

Avaliação epidemiológica de Leptospirose em bovinos na região sudeste do distrito de Portalegre

Inês Saragoça Nunes Churro Correia

Enfermagem Veterinária

2025

Inês Saragoça Nunes Churro Correia

Avaliação Epidemiológica de Leptospirose Em Bovinos

Relatório de estágio curricular do tipo II – Introdução às Atividades de I&DE, apresentado para obtenção do grau de licenciado em Enfermagem Veterinária conferido pelo Instituto Politécnico de Portalegre

Orientador interno: Dr. Carolina Maria Balão da Silva

Orientador Externo: Dr. António Caldeira Patrício

Arguente: Jacinto José Carneio Gomes

Presidente do Júri: José Manuel Rato Nunes

Classificação: 17 valores

Escola Superior de Biociências de Elvas

2025

Agradecimentos

A concretização deste trabalho representa um esforço de 3 anos, 3 longos anos de muita aprendizagem, choro, risos e muitas partilhas tanto de bons como maus momentos, nem tudo foi um mar de rosas, no entanto foi graças ao apoio constante, ao incentivo para dar e fazer sempre o melhor de mim, com muitas correções e aperfeiçoamentos que chego agora ao fim desta etapa. Agradeço a todos aqueles que fizeram parte desta jornada tão especial que agora acaba.

Ao professor Miguel Minas, o meu sincero agradecimento pela oportunidade incrível que me deu de realizar o estágio num local verdadeiramente enriquecedor que foi a Alentejo XLvet's, onde permitiu que tivesse espaço para aprender, evoluir, consolidar conhecimentos e viver experiências incríveis.

Ao Dr. António e ao Dr. Sebastião, o meu mais profundo agradecimento. Foram ambos importantíssimos para esta jornada, mostraram-me com dedicação e esforço o verdadeiro significado da Enfermagem Veterinária no campo e o quão gratificante é. Foi através do vosso exemplo e ensinamentos que compreendi a realidade do trabalho de campo, o quão duro ele é, mas também a imensa gratidão que é fazer a diferença na vida dos animais e o quanto eles dependem de nós. Tudo o que sei fazer hoje, a vós o devo, à vossa exigência e sobretudo paciência.

À professora Carolina Silva, agradeço imenso todo o acompanhamento prestado ao longo deste percurso, foi com a sua orientação e atenção ao detalhe que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais que sempre me ensinaram a seguir os meus sonhos e a lutar por eles, sempre me encaminharam, aconselharam e estiveram em todos os momentos a lutar comigo para que eu alcançasse os meus sonhos e ambições, sem vocês não era a pessoa que sou hoje, obrigada pelo vosso amor incondicional, por nunca me deixarem desistir nas fases mais difíceis e por me darem coragem de lutar pelos meus sonhos.

Às minhas amigas Beatriz, Madalena, Iris, Mariana e Sofia, o meu mais sincero obrigada. Foram a minha família longe de casa, aquelas que estiveram sempre por perto ao longo destes 3 anos. Partilhámos noites longas e intermináveis de sessões de estudo,

muitas horas de conversa, risos e copos no Ponto de Encontro, atualmente Sal e Brasa, muitas aventuras por aldeias e terrinhas pelo Alentejo fora, muitos risos e muito choro. Obrigada por me fazerem sentir novamente em casa.

Para finalizar, agradeço-te a ti Eduardo, agradeço por teres sido um apoio constante ao longo deste percurso. Sempre me incentivaste a dar o meu melhor sem nunca desistir, estiveste presente em todos os bons momentos e partilhaste vitórias comigo, mas também me viste desesperada com frequências, trabalhos apresentações e nunca me deixaste desistir tendo sempre as palavras certas para os momentos certos.

Resumo

Com o objetivo de compreender de forma mais profunda o impacto da Leptospirose em bovinos na região do Alto Alentejo, procedeu-se à realização de um estudo de avaliação epidemiológica da doença, centrado na identificação dos serotipos de *Leptospira* mais prevalentes. O estudo incidiu sobre os concelhos de Elvas, Campo Maior, Monforte e Arronches, tendo decorrido durante os quatro meses correspondentes ao estágio curricular, entre fevereiro e junho de 2025. Recolheram-se e analisaram-se amostras biológicas em 11 explorações pecuárias, totalizando 83 animais. As fêmeas bovinas foram submetidas a testes serológicos (teste de aglutinação microscópica), enquanto alguns bezerros foram avaliados por PCR, através da análise de órgãos recolhidos post-mortem. Dos animais amostados, 67 (81%) revelaram resultado positivo para *Leptospira* spp., e os 16 restantes (19%) apresentaram resultado negativo. O serogrupo *L. Pomona* foi o mais detetado, representando 27% dos resultados positivos, seguido de *L. Mozdok* (23%) e *L. Pyrogenes* (13%). Estes três serogrupos concentraram mais de 78% das infeções identificadas, sugerindo uma predominância significativa destas variantes na região estudada. A diversidade dos serovares identificados reflete a presença de múltiplos hospedeiros de manutenção na região, reforçando a necessidade de uma abordagem integrada no controlo da leptospirose bovina. Estes dados apontam para a importância de estender a avaliação epidemiológica a outros concelhos do Alentejo, com vista à implementação de medidas eficazes de controlo e prevenção da propagação da doença.

Palavras-chave: Alto Alentejo; Leptospirose bovina; MAT; PCR; seroprevalência; zoonose.

Abstract

With the aim of gaining a deeper understanding of the impact of leptospirosis in cattle in the Alto Alentejo region, an epidemiological evaluation study of the disease was carried out, focusing on the identification of the most prevalent *Leptospira* serotypes. The study focused on the municipalities of Elvas, Campo Maior, Monforte and Arronches, and took place during the four months of the curricular internship, between February and June 2025. Biological samples were collected and analyzed from 11 livestock farms, totaling 83 animals. Female cattle were subjected to serological testing (microscopic agglutination test), while some calves were evaluated by PCR through organ analysis collected post-mortem. Of the animals sampled, 67 (81%) tested positive for *Leptospira* spp., and the remaining 16 (19%) were negative. The *L. Pomona* serogroup was the most frequently detected, accounting for 27% of the positive results, followed by *L. Mozdok* (23%) and *L. Pyogenes* (13%). These three serogroups accounted for over 78% of the infections identified, suggesting a significant predominance of these variants in the studied region. The diversity of identified serovars reflects the presence of multiple maintenance hosts in the area and reinforces the need for an integrated approach to controlling bovine leptospirosis. These findings highlight the importance of extending the epidemiological assessment to other municipalities in the Alentejo region, in order to implement effective measures for the control and prevention of the spread of the disease.

Key words: Alto Alentejo; Bovine leptospirosis; MAT; PCR; seroprevalence; zoonosis

Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

ECDC- Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

IPMA- Instituto Português do Mar e da Atmosfera

MAT- Teste de Aglutinação Microscópica

mm – Milímetro

ml - Mililitros

PCR- Reação em Cadeia de Polimerase

µm – Micrómetro

WOAH – World Organisation for Animal Health

Índice Geral

Contents

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Abreviaturas, Siglas e Acrónimos.....	v
Índice Geral.....	vi
Índice de Figuras.....	viii
Introdução e Objetivos.....	I
1.1. Introdução.....	I
1.2. Objetivos.....	2
2. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1 História.....	3
2.2 Etiologia.....	3
2.3 Serovares.....	5
2.3 Epidemiologia.....	7
2.3.1 Situação epidemiológica na Europa e em Portugal.....	8
2.4 Transmissão.....	9
2.5 Sinais clínicos.....	10
2.6 Diagnóstico.....	12
3. Materiais e Métodos.....	14
3.1. Materiais.....	14
3.2. Métodos.....	16
3.2.1 Teste de Aglutinação Microscópica (MAT).....	17
3.2.2 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).....	18
4.1. Local Da Amostragem.....	19
4.2 Resultados das Amostras.....	20
4.3 Distribuição dos Serovares Detetados.....	28
4.4 Índices de precipitação dos meses de janeiro a junho.....	29
4.5 Achados macroscópicos após a realização das necropsias.....	31
5. Discussão.....	35
7. Bibliografia.....	44
Anexo I.....	48

Índice de Quadros

Quadro 1 Serogrupos/ Serovares e correspondentes hospedeiros de manutenção e Acidentais	6
Quadro 2 Resultados obtidos em cada exploração, POOL referente uma análise conjunta de amostras provenientes de dois animais diferentes.....	20
Quadro 3 Título de aglutinação da exploração B, fornecido pelo laboratório INIAV.....	21
Quadro 4 Título de aglutinação da exploração C, fornecido pelo laboratório INIAV	22
Quadro 5 Título de aglutinação exploração E, fornecido pelo laboratório INIAV.....	23
Quadro 6 Título de aglutinação da exploração G	24
Quadro 7 Título de aglutinação da exploração H, fornecido pelo laboratório INIAV	25
Quadro 8 Título de aglutinação da exploração I, fornecido pelo laboratório INIAV	26
Quadro 9 Título de Aglutinação da exploração K, fornecido pelo laboratório INIAV	27
Quadro 10 Resultado dos PCR's, fornecidos pelo laboratório INIAV	27

Índice de Figuras

Figura 1 Estrutura da <i>Leptospira</i> patogénica.	4
Figura 2 Procedimento da recolha de amostras: A- Recolha de sangue em tubo seco para posterior análise; B- Urina retirada através de cistocentese com a utilização de seringa estéril, onde se pode verificar a presença de Hemoglobínúria; C- Luva de palpação retal estéril utilizada no campo para armazenar amostras de órgãos.....	16
Figura 3 Fotomicrografia que mostra uma título positivo ($\geq 1:100$) do teste de MAT para <i>Leptospira</i>	17
Figura 4 Mapa representativo das localidades das 11 explorações, nos concelhos de Elvas, Campo Maior, Monforte e Arronches.....	19
Figura 5 Serovares/serogrupos detetados pelo método de diagnóstico de referência MAT nas amostras obtidas em bovinos da região do Alto Alentejo	28
Figura 6 Valores mensais da precipitação (em mm) observados entre janeiro e junho de 2025, comparados com a média climatológica estimada par ao período de referência 1991-2020.....	29
Figura 7 Mapas de Portugal Continental, índices de precipitação.	31
Figura 8 Órgãos de bezerros após realização da necropsia. A- Rim (seta grossa) e fígado (seta fina) com alterações na coloração e consistência; B- Rim saudável.....	32
Figura 9 Seringa contendo amostra de urina com aspeto hemático, sugestivo de hemoglobínúria ou hemoglobinúria	32
Figura 10 Necropsia de bezerro com cerca de 1 a 2 meses. A- Colocação do cadáver em decúbito dorsal para início da necropsia; B- Identificação de icterícia na gordura intra-abdominal e tecidos subcutâneos.....	33
Figura 11 Necropsia de bezerro com cerca de 6 meses. C- Primeira incisão abdominal no início da necropsia com evidente icterícia no peritoneu (seta grossa) e no tecido conjuntivo subcutâneo (seta fina); D- Gordura intra-abdominal com evidência de icterícia	33
Figura 12 Necropsias de bezerros com 1/2 meses e 3/4 meses. A- Bezerro com 1 a 2 meses sem sinais de icterícia; - Bezerro com 3 a 4 meses sem sinais de icterícia e com ligeira hepatomegália.....	34

Introdução e Objetivos

1.1. Introdução

A Leptospirose é uma doença zoonótica reconhecida globalmente que tem sido constantemente negligenciada devido aos desafios inerentes do seu diagnóstico clínico e laboratorial. Clinicamente, muitos animais infetados permanecem assintomáticos, mas continuam a eliminar a bactéria pela urina, contribuindo para a sua disseminação no ambiente. No diagnóstico laboratorial, o teste de aglutinação microscópica (MAT) apresenta limitações, nomeadamente reações cruzadas entre serogrupos. Em bovinos, a doença tem particular relevância económica, podendo causar abortos, infertilidade, redução na produção de leite (Bolin 2023; Santos 2022).

No decorrer dos 4 meses do estágio curricular, realizado na região do Alentejo, foi observado um aumento na mortalidade de bezerros, fenómeno que se associa à presença de Leptospirose em animais com sistema imunitário ainda imaturo e, por isso, menos eficaz no combate à infeção. Esta constatação reforça a necessidade de aprofundar o conhecimento sobre a epidemiologia da doença em Portugal, nomeadamente sobre os serovares circulantes.

Apesar da sua elevada importância no contexto da saúde animal e da produção pecuária, esta doença ainda representa um grande desafio, sobretudo em virtude da escassez de informações atualizadas e consolidadas acerca da sua epidemiologia, bem como das estratégias disponíveis para a sua profilaxia e controlo (Lilenbaum & Martins , 2014).

Durante as últimas décadas do século XX, diversos estudos epidemiológicos foram realizados em diferentes países, com predominância de abordagens sorológicas. Esses estudos possibilitam a construção de um panorama soro-epidemiológico regionalizado, identificando serovares específicos associados a rebanhos bovinos em distintas localidades (Lilenbaum & Martins , 2014).

