
303	5	5,15
319	7	7,22
mais	6	6,19

As vacas secas são separadas das vacas em produção em apenas 46,9% das explorações e neste caso, são na maior parte das vezes (71%) juntas às novilhas.

### 3.2.9. Reposição do efectivo

É comum os agricultores usarem novilhas da própria exploração. Todavia, persiste o hábito de comprar novilhas (19,8%) em especial no Nordestinho (36% dos produtores) e na

Lomba da Fazenda (27,8%). Dos 55 produtores que compram fêmeas, 38 (69,1%) adquiriram fêmeas adultas.

Tabela 48 – Número e % de explorações que compram fêmeas de substituição

Freguesias	Expl.	Fêmeas	%	Vacas	%	Novilhas	%
Achada	12	7	58,3	7	58,3	1	8,3
Achadinha	11	8	72,7	4	36,4	1	9,1
Lomba Fazenda	18	5	27,8	4	22,2	5	27,8
Nordeste	26	13	50,0	5	19,2	5	19,2
Nordestinho	25	14	56,0	11	44,0	9	36,0
Salga	10	6	60,0	5	50,0	1	10,0
Santana	9	2	22,2	2	22,2		
Total	111	55	49,5	38	34,2	22	19,8

As fêmeas são adquiridas principalmente em explorações, mas 17,1% dos produtores ainda compraram novilhas nas arrematações dos Impérios. Na Achadinha e na Salga é onde o fazem com maior frequência. Este sistema implica a criação de animais pertencentes a Irmandades Religiosas em diversas explorações, seguida de um leilão dos mesmos em determinado local.

As feiras estiveram na origem das fêmeas adquiridas apenas para 3 produtores (2,7%).

Tabela 49 – Percentagem de produtores que adquire fêmeas de acordo com a origem

Freguesia	Expl.	Outros produtores	Impérios	Feiras
Achada	12	58,3	8,3	
Achadinha	11	45,5	45,5	
Lomba Fazenda	18	27,8	11,1	
Nordeste	26	30,8	19,2	3,8
Nordestinho	25	52,0	8,0	8,0
Salga	10	60,0	40,0	
Santana	9	22,2	0,0	
Total	111	41,4	17,1	2,7

### 3.2.10. Venda de animais

A venda de vitelos tem diferentes destinos e em diferentes idades.

Assim, apenas duas explorações venderam para o matadouro, na Lomba da Fazenda e no Nordestinho, 10 e 12 vitelos com idades de 21 e 10 dias, respectivamente.

Apenas 1 exploração vendeu 1 vitelo em feira, pois não é usual do Nordeste ir-se à Feira de Gado, na Ribeira Grande, pela grande distância entre as duas localidades.

Quatro produtores venderam ainda 30 vitelos a comerciantes.

Os destinos mais frequentes dos vitelos vendidos são os viteiros de engorda ou exportação e outras explorações pecuárias.

Tabela 50 – Venda de vitelos para viteiros

Freguesia	Expl.	Expl. com venda	%	Total anual	Vitelos/ exploração	DP
Achada	12	9	75,00	41	4,56	2,88
Achadinha	11	9	81,82	88	9,78	6,72
Lomba Fazenda	18	9	50,00	68	7,56	8,86
Nordeste	26	20	76,92	241	12,05	8,70
Nordestinho	25	19	76,00	139	7,32	7,70
Salga	10	10	100,00	99	9,90	5,47
Santana	9	6	66,67	17	2,83	1,94
Total	111	82	73,87	693	8,45	7,46

Cerca de 74% dos produtores vende os vitelos para viteiros. Esta proporção varia entre 50% na Lomba da Fazenda e 100% na Salga.

As idades dos vitelos vendidos para viteiros está indicada na Tabela 50. A média de idade de venda são os 8,1 dias (DP 3,2 dias).

Tabela 51 – Idade de comercialização dos vitelos para os viteiros

Freguesia	<8 dias	8 dias	9 a 15 dias	25 dias
Achada	1	4	3	1
Achadinha	2	5	2	
Lomba Fazenda	4	4	1	
Nordeste	4	9	7	
Nordestinho	6	10	3	
Salga	3	7		
Santana	1	4	1	
Total	21	43	17	1

A venda de vitelos para outras explorações é feita em cerca de 64,0% das explorações, variando de 42,3% dos produtores no Nordeste e 91,7% na Achada.

Tabela 52 – Venda de vitelos para outras explorações pecuárias

Freguesia	Expl.	Expl. com venda	%	Total anual	Vitelos/ exploração	DP
Achada	12	11	91,67	75	6,82	3,60
Achadinha	11	5	45,45	33	6,60	3,05
Lomba Fazenda	18	10	55,56	70	7,00	7,86
Nordeste	26	11	42,31	77	7,00	4,98
Nordestinho	25	20	80,00	128	6,40	4,38
Salga	10	7	70,00	80	11,43	12,41
Santana	9	7	77,78	28	4,00	3,51
Total	111	71	63,96	491	6,92	6,03

A idade dos animais vendidos para outras explorações é entre os 8 e os 15 dias (média 30,3 dias DP 54,3 dias), o que é superior à idade dos vitelos vendidos para viteiros.

Tabela 53 – Idade de comercialização dos vitelos para outras explorações

Freguesia	<8 dias	8 a 15	16 a 21	22a 30	31 a 90	91 a 180	>180
Achada		9	1			1	
Achadinha	1	4					
Lomba Fazenda	2	6				2	
Nordeste	2	6	1			2	
Nordestinho	3	15				2	
Salga		6			1		
Santana	1	3		1			2
Total	9	49	2	1	1	7	2

Relativamente ao efectivo de vacas, foram vendidos 0,4 vitelos por vaca, indicador este que é consistente com o apresentado no capítulo 3.2.4 – Estrutura da manada.

Tabela 54 – Venda de vitelos relativamente às vacas existentes

Freguesia	Vacas	Vitelo vendidos	Vitelos/vaca
Achada	376	116	0,31
Achadinha	405	143	0,35
Lomba Fazenda	296	148	0,50
Nordeste	649	325	0,50
Nordestinho	687	279	0,41
Salga	305	179	0,59
Santana	159	46	0,29
Total	2877	1184	0,41

A comercialização de animais adultos é feita preferencialmente para o matadouro mas alguns são vendidos para outras explorações ou são destinados ao autoconsumo. Não foi indicada a venda de animais adultos em feira.

A Tabela 55 mostra a frequência das respostas relativamente ao destino dos animais.

Tabela 55 – Destino dos animais adultos (nº explorações e %)

Freguesia	Mata- douro	%	Explo- ração	%	Comer- ciantes	%	Auto- consumo	%
Achada	11	91,7	5	41,7				
Achadinha	10	90,9	6	54,5	1	9,1	2	18,2
Lomba Fazenda	17	94,4	4	22,2			1	5,6
Nordeste	19	73,1	6	23,1	4	15,4	1	3,8
Nordestinho	18	72,0	7	28,0			4	16,0
Salga	10	100,0	3	30,0			2	20,0
Santana	7	77,8	7	77,8				
Total	92	82,9	38	34,2	5	4,5	10	9,0

Em relação ao número de animais comercializados, 75% tem como destino o matadouro, 18% outra exploração, 5% são vendidos a comerciantes e 2% são abatidos para autoconsumo.

Tabela 56 – Destino dos animais adultos (nº e % de animais\*)

Freguesia	Mata- douro	%	Explo- ração	%	Comer- ciantes	%	Auto consumo	%
Achada	51	70,8	21	29,2				
Achadinha	70	64,2	9	8,3	28	25,7	2	1,8
Lomba Fazenda	101	84,9	17	14,3			1	0,8
Nordeste	97	72,4	25	18,7	11	8,2	1	0,7
Nordestinho	142	78,9	34	18,9			4	2,2
Salga	57	85,1	7	10,4			3	4,5
Santana	24	61,5	15	38,5				0,0
Total	542	75,3	128	17,8	39	5,4	11	1,5

\* % em relação ao total de animais comercializados ou consumidos da freguesia

A idade média dos animais vendidos para o matadouro, registada para 147 animais, foi de 7,2 anos (DP 3,8 anos) e variou entre 1 e 30 anos. Retirando dois animais, um de 30 anos e outro de 22, a média de idade passa para 7,0 anos (DP 3,2; mínimo 1 e máximo 16).

Para os animais vendidos para exploração, a idade foi registada para 3 animais, sendo determinada uma média de 2,6 anos (DP 2,2; mínimo 0,6, máximo 9 anos).

Para os animais abatidos para autoconsumo, 9 tinham até 3 anos e o mais velho tinha 7 anos.

### 3.2.11. Problemas de saúde

Foram consultados os registos das explorações, com vista à recolha de informação sobre a ocorrência de abortos.

