

Mariana Gontijo de Brito



AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPIRAS EM
ROEDORES SILVESTRES E ARROZEIROS DE
MANGA, MINAS GERAIS, 1992.

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Minas
Gerais, como requisito parcial
para a obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária
Area: Epidemiologia
Orientador: Prof. Elvio Carlos
Moreira

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



000094639303

NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

Belo Horizonte
UFMG - Escola de Veterinária
1993

200/03/24

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA

02/12/93

346393-03

B862a Brito, Mariana Gontijo, 1966 -

Aglutininas anti-leptospiras em roedores silvestres e arrozeiros de Manga, Minas Gerais, 1992/
Mariana Gontijo de Brito. - Belo Horizonte:UFMG-Escola de Veterinária, 1993.

56p. : il.

Dissertação (Mestrado)

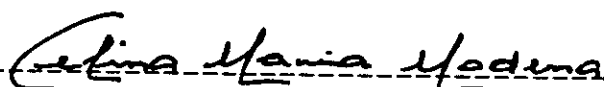
1. Leptospira - Controle - Teses.
2. Aglutininas - Teses. 3. Roedor - Teses. I. Título.

CDD:636.089 692

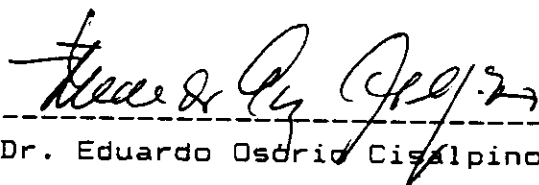
Dissertação defendida e aprovada em
31/08/93, pela Comissão Examinadora
constituída por:



Prof. Elvio Carlos Moreira
Orientador



Profa. Celina Maria Modena



Dr. Eduardo Osório Cisalpino



Dr. João Baptista Magro Filho



Ao meu pai, João Carlos e
minha mãe, Elizabeth.
Aos meus queridos avós,
Bayard e Maura.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Elvio Carlos Moreira pela amizade e apoio como orientador.

Ao amigo de sempre Antônio Benjamin de Paula pela colaboração e auxílio constantes.

A professora Celina Maria Modena e ao professor Rômulo Cerqueira Leite pelas opiniões e estímulo.

Ao amigo muito querido, Geraldinho pelo carinho e elaboração dos gráficos e mapas.

A Fundação Nacional de Saúde, à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro recebido na realização do trabalho.

A Fundação Municipal de Saúde de Manga pelo auxílio, principalmente, de coração, ao grande amigo Demetrius Ferreira pela colaboração.

A Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia - FEP - MVZ pela colaboração e apoio.

Ao IMA pela grande colaboração

Com muito carinho a toda população das localidades de São José das Traíras, Pageu, Maracaiá, Formosa e Bebedouro.

Aos médicos e à prefeitura do Município de Manga pela colaboração.

De coração A todas as pessoas que sempre estiveram ao meu lado estimulando e colaborando.



" A vida verdadeira é como a água:
Em silêncio se adapta, ao nível inferior,
Que os homens desprezam,
Não se opõe a nada,
Serve a tudo.
Não exige nada,
Porque sua origem é da Fonte Imortal.
A vida verdadeira não tem desejos de dentro.
Nem tem exigências de fora.
Ela é prestativa em se dar
E sincera em falar,
Suave no conduzir,
Poderosa no agir.
Age com serenidade
Por isto é incontaminável."

LAO-TSE

SUMARIO

RESUMO.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 LITERATURA CONSULTADA.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1 MARCO DA AMOSTRA.....	28
3.2 TAMANHO DA AMOSTRA.....	29
3.2.1 TRABALHADORES.....	29
3.2.2 ROEDORES SILVESTRES.....	29
3.3 COLHEITA DO MATERIAL.....	30
3.4 PROCESSAMENTO DO MATERIAL.....	32
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
4 RESULTADOS.....	37
5 DISCUSSÃO.....	43
6 CONCLUSÃO.....	49
SUMMARY.....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

FIGURA 1.....	34
QUADRO 1.....	35
QUADRO 2.....	36
TABELA 1.....	39
TABELA 2.....	40
TABELA 3.....	40
GRAFICO 1.....	41
GRAFICO 2.....	42

RESUMO

A infecção leptospirica foi analisada em 269 arroteiros e 47 roedores silvestres do município de Manga, região norte de Minas Gerais.