A *Leptospira spp.*, uma bactéria espiroqueta com elevada diversidade genética, compreende atualmente cerca de 20 espécies e mais de 200 serovares. (Ijaz et al., 2018). Esta diversidade representa um desafio para a implementação de estratégias eficazes de

prevenção e controlo, especialmente nos sistemas de produção extensiva, típicos do Alentejo.

O presente estudo tem como objetivo identificar os serovares de *Leptospira* mais prevalentes em bovinos da região do Alentejo. Com base nessa identificação, pretende-se contribuir para a definição de estratégias de prevenção e controlo mais eficazes, que possam mitigar a mortalidade. Admite-se como hipótese que certos serovares estejam predominantemente associados aos surtos observados durante o estágio.

I.2. Objetivos

O objetivo geral do estágio foi avaliar a epidemiologia da Leptospirose em bovinos na região do Alto Alentejo, especificamente no distrito de Portalegre.

Quanto a objetivos específicos estes centram-se em recolher amostras de sangue de bovinos provenientes de 11 explorações na região do sudeste do distrito de Portalegre, com vista à realização de análises sorológicas para identificação de serovares de *Leptospira* através do método laboratorial complementar de aglutinação microscópica (MAT); proceder à recolha de amostras de urina, rim e fígado durante necropsias realizadas a bezerros mortos, com o objetivo de detetar a presença de *Leptospiras* por meio da técnica laboratorial da reação em cadeia de polimerase (PCR) e contribuir para a caracterização epidemiológica da doença na região estudada, apoiando futuras estratégias de profilaxia e controlo.

2. Revisão Bibliográfica

A Leptospirose é uma zoonose bacteriana de distribuição mundial com relevância para a saúde pública e a medicina veterinária. Causada por bactérias do género *Leptospira*, esta doença afeta uma ampla variedade de espécies animais. Este capítulo aborda os principais aspetos relacionados com a Leptospirose em bovinos, incluindo a sua história, etiologia, diversidade de serovares, epidemiologia e situação epidemiológica em Portugal, formas de transmissão e sinais clínicos.

2.1 História

As bactérias do género *Leptospira* foram inicialmente descritas em humanos em 1886 por Adolf Weil, sendo posteriormente associada ao agente *Leptospira interrogans*. Ao longo do século XX, a compreensão da sua transmissão zoonótica, particularmente através de roedores, levou ao reconhecimento da sua importância em saúde pública e na Medicina Veterinária. Em Portugal, a doença tornou-se de declaração obrigatória na década de 1950, sendo especialmente prevalente na região dos Açores (Paixão, 2010; Azevedo, 2013).

2.2 Etiologia

O agente causador da Leptospirose pertence à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae e ao género *Leptospira*. De acordo com a classificação taxonómica tradicional, baseada na patogenicidade, bem como na identificação de serogrupos e serovares as *Leptospiras* são agrupadas em duas grandes categorias: espécies patogénicas e saprófitas (Oliveira, Arsky, & Caldas, 2013).

Com um diâmetro de aproximadamente 0,1 µm e um comprimento variável entre 6 e 20 µm, as bactérias do género *Leptospira* são microrganismos helicoidais, flexíveis e altamente móveis. Esta mobilidade ativa manifesta-se através de dois padrões distintos de deslocamento: um movimento de translação e outro de natureza não translacional (Paixão, 2010). A capacidade de locomoção destas bactérias está diretamente relacionada com a presença de filamentos axiais, que se contraem periodicamente,

induzindo uma rotação helicoidal responsável pela movimentação da bactéria (Paixão, 2010).

Estruturalmente, estas bactérias apresentam uma estrutura de dupla membrana, composta por uma membrana citoplasmática e uma parede celular rica em peptidoglicanos, que se encontram estritamente associados. Na superfície externa, destacam-se os lipopolissacarídeos, que constituem o principal antígeno determinante desta bactéria (Paixão, 2010).

Outro aspeto morfológico relevante é a presença de extremidades em forma de gancho, uma característica que não só justifica a nomenclatura *interrogans*, como também contribui para a sua resistência ambiental, permitindo-lhe sobreviver fora do hospedeiro por 6 meses (Santos, 2022).

As bactérias do género *Leptospira* encontram-se tipicamente em ambientes quentes e húmidos, sendo o seu crescimento otimizado em temperaturas entre 28°C e 30°C e pH entre 7,2 e 8,0. Em contraste, a viabilidade da bactéria diminui acentuadamente a temperaturas inferiores a 10°C, não sendo capaz de resistir ao congelamento (Santos, 2022).

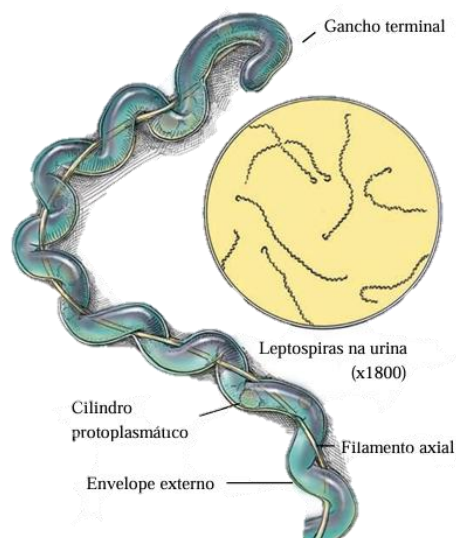


FIGURA I ESTRUTURA DA LEPTOSPIRA PATOGÉNICA.

ADAPTADO DE DUARTE (2015)

2.3 Serovares

A complexidade taxonómica do género *Leptospira* e a dificuldade da sua interpretação refletem a ampla diversidade genética e ecológica destas bactérias (Santos, 2022).

A classificação serológica tem como unidade básica o serovar, que é agrupado em serogrupos com base em semelhanças antigénicas. Cada serogrupo pode incluir múltiplos serovares que partilham determinados antígenos, o que pode originar reações cruzadas nos testes serológicos. No entanto, esta organização antigénica nem sempre corresponde à classificação genética, evidenciando a distinção entre taxonomia serológica (ou antigénica) e taxonomia genotípica (Santos, 2022).

Existem dois grandes grupos em que o género *Leptospira* se divide: o grupo *Leptospira interrogans*, que inclui todas as estirpes patogénicas, capazes de causar doença e compreende sete espécies: *L. borgenpetersenii*, *L. interrogans*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. weilli*, *L. kirschner*; e o grupo *Leptospira biflexa*, que engloba estirpes saprófitas, formado por estirpes não patogénicas, normalmente isoladas do ambiente (Paixão, 2010) e que inclui sete espécies: *L. idonii*, *L. biflexa (sensu stricto)*, *L. terpstrae*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii* (Santos, 2022).

O grupo *Leptospira interrogans* está organizada em 24 serogrupos, que englobam mais de 200 serovares, enquanto no grupo *Leptospira biflexa* foram descritos mais de 60 serovares. Esta complexidade taxonómica reflete a elevada variabilidade genética e genotípica do género, evidenciando a sua diversidade biológica e a adaptação a diferentes habitats ecológicos (Paixão, 2010).

Reconhecem-se, assim, dois sistemas distintos de classificação da bactéria *Leptospira*: um baseado em características antigénicas, em que o serovar é a unidade fundamental, agrupado em serogrupos conforme a semelhança antigénica; e um genético, baseado na análise do ADN, mais especificamente em sequências genómicas (Santos, 2022).

A semelhança antigénica entre estirpes de diferentes espécies pode originar reações cruzadas em testes de deteção de anticorpos, como o MAT (teste de aglutinação). Para

melhorar a organização e facilitar a identificação, os serovares são agrupados em serogrupos dentro de “complexos” genómicos. Essa abordagem resultou na adoção da designação *lato sensu*, permitindo distinguir entre o serogrupo (base serológica) e a espécie genómica homóloga (Paixão, 2010).

Nos bovinos, os serogrupos com maior relevância patogénica incluem *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. canicola*, os quais podem ser disseminados por hospedeiros não específicos. Em contraste, *L. hardjo*, outro dos serogrupos mais frequentes em bovinos, tem como hospedeiro específico, o bovino (Santos, 2022), apesar de também poder estar presente em pequenos ruminantes. Para melhor compreensão o quadro I apresenta uma síntese dos principais serogrupos e serovares de *Leptospira*, bem como os seus respetivos hospedeiros.

Quadro I Serogrupos/ Serovares de *L. interrogans* e correspondentes hospedeiros de manutenção e Acidentais

Adaptado de Santos (2022) e Castro (2010)

<i>Serogrupo</i>	<i>Serovar</i>	<i>Hospedeiro de Manutenção</i>	<i>Hospedeiro Acidental</i>
Bratislava	Bratislava	Porco, Ouriço, Cavalo	Cão
Canicola	Canicola	Cão	Porco e Vaca
Grippotyphosa	Grippotyphosa	Roedor	Porco, Vaca, Cão e Cavalo
Hardjo	Hardjo	Vaca (ocasionalmente ovelha) e Cervo	Humanos
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	Roedor	Animais Domésticos e Humanos
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	Rato-castanho	Humanos, animais domésticos, bovinos e suínos
Pomona	Pomona	Porco e Vaca	Ovelha, Cavalo e cão
Pomona	Mozdok	Ratos do campo	Vaca, porcos, cavalos e javalis
Pyrogenes	Pyrogenes	Cães	Vacas, cães domésticos

2.3 Epidemiologia

A bactéria *Leptospira* pode ser encontrada por todo o mundo, apresentando maior incidência em regiões com climas tropicais, subtropicais e em menor escala, temperados. No entanto, determinados serovares só são encontrados em zonas geográficas específicas (Santos, 2022).

A epidemiologia da Leptospirose é complexa, uma vez que os animais podem ser suscetíveis à infecção por diversos serovares patogênicos. Em cada região, existe um número limitado de serovares endêmicos, geralmente mantidos por hospedeiros específicos. A infecção pode ocorrer tanto por serovares característicos da própria espécie- designada infecção de hospedeiro de manutenção- como por serovares típicos de outras espécies animais, presentes no ambiente, resultando em infecções acidentais (Lilenbaum & Martins, 2004).

A importância das infecções acidentais depende das oportunidades de contacto e transmissões entre espécies, sendo influenciada por fatores sociais, de manejo e ambientais. A leptospirose pode, assim, ser classificada em dois tipos: a adaptada ao hospedeiro, na qual os animais atuam como reservatórios ou hospedeiros de manutenção; e a não adaptada, que ocorre em hospedeiros acidentais (Lilenbaum & Martins, 2004).

Nos bovinos, a infecção pelo serovar *L. hardjo*, onde esses atuam como hospedeiros de manutenção, tende a ser pouco influenciada pelas condições climáticas ou pelo manejo. Geralmente, estas infecções são subclínicas, provocam baixos títulos de anticorpos e afetam sobretudo animais jovens ou em gestação. A rápida transmissão entre os animais dificulta o diagnóstico (Lilenbaum & Martins, 2004).

Em contraste, os hospedeiros acidentais não funcionam como reservatórios significativos, e a transmissão dá-se de forma indireta, através de ambientes contaminados ou sistemas de manejo que favorecem o contacto entre animais suscetíveis e portadores, o que constitui o principal meio de propagação destas infecções (Lilenbaum & Martins, 2004).

2.3.1 Situação epidemiológica na Europa e em Portugal

A leptospirose é uma zoonose de declaração obrigatória que tem vindo a assumir maior relevância em Portugal, especialmente na Região Autónoma dos Açores, onde o clima subtropical húmido, a elevada pluviosidade e a densidade de reservatórios naturais, como roedores, favorecem a manutenção e disseminação da. A nível global, a sua ocorrência está intimamente ligada a períodos de elevada pluviosidade, sendo as regiões tropicais e subtropicais as mais propícias à persistência das *Leptospiras* no ambiente. Em áreas de clima temperado, como Portugal Continental, a infeção apresenta um padrão sazonal, registando-se maior frequência de casos nos meses mais chuvosos (Mottola et al., 2015).

A deteção de animais portadores da bactéria *Leptospira* desempenha um papel essencial como alerta para as autoridades de saúde pública e para a população, contribuindo para a adoção de medidas de controlo adequadas. No território continental, a abordagem de controlo assenta predominantemente na implementação de medidas de biossegurança, como a limitação do acesso do gado a zonas de pastagem junto a reservatórios de água, a higiene das instalações e a redução da população de roedores, prevenindo assim a contaminação por contacto direto ou indireto com água contaminada pela urina de animais infetados (Mottola et al., 2015). Em situações em que vários animais de um mesmo efetivo testam positivos, recomendam-se reforçar o isolamento dos animais infetados, o acompanhamento veterinário para eventual tratamento e a monitorização contínua do rebanho, de forma a controlar a propagação da doença e proteger tanto a saúde animal quanto a pública (Paixão et al., 2025).

Na Europa, os serogrupos de *Leptospira* mais frequentemente identificados em bovinos incluem *L. sejroe* (58,5%), *L. australis* (41,5%), *L. grippotyphosa* (41,5%), *L. icterohaemorrhagiae* (37,7%) e *L. pomona* (26,4%) (Sohm, et al., 2023). Em Portugal, estudos realizados entre 1987 e 1993 com recurso ao teste de microaglutinação em soros bovinos, tanto no Continente como na Ilha Terceira, apontaram *L. hardjo* e *L. Pomona* como os serovares predominantes. Atualmente, as formulações vacinais em uso no país abrangem *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola* e *L. grippotyphosa*, refletindo parte do perfil epidemiológico nacional (Mottola et al., 2015). Relatos de surtos em bovinos, como descrito por Paixão et al. (2025), evidenciam a necessidade de

deteção rápida, monitorização do rebanho e aplicação de medidas de biossegurança para controlar a propagação da doença.