Tabela 57 – Explorações que declararam problemas de aborto e vacas abortadas

Freguesias	n	Explorações com aborto	%	Vacas abortadas*	%
Achada	12	8	66,67	14	4,20
Achadinha	11	7	63,64	13	4,36
Lomba Fazenda	18	7	38,89	12	4,43
Nordeste	26	9	34,62	19	3,32
Nordestinho	25	14	56,00	31	5,74
Salga	10	5	50,00	9	2,00
Santana	9	3	33,33	5	2,86
Total	111	53	47,75	103	3,90

\* com base em registos da exploração

Foram encontrados registos de abortos em 48% das explorações, com uma taxa de 3,9% de vacas abortadas, relativamente ao número de vacas existentes (Tabela 57).

Os abortos em vacas secas foram registados em 18,9% das explorações, com um máximo de 33,3% das explorações com este problema, na Achada.

O número de abortos registados por exploração variou de 1 a 6, com a grande maioria das explorações tendo 1 a 3 abortos.

Tabela 58 – Número de abortos, por exploração

	Explorações	%
Sem abortos	51	46,79
1 aborto	29	26,61
2 a 3 abortos	26	23,85
4 a 6 abortos	3	2,75
Total	109	100

Os produtores foram também inquiridos relativamente ao número de vacas que tinham no ano passado e o número de abortos ocorridos. Os resultados são apresentados na Tabela 58.

Tabela 59 – Taxa de abortos, de acordo com a opinião do produtor

Freguesias	Média	DP	Min	Max
Achada	5,69	2,69	1,69	8,57
Achadinha	9,92	12,59	1,67	38,10
Lomba Fazenda	26,35	22,79	3,33	50,00
Nordeste	7,81	7,70	2,00	27,27
Nordestinho	12,40	8,27	3,39	28,57
Salga	6,77	2,89	3,70	10,00
Santana	6,45	2,36	4,00	8,70
Total	11,26	12,15	1,67	50,00

Estes resultados apresentam proporções de vacas abortadas superiores àquela obtida pela consulta de registos.

Relativamente à altura da gestação em que acontece o aborto, os 5 e os 7 meses foram os tempos referidos por mais agricultores e 47,6% dos abortos acontecem após os 7 meses de gestação (Tabela 60). Cinco dos produtores inquiridos indicaram tempos de gestação inferiores a 4 meses, para as vacas abortadas, tendo sido excluídos desta análise. A repetição do cio nos dois meses após a cobrição é considerada morte embrionária podendo

haver absorção do embrião. A partir do segundo mês até ao quarto o tamanho do feto expulso é pequeno tornando-se difícil detectá-lo quando o animal está livre na pastagem. Só a partir do 4º mês o feto tem tamanho suficiente para ser reconhecido no exterior do útero.

Em 13 explorações onde o produtor indicou problemas de abortos, não existiu registo individual de fêmeas abortadas durante o período de estudo.

Tabela 60 – Meses de gestação na altura do aborto

Gestação	Nº vacas	%
4 meses	10	11,90
5 meses	24	28,57
6 meses	10	11,90
7 meses	24	28,57
8 meses	13	15,48
9 meses	3	3,57

Relativamente à idade das vacas, 50,7% apresenta-se entre os 5 e os 7 anos de idade.

Tabela 61 – Idade das vacas na altura do aborto

Idade (anos)	Nº vacas	%
2	5	6,67
3	5	6,67
4	9	12,00
5	17	22,67
6	9	12,00
7	12	16,00
8	6	8,00
9	3	4,00
10	2	2,67
mais	6	8,00

As retenções placentárias registam-se em 9,3% das explorações (Tabela 62).

Tabela 62 – Explorações com retenções placentárias

Freguesia	Com retenções placentárias	%
Achada	30	9,01
Achadinha	31	10,40
Lomba Fazenda	25	9,23
Nordeste	29	5,06
Nordestinho	106	19,63
Salga	16	3,55
Santana	8	4,57
Total	245	9,28

Dos 109 inquiridos, apenas 38,5% não tiveram, no ano anterior, qualquer retenção placentária e a maioria dos produtores teve apenas uma vaca com este problema.

A distribuição das respostas é apresentada na Tabela 63.

Tabela 63 – Número de retenções placentárias, por exploração

	n	%
Sem retenções placentárias	42	38,53
1 a 3 retenções	51	46,79
4 a 10 retenções	13	11,93
mais de 10	3	2,75
Total	109	100

Os produtores inquiridos mais de 80% disseram ter problemas de mamites, sendo esta proporção de 100% na Salga.

A percentagem de metrites foi de 52,3% das explorações, com os valores mais altos na Achadinha de 81,8% e na Salga 70,0%.

A Tabela 64 apresenta estes valores assim como outros problemas de saúde indicados como importante, por ordem decrescente, nas explorações pecuárias.

Tabela 64 – Problemas de saúde indicados pelos produtores

Freguesia	Mastites	Metrites	Hipo-calcémia	Claudi-cações	Hematú-ria	Diarreia	Bronco-pneum.
Achada	91,7	58,3	58,3	50,0	41,7	41,7	66,7
Achadinha	90,9	81,8	54,5	54,5	27,3	27,3	27,3
Lomba Fazenda	72,2	27,8	27,8	50,0	33,3	33,3	16,7
Nordeste	76,9	50,0	42,3	26,9	38,5	42,3	23,1
Nordestinho	76,0	56,0	48,0	56,0	28,0	16,0	32,0
Salga	100,0	70,0	70,0	20,0	10,0	10,0	30,0
Santana	77,8	33,3	44,4	55,6	55,6	44,4	22,2
Total	81,1	52,3	46,8	44,1	33,3	30,6	29,7

### 3.3. Associação entre as características das explorações e os resultados do rastreio

O estudo realizado é transversal e descritivo sendo difícil estabelecer com garantia o estatuto sanitário das explorações, relativamente à clamidiose e à leptospirose, apenas a partir dos resultados serológicos obtidos numa colheita, na ausência de um histórico das explorações.

A análise da associação entre as características das explorações e os resultados do rastreio é assim de carácter exploratório e parte do princípio discutível de que um resultado serológico positivo indicia a presença do agente na exploração, enquanto que o conjunto de resultados negativos para a exploração a classifica como negativa, desde que a amostragem proposta em material e métodos, tenha sido cumprida, para a exploração.

Por outro lado a recolha de alguns indicadores reprodutivos a partir da opinião dos produtores, em vez de recorrer a registos produtivos, torna os mesmos menos precisos e mais difíceis de avaliar.

No caso da leptospirose, foram eliminadas 2 explorações por possuírem uma amostra reduzida em relação ao esperado, resultando em 63 explorações seropositivas e 37 seronegativas.

No caso do rastreio da clamidiose, todas as explorações sem resultados positivos cumpriram os critérios estabelecidos, resultando em 88 explorações seropositivas e 16 seronegativas.

### **3.3.1. Leptospirose**

As características das explorações que surgiram como não associadas à presença de seropositividade à leptospirose foram: mais de um proprietário, ribeiras (como indicador de acesso a locais de maior humidade), presença de ratos, de caprinos, de cães, as cotas das pastagens (alta, média ou baixa), manejo das novilhas que entram na manada antes do parto, separação de vacas secas, juntar vacas secas com novilhas, abortos em vacas secas, partos na manada, compra de fêmeas, utilização de touro para reprodução, uso não exclusivo de IA, apresentar mais de 1 serviço por concepção, idade ao 1º parto superior a 27 meses, mais de 60 dias entre o parto e a concepção, mais de 2% de abortos, dar as secundinas aos cães, venda de vitelos a outras explorações e venda de adultos, criar para impérios, existência de bronco-pneumonias em vacas, morbidade de vitelos superior a 20%.

As características das explorações que surgiram positivamente associadas com a seropositividade às leptospiras estão discriminadas na Tabela 65, juntamente com a frequência de ocorrência, o valor de p, OR e intervalo de confiança de 95% para o OR.

As manadas conjuntas representam situações de maior contacto entre animais de diferentes origem e situações em que o manejo da manada é possivelmente mais disperso e menos cuidado.

Tabela 65 – Características associadas com a seropositividade a leptospirose

Característica	%	p	OR	Min	Max
manadas conjuntas	62,75	0,002	3,80	1,63	8,89
mais de 9 meses com partos	48,96	0,001	4,77	1,90	11,95
compra de fêmeas	48,04	0,006	3,20	1,38	7,45
compra de fêmeas a produtores	41,18	0,036	2,47	1,05	5,80
compra de fêmeas a impérios	17,65	0,007	6,30	1,36	29,14
aborto de vacas secas	19,61	0,014	4,43	1,21	16,41

Encontrou-se uma associação positiva entre a infecção e a existência de partos em mais do que 9 meses por ano, o que acontece em quase metade das explorações, factor relacionado com as maiores manadas.