Os soros sanguíneos dos arroteiros e dos roedores silvestres foram examinados para 20 sorovariedades de Leptospiras, através do Teste Rápido de Microaglutinação (RYU, 1970). A frequência de arroteiros positivos foi de 8,9%, com a *L. celleredoni* mais frequente entre os arroteiros (2,6%) e roedores silvestres (51,06%). O teste estatístico utilizado foi o não paramétrico de WILCOXON ($p < 5\%$) (SNEDECOR & COCHRAN, 1980). Foi observada uma semelhança entre as distribuições das frequências dos sorovares nos roedores silvestres e nos arroteiros.

PALAVRAS-CHAVES: Leptospiroses, arroteiro, roedor, *leptospira*.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a infecção leptospírica vem apresentando importância crescente na saúde pública e animal em todo o mundo. Desde sua caracterização como entidade distinta por LANDOUZY (1883) até os nossos dias, está presente em atividades profissionais, ocasionando sérios prejuízos econômicos e, principalmente à saúde humana.

A infecção é causada pelas espiroquetas do gênero *Leptospira* (NOGUCHI, 1917). A sobrevivência deste agente no meio ambiente está diretamente relacionada ao alto grau de umidade, temperatura em torno de 30°C e pH neutro ou alcalino. No município de Manga, região norte de Minas Gerais, a leptospira vai encontrar um ambiente favorável ao seu desenvolvimento, pois o clima predominante é tropical semi-árido, quente, com presença de chuvas entre os meses de fevereiro e abril.

Associado a isto, a região apresenta uma fauna silvestre com várias espécies de roedores. Estes sendo importantes na epidemiologia das leptospiroses, na região podem agir como transmissores das leptospiroses para os arroteiros. Esta transmissão é facilitada nos meses compreendidos entre fevereiro e abril, época da colheita do arroz, quando as várzeas do rio Itacarambi (afluente do rio São Francisco) tornam-se alagadas, ambientes propícios ao seu desenvolvimento das leptospiroses.

Assim, os arroteiros trabalhando com os pés e mãos imersos na água por um prolongado período de tempo, apresentam a pele amolecida

e predisposta a pequenos cortes e abrasões, facilitando o contato com as espiroquetas.

Em 1991 e 1992, em Manga, ocorreu um surto de leptospiroses nos arrozeiros na época da colheita do arroz. A infecção leptospírica acometeu quase toda população de arrozeiros, que na sua maioria chegaram a ser hospitalizados. Ocorreram casos mais graves onde foi necessário o transporte dos pacientes para Montes Claros. Pelo relato do médico e de pessoas diretamente envolvidas ocorreram sintomas clínicos desde simples febres a insuficiências renais.

Procurando investigar a infecção leptospírica nos arrozeiros da região, objetivou-se com este trabalho determinar uma provável relação entre os sorovares presentes nos roedores silvestres e nos arrozeiros.



2 LITERATURA CONSULTADA

No Brasil, os primeiros estudos sobre Leptospiroses foram publicados por BENTES (1917), Mc DOWEL (1917) e ARAGÃO (1917). Em seguida, diversos estudos epidemiológicos foram realizados.

ALSTON e BROOM (1958) observaram que o sorovar *celledoni* não apresenta hospedeiro de manutenção e nem específico. Relataram vários pesquisadores que observaram o isolamento deste sorovar pela primeira vez em trabalhadores rurais de áreas de cultivo de cana-de-açúcar em Queensland, Austrália (Queensland, 1953). Além disso, pesquisas que mostraram evidências sorológicas para este sorovar em um caso humano na Malaya e mais tarde seu isolamento em três amostras de soldados neste mesmo local.

BREWER et al. (1960) verificaram a ocorrência de infecção leptospírica em arroteiros através de inquérito sorológico pelo método de aglutinação microscópica (teste de SCHUFFNER & MOCHTAR, 1927) na região central da Turquia. Observaram uma taxa de 9,6% de positividade confirmando a presença de aglutininas anti-leptospiras na população, com título mínimo de 1:100. O sorovar de maior incidência foi o *grippotyphosa*.

MAGALDI (1962) observou o predomínio do sorovar *icterohaemorrhagiae* (54,36%) em 57 trabalhadores de esgoto positivos para a infecção leptospírica na cidade de São Paulo.