No Alentejo, a população bovina mantém um contacto intenso e permanente com o meio ambiente e com outros animais, tanto domésticos como silvestres, que podem estar infetados. A região apresenta, de forma geral, uma ausência de medidas de controlo específicas, o que facilita o surgimento e a recorrência da doença. Esta situação levanta preocupações significativas quanto à necessidade de implementação de estratégias de prevenção e controlo, particularmente considerando que a transmissão da bactéria está associada a fatores ambientais e à vida silvestre, como o aumento da população de javalis (Oliveira, 2022).

2.4 Transmissão

A infeção e transmissão da bactéria *Leptospira* está diretamente relacionada à exposição a fatores de risco ambientais, como o contacto com animais silvestres ou domésticos. Esses microrganismos, excretados pela urina de animais infetados, podem sobreviver longos períodos no ambiente, especialmente em solos e águas com presença de matéria orgânica, humidade adequada e pH próximo da neutralidade- condições que favorecem a manutenção da estirpe de *Leptospira spp.* e a formação de focos de infeção. Nessas circunstâncias, as Leptospiras podem persistir por até duas semanas, criando um ambiente propício à sua disseminação. A ocorrência e incidência de infeções por Leptospirose numa determinada região dependem ainda de múltiplos fatores, como as características do agente infeccioso, a sustentabilidade e densidade dos hospedeiros, a interação entre espécies, o uso que faz dos animais e, sobretudo, as condições ambientais que favorecem a multiplicação e perpetuação do agente no meio (Escócio et al., 2010).

As Leptospiras penetram no organismo através das mucosas ou de lesões cutâneas, alcançando posteriormente a corrente sanguínea. Uma vez na circulação sistémica, os agentes disseminam-se por diversos órgãos, onde se multiplicam. Esta fase inicial da infeção designada por leptospiremia, caracteriza-se pela presença do agente no sangue e tem, geralmente, uma duração de quatro a cinco dias, raramente ultrapassando uma semana (Rezende, 2016).

Durante esse tempo, as *Leptospiras* disseminam-se para diversos órgãos, como fígado, baço, rins, trato reprodutivo, olhos e sistema nervoso central. Anticorpos aglutinantes podem ser detetados no soro logo após a presença das *Leptospiras* no sangue. O aparecimento desses anticorpos coincide com a eliminação das leptospiros do sangue e de outros órgãos, mas elas podem permanecer nos rins, com excreção urinária por semanas ou meses (Bolin, 2023).

Relativamente aos seres humanos, estes contactam com o agente patogénico através de atividades profissionais e/ou lazer, que pode ser devido ao contacto direto ou indireto com leptospiros, adicionalmente, as mudanças climáticas contribuem para a dispersão dessas bactérias (Azevedo, 2013).

A transmissão desta doença ocorre através do contacto direto com os fluidos de animais infetados pela bactéria, ou de forma indireta, através do solo e da água contaminada, locais onde a bactéria pode sobreviver por vários meses. Os roedores são os principais reservatórios naturais, embora canídeos, bovinos e suínos também possam ser afetados. Assim os fatores de risco incluem trabalhadores agrícolas, pastores, operários de matadouros e pessoas envolvidas em atividades recreativas perto de águas estagnadas, como pesca, canoagem ou natação (Matos, 2020).

No contexto agropecuário, o risco de infeção aumenta devido a características específicas do ambiente e das práticas de manejo. A divisão das parcelas das pastagens com muros de pedra, vedações e/ou cercas elétricas, a presença de parques de alimentação, bebedouros, silos e armazéns, bem como a proximidade a núcleos urbanos, favorecem a presença e proliferação de animais silvestres, especialmente roedores. Culturas como milho e batata constituem importantes fontes de alimento para esses animais, especialmente quando armazenados temporariamente em silos artesanais no campo, permanecendo longos períodos e atraindo estes animais. Medidas como a limpeza de ribeiras e controlo adequado de alimentos e lixo são essenciais para reduzir o risco de contaminação ambiental e transmissão de doenças (Mottola et al., 2015).

2.5 Sinais clínicos

Os sinais clínicos da Leptospirose são semelhantes entre as diferentes espécies animais e não apresentam variações significativas consoante a espécie de *Leptospira*. No entanto, a infeção pelo serovar *L. icterohaemorrhagiae* tende a causar septicémia grave. O período

de incubação da doença varia de 1 a 2 semanas. Em bovinos, a Leptospirose pode manifestar-se de forma aguda, subaguda ou crônica, estando associada aos serovares *L. pomona* ou *L. hardjo*. Em contraste com o serovar *L. hardjo*, que geralmente causa infecções subclínicas e persistência renal, a infecção por *L. pomona* tende a provocar sinais clínicos mais evidentes, incluindo febre, letargia e abortos, refletindo uma maior patogenicidade aguda (Adugna, 2016; Bolin, 2023).

A infecção provocada pelo serovar *L. hardjo*, característico da espécie bovina, é maioritariamente assintomático ou apresenta sinais clínicos agudos de baixa intensidade. Contudo, pode levar ao estabelecimento de um estado de portador renal, permitindo a eliminação prolongada da bactéria pela urina. Uma das principais características desta infecção é a sua persistência no trato genital, tanto em machos como em fêmeas. Em vacas leiteiras, os sinais clínicos são pouco evidentes, estando sobretudo associados à redução da eficiência reprodutiva e ao decréscimo da produção de leite (Bolin, 2023).

A presença do serovar *L. Hardjo* pode comprometer significativamente a reprodução bovina, resultando em abortos, aparecimento de nados-mortos ou no nascimento de bezerros debilitados. Estas complicações são mais frequentes quando a infecção primária ocorre durante a gestação. Os abortos podem surgir várias semanas após a infecção materna, sem que haja sinais clínicos evidentes na vaca. Além disso, bezerros aparentemente saudáveis podem nascer infetados, sendo possível também a ocorrência de retenção das membranas fetais. Ao contrário dos surtos epidémios de abortos provocados por serovares como *L. pomona* ou *L. grippotyphosa*, os abortos associados ao serovar *L. hardjo* tendem a ocorrer de forma isolada e esporádica (Bolin, 2023).

Entre os sinais descritos, os mais característicos e que permite levantar suspeita de leptospirose em bovinos incluem abortos isolados, nados-mortos, bezerros debilitados e redução da produção de leite. Mesmo na ausência de outros sinais clínicos evidentes (Bolin, 2023).

2.6 Diagnóstico

Os métodos de diagnóstico da Leptospirose podem ser divididos em duas categorias: aqueles que identificam os anticorpos produzidos contra o agente infeccioso e aqueles que detetam diretamente a presença do microrganismo ou do seu material genético em tecidos e fluidos biológicos. Cada técnica apresenta vantagens e limitações, uma vez que algumas possuem menor sensibilidade, enquanto outras podem apresentar dificuldades em assegurar a especificidade (Bolin, 2023).

Os bovinos atuam como hospedeiros de manutenção do serovar *L. hardjo*, o que favorece a ocorrência de infecções crônicas com manifestações clínicas pouco evidentes ou ausentes. Diante da natureza subclínica da doença deste hospedeiro, o diagnóstico baseado unicamente em sinais clínicos torna-se inconclusivo, sendo imprescindível a utilização de métodos laboratoriais complementares para a confirmação da infecção (Rezende, 2016).

Deste modo, nenhuma metodologia isolada é suficiente para abranger todas as situações clínicas. A abordagem mais eficaz consiste na combinação de diferentes testes, de forma a aumentar a precisão do diagnóstico. Recomenda-se, assim, a realização de exames sorológicos em todos os casos complementados por, pelo menos, um teste de detecção direta do agente em amostras biológicas. Na prática, em situações como o aborto de uma vaca com suspeita de Leptospirose, devem ser recolhidas amostras de soro materno, placenta, feto ou líquidos corporais do bezerro, de forma a permitir a detecção tanto de anticorpos quanto do agente, aumentando a probabilidade de confirmação laboratorial da infecção (Bolin, 2023; Adugna, 2016).

Entre os métodos indiretos, destaca-se o teste de aglutinação microscópica (MAT), para a detecção de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos. Este exame é amplamente utilizado em programas de vigilância e diagnóstico devido à sua elevada especificidade e capacidade de indicar o serogrupo mais provável que esteja envolvido. No entanto, apresenta menor sensibilidade nas fases iniciais da infecção, pois os anticorpos específicos ainda não se encontram em níveis detetáveis até alguns dias ou semanas após a exposição, o que pode levar a falsos negativos durante o período de seroconversão (Duarte, 2015).

No grupo dos métodos diretos, a reação em cadeia polimerase (PCR) permite a detecção rápida e específica do material genético de *Leptospira* em diferentes amostras biológicas. Trata-se de uma ferramenta particularmente útil nas fases precoces da doença, quando a carga bacteriana é elevada. Apesar da elevada sensibilidade, não fornece informação sobre o serovar envolvido, sendo mais eficaz quando utilizada em conjunto com testes sorológicos (Duarte, 2015).

Durante a necropsia, é possível observar diversas lesões que refletem o dano sistémico causado pela infeção. Entre as alterações mais frequentes destacam-se: necrose tubular renal, com o parênquima pálido e edemaciado; hepatomegalia, com o fígado frequentemente friável e descolorido, apresentando um padrão lobular; hemorragia pulmonar; e petéquias e equimoses nas membranas mucosas e órgãos internos, acompanhadas de icterícia. A identificação destas lesões contribui para a confirmação da doença, complementando os métodos laboratoriais (Gieger & Furmaga, 2020).

3. Materiais e Métodos

A amostragem foi realizada ao longo de 4 meses (fevereiro a junho de 2025), em várias explorações pecuárias na região do Alto Alentejo, no distrito de Portalegre. Foram colhidas amostras de sangue de vacas adultas com o objetivo de obtenção de soro para realização de MAT, bem como amostras de urina e órgãos provenientes de necropsias de bezerros, para realização de PCR.

As amostras de sangue foram colhidas apenas em vacas adultas, selecionadas aleatoriamente dentro do efetivo total, em tubos secos de 5 ml para permitirem a formação natural do coágulo e posterior obtenção de soro, sendo posteriormente armazenadas em condições de refrigeração até ao envio para análise laboratorial.

Relativamente ao material colhido após a realização das necropsias, as amostras de urina foram recolhidas diretamente para seringas estéreis de 20ml, enquanto as amostras provenientes de órgãos (fígado e rim) foram acondicionados em luvas de palpação retal estéreis, seladas e igualmente mantidas em refrigeração até ao envio para análise laboratorial.

As análises laboratoriais foram realizadas no laboratório INIAV (Instituto Nacional de Investigação Agrária Veterinária) - no Pólo de Évora, procedeu-se à pesquisa de anticorpos contra *Leptospira spp.* através da técnica de microaglutinação e à deteção de leptospiros patogénicas por PCR.

3.1. Materiais

O presente estudo incluiu um total de 83 bovinos, provenientes de 11 explorações Localizadas no distrito de Portalegre, abrangendo os concelhos de Elvas, Campo Maior, Monforte e Arronches. Estas explorações caracterizam-se por sistemas de produção predominantemente extensivos, com destino à produção de carne em 10 explorações, com diferentes raças puras e cruzadas de aptidão cárnica e uma exploração em regime semi-intensivo dedicado à produção de leite, com animais da raça Holstein-Frisia. A

população animal estudada inclui indivíduos de diferentes faixas etárias, tendo sido agrupadas em dois grupos: grupo A - fêmeas adultas e grupo B - cadáveres de bezerros.

Foram enviadas no total 77 amostras de soro pertencentes ao grupo A, selecionadas aleatoriamente dentro do total aproximado do efetivo para análise por MAT e 5 amostras, pertencentes ao grupo B, para análise por PCR recolhidas de cadáveres de bezerros, cuja sua morte foi relatada pelos proprietários como súbita.

Relativamente ao grupo A as amostras de sangue foram obtidas exclusivamente de fêmeas adultas selecionadas aleatoriamente dentro do efetivo total de cada exploração, enquanto no grupo B as necropsias foram realizadas em bezerros de ambos os sexos, com idades compreendidas entre 1 a 6 meses. Os bezerros necropsiados apresentavam sinais clínicos compatíveis com quadros de doença aguda como icterícia e hemoglobinúria, importante ressaltar que os proprietários destes animais observaram mortes súbitas, desta forma os achados necroscópicos foram incluídos no presente trabalho de investigação com o objetivo de se averiguar a possível presença de infecção por *Leptospira spp.* Salienta-se que, no presente estudo não foram colhidas amostras de sangue das mães dos bezerros necropsiados, sendo a análise limitada às necropsias dos vitelos com mortes súbitas.