A compra de fêmeas surge também como factor associado à infecção, em contraposição com uma substituição realizada a partir da própria manada. Esta característica de maior movimento de entrada de animais, pode revelar um manejo menos cuidado no que diz respeito à biossegurança das explorações.

O aborto em vacas no final da gestação encontra-se também estatisticamente associado à infecção por leptospira, podendo ser uma consequência da infecção. Importaria, tal como no caso da clamidiose, investigar a causa de aborto.

Não foram encontradas associações estatisticamente significativas de outras características das explorações, classicamente associadas à leptospirose, como por exemplo a presença de ratos que constituem os hospedeiros de manutenção dos serogrupos encontrados no estudo. De facto a presença destes animais é generalizada, surgindo tanto em explorações positivas (88% tem ratos), como negativas (81% apresentam ratos) à leptospirose.

Já outras práticas de manejo favorecedoras da disseminação destas doenças abortivas, como o não enterretamento das secundinas atirando-as para as grotas e ribeiras, foram identificados em apenas muito poucas explorações.

### 3.3.2. Clamidiose

As características das explorações que foram avaliadas são as mesmas que as descritas no ponto anterior. As que surgiram como estatisticamente associadas às *Chlamydiae*, estão apresentadas na Tabela 66.

Tabela 66 – Características associadas com a seropositividade à *C. abortus*

Característica	%	p	OR	Min	Max
época de parto > 9 meses	51,02	0,040	3,42	1,01	11,62
metrites	58,59	0,002	10,27	2,13	49,37
mastites	83,65	0,001	6,07	1,85	19,88

Tal como para a leptospirose, também na clamidiose O prolongamento da época de partos por 9 meses aumenta o período em que os animais estão expostos à infecção, uma vez que propicia o contacto entre animais excretores do microrganismo, na altura do parto, com animais susceptíveis em diferentes estádios de gestação.

As metrites e mastites podem constituir um indicativo de infecção por *Chlamydiae* spp., sendo importante que estes processos clínicos sejam estudados na sua etiologia para que os tratamentos implementados pelos médicos veterinários clínicos desses animais e pelos próprios produtores, sejam os mais ajustados possíveis.

A elevada prevalência de clamidiose nesta amostra torna ainda mais difícil a avaliação de factores de risco associados por diminuir o número de explorações classificadas como controlo e diminuir a certeza da sua correcta classificação, neste tipo de estudo.

## **4. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES DE MEDIDAS DE DEFESA DA SAÚDE ANIMAL E DA SAÚDE PÚBLICA**

As manadas de vacas leiteiras do concelho do Nordeste em 58% dos inquéritos realizados pertencem a mais de um proprietário. Apresentam áreas médias de 20 ha, com encabeçamentos médios baixos de cerca de 2,5 bovinos por ha, mas o elevado emparcelamento das pastagens (frequentemente até 50 parcelas), com menos de 1 ha, implica, na realidade, densidades animais mais elevadas do que o indicador estimado.

O sistema de produção é semi-extensivo, com utilização de pastagem e administração de concentrado em vacas em produção de leite. As melhores pastagens são dedicadas a esta classe animal, sendo as vacas secas, machos e novilhas, mantidos em grupos separados que utilizam as pastagens de altitude de menor valor nutricional. A maioria das explorações possui pastagens em cotas de altitude alta, média e baixa. A composição das pastagens inclui, na maioria dos casos, o azevém, a erva mole e o trevo e as principais infestantes são a labaga, o feto, o marrolo e as silvas. A fertilização é utilizada de forma intensiva e é praticada a ensilagem de erva e milho e a fenação, se bem que a qualidade da mesma nem sempre seja a melhor. O abeberamento dos animais é feito, na sua maioria, a partir de fontes cuja água não é tratada.

Uma manada média no concelho de Nordeste terá cerca de 45 animais, dos quais 26 serão vacas, e existe uma distribuição geral do efectivo de 90% de fêmeas e 10% de machos. Relativamente a outros animais, 57% das explorações têm cães, 47% apresentam caprinos e na maioria estão presentes espécies silváticas ou sinantrópicas como os milhafres, gaivotas e ratos.

Relativamente ao manejo dos animais, os partos dão-se na manada, sem separação, e as secundinas são geralmente enterradas. O vitelo é separado da mãe bastante cedo mas é-lhe administrado colostro de 4 a 6 dias sendo depois alimentado com leite de vaca. A morbidade dos vitelos é elevada, com problemas de diarreias e bronco-pneumonias, segundo os produtores inquiridos. Os vitelos machos são vendidos para vitleiros, com cerca de 8 dias de idade.

As novilhas são criadas em manadas separadas das vacas de produção, por vezes em conjunto com as vacas secas, nas quais a probabilidade de ocorrência de abortos de origem infecciosa no final da gestação é mais elevada e com grande contaminação ambiental. As

novilhas entram na manada de vacas em produção geralmente antes do parto, que será entre os 24 e os 30 meses de idade. Apenas 68,5% das explorações usam inseminação artificial e metade desta usa touro de cobrição. A taxa de fertilidade geral do efectivo ronda os 90%.

A substituição de vacas, para além das novilhas da própria exploração, é feita pela aquisição de vacas, em cerca de metade das explorações. Aliás, as novilhas representam 39% do efectivo das explorações. As vacas de refugo são vendidas para o matadouro.

A ocorrência de aborto atinge cerca de 10% das vacas, metade delas já no último terço de gestação e as retenções placentárias atingirão proporção semelhante de fêmeas. As mastites, metrites, hipocalcémias e claudicações, foram os principais problemas de saúde identificados pelos produtores, seguindo-se a hematúria enzoótica, diarreias e bronco-pneumonias.

A prevalência das doenças abortivas de origem bacteriana estudadas foi bastante distinta. Para a brucelose, foi de 0,85%, o que é considerada uma taxa baixa, segundo os critérios da OIE.

Mais elevada foi a prevalência encontrada para a clamidiose, 82,9%, esta com percentagens de animais seropositivos dentro de cada exploração de 16,6% (DP 12,8%).

A prevalência da leptospirose foi também considerada elevada, tanto relativamente à percentagem de explorações positivas, 61,1%, como à percentagem de animais positivos dentro das explorações, 24,2% (DP 21,9%). Por limitação da técnica escolhida, a de identificação presuntiva do serogrupo infectante pelo método TAM, não foi possível no estudo da leptospirose, obter informação sobre a infecção por *L. hardjo*, no entanto, os resultados obtidos para a leptospirose indicam uma situação que envolve a presença de vários serogrupos, adaptados às condições do sistema de produção.

Apesar de neste estudo poder ser possível identificar o serovar mais prevalente por mês e por idade dos bovinos da amostra, a falta de dados retrospectivos não permite estabelecer uma comparação que resultem em informação de interesse. Porém, esses dados, associados ao conhecimento dos animais reservatórios, são fundamentais para a elaboração de modelos preditivos que contribuam para a identificação da origem da fonte da infecção, dos locais e dos momentos específicos de maior risco.

## **4.1. Brucelose**

A prevalência muito baixa da brucelose, fruto de um trabalho de controlo da doença que foi aplicado sistematicamente em anos passados, indica a possibilidade de erradicação desta doença com uma concentração de esforços na eliminação dos actuais focos. No entanto, a presença de riscos como o contacto dos bovinos com explorações vizinhas, aquisição de animais, transferência de secundinas e fetos abortados por animais de uma exploração para outra, acesso a fontes de água contaminadas, alimentos que entram na exploração, recomenda acções orientadas para a defesa das explorações contra a entrada da infecção onde são particularmente importantes as decisões dos produtores quanto à aquisição de animais e o maneio do parto. Grande parte destes factores tem a ver com os níveis de biossegurança das explorações os quais dependem de decisões esclarecidas e informadas dos produtores. Apenas uma educação sanitária sistemática pode manter os níveis de alerta. Por outro lado o fácil acesso a informação sobre o estatuto sanitário das explorações, permitiria a escolha criteriosa da origem das fêmeas e machos adquiridos de explorações de fora do concelho, o que iria aumentar a defesa da exploração, assim como a possibilidade de recurso a testes serológicos de animais adquiridos (acesso a assistência médica veterinária e a laboratório de diagnóstico).

O cumprimento efectivo do Plano de Erradicação da Brucelose Bovina e aprovado nos Açores, associados à higiene pessoal dos criadores são medidas incontornáveis de manutenção de protecção dos efectivos e da saúde pública, enquanto a erradicação da brucelose não é uma realidade. Em cada foco será necessário um estudo completo e incisivo capaz de determinar a origem do foco e a sua possibilidade de disseminação com vista a erradicação de toda a infecção e à sua contenção antes da disseminação.