Relatou a presença dos sorovares *australis*,

bataviae, *grippotyphosa* em ambiente rural, pois foram encontrados em trabalhadores que já tinham tido contato com bovinos, suínos e roedores do campo.

Neste mesmo trabalho, observou maior prevalência nos trabalhadores de grupos etários entre 25-29 e 45-49 anos, aumentando em torno dos 25 a 40 anos.

COSTA et al. (1969/70) observaram a presença dos sorovares *panama*, *tarassovi*, *grippotyphosa*, *djasmin*, através de inquérito sorológico, no Pará, em marsupiais, roedores silvestres e primatas. O sorovar *panama* foi o único encontrado nos roedores silvestres.

EDELWEISS (1969/70) verificou, em arrozeiros, a presença das leptospiroses no Rio Grande do sul, às margens do rio Jacuí. Através de inquérito sorológico, pelo método de soroaglutinação (GALTON et al., 1962), observou uma positividade de 2,9% na amostra estudada, com título mínimo de 1:200. Os sorovares presentes foram *canicola* e *icterohaemorrhagiae*.

O mesmo foi observado por SANTA ROSA et al. (1970) em 1277 amostras de soro sanguíneo de trabalhadores rurais, onde 1217 eram trabalhadores em plantio de diversas culturas, entre elas o arroz no estado de São Paulo. Encontraram positividade de 5,4% para infecção leptospírica nessa amostra, onde o título de 1:200 foi o mais frequente. O sorovar de maior frequência foi o *canicola* (37,68%), seguido do sorovar *icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa* e *australis*.

CORREA (1973) relatou predominância dos sorovares *ballum*, *panama*, *grippotyphosa*,

hebdomadis, wolffi, bataviae, celledoni em regiões menos populosas do Brasil (Centro Oeste e estados pouco povoados do Nordeste).

GERMAN et al. (1973) observaram que as causas mais prováveis da contaminação por leptospiras nos soldados no Vietnã eram o contato com água e solo úmido contaminados pela urina de roedores silvestres.

SILVA et al. (1974) observaram que infecção leptospírica ocorre principalmente nos adultos jovens; atingindo grupos etários compreendidos entre 21 a 40 anos, encerrando 65,3% dos casos estudados. Concluíram que a possível explicação para o grande número de casos compreendidos entre 21 e 40 anos se encontra nas possibilidades de contágio, levando-se em consideração ser esta faixa etária mais efetivamente exposta ao risco. Observaram também frequência maior da infecção em indivíduos do sexo masculino (92,6%). Concluíram que o homem se torna mais vulnerável às leptospiroses pela sua maior participação em situações ou práticas que facilitem o contato com as fontes de infecção.

SULLIVAN (1974) relatou que a ocorrência da infecção leptospírica em roedores é comum em todos os países, tanto por inquérito sorológico, como por isolamento do microorganismo, sendo estes animais os principais portadores dessa enfermidade no homem. Observou também que o sorovar *canicola* é transmitido para os cães pelos próprios cães, através da urina e é o mais comum que infecta os cães.

HIDALGO (1975) observou a presença de sorovares em roedores silvestres da selva peruana através de inquérito sorológico. Os sorovares observados foram; *pomona*,

autumnalis, pyrogenes, butembo, copenhageni, grippotyphosa .

SCHENK (1976) observou presença de sorovares de leptospiros em tatus e bovinos em Minas Gerais, através do método de MAR (RYU, 1970). Os sorovares encontrados nos animais silvestres foram; *tarassovi, butembo, autumnalis, bratislava, wolffi, bataviae, argentinensis, brasiliensis* e nos animais domésticos (bovinos, suínos, equinos) foram; *tarassovi, butembo, autumnalis, bratislava, ballum, wolffi*. Para o autor, os soros bovinos equinos e suínos, apresentam elevada porcentagem de reagentes para a amostra do sorogrupo *hebdomadis*, isolado dos tatus.

MYERS et al. (1977) também observaram a presença do sorogrupo *hebdomadis* em tatus na Argentina. Ressaltaram a estreita relação ecológica mantida entre tatus e bovinos da região.

AVILA et al. (1977) examinaram 770 soros de suínos provenientes de 26 municípios de Minas Gerais pelo teste de microaglutinação rápida (MAR) (RYU, 1970). A pesquisa revelou 82,4% de animais positivos com maior frequência para o sorovar *autumnalis* (38,5%), seguido do sorovar *wolffi* (33,5%).