Para a colheita das amostras de sangue, foram utilizadas agulhas de 18 acopladas a tubos secos adequados para a obtenção de soro e cada amostra foi retirada por punção da veia coccígea, através de um sistema de vácuo de 5 ml (fig. 2A). Relativamente ao material colhido após a realização das necropsias, as amostras de urina foram recolhidas por cistocentese com seringas estéreis de volume 20ml (fig. 2B), enquanto as amostras de órgãos (fígado e rim) foram retiradas com recurso a pinças e bisturi, acondicionadas em luvas de palpação retal estéreis (fig. 2C) e refrigeradas, de forma a garantir a conservação do material biológico.



FIGURA 2 PROCEDIMENTO DA RECOLHA DE AMOSTRAS: A- RECOLHA DE SANGUE EM TUBO SECO PARA POSTERIOR ANÁLISE; B- URINA RETIRADA ATRAVÉS DE CISTOCENTESE COM A UTILIZAÇÃO DE SERINGA ESTÉRIL, ONDE SE PODE VERIFICAR A PRESENÇA DE HEMOGLOBINÚRIA; C- LUVA DE PALPAÇÃO RETAL ESTÉRIL UTILIZADA NO CAMPO PARA ARMAZENAR AMOSTRAS DE ÓRGÃOS.

Todas as amostras foram devidamente identificadas e refrigeradas, a cerca de 4°C imediatamente após a sua colheita e mantidas refrigeradas até ao envio para os laboratórios responsáveis pelas análises. O transporte foi feito através de contentores isotérmicos apropriados com placas de gelo para manter a refrigeração, garantindo as condições ideais para em laboratório se prosseguir à análise das amostras.

3.2. Métodos

Para o diagnóstico de infeção por *Leptospira spp.* nos animais incluídos no estudo, foram utilizados dois métodos laboratoriais complementares: o teste de aglutinação microscópica (MAT) para o grupo A e a reação em cadeia de polimerase (PCR) para o grupo B. As amostras foram enviadas um laboratório especializado o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), onde foram devidamente processadas. Embora não tenha sido possível aceder diretamente aos protocolos laboratoriais utilizados, a descrição dos procedimentos baseia-se em documentos científicos, assegurando a fiabilidade e validade dos resultados obtidos.

3.2.1 Teste de Aglutinação Microscópica (MAT)

O MAT, constitui o método de referência para o diagnóstico sorológico da Leptospirose. Este ensaio baseia-se na utilização de culturas vivas de *Leptospira*, representativas de diferentes serogrupos, que são incubadas com várias diluições do soro do animal analisado. A reação é incubada e posteriormente observada ao microscópio de campo escuro, avaliando-se o grau de aglutinação. O título correspondente à maior diluição do soro que provoca aglutinação em, pelo menos, 50% dos microrganismos presentes (Duarte, 2015).

Segundo a WOA (2021), o teste de aglutinação microscópica (MAT) baseia-se na detecção de anticorpos específicos contra diferentes serotipos da bactéria *Leptospira* em amostras de soro, através da observação de aglutinação em microscopia de campo escuro. Este método permite identificar o serogrupo mais provável envolvido na infeção e é amplamente utilizado em programas de vigilância e diagnóstico.

O resultado corresponde à diluição na qual se observa aproximadamente 50% de aglutinação e 50% de células livres, em comparação com a cultura de controlo diluída. Os resultados são expressos como diluição final (por exemplo, 1/100) ou título, que corresponde ao inverso da diluição (por exemplo, 100).

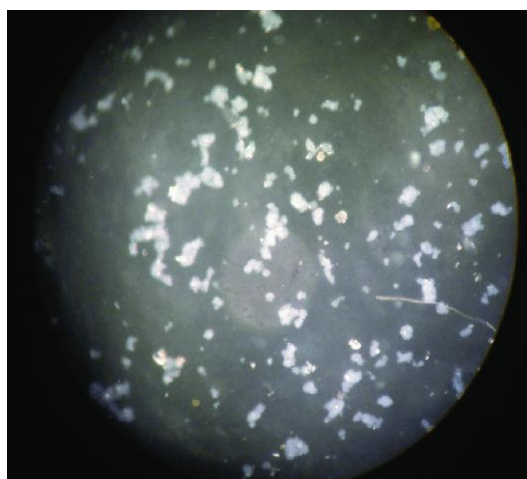


FIGURA 3 FOTOMICROGRAFIA QUE MOSTRA UMA TÍTULO POSITIVO ($\geq 1:100$) DO TESTE DE MAT PARA LEPTOSPIRA

Fonte: Tufani, N. A., et al. (2019)

As culturas utilizadas podem ser vivas ou inativadas por formalina. As culturas vivas, embora mais sensíveis e capazes de originar títulos mais elevados, requerem cuidados acrescidos de manutenção e apresentam maior risco de contaminação. Já as culturas mortas oferecem menor risco, mas tendem a produzir títulos mais baixos e mais reações cruzadas, podendo ainda deteriorar-se com o tempo devido a aglutinações espontâneas e deposição de *Leptospiras* (Rocha, 1986).

Na interpretação dos resultados, consideram-se significativos os títulos iguais ou superiores a 1:100, o que indica infecção por leptospira (Rocha, 1986). Apesar de o MAT ser específico ao nível do serogrupo, não permite diferenciar entre serovares com elevada semelhança antigénica nas proteínas da membrana externa (Duarte, 2015). No entanto, este problema não se aplica aos serovares mais comuns em bovinos, como *L. hardjo* e *L. pomona*, que podem ser identificados de forma confiável pelo MAT (Bolin, 2023; Adugna, 2016).

3.2.2 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

O PCR é uma técnica amplamente utilizada em diversos laboratórios para a deteção de ADN de *Leptospira* patogénica. Este método molecular baseia-se na pesquisa de genes presentes apenas nas *Leptospiras* patogénicas e permitindo uma rápida diferenciação entre leptospiros patogénicas e saprófitas, ou seja, não patogénicas (Duarte, 2015). Uma das grandes vantagens desta técnica reside no facto de não depender da viabilidade dos microrganismos presentes na amostra para a sua realização. No entanto, importa referir que, embora a deteção de ADN confirme a presença de material genético de *Leptospira* spp., este método não permite a identificação direta do serovar envolvido, o que pode comprometer a obtenção de informações relevantes em estudos com foco epidemiológico, nos quais a caracterização precisa do agente etiológico assume particular importância (Rezende, 2016).

4.2 Resultados das Amostras

Foram recolhidas e analisadas amostras biológicas em 11 explorações pecuárias, totalizando 83 animais testados. Dos animais amostrados, 67 (81%) apresentaram resultado positivo para Leptospirose spp., enquanto os 16 restantes (19%) foram negativos, conforme sintetizado no quadro 2.

A maioria das amostras foi obtida no concelho de Elvas, seguido por Campo Maior, Monforte e Arronches. Quanto ao tipo de material biológico analisado, foram processadas amostras de soro (sangue), urina e órgãos (fígado e rim). Foram utilizados dois métodos laboratoriais distintos: o MAT para a deteção serológica e o PCR, aplicada em amostras de urina e tecidos.

Quadro 2 Resultados obtidos em cada exploração.

POOL referente uma análise conjunta de amostras provenientes de dois animais diferentes

Exploração	Concelho	Tipo de Teste	Data de Colheita	Nº Total aproximado do Efetivo	Nº Animais Testados	Positivos	Negativos	Produto em Análise
A	Campo Maior	PCR	30-01-2025	160	1	0	1	Rim
B	Elvas	PCR	28-02-2025	200	1	1	0	Urina + Órgãos
B	Elvas	MAT	03-03-2025	200	10	10	0	Soro
C	Monforte	MAT	14-03-2025	130	10	6	4	Soro
D	Elvas	PCR (POOL)	19-03-2025	350	2	2	0	Urina + Órgãos
E	Arronches	MAT	19-03-2025	170	20	18	2	Soro
F	Campo Maior	PCR	21-03-2025	130	1	1	0	Urina + Órgãos
G	Elvas	MAT	27-03-2025	120	7	7	0	Soro
H	Arronches	MAT	03-04-2025	160	10	7	3	Soro
I	Campo Maior	MAT	26-05-2025	170	10	9	1	Soro
J	Campo Maior	PCR	23-06-2025	420	1	0	1	Órgãos
K	Campo Maior	MAT	19-05-2025	110	10	6	4	Soro

Apresentam-se de seguida os resultados obtidos após o processamento e análise de soro de fêmeas adultas através do método de MAT de forma a observar a prevalência dos serotipos de Leptospirose em bovinos, realizado nas explorações B, C, E, G, H, I e K, descritos nos quadros 3 a 9.

O quadro 3 refere-se à exploração B, localizada no concelho de Elvas, cujas amostras foram recolhidas a 3 de março de 2025. Nesta exploração foram testados 10 animais (B1 a B10), todos apresentam resultado positivo para leptospirose após realização do MAT, num efetivo aproximado total de 200 bovinos. As titulações observadas foram, em todos os casos, de 1:100. O serotipo mais prevalente foi o *L. Pomona*, em concorrência com *L. Pyrogenes*, ambos detetados em 5 animais. Seguiram-se os serotipos *L. Mozdok*, presente em 4 animais; *L. Hardjo* e *L. Grippotyphosa*, detetados em 2 animais cada; e, por fim, o serotipo *L. Canicola*, identificado em apenas 1 animal. Em vários animais encontram-se presentes mais de um serotipo, no B2 e B4 encontramos um total de três serotipos diferentes e em B7 um total de 4 serotipos que pode ser derivado de exposição múltipla a diferentes fontes ambientais ou reservatórios de *Leptospira*, o que não é incomum em explorações com elevada densidade de animais e diversidade de reservatórios.

Quadro 3 Título de aglutinação da exploração B

ID	Amostra	Título de aglutinação					
		Hardjo	Pomona	Canicola	Mozdok	Grippotyphosa	Pyrogenes
B1	Soro	1:100					
B2	Soro		1:100	1:100	1:100		
B3	Soro		1:100				
B4	Soro		1:100		1:100	1:100	
B5	Soro					1:100	
B6	Soro						1:100
B7	Soro	1:100	1:100		1:100		1:100
B8	Soro		1:100		1:100		1:100
B9	Soro						1:100
B10	Soro						1:100

O quadro 4 apresenta os resultados referentes à exploração C, localizada no concelho de Monforte cujas amostras foram recolhidas a 14 de março de 2025, na qual foram analisadas por MAT 10 amostras de soro (C1 a C10), das quais 6 (C2, C6, C7, C8, C9, C10) revelaram-se positiva e 4 negativas (C1, C3, C4, C5) à leptospirose, num total de efetivo aproximado de 130 animais. Todos os animais com resultado positivo apresentaram títulos de aglutinação de 1:100.

Nesta análise, o serotipo *L. Pomona* foi o mais prevalente, tendo sido detetado em 5 animais. Seguiu-se o serotipo *L. Mozdok*, identificado em 4 animais, e *L. Pyrogenes*, presente em 3 amostras. Por fim, os serotipos *L. Copenhageni* e *L. Bratislava* foram detetados em 2 animais cada. Identificou-se em C8 cinco serotipos diferentes, em C9 quatro serotipos e em C2, C6 e C7 dois serotipos diferentes respetivamente.

Quadro 4 Título de aglutinação da exploração C

ID	Amostra	Título de Aglutinação				
		Pomona	Mozdok	Copenhageni	Bratislava	Pyrogenes
C2	Soro	1:100	1:100			
C6	Soro	1:100	1:100			
C7	Soro	1:100	1:100			
C8	Soro	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
C9	Soro	1:100		1:100	1:100	1:100
C10	Soro					1:100

O quadro 5 apresenta os resultados referentes à exploração E, localizada no concelho de Arronches cujas amostras foram recolhidas a 19 de março de 2025, na qual foram analisadas por MAT 20 amostras (E1 a E20), num total de efetivo aproximado de 170 animais. De entre os animais testados 18 (E1, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E13, E14, E15, E16, E17, E18, E19, E20) apresentaram resultados positivos e 2 foram negativos (E2 e E12) à leptospirose. Todos os animais testados apresentaram títulos de aglutinação iguais a 1:100, com destaque para a presença simultânea de múltiplos serotipos em várias amostras. O serotipo *L. Hardjo* identificado em 13 animais e *L. Bratislava* identificado em 10 animais, foram os mais prevalentes nesta exploração, seguindo-se do serotipo *L.*

Pomona, que foi identificado em 8 animais, em seguida o serotipo *L. Mozdok* e *L. Canicola* identificado em 5 animais, *L. Pyrogenes* identificado em 3 animais e por último *L. Grippotyphosa* identificado em 1 animal. Novamente foi frequente o aparecimento de três e até quatro serotipos diferentes no mesmo animal, nomeadamente nos indivíduos E13, E14 e E18 em que foram encontrados dois serotipos diferentes; E4, E7, E10, E11, E17 e E19 todos estes apresentavam três serotipos diferentes, E16 apresentou quatro serotipos e os animais E6 e E8 apresentaram cinco serotipos diferentes.