## **4.2. Leptospirose**

Na leptospirose, a prevalência encontrada é elevada, estando de acordo com os relativamente baixos níveis de higiene e biossegurança das explorações, assim como condições ambientais propícias à sua sobrevivência.

Como atrás se frisou o bovino é hospedeiro de manutenção da *L. hardjo* e os efeitos da infecção crónica nas vacas por *L. hardjo*, são mais de ordem económica (baixa na produção e qualidade do leite, abortos, nados-mortos, vitelos fracos e infertilidade) do que de saúde pública, por apresentar uma sintomatologia gripal de resolução benigna. Apesar de este serovar não ter sido pesquisado, outros foram encontrados que são patogénicos para o Homem, como o *L. icterohaemorrhagiae*, *L. copenhageni*, *L. arborea*, *L. autumnalis*, *L. bratislava*, *L. saxkoebing*, *L. wolffi*, *L. canicola* e *L. tarassovi*.

Para estes serovares o bovino é hospedeiro accidental de forma que o combate deverá ser feito pela prevenção da disseminação do agente a partir dos hospedeiros de manutenção silvestres, neste caso os ratos. A presença generalizada de roedores nas explorações pecuárias faz com que o seu controlo seja de facto prioritário, tal como é sugerido por vários especialistas, promovendo a diminuição da densidade de roedores, quer pelo controlo ambiental integrado (redução da disponibilidade de alimento, água e refúgio), quer pela aplicação de métodos de redução da população. A eliminação das fontes de alimentos nas explorações implica, por exemplo, tapar os silos de silagem após o uso (com a vantagem adicional de proteger esses alimentos da contaminação pela urina dos ratos); não deixar restos de concentrado quer debaixo dos comedouros das máquinas de ordenha após cada ordenha (colectando-a em sacos do próprio concentrado colocados sob os comedouros), quer da que cai dos silos sobrelevados de armazenamento do concentrado e dos sacos nos armazéns de concentrado. A eliminação de quaisquer materiais, evitando a sua acumulação, que sirvam de refúgio para os roedores, tais como montes de madeira, telhas, restos de vegetação rasteira à volta dos silos e das máquinas de ordenha e outro lixo; manter rasteira a vegetação ao redor dos silos, máquinas de ordenha e armazéns de alimentos para animais. O controlo populacional dos ratos requer: a caracterização da época reprodutiva das espécies dos ratos (antes ou durante o período de gestação destruir-se-ia um número maior de indivíduos) para a associar com o envenenamento, com produtos de baixa toxicidade aplicados em caixas de isco devidamente concebidas, localizadas e geridas ou a utilização de armadilhas. Como calendarização para o seu uso, os meses de Agosto (antes do início da época das chuvas) e Fevereiro (quando é mais baixa a densidade populacional dos roedores e devido à carência de alimentos, existe a tendência para um aumento de consumo dos engodos envenenados) são os meses mais indicados. Decorre presentemente na RAA um estudo de Epidemiologia e Controlo da Leptospirose que tem feito estudos sobre a dinâmica populacional dos hospedeiros com o objectivo de desenvolver modelos preditivos do risco de transmissão da leptospirose. Na primeira fase,

este estudo pretende relacionar os padrões de distribuição e abundância dos roedores e as respectivas taxas de infecção com um conjunto de factores ambientais de forma a identificar os factores que afectam a abundância dos roedores e quais as consequências dos mesmos para a prevalência de *Leptospira* spp. (Collares Pereira *et al.*, 2007).

Um programa de vacinação deveria ser avaliado para implementação a longo prazo, quando se vier a obter uma vacina eficaz contra as estirpes locais das leptospiros patogénicas adaptadas ao bovino. Esta medida preventiva assume importância neste tipo de sistema de produção em que existe uma activa aquisição de fêmeas de substituição (identificadas como factores de risco) e uma generalizada falta de controlo dos machos reprodutores. Neste estudo, encontrou-se uma associação estatística entre a ocorrência de aborto e a seroprevalência da leptospirose indicando esta doença como causa de perdas económicas para os produtores. Este facto associado à alta prevalência da leptospirose em humanos deveriam ser tomados em consideração para a avaliação da implementação de um programa vacinal nos bovinos. Tal avaliação deveria incluir estudos aprofundados sobre a doença, com isolamento do agente, e tomar em consideração a influência vacinal no diagnóstico futuro.

A redução de zonas permanentemente húmidas e que possibilitam a sobrevivência ambiental de leptospiros deveriam ser eliminadas ou protegidas do contacto com as espécies susceptíveis.

As falhas na higiene pessoal dos criadores são também aspectos preocupantes, no concelho de Nordeste, identificando a educação para a saúde como um aspecto fundamental na luta contra esta zoonose.

### **4.3. Clamidiose**

A clamidiose foi a doença mais disseminada e apresentando títulos positivos em baixa proporção de animais em cada exploração, num cenário de endemicidade e adaptação. Também para esta doença, é importante a biossegurança das explorações e a higiene pessoal dos criadores.

Outras medidas a ter em conta devem ser o correcto maneio dos partos, com cuidados de higiene e isolamento da fêmea, sempre que possível, e a destruição dos fetos mortos, placentas e as camas desses animais para limitar o risco de propagação da doença.

Em surtos de aborto enzoótico por *C.abortus* após confirmação laboratorial por isolamento do agente, deve fazer-se a vacinação do rebanho. Esta medida para além de se justificar por se tratarem estes de agentes patogénicos para os humanos, poderá justificar-se também do ponto de vista económico, uma vez que foram encontradas associações estatisticamente significativas relativamente à seropositividade e à ocorrência de metrites e de mamites.

#### **4.4. Medidas relativas à defesa da saúde animal e da saúde pública**

As medidas anteriormente sugeridas para erradicação da brucelose e o controlo da leptospirose e da clamidiose nos bovinos do concelho de Nordeste, deveriam ser implementadas pelo conjunto de operadores e entidades responsáveis pela saúde animal e pública. Para uma maior eficácia no combate a estas zoonoses, torna-se necessário o estabelecimento de colaborações formais entre as autoridades médicas e veterinárias ao nível do governo central, regional e local e em que estejam representados os produtores pecuários.

O Serviço de Saúde de Nordeste está sediado na Vila do Nordeste com um Centro de Saúde e possui um Posto de Saúde na freguesia da Achada. A assistência médica é dada por um Delegado de Saúde e mais três clínicos. Os pacientes que apresentem sintomatologia compatível com alguma zoonose ou cujos exames laboratoriais confirmam um diagnóstico de zoonose, são encaminhados para o Hospital Central de Ponta Delgada.

O serviço de sanidade animal encontra-se centralizado no SDASM em Ponta Delgada e as brigadas deslocam-se diariamente aos concelhos em que decorre a campanha de colheita de amostras de sangue, podendo ou não envolver o serviço do médico-veterinário municipal consoante a disponibilidade destes quadros. Existe ainda uma assistência clínica veterinária, na Ilha, assegurada pelas Associações Agrícolas dos produtores.

Este trabalho de luta contra as zoonoses deve passar pela organização de circuitos de informação sobre a ocorrência de zoonoses em humanos dos serviços de saúde para os

serviços veterinários e de surtos nas explorações pecuárias ou a identificação de agentes zoonóticos nos alimentos dos serviços veterinários para os serviços de saúde e entre as associações de classe veterinária e médica.

A nível local contactos entre o veterinário municipal e os médicos, quer do sector público quer do privado, devem ser fortemente promovidos a fim de se assegurar um conhecimento actualizado das zoonoses locais por forma a que haja uma eficiente colaboração na investigação da origem da sua fonte. Este tipo de notificação deveria despoletar um protocolo de actuação com vista a investigar e eliminar, se possível, a origem dos focos de infecção para os Homens. Idealmente, segundo a FAO (2003), para uma mais eficiente colaboração intersectorial, deveria haver nas unidades de vigilância dos serviços de saúde um veterinário epidemiologista. Este modelo organizacional, no entanto, não é viável ao nível local.

Uma outra vertente em que o trabalho multidisciplinar se afigura importante é o da educação para a saúde, onde as sessões de formação e informação podem ser preparadas em conjunto.

Os serviços veterinários realizam também um trabalho de proximidade com os produtores pecuários, com acesso às explorações, sendo importantes não só na formação individual do produtor, como na vigilância de factores de risco de zoonoses e de problemas ambientais com impacto na saúde pública, presentes nas explorações pecuárias.