QUADRO 5 TÍTULO DE AGLUTINAÇÃO EXPLORAÇÃO E

ID	Amostra	Título de Aglutinação						
		Hardjo	Pomona	Mozdok	Bratislava	Pyrogenes	Canicola	Grippotyphosa
E1	Soro	1:100						
E3	Soro	1:100						
E4	Soro	1:100	1:100	1:100				
E5	Soro	1:100						
E6	Soro	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100		
E7	Soro	1:100			1:100	1:100		
E8	Soro	1:100	1:100	1:100	1:100			1:100
E9	Soro				1:100			
E10	Soro	1:100			1:100	1:100		
E11	Soro		1:100	1:100			1:100	
E13	Soro	1:100	1:100					
E14	Soro		1:100	1:100				
E15	Soro	1:100						
E16	Soro	1:100	1:100		1:100		1:100	
E17	Soro	1:100			1:100		1:100	
E18	Soro	1:100			1:100			
E19	Soro		1:100		1:100		1:100	
E20	Soro				1:100		1:100	

O quadro 6 apresenta os resultados referentes à exploração G, localizada no concelho de Elvas cujas amostras foram recolhidas a 27 de março de 2025, na qual foram analisadas 7 amostras, num total de 120 animais e as 7 testaram positivas para a leptospirose. Todos os animais positivos revelaram títulos de aglutinação iguais ou superiores a 1:100, com destaque para a presença simultânea de múltiplos serotipos em várias amostras, embora com títulos de aglutinação diferentes. O serotipo *L. Pomona* e *L. Mozdok* foram os mais prevalentes nesta exploração identificados em 6 animais, seguindo-se do serotipo *L. Bratislava* identificado em 4 animais, de seguida *L. Pyrogenes* com 2 animais infetados e por último *L. Canicola* e *L. Copenhageni* identificado em 2 animais. As maiores titulações encontram-se sinalizadas a vermelho no quadro.

QUADRO 6 TÍTULO DE AGLUTINAÇÃO DA EXPLORAÇÃO G

ID	Amostra	Título de Aglutinação					
		Bratislava	Pomona	Mozdok	Canicola	Copenhageni	Pyrogenes
G1	Soro	1:100					
G2	Soro	1:200	1:400	1:100			
G3	Soro	1:400	1:800	1:100	1:100	1:100	
G4	Soro	1:200	1:100	1:100			
G5	Soro		1:100	1:100			
G6	Soro		1:800	1:100			1:100
G7	Soro		1:100	1:100			1:100

O quadro 7 apresenta os resultados referentes à exploração H, localizada no concelho de Arronches cujas amostras foram recolhidas a 3 de abril de 2025, na qual foram analisadas 10 amostras, num total de efetivo de 160 animais. Dos animais testados, 7 apresentaram resultado positivo e 3 foram negativos. Todos os animais positivos revelaram títulos de aglutinação iguais ou superiores a 1:100, com cinco indivíduos a testar positivo a três serotipos diferentes (H1, H2, H3, H4 e H5), e dois indivíduos a testar positivo a dois serotipos diferentes (H8 e H9), todos com o mesmo título de

aglutinação. O serotipo *L. Pomona* e *L. Mozdok* foram os mais prevalentes nesta exploração, seguindo-se do serotipo *L. Pyrogenes*, que foi identificado em 4 animais, em seguida o serotipo *L. Bratislava* identificado em 2 animais e por último *L. Grippotyphosa* identificado em 1 animal.

QUADRO 7 TÍTULO DE AGLUTINAÇÃO DA EXPLORAÇÃO H

ID	Amostra	Título de Aglutinação				
		Mozdok	Grippotyphosa	Pomona	Bratislava	Pyrogenes
H1	Soro	1:100			1:100	1:100
H2	Soro	1:100		1:100		1:100
H3	Soro		1:100	1:100		1:100
H4	Soro	1:100		1:100		1:100
H7	Soro	1:100		1:100	1:100	
H8	Soro	1:100		1:100		
H9	Soro	1:100		1:100		

O quadro 8 apresenta os resultados obtidos na exploração I, localizada no concelho de Campo Maior cujas amostras foram recolhidas a 26 de maio de 2025, onde foram analisadas 10 amostras, num total de efetivo de 170 animais. Dos animais testados, 9 apresentaram resultado positivo e apenas 1 foi negativo. Todos os animais positivos revelaram títulos de aglutinação iguais ou superiores a 1:100 para pelo menos um dos serotipos analisados, ocorrendo novamente presença de até quatro serotipos em simultâneo no mesmo indivíduo. O serotipo *L. Pomona* foi o mais prevalente, estando presente em 6 dos 9 animais positivos, com títulos que variam entre 1:100 a 1:800- sendo este último o mais elevado registado nesta exploração (I10). O serotipo *L. Mozdok* foi identificado em 4 animais, destacando-se a amostra I9 com uma titulação de 1:200. O serotipo *L. Bratislava* esteve presente em 4 amostras, todas com títulos de 1:100. Já o serotipo *L. Pyrogenes* foi detetado em 3 animais com títulos uniformes de 1:100. Por fim o serotipo *L. Hardjo* foi identificado em 2 amostras, ambas também com titulações de 1:100. As maiores titulações encontram-se sinalizadas a vermelho no quadro.

Quadro 8 Título de aglutinação da exploração I

ID	Amostra	Título de Aglutinação				
		Bratislava	Hardjo	Pomona	Pyrogenes	Mozdok
I1	Soro	1:100	1:100			
I2	Soro	1:100				
I3	Soro	1:100		1:100	1:100	1:100
I4	Soro				1:100	
I5	Soro	1:100		1:200		
I7	Soro			1:100		1:100
I8	Soro				1:100	
I9	Soro		1:100	1:100		1:200
I10	Soro	1:100		1:800		1:100

O quadro 9 apresenta os resultados obtidos na exploração K, localizada no concelho de Campo Maior cujas amostras foram recolhidas a 19 de maio de 2025, onde foram analisadas 10 animais, num efetivo total de 110 bovinos. Dos animais testados, 6 apresentaram resultados positivos e 4 foram negativos. Todos os animais positivos apresentaram títulos de aglutinação iguais ou superiores a 1:100, e apenas de três serotipos: *L. pomona*, *L. Mozdok* e *L. Grippotyphosa*. O serotipo *L. Pomona* foi o mais frequentemente detetado, estando presente em todos os animais positivos, com títulos que variam entre 1:100 e 1:200.

O serotipo *L. Mozdok* também apresentou frequência elevada, sendo identificado nos mesmos 6 animais, com títulos mais elevados que os observados para o serotipo *L. Pomona*- nomeadamente, 1:800 nas amostras K1 e K8, 1:400 em K2, e valores entre 1:100 e 1:200 nos restantes, sugerindo uma infeção ativa recente. O serotipo *L. Grippotyphosa* foi o menos prevalente, tendo sido detetado apenas nas amostras K1 e K2, ambas com títulos de 1:100. As maiores titulações encontram-se sinalizadas a vermelho no quadro.

Quadro 9 Título de Aglutinação da exploração K

ID	Amostra	Título de Aglutinação		
		Pomona	Grippytyphosa	Mozdok
K1	Soro	1:100	1:100	1:800
K2	Soro	1:100	1:100	1:400
K3	Soro	1:100		1:200
K4	Soro	1:100		1:100
K6	Soro	1:100		1:200
K8	Soro	1:200		1:800

Relativamente aos resultados obtidos através da técnica PCR, foram analisados um total 6 animais, com amostras de rim, fígado e urina enviadas para exame laboratorial. Dos 5 animais analisados, 3 apresentaram resultados positivos para a Leptospirose, enquanto 2 apresentaram resultados negativos. Os resultados detalhados encontram-se apresentados no Quadro 10.

QUADRO 10 RESULTADO DOS PCR'S

Exploração	Nº de animais	Produto em Análise	Rim	Fígado	Urina	Resultado
A	1	1	✓			Negativo
B	1	3	✓	✓	✓	Positivo
D	2	3	✓	✓	✓	Positivo
F	1	3	✓	✓	✓	Positivo
J	1	2	✓	✓		Negativo

4.3 Distribuição dos Serovares Detetados

Através da aplicação do teste de microaglutinação (MAT), foram identificados vários serovares pertencentes a diferentes serogrupos de *Leptospira* spp. no total houve 152 detecções sendo que o serotipo *L. pomona* (26,97%), *L. mozdok* (23,03%) *L. bratislava* (15,13%), *L. pyrogenes* (13,16%), *L. hardjo* (11,18%) seguindo-se de *L. canicola* (4,61%), *L. grippityphosa* (3,95%) e por último *L. copenhageni* (1,97%). Alguns destes serovares têm hospedeiros de manutenção específicos: *L. hardjo* em bovinos, *L. canicola* e *L. pyrogenes* em cães, *L. pomona* e *L. bratislava* em suínos e *L. mozdok*, *L. grippityphosa* e *L. copenhageni* em roedores, refletindo potenciais fontes de exposição ambiental. Em vários indivíduos, detetaram-se múltiplos serovares, coexistindo até cinco diferentes.

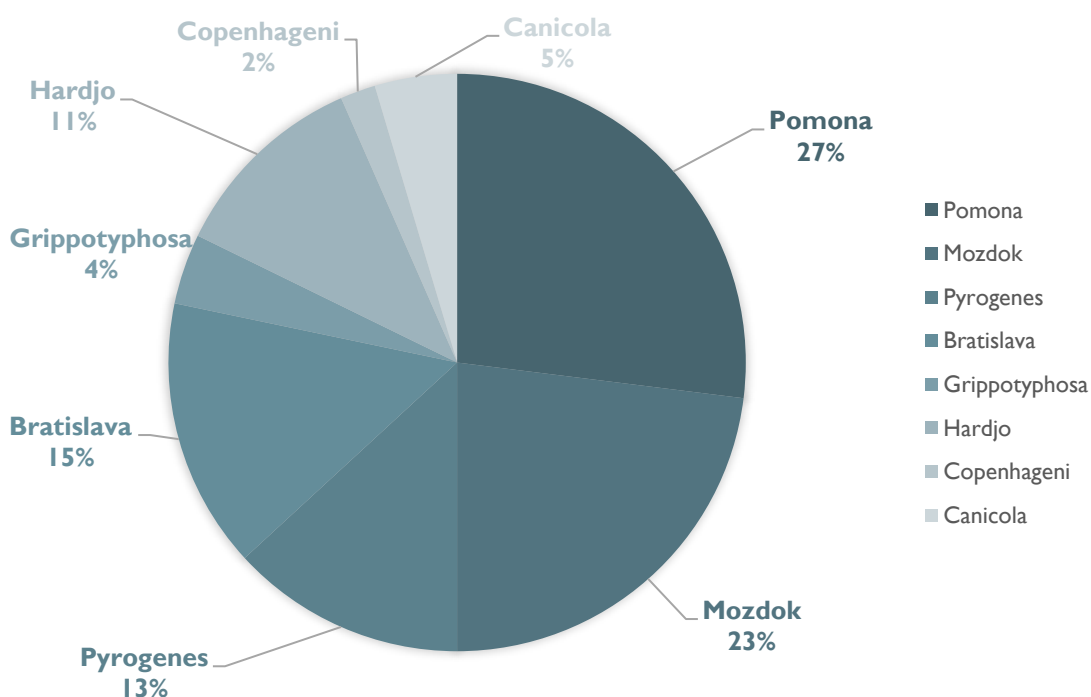


FIGURA 5 SEROVARES/SEROGRUPOS DETETADOS PELO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO DE REFERÊNCIA MAT NAS AMOSTRAS OBTIDAS EM BOVINOS DA REGIÃO DO ALTO ALENTEJO

O serovar *L. Pomona* foi o mais detetado, representando 26,97% dos resultados positivos, seguindo de *L. Mozdok* (23,03%), *L. Bratislava* (15,13%) e *L. Pyrogenes* (13,16%).

Estes quatro serogrupos concentram mais de 78% das infeções identificadas, sugerindo uma predominância significativa destas variantes na região estudada.

Entre os serovares com menor expressão incluem *L. Hardjo* (11,18%), *L. Canicola* (4,61%), *L. Grippotyphosa* (3,95%) e *L. Copenhageni* (1,97%).

4.4 Índices de precipitação dos meses de janeiro a junho

De forma a poder complementar a análise dos resultados obtidos, uma vez que a ocorrência de Leptospirose está associada a períodos de elevada pluviosidade, sendo as regiões tropicais e subtropicais as mais propícias à sua persistência no ambiente, considerou-se pertinente incluir no presente subcapítulo de resultados sobre a precipitação registada entre janeiro de junho de 2025. Foram utilizados os dados disponibilizados pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA), ao qual os valores observados foram comparados com as médias climatológicas estimadas para o período de referência 1991 a 2020, permitindo avaliar as anomalias mensais em relação ao comportamento esperado da precipitação, como podemos verificar na figura 5.

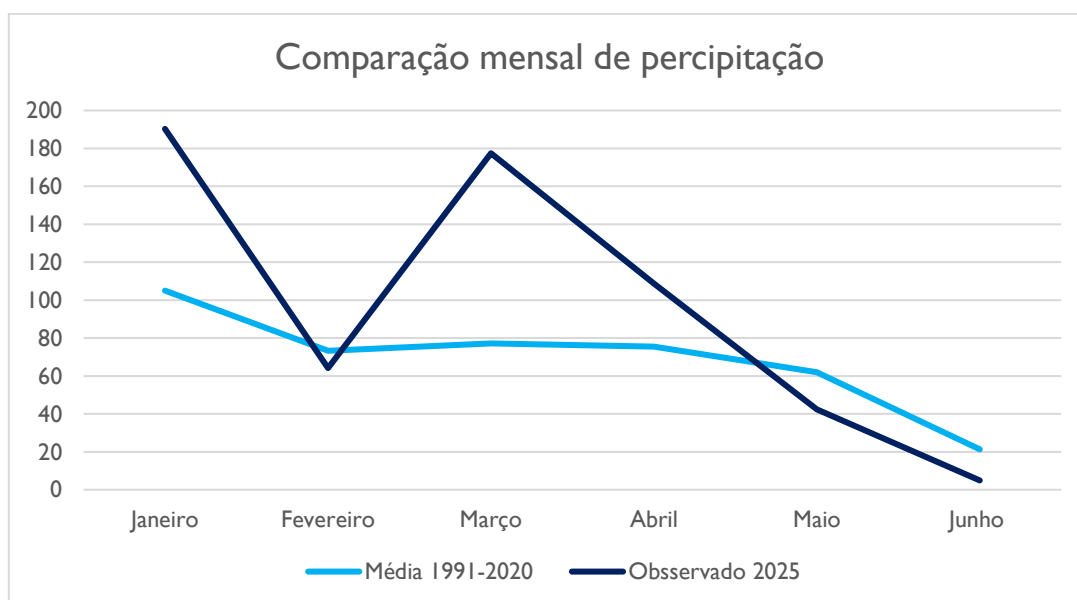


FIGURA 6 VALORES MENSAIS DA PRECIPITAÇÃO (EM MM) OBSERVADOS ENTRE JANEIRO E JUNHO DE 2025, COMPARADOS COM A MÉDIA CLIMATOLÓGICA ESTIMADA PARA O PERÍODO DE REFERÊNCIA 1991-2020

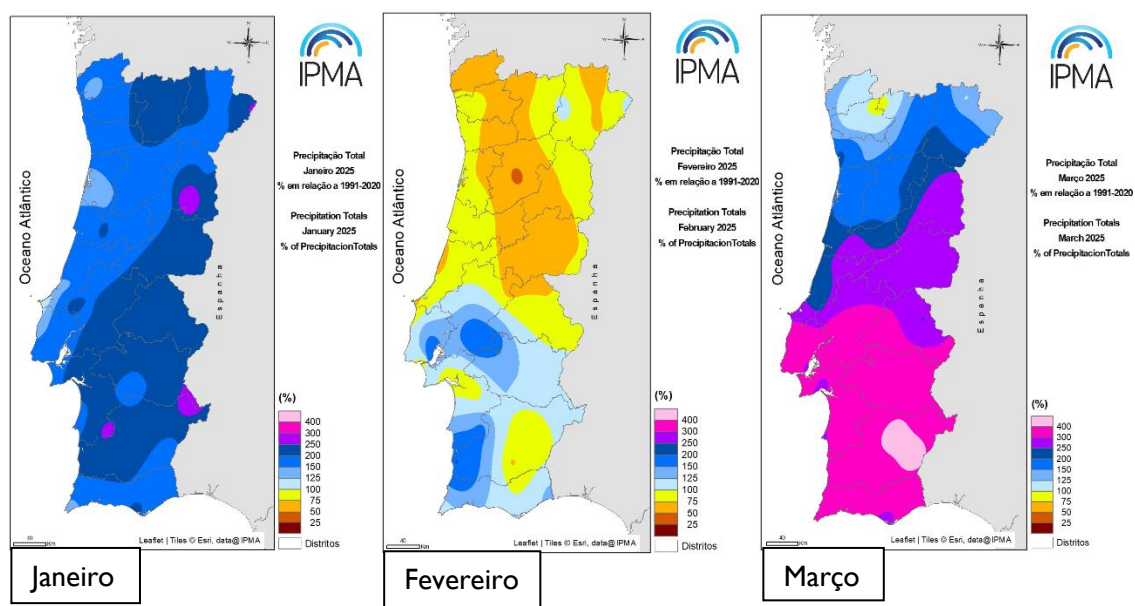
No mês de janeiro, o total mensal de precipitação foi de 190,3mm, valor significativamente superior à média. Este foi o segundo janeiro mais chuvoso desde 2000, destacando-se especialmente as regiões Norte, Centro e Alto Alentejo, onde diversas estações meteorológicas registaram valores mensais equivalentes ao dobro do normal (IPMA, 2025).

Em fevereiro, a precipitação totalizou 64,2mm, situando-se ligeiramente abaixo da média. Este mês foi classificado como normal do ponto de vista climatológico (IPMA, 2025).

O mês de março, registou 177,5mm de precipitação, um valor muito acima do esperado, foi o quinto março mais chuvoso desde 2000, devido à passagem de quatro centros depressionários sobre o território continental- Jana, Konrad, Laurence e Martinho- responsáveis por regimes de precipitação intensa e persistente durante grande parte do mês (IPMA, 2025).

Durante o mês de abril registaram-se 108,7mm de precipitação, foi o sétimo abril mais chuvoso desde 2000, novamente condicionado pela influência de centros depressionários que promovem episódios regulares de precipitação intensa (IPMA, 2025).

Durante o mês de maio, a precipitação foi de 42,3mm e por fim em junho registou-se 4,9mm de precipitação, sendo classificado o quarto mês mais seco desde 1931. Embora não se tenha registado precipitação significativa ao longo do mês, os últimos dias foram marcados por condições de instabilidade atmosférica, com ocorrência de aguaceiros localizados, queda de granizo, trovoadas e rajadas de vento fortes (IPMA, 2025).



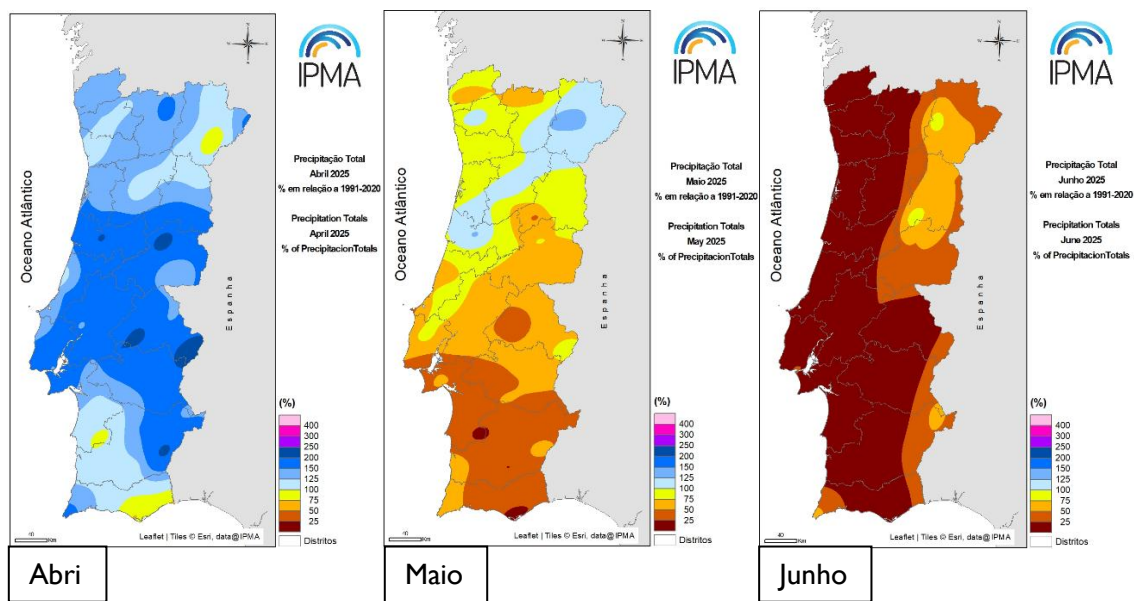


FIGURA 7 MAPAS DE PORTUGAL CONTINENTAL, ÍNDICES DE PRECIPITAÇÃO. FONTE: INSTITUTO PORTUGUÊS DO MAR E DA ATMOSFERA, (2025)

4.5 Achados macroscópicos após a realização das necropsias

Durante o período de estágio, foi possível acompanhar a realização de necropsias em cinco bezerros com suspeita de Leptospirose, o que permitiu complementar os dados laboratoriais com observações macroscópicas relevantes, tendo sido enviadas amostras de urina, rim e fígado para análise pelo método PCR.

Os animais necropsiados apresentavam idades compreendidas entre 1 e 6 meses: três tinham entre 3 a 6 meses e dois entre 1 a 2 meses e eram provenientes das explorações A, B, D, F e J. Em todos os casos, observaram-se alterações renais significativas, com rins a exibirem uma consistência friável e coloração pálida, em claro contraste com a textura firme típica de um órgão saudável como mostra a figura 7.

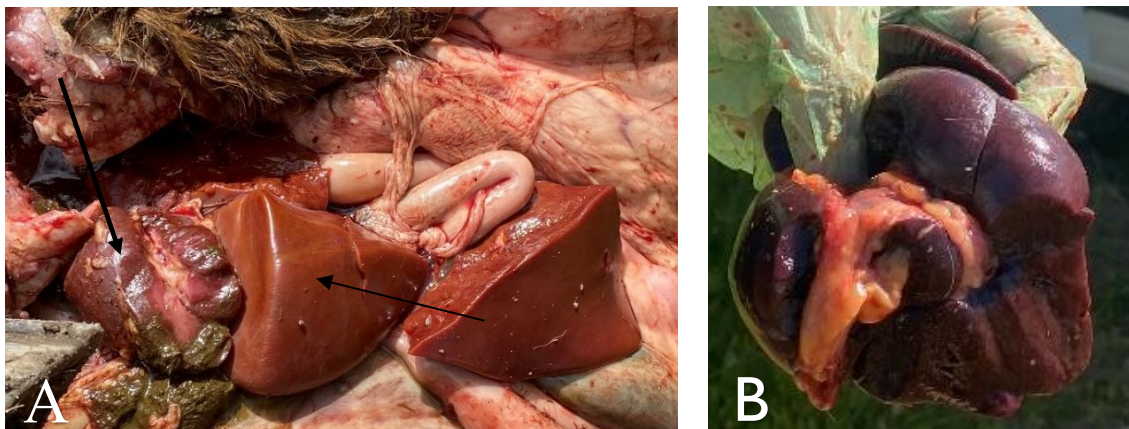


FIGURA 8 ÓRGÃOS DE BEZERROS APÓS REALIZAÇÃO DA NECROPSIA. A- RIM (SETA GROSSA) E FÍGADO (SETA FINA) COM ALTERAÇÕES NA COLORAÇÃO E CONSISTÊNCIA; B- RIM SAUDÁVEL

Durante a necropsia, foi possível constatar, à palpação, uma redução evidente da firmeza e alterações morfológicas superficiais sugestivas de lesão renal aguda, compatível com Leptospirose, que foi possível conformar posteriormente por PCR no animal da exploração J.

Outro achado consistente foi a presença de urina com coloração escura, avermelhada, como evidenciado na figura 8, compatível com hemoglobinúria. Esta alteração, é indicativa de hemólise intravascular, um fenômeno comum na Leptospirose aguda devido à ação direta da bactéria sobre os eritrócitos. E é possível observar o dano sistêmico causado pela infecção onde se destacam: o parênquima pálido e edemaciado e o fígado friável e descolorido.



FIGURA 9 SERINGA CONTENDO AMOSTRA DE URINA COM ASPETO HEMÁTICO, SUGESTIVO DE HEMOGLOBINÚRIA OU HEMOGLOBINÚRIA

A icterícia foi também um achado comum, presente em três dos cinco cadáveres. Nas figuras 9 e 10 é possível observar a pigmentação amarelada na gordura intra-abdominal e nos tecidos subcutâneos, associado à disfunção hepática e decomposição de bilirrubina nos tecidos.

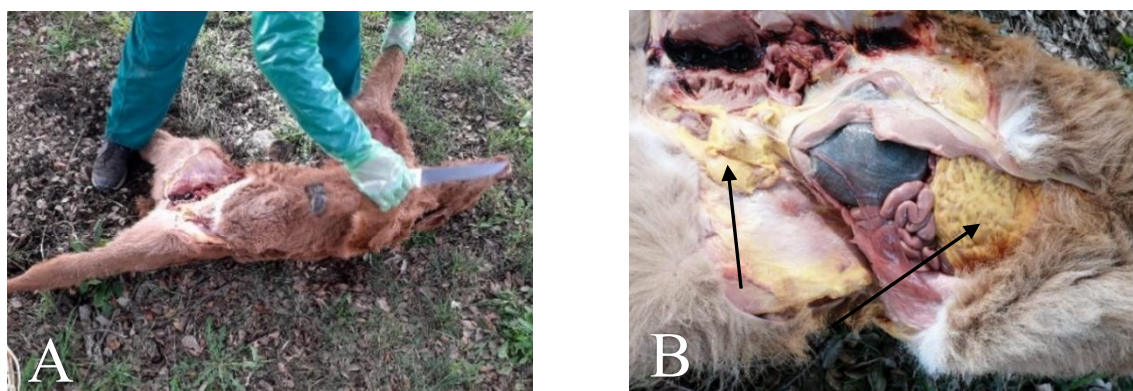


FIGURA 10 NECROPSIA DE BEZERRO COM CERCA DE 1 A 2 MESES. A- COLOCAÇÃO DO CADÁVER EM DECÚBITO DORSAL PARA INÍCIO DA NECROPSIA; B- IDENTIFICAÇÃO DE ICTERÍCIA NA GORDURA INTRA-ABDOMINAL E TECIDOS SUBCUTÂNEOS



FIGURA 11 NECROPSIA DE BEZERRO COM CERCA DE 6 MESES. C- PRIMEIRA INCISÃO ABDOMINAL NO INÍCIO DA NECROPSIA COM EVIDENTE ICTERÍCIA NO PERITONEU (SETA GROSSA) E NO TECIDO CONJUNTIVO SUBCUTÂNEO (SETA FINA); D- GORDURA INTRA-ABDOMINAL COM EVIDÊNCIA DE ICTERÍCIA

Na figura 11 não se observou presença de icterícia, no entanto apresentavam a urina igualmente escura com presença de hemoglobinúria e uma hepatomegalia discreta.