Assim, de uma forma resumida, recomenda-se a cada nível, um conjunto de acções de protecção da saúde animal e da saúde pública.

A – Ao **produtor pecuário**, recomenda-se a colaboração na prossecução dos objectivos de erradicação da brucelose e no controlo da leptospirose e clamidiose e de outras já detectadas em outros trabalhos, nomeadamente BVD, IBR/IPV, *Neospora caninum* e fasciolose hepática, que diminuem a produtividade e o dinamismo do sistema de produção. Esta colaboração pode ser feita através de:

- a) Ter cuidado com as fontes de alimento e proteger silagens e rações armazenadas; dar tratamento térmico ao leite fornecido aos animais jovens;
- b) Evitar o uso de fontes de água comunais, proteger as fontes de água na exploração;

- c) Evitar áreas alagadas, promovendo uma correcta drenagem ou p.e. instalando boia reguladora do nível da água nos bebedouros, evitando condições de sobrevivência de agentes patogénicos no ambiente (*Brucella* spp., *Leptopira* spp., fascíolas, etc.). Vedar os pontos de água potencialmente contaminados;
- d) Fazer um correcto maneio das novilhas fornecendo uma alimentação suficiente e de qualidade e evitando quanto possível o seu contacto com vacas em última fase de gestação. Esta medida afigura-se de grande importância uma vez que tanto para a leptospirose como para a clamidiose, a longa duração das épocas de parto foi identificada como factor de risco. Não é viável, num sistema de produção de leite virado para a indústria de lacticínios, promover uma concentração de partos, que teria como objectivo diminuir no tempo a possibilidade de contacto de animais susceptíveis com excreções de doses infectantes de microrganismos que ocorre durante o parto ou aborto, assim, a separação das novilhas e o cuidado para que estas não contactem com vacas em parição ou abortadas afigura-se fundamental;
- e) Utilizar a Inseminação Artificial e garantir a sanidade do touro utilizado;
- f) Evitar a utilização de touro emprestado ou garantir que a exploração de origem tenha os mesmos níveis sanitários;
- g) Correcto maneio do parto, isolando as fêmeas em parição ou abortadas, por um período de 8 dias, destruindo fetos secundinas e camas contaminadas, desinfectando, quando possível, o local do parto ou sítio onde é encontrado o feto abortado. Esta é mais uma das medidas que impedirá o contacto de animais susceptíveis com materiais infectantes;
- h) Notificar abortos aos serviços veterinários e facilitar a recolha de amostras;
- i) Adopção de uma política de “exploração fechada”, submetendo a quarentena e testagem os animais adquiridos e garantindo a certificação sanitária das explorações de origem. Evitar a aquisição de fêmeas nas 2 semanas pós-parto;
- j) Controlo de roedores eficaz, aplicando as medidas atrás descritas de prevenção (higiene geral, eliminação de resíduos de alimentos, protecção de armazéns de alimentos e fontes de água) e de redução populacional, planificadas e monitorizadas;
- k) Colaborar prontamente nas campanhas de rastreio e vacinação contra a brucelose ou outras que venham a ser indicadas;
- l) Isolamento de animais suspeitos de doença e notificação ao médico veterinário assistente;

m) Cuidados de protecção pessoal em todas as ocasiões de risco, em especial durante a assistência a partos ou na manipulação de vacas abortadas e produtos do parton ou aborto. Lavar e desinfecar as mãos antes de comer, beber e fumar;

n) Evitar o consumo de leite e derivados crus como por exemplo o queijo de leite cru, seja ele proveniente de vaca ou de outras espécies, com menos de 60 dias de cura. Realizar a protecção das fontes de água para consumo humanos e protecção das residências contra roedores e outras pragas.

B – Aos Médicos Veterinários de Associações Agrícolas, assistentes clínicos da exploração:

a) Praticar uma activa vigilância das explorações para estas zoonoses e outras doenças importante para o sistema de produção, recolhendo amostras e tentando estabelecer um diagnóstico causal;

b) Colaborar com os serviços veterinários, em inquéritos epidemiológicos, em caso de surto;

c) Colaborar na investigação de abortos;

d) Fazer o tratamento com quimioterapia ( $\beta$ -lactâmicos, tetraciclínas, aminoglicosidos) dos animais com infecção aguda por *Leptospira* spp.;

e) Em surtos de aborto enzoótico por *C. abortus*, após a confirmação laboratorial por isolamento do agente, promover a vacinação da manada.

f) Dialogar, sempre que possível com o agricultor, no sentido de veicular mensagens de educação para a saúde e de correcção de práticas de manejo que possam constituir factores de risco para a transmissão destas doenças infecciosas entre os animais e destes para o Homem;

g) Cuidar da protecção pessoal e da protecção do pessoal da brigada.

C – A Direcção Regional do Desenvolvimento Agrário realiza importantes tarefas de sanidade animal, dando cumprimento ao actual programa obrigatório de erradicação da brucelose bovina, incluindo a identificação e registo animal, recolha de sangues para o diagnóstico da brucelose, marcação e abate dos animais seropositivos, vacinação sistemática de animais de reposição, colheita de órgãos aos animais submetidos a abate sanitário para a confirmação da infecção e atribuição da classificação sanitária das explorações. Para além destas actividades, deveriam ser tomadas as seguintes medidas:

- a) Inclusão no Plano Global de Sanidade Animal da RAA a identificação e monitorização regular dos animais de produção e de todas as outras espécies susceptíveis, inclusive os cães das explorações infectadas, para a pesquisa da brucelose, da leptospirose e da clamidiose;
- b) Tornar obrigatório o registo das manadas conjuntas no SDASM, mesmo tratando-se de marido e mulher, para evitar que de uma manada em sequestro possam sair animais registados no nome do cooperante cujos animais não aparecem como infectados;
- c) Verificar que os criadores dêem cumprimento ao estipulado na lei relativo ao registo dos animais comprados, no espaço de trinta dias, o que permitirá um mais eficaz controlo do movimento dos bovinos;
- d) Fazer a identificação dos comerciantes de bovinos que circulam pelo concelho, bem como dos respectivos veículos para exigir que regularmente façam a limpeza e desinfecção dos mesmos para a redução das fômites;
- e) Fazer o mapeamento das explorações, localizando as infectadas com estas doenças, para facilitar o estabelecimento de uma apertada vigilância epidemiológica, com vista a uma futura classificação de área indemne, no caso da brucelose;
- f) Promover a notificação de aborto (fundamental na epidemovigilância destas doenças) e instituir um prémio ao criador para a entrega do aborto nos SDASM, ao médico veterinário municipal ou ao assistente da exploração para o isolamento laboratorial do agente causal com a biotipificação do microrganismo e identificação das potenciais fontes de infecção;
- g) Promover um programa de saneamento de touros, submetendo-os ao diagnóstico destas doenças abortivas zoonóticas que apresentam transmissão venérea e de outras importantes para o sistema de produção, nomeadamente: i) provas de seroaglutinação anti-*Brucella*; ii) prova serológica para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* ou em alternativa, a administração de 25 mg/kg pv de estreptomicina, por duas vezes, com 14 dias de intervalo; iii) pesquisa serológica de leucose bovina enzoótica; iv) pesquisa de anticorpos anti-IBR-IPV; v) prova de isolamento do vírus para pesquisa de BVD; vi) pesquisa de anticorpos anti-*Mycoplasma mycoides*; vii) pesquisa de anticorpos anti-*Mycobacterium paratuberculosis*; viii) prova intradérmica de reacção à tuberculina; ix) pesquisa por cultura de *Campylobacter foetus* numa amostra de material de lavagem prepucial; x) pesquisa de *Tritrichomonas foetus* numa amostra de material de lavagem prepucial.
- h) Exigir a importação de reprodutores livres destas doenças, de acordo com as normas internacionais incritas no Código Zoosanitário para os Animais Terrestres do OIE. Para a leptospirose, o mais recente Código, encontra-se em revisão, mas anteriores indicações

requeriam a ausência de sinais clínicos no dia do embarque, permanência em exploração sem sinais clínicos nos 90 dias antecedendo a exportação e tenham recebido duas tomas de 25 mg/kg pv de dihidroestreptomicina, 14 dias antes do embarque e no dia do embarque. Requer-se ainda uma prova TAM negativa a títulos 1:100 nos serovares acordados pelos interessados (OIE, 1992).

i) Reportar a ocorrência de zoonoses aos serviços de saúde;

Em relação à brucelose, progressos poderiam ser obtidos com as seguintes medidas:

j) Determinação da DRDA no abate compulsivo imediato dos animais positivos à brucelose e no pagamento atempado da indemnização;

k) Reforço dos inquéritos epidemiológicos nas explorações infectadas com brucelose para a rápida identificação das fontes de infecção e da possibilidade de disseminação a outras explorações;

l) Promoção de abates totais nas explorações infectadas com brucelose, sempre que a situação se justifique;

m) Vigilância contínua de explorações leiteiras, em especial das que regularmente comprem e vendam animais, através do Teste do Anel em Leite;

Em relação à leptospirose:

n) Prevenir a infecção dos animais domésticos contra as *Leptospira* spp., principalmente os cães das manadas, vacinando-os contra infecções endémicas;

o) Continuar o apoio à investigação e à procura de soluções para o controlo da leptospirose.