FIGURA 12 NECROPSIAS DE BEZERROS COM 1/2 MESES E 3/4 MESES. A- BEZERRO COM 1 A 2 MESES SEM SINAIS DE ICTERÍCIA; - BEZERRO COM 3 A 4 MESES SEM SINAIS DE ICTERÍCIA E COM LIGEIRA HEPATOMEGÁLICA

5. Discussão

A elevada prevalência de infecção por *Leptospira* spp. encontrada nesta amostra (81%) indica que a leptospirose constitui um problema epidemiológico significativo nas explorações bovinas dos concelhos de Elvas, Campo Maior, Monforte e Arronches, no distrito de Portalegre. Estes resultados evidenciam uma circulação ativa da bactéria na região, compatível com o contexto ambiental local, caracterizado por condições climáticas quentes e húmidas. Em 2025, este cenário foi agravado pelas elevadas quantidades de precipitação registadas nos meses de janeiro, março e abril, criando múltiplas fontes de águas - condições ideais para a sobrevivência e disseminação das *Leptospiras*.

No Alentejo, a população bovina mantém contacto intenso e permanente com o meio ambiente, mas também com animais domésticos, como o cão, e silvestres, como porcos e roedores, potencialmente infetados. Alguns riscos agropecuários observados incluem muros de pedra, cercas ou vedações que permitem a entrada de animais silvestres nas explorações, a disposição de alimento em gamelões ao ar livre, acessível a qualquer animal, e o armazenamento prolongado de culturas como milho e batata, que atraem roedores e funcionam como reservatórios da doença. Este cenário está em concordância com estudos que destacam que a infecção e transmissão de *Leptospira* estão diretamente relacionadas à exposição a fatores de risco ambientais, como o contacto com animais silvestres ou domésticos e a presença de ambientes favoráveis, incluindo solos e águas com matéria orgânica, humidade adequada e pH próximo da neutralidade (Escócio et al., 2010).

Além disso, a elevada pluviosidade reforça a importância das condições climáticas na manutenção da bactéria, prolongando a sua persistência em solos e águas (Mottola et al., 2015). De igual modo a *Leptospira* pode ser classificada em dois tipos: a adaptada ao hospedeiro, e a não adaptada ao hospedeiro, que ocorrem em hospedeiros acidentais. A importância das infecções acidentais depende das oportunidades de contacto e transmissão entre espécies, sendo influenciada por fatores sociais, de manejo e ambientais (Lilenbaum & Martins, 2004).

As amostras analisadas nas explorações bovinas foram recolhidas entre março e maio de 2025, período que apresentou variações significativas nos índices de precipitação no Alentejo. Em março, mês em que a maioria das explorações realizou as recolhas, registaram-se 177,5mm de precipitação, valor muito acima da média e correspondente ao quinto março mais chuvoso desde 2000, associado à passagem de múltiplos centros depressionários que provocaram chuva intensa e persistente (IPMA, 2025). Estes níveis de precipitação criaram condições ambientais favoráveis à sobrevivência de *Leptospira* em zonas húmidas, como pastagens, charcas de água ou áreas de armazenamento de alimentos para animais. A análise conjunta das datas de recolha e dos índices pluviométricos sugere que períodos com maior precipitação coincidem com maior risco de transmissão de Leptospirose, refletindo-se na elevada positividade observada nas explorações e na deteção de múltiplos serotipos em vários animais. Estes dados reforçam a importância de monitorizar fatores climáticos, especialmente a pluviosidade, na prevenção e controlo da Leptospirose.

A predominância dos serogrupos *L. pomona* (26,97%), *L. mozdok* (23,03%), *L. bratislava* (15,13%) e *L. pyrogenes* (13,16%) reforça a importância destes serovares como agentes etiológicos relevantes da Leptospirose bovina na região estudada. Estes quatro serogrupos concentram mais de 78% das infeções identificadas, o que está em concordância com estudos anteriores que apontam para uma prevalência regional condicionada pela presença de hospedeiros de manutenção específicos e por condições ambientais favoráveis à sua persistência e disseminação (Lilenbaum & Martins 2004; Santos, 2022). Importa salientar ainda que estes serovares estão associados a diferentes espécies reservatórias- como o cão no caso de *L. pyrogenes*, o porco no caso de *L. pomona* e *L. bratislava* e o rato no caso de *L. mozdok*- o que contribui para a complexidade epidemiológica observada. Esta diversidade antigénica representa um desafio acrescido à implementação de estratégias de controlo e prevenção, uma vez que diferentes hospedeiros podem participar simultaneamente no ciclo de transmissão.

Na interpretação dos resultados, foram considerados significativos os títulos iguais ou superiores a 1:100, indicativos de infeção por *Leptospira spp.* (Rocha, 1986). As titulações variam entre 1:100 e 1:800, sugerindo diferentes estádios de infeção- desde respostas compatíveis com infeções subclínicas ou exposição prévia até níveis mais elevados, associados a infeções recentes ou ativas. Esta variação pode ainda estar relacionada com a resposta imunitária individual ou com o grau de exposição. Verificou-se, em várias

explorações, a presença simultânea de múltiplos serotipos num mesmo animal, o que pode indicar infeções mistas ou exposição sucessiva a diferentes estirpes. Estas coexistências complicam a interpretação sorológica e reflete a complexidade epidemiológica dos ecossistemas locais, onde múltiplas fontes de infeção estão presentes.

A deteção de serogrupos com menor expressão, como *L. hardjo* (11,18%), *L. canicola* (4,61%), *L. grippotyphosa* (3,95%) e *L. copenhageni* (1,97%), ainda que em proporções reduzidas, evidencia a diversidade antigénica de *Leptospira* spp. presente no ecossistema local. Esta variabilidade representa um desafio adicional à implementação de medidas de controlo eficazes, dado que diferentes serovares podem apresentar características epidemiológicas e patogénicas distintas.

Em particular, a identificação do serovar *L. hardjo*, mesmo com baixa frequência, é epidemiologicamente relevante, uma vez que os bovinos atuam como hospedeiros de manutenção para este serovar. Nestes casos, a infeção tende a ser subclínica, com baixos títulos de anticorpos e transmissão rápida entre animais, o que dificulta o diagnóstico e favorece a persistência silenciosa da infeção no efetivo, como indicado por Lilenbaum & Martins, (2004). Por outro lado, serovares como *L. pomona*, *L. mozdok* e *L. pyrogenes* poderão estar associados a infeções acidentais, em que os bovinos não desempenham o papel de reservatório, mas adquirem a infeção por exposição ambiental indireta, através de solos ou águas contaminadas- uma via de transmissão influenciada por fatores de manejo, clima e densidade populacional animal (Lilenbaum & Martins, 2014).

Embora as formulações vacinais atualmente utilizadas em Portugal incluam os serovares *L. Hardjo*, *L. Pomona*, *L. Icterohaemorrhagiae*, *L. Canicola* e *L. Grippotyphosa* (Mottola, 2015), os resultados do presente estudo revelam a circulação predominante de outros serovares, nomeadamente *L. Mozdok* pertencente ao serogrupo Pomona, cujo principal hospedeiro de manutenção é o rato-do-campo; *L. Bratislava* integra o serogrupo Bratislava, associado ao porco; e *L. Pyrogenes* pertence ao serogrupo Pyrogenes, tendo como hospedeiro de manutenção o cão. A presença significativa destes serovares na população bovina sugere a participação ativa de múltiplas espécies domésticas e silvestres no ciclo epidemiológico regional, o que complica o controlo da doença. Esta discrepância entre os serovares vacinais e os efetivamente prevalentes evidencia uma possível lacuna na proteção conferida pelas vacinas em uso e reforça a necessidade de

atualizar periodicamente as formulações vacinais de modo a refletirem o perfil epidemiológico local.

Acresce ainda a limitação de não ter sido possível confirmar com os produtores se algum dos animais analisados se encontrava previamente vacinados contra a *Leptospirose*. Esta informação seria particularmente relevante, uma vez que o teste de microaglutinação (MAT) não permite distinguir anticorpos vacinais de anticorpos induzidos por infecção natural (Duarte, 2015). Ainda assim, a detenção de títulos elevados, chegando a 1:800 em alguns casos, aponta para a circulação ativa da bactéria no ambiente, uma vez que os anticorpos induzidos pela vacinação tendem a apresentar títulos mais baixos e de menor duração. Este cenário, aliado à discrepância entre os serovares vacinais e os encontrados no presente estudo, sublinha a importância da vigilância epidemiológica contínua e da reformulação periódica das vacinas, de modo a garantir proteção adequada dos efetivos bovinos e minimizar as perdas económicas associadas à *Leptospirose*.

Durante o estágio curricular, a realização de necropsias em cinco bezerros com idades entre 1 e 6 meses permitiu complementar os dados laboratoriais com observações macroscópicas compatíveis com a forma aguda da *Leptospirose* bovina. As alterações mais marcantes envolveram os rins, que apresentavam coloração pálida e friável, em contraste evidente com a firmeza de um rim saudável. Em todos os animais observou-se ainda urina de coloração escura, compatível com hemoglobinúria, indicativa de hemólise intravascular- um fenómeno associado à fase leptospirémia da infecção quando a bactéria se dissemina pelo organismo e provoca danos diretos nos eritrócitos (Rezende, 2016).

A icterícia, observada em três dos cinco bezerros necropsiados, confirma a disfunção hepática frequentemente relatada na *Leptospirose* aguda, sobretudo em animais jovens, cujas respostas imunitárias e resistência podem ser mais limitadas. Estes achados corroboram o comportamento patogénico descrito por Bolin, (2023), que destaca a afinidade da *Leptospira* spp. por órgãos como o fígado e os rins durante a fase inicial da doença. Esta fase, caracterizada pela leptospirémia, precede a produção de anticorpos específicos e favoráveis à instalação de lesões agudas nos tecidos. A persistência renal da bactéria, mesmo após a fase aguda, é também descrita em infeções causadas por serovares adaptados aos bovinos, como o Hardjo, podendo levar à eliminação prolongada da bactéria pela urina (Bolin, 2023). Contudo, os achados de necropsias

obtidos no presente estudo sugerem um quadro clínico mais compatível com infecções por serovares não adaptados- como *L. pomona*, *L. mozdok* e *L. pyrogenes*- que, segundo estudos, tendem a causar manifestações mais severas em hospedeiros acidentais. Este quadro clínico inclui não só a morte de bezerros, como foi observado, mas também abortos em vacas adultas e complicações reprodutivas subsequentes, com impacto económico relevante para os produtores. Estes achados reforçam o impacto clínico da Leptospirose em animais jovens e corroboram os dados laboratoriais obtidos ao longo deste estudo, sublinhando a importância de uma abordagem preventiva eficaz nas explorações afetadas.

A análise da precipitação em Portugal entre janeiro e junho de 2025 permite contextualizar o risco de transmissão da Leptospirose durante o período em que as amostras foram recolhidas. Segundo Matos (2020), a Leptospirose pode ser transmitida tanto por contacto direto com fluidos de animais infetados como por exposição indireta a solos e águas contaminadas, onde a bactéria pode sobreviver por meses. Os meses de janeiro, março e abril registam valores de precipitação muito acima da média, com destaque para janeiro, o segundo mais chuvoso desde 2000. Estas condições criam ambientes húmidos e alagados favoráveis à persistência da bactéria em áreas rurais, aumentando o risco de exposição, não só para os animais como para trabalhadores agrícolas, pastores e pessoa que frequentam zonas como águas estagnadas. Neste sentido, a Leptospirose assume não apenas importância veterinária, mas também em saúde pública, sobretudo em períodos de maior pluviosidade. Por outro lado, os meses de maio e junho foram mais secos, com junho a ser o quarto mês mais seco desde 1931, o que pode ter limitado temporariamente a sobrevivência ambiental da bactéria, embora episódios pontuais de instabilidade tenham ainda apresentado risco localizado.