D – As Câmaras Municipais e o Médico Veterinário Municipal devem colaborar:

a) Na monitorização pelos serviços municipalizados da água que chega às explorações agrícolas e criar um sistema de fornecimento de água tratada às mesmas;

b) Promover e melhorar sistemas de recolha e eliminação de resíduos e de controlo ambiental, como medida preventiva para a diminuição da densidade de roedores;

c) Promover activamente e gerir as campanhas de controlo químico de roedores;

d) Fazer a identificação e o mapeamento dos factores de risco ambiental para a leptospirose ou focos de insalubridade, tais como: proximidade de esgotos, locais alagadiços durante as cheias, ribeiras, vales, lixeiras e colectores do lixo, silos e outras fontes de alimentos para pragas;

e) Colaborar na criação e funcionamento de um sistema de notificação permanente e recolha de fetos abortados e seu reecaminhamento para o SDASM;

- f) Colaborar no acompanhamento das explorações em sequestro relativamente à brucelose ou nas explorações suspeitas para a recolha de amostras de sangue nos 30 dias após o parto ou o aborto para a confirmação da infecção por estas doenças;
- g) Colaborar em campanhas de prevenção de zoonoses através da vacinação de animais de espécie susceptíveis ou na implementação de outras medidas julgadas necessárias pelos serviços veterinários oficiais;
- h) Colaborar na organização e desenvolver acções de educação sanitária, em colaboração com os serviços de saúde e os serviços veterinários;
- i) Promover activamente o controlo dos circuitos de produção e comercialização de produtos de origem animal, eliminando as fontes de transmissão ao Homem destas doenças, por via alimentar. Garantir a implementação de sistemas pró-activos de segurança alimentar.

E – Os Serviços de Saúde poderiam colaborar no controlo destas zoonoses, com as seguintes medidas:

- a) Organização de programas dirigidos à população em geral de formação para a saúde relativa a zoonoses, reconhecimento das doenças, suas formas de transmissão, principais medidas de prevenção e controlo e protecção pessoal, como p.e., evitar nadar em cursos de água susceptíveis de estarem contaminados por leptospiras patogénicas; não consumir produtos lácteos não pasteurizados (prevenção da brucelose); evitar o contacto, durante a gravidez, com animais gestantes principalmente durante o período de partos (prevenção da clamidiose).
- b) Planificação de acções de formação dirigidas a grupos profissionais de risco (agricultores, trabalhadores de matadouro e outros), reforçando as medidas de protecção pessoal, e a crianças em idade escolar;
- c) Realizar acções de vigilância sistemática sobre certos grupos de risco como veterinários, auxiliares e trabalhadores de matadouro;
- d) Fazer uma investigação sistemática de todos os casos de infecção humana, em especial no que diz respeito à determinação da origem da infecção (alimentos ingeridos, contacto com animais, tipo de trabalho ou actividade e a história recente de viagens);
- e) Determinar as estirpes circulantes, no caso da leptospirose, associando-os ao risco de transmissão a partir de diversas fontes;
- f) Reportar os surtos de zoonoses ao Médico Veterinário Municipal e aos serviços veterinários.

As zoonoses abortivas de origem bacteriana revestem-se de importância fundamental, não só pelo risco que constituem para a saúde humana como pelas perdas económicas que podem originar para um dos principais sectores económicos do concelho de Nordeste: é necessário, pois, que produtores e serviços veterinários e de saúde entendam a sua importância e invistam no controlo e mesmo na erradicação destas doenças, num espírito de verdadeira colaboração intersectorial.

## BIBLIOGRAFIA

- Acha, P.N. Szyfres, B. (1980). Leptospirose, in Zoonoses et Maladie Transmissibles. Communes à l'Homme et aux animaux. 2<sup>a</sup> edição, Office International des Epizooties, **57**: 90-98.
- Alonso-Andicoberry C.L., García-Peña F.J., Ortega-Mora L.M. (2001). Epidemiologia, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina (evisión). Prod. Sanid. Anim. Vol., **16** (2): 206-225.
- Austvetplan (2005). Bovine brucellosis. Version 3.0 Australian Veterinary Emergency Plan. Disease Strategy. Consultado em: <http://www.animalhealthaustralia.com.au/fms/Animal%20Health%20Australia/AUSVETPLAN/bruce3final.pdf>
- Amaral, P.M., Forjaz, V.H. (2004). Plano Municipal de Emergência do Concelho de Nordeste. Ed. Observatório Vulcanológico e Geotérmico dos Açores. Ponta Delgada.
- Barros, S.V.A. (2003). Isolamento de *Leptospira* spp. em rins de bovinos abatidos na Ilha Terceira. [relatório]. Angra do Heroísmo: Departamento de Ciências Agrárias. Universidade dos Açores, 2003.
- Bas, S., Muzzin, P., Ninet, B., Bornand, J.E., Scieux, C. e Vischer, T.L. (2001). Chlamydial Serology: Comparative Diagnostic Value of Immunoblotting, Microimmuno fluorescence Test, and Immunoassays Using Different Recombinant Proteins as Antigens. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 39, No. 4: 1368–1377
- Borrego, S.B. (2006). Estudo epidemiológico da Leptospirose Canina na Ilha de S. Miguel (Açores) [dissertação]. Faculdade de Medicina Veterinária, U. Técnica de Lisboa.
- Buendía, A.J., Cuello, F., Del Rio, L., Gallego, M.C., Caro, M.R., Salinas, J. (2000). Field evaluation of a new commercially available ELISA based on a recombinant antigen for diagnosing *Chlamydia abortus* (*Chlamydia psittaci* serotype 1) infection. *Veterinary Microbiology*, **78**: 229-239.
- Cavaco, L.M.G. (2003). Aplicação de técnica serológica e de biologia molecular ao diagnóstico da Leptospirose. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.

- Cavirani, S., Cabassi, C.S., Donofrio, G., De Iaco, B., Taddei, S., Flammini, C.F. (2001). Association between *Chlamydia psittacy* seropositivity and abortion in Italian dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, **50**: 145-151.
- Clemente, M.L., Barahona, M.J., Andrade, M.F., Botelho, A. (2007). Late-term abortions in Ruminants due to *Chlamydiae* infections in Portugal. Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, Lisboa.
- Collares Pereira, M., Santos-Reis, M., Oom, M.M., Gama, M.J.A., Amaral, J. (1996). Os roedores como factores de risco na transmissão das leptospiros. In: Simpósio. Os roedores na Agricultura- Protecção da produção agrícola. Edição do Ministério da Agricultura e desenvolvimento Rural e das Pescas. Direcção Geral da Protecção das culturas. pp. 158-168.
- Collares Pereira, M., Korver, H., Terpstra, W.J., Santos-Reis, M., Ramalinho, M.G., Mathias, M.L., Oom, M.M., Fons, R., Libois, R., Petrucci-Fonseca, F. (1997). First epidemiological data on pathogenic leptospires isolated on the Azorean islands. *Eur. J. Epidemiol.*, **13**: 435-441.
- Collares Pereira, M., Korver, H., Cao Thi, B.V., Santos-Reis, M., Bellenger, E., Baraton, G., Terpstra, W.J. (2000a). Analysis of *Leptospira* isolates from mainland Portugal and the Azores islands. *FEMS Microbiol Lett*, **185** (2): 181-7.
- Collares Pereira, M., Mathias, M.L., Terpstra, W.J., Ramalinho, M.G., Duarte-Rodrigues, P. (2000b). Rodents and *Leptospira* transmission risk in Terceira island (Azores). *Eur. J. Epidemiol.*, **16**: 1151-1157.
- Collares Pereira, M., Gonçalves, L, Santos Reis, M. (2007). Epidemiologia e Controlo da Leptospirose na Região Autónoma dos Açores. Relatório Científico 2004-2007.
- Coodenadoria de Defesa Agropecuária (2005) Epidemiologia e Profilaxia da Brucelose Bovina e Bubalina [serial on line visitado a 28-02-2005]. Disponível em: [http://www.cda.sp.gov.br/DocEst/Docs/bru/info\\_doc\\_bru1.htm](http://www.cda.sp.gov.br/DocEst/Docs/bru/info_doc_bru1.htm).
- Corrêa de Sá, M.I. (1988). Brucelose. Diagnóstico, Controlo e Erradicação. *A Vaca Leiteira*, Ano II, nº **13** (Mar/Abril): 22-27.
- DEFRA (2008). Veterinary Surveillance Strategy Consultado em: <http://www.defra.gov.uk/animalh/diseases/vetsurveillance/>. Visitado em 2008-03-27.
- DGS (2007). Direcção-Geral de Saúde. Doenças de Declaração Obrigatória 2002-2006. Consultado em <http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i008987.pdf>
- DGV (2007). Programa de erradicação da brucelose dos bovinos 2008 - Portugal Direcção-Geral de Veterinária. Lisboa.