Convém ainda salientar que no ano de 2020, a atividade de caça sofreu uma redução significativa devido à pandemia de COVID-19. Este fator contribuiu para um aumento notável da população de animais silvestres, em particular javalis, reconhecidos como importantes hospedeiros de manutenção do serovar *L. pomona*, como descrito por Oliveira, (2022). A relevância deste apeto é ainda maior no contexto do presente estudo, dado que o serovar *L. pomona* foi o predominante nas explorações analisadas, sugerindo que o aumento populacional dos javalis poderá ter favorecido a sua circulação na região. Apesar de não existirem dados concretos que estabeleçam uma relação direta entre a circulação destes animais, trabalhadores ou alimentos e a ocorrência de infecções

registadas em todas as regiões analisadas, a diminuição da caça poderá ter facilitado que reservatórios locais da doença, como javalis, participassem na disseminação da *Leptospira* entre explorações. Estes animais apresentam grande mobilidade e tendem a procurar fontes de alimento acessíveis, incluindo rações destinadas ao gado quando estas não estão adequadamente protegidas ou armazenadas (Oliveira, 2022).

A Leptospirose não representa apenas uma ameaça à saúde animal, mas constitui igualmente um risco significativo para a saúde pública, sobretudo em contextos rurais e agropecuários. Como salientado por Azevedo, (2013), os seres humanos podem ser expostos à bactéria através de atividades profissionais ou de lazer, que envolvam contacto direto ou indireto com ambientes contaminados, sendo os trabalhadores agrícolas, profissionais da área da saúde animal, pastores e operários de matadouros considerados grupos de risco (Matos, 2020). O último relatório da ECDC publicado sobre a patologia, referente ao ano de 2022, refere a ocorrência de 765 casos a nível europeu, com 65 casos nacionais (ECDC, 2024). Tendo em conta a dimensão territorial de Portugal face ao conjunto europeu, este número assume particular relevância e reforça a importância de medidas de vigilância e prevenção específicas para o país. Este número é particularmente expressivo, sobretudo porque em Portugal existem regiões endémicas com condições ambientais favoráveis à transmissão, como o clima subtropical e a elevada densidade de roedores, o que contribui para a elevada taxa de notificação nacional.

Durante o período de estágio, foi possível observar que, apesar da elevada prevalência da infeção nas explorações acompanhadas, nem sempre foram adotadas medidas de biossegurança adequadas. O uso de equipamentos de proteção individual, como luvas, botas impermeáveis ou vestuário apropriado, nem sempre foi rigorosamente seguido, o que pode potenciar a transmissão zoonótica da bactéria. Em particular, verificou-se em explorações extensivas de carne a utilização da mesma roupa de trabalho em diferentes locais, incluindo outras pastagens ou explorações vizinhas. Tal prática aumenta significativamente o risco de transmissão, uma vez que os seres humanos podem atuar como reservatórios, transportando a bactéria, por exemplo, na sola das botas ou no vestuário contaminado.

A Leptospirose pode entrar no organismo humano através de pequenas lesões cutâneas, mucosas ou contacto com sangue ou urina de animais infetados, e na ausência de

cuidados, o ser humano pode tornar-se um vetor indireto entre animais, transportando o agente patogênico entre pastagens, explorações ou até regiões distintas. Este cenário sublinha a importância da sensibilização dos profissionais do setor pecuário e da implementação rigorosa de práticas de biossegurança para minimizar o risco de propagação da infecção, tanto entre animais como entre humanos. A adoção consistente de equipamentos de proteção individual e a correta gestão das movimentações humanas entre explorações constituem medidas-chaves para reduzir este risco.

6. Conclusão

A análise dos resultados obtidos revela que a Leptospirose constitui um problema epidemiológico relevante nas explorações bovinas dos concelhos de Elvas, Campo Maior e Arronches, com uma prevalência elevada de infeção por *Leptospira* spp. (81%). Os títulos de anticorpos, variam entre 1:100 e 1:800, indicam diferentes estados de infeção, desde exposições prévias ou subclínicas até infeções ativas, reforçando a circulação contínua da bactéria na região. A coexistência de múltiplos serotipos no mesmo animal evidencia a complexidade epidemiológica local, refletindo exposições sucessivas ou infeções mistas.

A diversidade antigénica observada, com predominância dos serogrupos *L. pomona*, *L. mozdok*, *L. bratislava* e *L. pyrogenes*, bem como a deteção do serovar *L. hardjo*, sublinha a presença simultânea de infeções em hospedeiros de manutenção e acidentais, o que aumenta a complexidade do controlo da doença.

Fatores ambientais, como o clima quente e húmido, a presença de áreas com águas estagnadas e condições de manejo que facilitam o contacto com roedores e animais silvestres, favorecem a persistência e disseminação da bactéria. Destaca-se ainda a influência da precipitação: as amostras analisadas foram recolhidas entre março e maio de 2025, período marcado por níveis de pluviosidade muito acima da média no Alentejo. Em março, mês em que ocorrem a maioria das recolhas, registam-se 177,5mm de precipitação, o quinto valor mais elevado desde 2000, criando condições ambientais propícias à sobrevivência e transmissão de *Leptospira*. A análise conjunta dos índices pluviométricos e dos resultados sugere que a elevada positividade observada nas explorações poderá estar associada à forte pluviosidade deste período, reforçando a necessidade de considerar o fator climático na vigilância epidemiológica.

O aumento da população de javalis, reconhecidos reservatórios de *L. Pomona*, e a sua elevada mobilidade reforçam o risco de transmissão entre explorações. Os achados necroscópicos em bezerros jovens confirmam a ocorrência da forma aguda da doença, com lesões renais e hepáticas compatíveis com infeções por serovares não adaptados, reforçando a severidade clínica e a importância do diagnóstico precoce.

Para além do impacto na produção pecuária, a leptospirose representa um risco significativo para a saúde pública, sobretudo para trabalhadores agrícolas, médicos, enfermeiros e auxiliares veterinários. A insuficiente adoção de medidas de biossegurança observada durante o estágio- como o uso inconsciente de equipamentos de proteção individual- demonstra a necessidade urgente de ações de sensibilização e formação.

Desta forma, torna-se imprescindível estratégias integradas de prevenção e controlo, incluindo: a utilização rigorosa de equipamentos de proteção individual; a restrição do uso de vestuário de trabalho às explorações; o controlo do acesso e da alimentação de animais silvestres; a implementação sistemática de testes de diagnóstico, como o MAT e o PCR, no âmbito da vigilância epidemiológica periódica; e a subsequente reavaliação das formulações vacinais para garantir que estas abrangem os serovares mais prevalentes na região. A articulação entre medidas de biossegurança, vigilância epidemiológica e gestão do risco climático é essencial para reduzir a prevalência, prevenir novos surtos e proteger tanto a saúde animal como a saúde pública no Alentejo.

7. Bibliografia

- Adugna, S. (2016). A review of bovine leptospirosis. *European Journal of Applied Sciences*, 8(6), 347-355. 10.5829/idosi.ejas.2016.347.355
- Azevedo, V. S. S. (2013). Leptospirose e fasciolose: Interações imunológicas no polimorfismo so quadro clínico de doentes de São Miguel (Açores) (Dissertação de mestrado). Universidade Nova de Lisboa, Instituto de Higiene e Medicina Tropical.
- Bolin, C. A. (2003, março). Diagnosis and control of bovine leptospirosis. In *Proceedings of the 6th Western Dairy Management Conference*, 155-60.
<https://wdmc.org/2003/Diagnosis%20and%20Control%20of%20Bovine%20Leptospirosis.pdf>
- Castro, J. R., Salaberry, S. R. S., Neto, A. B. C., Ávila, D. F., Souza, M. A., & Lima-Ribeiro, A. M. C. (2010). Leptospirose canina: Revisão de literatura. *PUBVET*, 4(31), Art. 919. <https://www.cemevcursos.com/uploads/5/0/2/1/5021635/leptospirose.pdf>
- Duarte, R. B. V. S. (2015). Contributo para o estudo da leptospirose canina na ande área metropolitana de lisboa (Dissertação de mestrado). Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.
- European Center for Disease Prevention and Control (2024). Leptospirose- Relatório epidemiológico anual de 2022. Estocolmo. ECDC.
- Ferreira L. D. S., Gadelha B. P., Fernandes A. R., Sousa P. C. C., Russo, E. P. & Costa, L. C. C. (2021). Revisão sobre as principais técnicas de diagnóstico de leptospirose. *Brazilian Journal of Health Review*, 4(4). 10.34119/bjhrv4n4-105
- Gabriel, F. H. L., Escócio, C., Genovez, M. E., Castro, V., Piatti, R. M., Chiebao, D. P., Azevedo, S. S., Vieira, S. R., & Chiba, M. (2010). Influência das condições ambientais na transmissão de leptospirose entre criações de ovinos e bovinos da região de Sorocaba, SP. *Arquivos do Instituto Biológico*, 77(3), 371-377.
- Gieger, S., & Furmaga, E. (2020). *Leptospira interrogans ssp. Infeção por (Cartão Técnico de Doença da OIE)*. Organização Mundial de Saúde Animal.

<https://www.woah.org/app/uploads/2022/02/leptospira-interrogans-ssp-infection-with.pdf>

Google (2025). Mapa personalizado. (Google My Maps). Acedido a 21 de julho de 2025.

Ijaz, M., Farooqi, S. H., Aqib, A. I., Bakht, P., Ali, A., Ghaffar, A., & Saleem, S. (2020). Sero-epidemiology of bovine leptospirosis and associated risk factors in a flood affected zone of Pakistan. ResearchGate. Acedido a 21 de julho de 2025.
10.29261/pakvetj/2018.027

Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Monitorização climática: Precipitação mensal. Acedido a 25 de julho de 2025.

Lilenbaum, W., & Martins, G. (2014). Leptospirosis in cattle: A Challenging scenario for the understanding of the epidemiology, Transboundary and Emerging Diseases, 61(1), 63-68. 10.1111/tbed.12233

Matos, A. F. C. (2020). Leptospirose: Revisão da literatura (Dissertação de mestrado). Universidade de Lisboa, Faculdade de medicina veterinária.
<http://hdl.handle.net/10451/46399>

Mottola, C., Alho, A. M., Rafael, T., Gonçalves, T., & Seixas, R. (2015). Leptospirose em Portugal: Situação actual e importância das medidas de controlo no contexto da saúde pública. REDVET. Revista Eletrónica de Veterinária, 16(4), 1-15. Veterinaria Organización.

Oliveira, M. C. R. M. T., (2022). Surto de Leptospirose em Vítelos de Carne: Relatório de Casos (Dissertação de Mestrado). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias- Faculdade de Medicina Veterinária.
<https://recil.ulusofona.pt/server/api/core/bitstreams/819a6fe3-a9e3-44e7-89aa-c245f7cb8a05/content>

Oliveira, S. V., Arsky, M. L. N. S. & Caldas, E. P (2013). Reservatórios animais da leptospirose: Uma revisão bibliográfica. Saúde (Santa Maria), 39(1), 9-20.
<https://doi.org/10.5902/223658345094>

Paixão, G., Botelho-Fontela, S., Gandra, F., & Reis J. (2025). Surto de leptospirose aguda em bovinos: Relato de caso. *Veterinary Medicine and Science*. Advance online publication. 10.1002/vms3.70206

Paixão, G. M. Q. (2010). Leptospirose bovina (Dissertação de mestrado). Universidade de Évora, 72. <http://hdl.handle.net/10174/14086>

Rezende, L. M. (2016). Diagnóstico de leptospirose bovina em duas propriedades rurais utilizando MAT, ELISA e PCR (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Uberlândia, 44.
<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/13148/1/DiagnosticoLeptospiroseBovina.pdf>

Rocha, M. T. (1986). Diagnóstico laboratorial da leptospirose animal. Lisboa, INIAV.
<https://www.inia.pt/divulgacao/publicacoes-bd/diagnostico-laboratorial-da-leptospirose-animal>

Santos, C. A. S. (2022). Leptospirose: Prevalência em bovinos da raça Frísia Holstein na ilha de S. Miguel (Açores) (Dissertação de mestrado). Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, 63. <http://hdl.handle.net/10400.5/25470>

Sohm, C., Seiner, J., Jöstl, J., Wittek, T., Firth, C. L., Steinparzer, R., & Desvars-Larrive, A. (2023). A systematic review on leptospirosis in cattle: A European Perspective. *One Health*, 17. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100608>

Tufani, N. A., (2019). Microscopic agglutination teste (MAT) for leptospirosis in association with acute renal failure in dogs. *Journal of Animal Research*, 9(4), 13. 10.30954/2277-940X.04.2019.13

World Organization for Animal Health. (2021). Leptospirosis (Capítulo 3.1.12). Manual Terrestre da WOA. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf

Anexo I

Modelo de Declaração de Utilização de IAG

Declaro, para os devidos efeitos, que utilizei as seguintes ferramentas baseadas em Inteligência Artificial na elaboração do presente trabalho:

☐ Nenhuma

☒ ChatGPT

☐ Copilot

☐ Gemini

☐ Outras: _____

Finalidade:

☐ Apoio à pesquisa

☐ Apoio à redação

☒ Correção de linguagem

☐ Geração de código

☐ Outro: _____

Comprometo-me a garantir a autoria e integridade do presente trabalho.

Data: 09 / 07 / 2025 Assinatura: Inês Saragoça