- EFSA (2006). Scientific opinion on “Performance of Brucellosis Diagnostic Methods for Bovines, Sheep and Goats”. *EFSA Journal* (2006), **432**: 1-44.
- Ellis, W.A. (1986). The diagnosis of leptospiroses in farm animals, In: *The Present State of Leptospirosis Diagnosis and Control* (W.A. Ellis & T.W.A. Little, eds.), Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, pp.13-31.
- Ellis, W.A. (1987). Leptospirosis - An emerging disease in man and animals, In: *Animal Health: The Control of Infection, Proceedings of a Meeting Held in the Royal Irish Academy, Dublin*. J. P. Arbuthnott, eds., pp. 8-19.
- Ellis, W.A. (1994). Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **10** (3): 463-478.
- Ellis, W.A. (1998). Equine Leptospirosis. *Equine Infectious diseases VIII: In: Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Conference*. Dubai, R & W Publications (Newmarket) Ltd, Newmarket, UK, pp.155-158
- Ellis, W.A. (2006). Leptospirosis in Animals. Azores Leptospirosis Seminar. Abstract book. Ponta Delgada 24-25 November 2006, pp.17.
- Everett, K.D.E. (2000). *Chlamydia* and *Chlamydiales* more than meets eye. *Veterinary Microbiology*, **75**: 109-126.
- Faine, S., Adler, B., Bolin, C., Perolat, P. (1999). *Leptospira and Leptospirosis*. 2nd Ed. Melbourne (Austrália): MediSci 1999.
- FAO (2003). Guidelines for coordinated human and animal brucellosis surveillance. Consultado em: <http://www.fao.org/docrep/006/Y4723E/y4723e08.htm> - 24k
- FAO (2008). Bovine Brucellosis. AGA Disease Cards. Consultado em: <http://www.fao.org/AG/AGAINFO/SUBJECTS/en/health/diseases-cards/brucellosi-bo.html>, em Março de 2008.
- Figueiredo, F., Goncalves, L, Caldeira, R., Rosa, A., Mota, F.M., Paiva, C., Vieira, M.L. (2006). Leptospirosis in Animals. Azores Leptospirosis Seminar. Abstract book. Ponta Delgada 24-25 November 2006, pp. 3-4.
- Flor, L. (1998). Leptospire: casuística do LRV. Seminário “Os mamíferos como factor de risco na saúde”. Angra do Heroísmo, 28-29 Setembro de 1998. Comunicação oral.
- Flor, L., Resende, S., Barros, S., Silveira, J. (2006). Leptospirosis in Animals. Azores Leptospirosis Seminar. Abstract book. Ponta Delgada 24-25 November 2006, pp.35-36.

- Hartskeerrl, R. (2006). Molecular and Convencional Diagnosis. Azores Leptospirosis Seminar. Abstract book. Ponta Delgada 24-25 November 2006, pp.7-8.
- Héchar, C., Grépinet, O. (2003). 19 DNA vaccination against *Chlamydiaceae*: current status and perspectives. Unité de Pathologie Infectieuse et Immunologie, INRA-Centre de Tours, 37380 Nouzilly, France.
- JunBae, J, Deraves, F.J., Kim, T.Y., Kaltenboeck, B. (2004). High Prevalence of Natural *Chlamydophila* Species Infection in Calves. *J Clinical Microbiology*, Dec. 2004, pp 5664-5672.
- Kaltenboeck, B., Hehnen, H.-R., Vaglenov, A. (2005). Bovine *Chlamydophila* spp. Infection: Do We Underestimate the Impact on Fertility? *Veterinary Research Communications*, **29** (suppl.1): 1-15.
- Ko, A., Reis, M. (2006). Epidemiology of the disease: the Brazilian experience. Leptospirosis in Animals. Azores Leptospirosis Seminar. Abstract book. Ponta Delgada 24-25 November 2006, pp.1-2
- Levett, P. (2001). Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, **14**(2): 296–326
- Longbottom, D., Coulter, E.J. (2003). Animal Chlamydioses and Zoonotic Implications. EH26 OPZ, UK. *J. Comp. Path.*, **128**: 217-244.
- Longbottom, D., Fairley, S., Chapman, S., Psarrou, E., Vretou, E., Livingstone, M. (2002). Serological Diagnosis of Ovine Enzootic Abortion by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with a Recombinant Protein Fragment of Polymorphic Outer Membrane Protein POMP90 of *Chlamydophila abortus*. *J. Clinical Microbiology*, Nov. 2002: 4235-4233.
- Longbottom, D., Livingstone, M. (2006). Vaccination against chlamydial infections of man and animals. *Veterinary Journal*, **171**: 263-275.
- LRV (2007). Procedimento Técnico do LRV para a Pesquisa de *Leptospira* pela TAM, DRDA, Vinha Brava, Ilha Terceira, Açores, pp.1-4.
- Martins, H. (2007). Dados relativos à prevalência da brucelose bovina nos Açores (explorações e animais). DRDA-Direcção de Serviços Veterinária, comunicação pessoal.
- Martins, L. (2007). Situação epidemiológica da leptospirose bovona, canina e humana na área rural do Munic. Pirassununga, SP. Consultado em: [http:// www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/101034/tde-27082007-104655/](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/101034/tde-27082007-104655/) em Abril de 2008.
- Morrow, D.A. (1986). Current theriogenology. 2nd Ed. Phililadelphia. WB Saunders.
- Nicoletti, P. (1980). The Epidemiology of Bovine Brucellosis. Advancesin Veterinary

- Science and Comparative Medicine, vol. **24**: 69-98.
- Nielsen, K., Smith, P., Gall, D., Perez, B., Cosma, C., Mueller, P., Trottier, J., Cote, G., Boag, L., Bosse, J. (1996). Development and validation of an indirect enzyme immunoassay for detection of antibody to *Brucella abortus* in milk. *Veterinary Microbiology*, **52**: 165-173.
- OIE (1992). Leptospirosis (B6), In: Manual of Standards for Diagnostic Techniques and Requirements for Biological Products for List A and B diseases. Office International Des Epizooties (Ellis, W. A., eds.) Vol II, Paris, pp.1-11.
- OIE (2002). Manual of Standards Diagnostic Tests and Vaccines. 4<sup>a</sup>. Ed. Office International des Epizooties. Paris.
- OIE (2005). Zoonotic Chlamydiae from Mammals. OIE, The Center for Food Security & Public Health. Consultado em: <http://www.cfsph.iastate.edu>
- OIE (2007). Leptospirosis. Office International Des Epizooties. The Center for Food Security & Public Health. Consultado em: <http://www.cfsph.iastate.edu>
- OMS (1987). Guide pour la lutte contre la Leptospirose, (Faine, S., ed), Org. Mond. Santé: publication offset n° 67, Genève.
- Pacheco, M., Paiva, C., Collares-Pereira, M., Vieira, M.L., Mota F.M. (2000). Contribuição para o estudo integrado da Leptospirose humana e animal na ilha de S. Miguel. Separata da *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas*, **23** (3): 77-84.
- Paiva-Cardoso, M.N.M (2000). Análise da ocorrência da leptospirose em bovinos abatidos em Trás-os-Montes. Dissertação de Mestrado em Produção Animal. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.
- Pinto, C., Lima, R., Lousã, A.C., Almeida, V., Melo, M., Vaz, Y., Fonseca, I.N., Lauren, D.R. (1999). Bracken fern-induced bovine enzootic haematuria in S. Miguel island, Azores. IV Int. Bracken Conference. University of Manchester. Special publication, **4**: 136-140.
- Rocha, T. (1991). A Infecção por *Leptospira interrogans* Sorovar hardjo em Bovinos. *Rev. Veterinária Técnica*, Dez: 40-44.
- SNIRB (2005). Sistema Nacional de Investigação e Registo de Bovinos. Consultado em <http://www.SNIRB.pt>
- SRAF-DRDA (2007). Relatório de Actividades – 1º Trimestre 2007. Angra do Heroísmo, Açores.
- SRAF-DRDA (2008). Manual de Boas Práticas. Angra do Heroísmo, Açores.
- SREA (2003). Censos 2001. Serviço Regional de Estatística dos Açores. Ponta Delgada.

## **ANEXOS**

**Anexo I – A LEPTOSPIROSE HUMANA NOS AÇORES (DGS, 2007)**

Região	População	Casos declarados de leptospirose	Racio/100.000
Norte	3741066	3	0,08
Centro	2384170	3	0,13
Lisboa	2786662	1	0,04
Alentejo	765128	2	0,26
Algarve	419188	0	0,00
<b>Total Continente</b>	<b>10096214</b>	<b>9</b>	<b>0,09</b>
<b>Açores</b>	<b>242630</b>	<b>32</b>	<b>13,19</b>
Madeira	245502	0	0,00
<b>Portugal</b>	<b>10584346</b>	<b>41</b>	<b>0,39</b>

## Anexo II – INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

### “ESTUDO DAS ZONOSSES DE ORIGEM BACTERIANA VEICULADAS POR BOVINOS NO CONCELHO DE NORDESTE, S. MIGUEL - AÇORES”

D.R. Desenvolvimento Agrário / Laboratório R. Veterinário / Faculdade de Medicina Veterinária-UTL

INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO Nº _____	Data ___/___/___
IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTOR	E.S. _____
Nome _____	Expl. Nº _____
Morada _____	
_____	Telef. _____
Localização da exploração _____	

Nº de parcelas \_\_\_\_\_ Principais localizações \_\_\_\_\_

Altitude \_\_\_\_\_

Área Total Pastagem: ≈ \_\_\_\_\_ alqueires

Manada conjunta (S/N) \_\_\_\_\_ Nome \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Tel. \_\_\_\_\_ Expl. Nº \_\_\_\_\_

Nome \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Tel. \_\_\_\_\_ Expl. Nº \_\_\_\_\_

Aluga os pastos onde costumam estar as suas vacas(S/N) \_\_\_\_\_

Proprietários que normalmente transitam nos seus pastos \_\_\_\_\_

**Pastagens utilizadas** (discriminar se as pastagens utilizadas pelas novilhas são diferentes daquelas utilizadas pelas vacas)

- Nº de parcelas \_\_\_\_\_
- Localização \_\_\_\_\_
- Altitude \_\_\_\_\_
- Espécies forrageiras predominantes \_\_\_\_\_
- Plantas tóxicas conhecidas presentes \_\_\_\_\_

#### Fertilização das pastagens

- Salitre \_\_\_\_\_ (Kg / alqueires) \_\_\_\_\_ / ano
- Adubo \_\_\_\_\_ (Kg / alqueires) \_\_\_\_\_ / ano

#### Maneio alimentar

- Forragens utilizadas: Pastoreio \_\_\_\_\_; Silagem de erva \_\_\_\_\_; Silagem de milho \_\_\_\_\_; Feno \_\_\_\_\_;
- Qualidade: Estado de maturidade na colheita \_\_\_\_\_; Cor \_\_\_\_\_; Infestantes presentes \_\_\_\_\_; Presença de humidade \_\_\_\_\_; Silagem estragada \_\_\_\_\_.

**Possui caprinos?** \_\_\_\_\_ Faz sanidade deles? \_\_\_\_\_  
 Transitam cabreiros nas suas pastagens? \_\_\_\_\_ Nome \_\_\_\_\_

Há grotas? \_\_\_\_\_ Há ribeiras? \_\_\_\_\_  
 Presença de Fauna Silvática \_\_\_\_\_ (Ratos, milhafres, gaivotas, outros)

**Estrutura da Manada ( e cães)**

VACAS	NOVILHAS	VITELAS	VITELOS	NOVILHOS
TOUROS	OVELHAS	CABRAS	CÃES	OUTROS

**Maneio de Novilhas**

Pastam separadas das vacas? (S/N) \_\_\_\_\_ Pastagens altas (> 400 m)? (S/N) \_\_\_\_\_  
 Entram na manada antes de parirem? (S/N) \_\_\_\_\_ Depois de parirem? (S/N) \_\_\_\_\_

**Maneio dos Vitelos**

Mamaram colostro? (S/N) \_\_\_\_\_ Quanto tempo? \_\_\_\_\_ Bebem que tipo de leite \_\_\_\_\_ (V/S)  
 Com que idade foram separadas da mãe? \_\_\_\_\_

**Maneio Reprodutivo**

Inseminação artificial? (S/N) \_\_\_\_\_ Transferência de embriões? (S/N) \_\_\_\_\_  
 Touro da exploração? (S/N) \_\_\_\_\_ Touro emprestado? (S/N) \_\_\_\_\_  
 Nome \_\_\_\_\_ Expl. Nº \_\_\_\_\_

**Estado de fertilidade**

- a) Nº total de vacas cobertas \_\_\_\_\_
- b) Nº de vacas com 3 ou mais serviços \_\_\_\_\_
- c) Nº médio de serviços por serviço fecundante \_\_\_\_\_
- d) Média de dias entre o parto e 1ª cobrição \_\_\_\_\_
- e) Média de dias entre o parto e a cobrição fecundante \_\_\_\_\_
- f) Idade ao 1ª parto \_\_\_\_\_
- g) Taxa de abortos \_\_\_\_\_
- h) Duração média da lactação (dias) \_\_\_\_\_

**Nº de fêmeas que pariram no ano anterior?** \_\_\_\_\_

**Distribuição mensal de partos**

JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ

Ocorrem retenções placentárias? (S/N) \_\_\_\_\_ N° ≈ retenções \_\_\_\_\_

Ocorrem abortos? (S/N) \_\_\_\_\_ N° ≈ abortos \_\_\_\_\_

Ocorrem Metrites agudas? (S/N) \_\_\_\_\_

Outros efeitos clínicos \_\_\_\_\_

N° VACA ABORTADAS	TEMPO DE GESTAÇÃO	DATA DO ABORTO

Separa as vacas secas? (S/N) \_\_\_\_\_ Junta-as com as novilhas? (S/N) \_\_\_\_\_

Ocorrem abortos nas vacas secas? (S/N) \_\_\_\_\_

Local do parto: \_\_\_\_\_ (manada / separada) Caso separe, onde o faz? \_\_\_\_\_

#### Destino das secundinas

QUEIMA	ENTERRA	CÃES	IGNORA

Colheita de sangue ao cão da manada? \_\_\_\_\_

**Problemas ou doenças observadas nas vacas não abortadas ou novilhas:**

a) Nos 4 meses antecedentes ao surto de abortos \_\_\_\_\_

b) Desde o começo do surto de abortos \_\_\_\_\_

**Problemas ou doenças dos vitelos recém-nascidos, desde o início do surto de abortos:**

a) Natureza do problema \_\_\_\_\_

b) Taxa \_\_\_\_\_

**Vacinações: (S/N) \_\_\_\_\_**

**Em caso positivo, quais os programas de vacinação utilizados:**

TIPO DE VACINA	VACAS	NOVILHAS	VITELOS
Doenças			
Vacina utilizada			
Vias de administração			

### Reposição do efectivo

Usa novilhas da própria exploração? (S/N) \_\_\_\_\_

Importa novilhas? (S/N) \_\_\_\_\_

Compra novilhas a outros produtores? (S/N) \_\_\_\_\_

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

Idade dos animais adquiridos? \_\_\_\_\_ N° da mãe \_\_\_\_\_

Idade dos animais adquiridos? \_\_\_\_\_ N° da mãe \_\_\_\_\_

Idade dos animais adquiridos? \_\_\_\_\_ N° da mãe \_\_\_\_\_

**Compra animais na feira?** \_\_\_\_\_

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

**Compra nos Impérios?** \_\_\_\_\_

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

**É Mordomo?** (S/N) \_\_\_\_\_ De quem são os animais \_\_\_\_\_

### Saída de animais

	VITELOS		ADULTOS	
	N°	Idade	N°	Idade
Venda na exploração				
Venda na feira				
Auto consumismo				
Venda para Matadouro				
Venda para Viteleiros				
Venda a comerciantes				

### Locais de abeberamento

CÂMARA	FONTE	CHARCO	RIBEIRO	OUTRO

**PERFIL TÉCNICO DO ENTREVISTADO**

**Porque acha que tem brucelose**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Separou os positivos da restante manada? \_\_\_\_\_**

Houve vacas que abortaram entretanto? \_\_\_\_\_

**Sabe se a manada dos seus vizinhos têm brucelose? \_\_\_\_\_**

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

Nome do proprietário \_\_\_\_\_ N° Expl \_\_\_\_\_

Observações \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Anexo III – MAPA DAS EXPLORAÇÕES AGRÍCOLAS ESTUDADAS**