HYAKUTAKE et al. (1978) observaram uma positividade superior, 20 %, para leptospiroses em trabalhadores agrícolas, com o predomínio do sorovar *panama*. O método utilizado foi soroglutinação microscópica com título mínimo de 1:100. Concluíram que nos campos cultivados, sobretudo na região litorânea do RN, onde predomina a monocultura de cana-de-açúcar, o contágio dos trabalhadores rurais era facilitado pela fauna murina silvestre em abundância e pela própria profissão dos trabalhadores que

estariam sujeitos a escoriações na pele, braços e pernas no desempenho de suas funções.

CALDAS et al. (1979) observaram que pacientes do sexo masculino possuíam positividade superior (82,2%) ao do sexo feminino (58,8%). Além disso, observaram que apesar da doença ter sido constatada em pacientes de 02 a 79 anos, a faixa etária de 20 a 40 anos conteve 62,7% da positividade.

FOCACCIA et al. (1979) observaram a positividade menor, 7,36%, para leptospiroses na população rural das ilhas do sul de São Paulo. O método sorológico utilizado foi soroaglutinação, recomendada pela OMS, com título mínimo de 1:100. O sorovar de maior frequência (58,3%) foi o *panama*.

MOREIRA et al. (1979) observaram a presença dos sorovares *pomona*, *wolffi* e *hardjo* em dois grupos de bovinos de rebanhos de Minas Gerais. No primeiro grupo, composto de vacas acima de 3 anos, observaram-se animais positivos para os sorovares *pomona* (16,29%), *wolffi* (12,10%) e *hardjo* (11,11%). No segundo, composto de bovinos, observaram-se os mesmos sorovares, mas a predominância do sorovar *wolffi* (27,83%), seguido pelo *hardjo* (24,12%) e *pomona* (11,54%).

RIEDEMANN e ZAMORA (B) (1982) observaram a presença dos sorovares *poi*, *hardjo*, *pomona* em roedores silvestres da área rural do Chile. Concluíram que a maioria dos soros positivos, especialmente a títulos mais altos, possuem anticorpos frente a sorovares encontrados nos bovinos e suínos da região, assim, os roedores silvestres poderiam estar participando como fonte de infecção para as espécies pecuárias.

FAINE (1982) relatou que a infecção leptopirica também pode ser transmitida para os trabalhadores rurais através da exposição com a urina de animais domésticos infectados (bovinos e suínos). A exposição ao agente pode ser direta (fazendeiros de leite que se contaminam com a urina quando ordenham) e indireta (ato de andar descalço no curral com lama úmida contaminada por leptospirosas). Além disso, as contaminações podem também resultar do auxílio do homem no parto de um animal infectado ou do contato com secreções contaminadas do trato reprodutivo.

Observou também que trabalhadores agrícolas são mais acometidos por leptospiroses do que outras atividades ocupacionais. Os arroteiros trabalham com mãos e pernas imersas na água por um prolongado período de tempo. A pele torna-se amolecida predispondo as formações de pequenos cortes e abrasões, que são portas de entrada para as leptospirosas. Para o autor, o risco relativo da infecção varia de área para área, dependendo de fatores como ph da água, tipo de solo e densidade de roedores no campo.

RIEDEMANN e ZAMORA (A) (1982) e HOGERZEIL et al. (1986) observaram taxas de positividade superiores a 10% para leptospiroses. Aqueles utilizaram o método de aglutinação microscópica com título mínimo de 1:50. Constataram uma positividade de 19,67% na população rural do sul do Chile, com o predomínio do sorovar *pomona* (27,66%). Estes já observaram uma taxa de positividade de 33% na população rural do sul de Ghana.

Utilizaram o método de aglutinação microscópica (WOLFFI), com título mínimo de 1:20, com predomínio dos sorovares *bratislava*, *carlos*, *icterohaemorrhagiae*, *patoc*.

Para ELLIS (1986) cada sorovar tende a ser mantido em um hospedeiro de manutenção específico, infectando animais daquela espécie ou outra espécie presente na área. Isto pode ocorrer através de fatores sociais, ambientais e econômicos predominantes que providenciam o contato e transmissão das leptospiras entre hospedeiro de manutenção e o acidental. Assim, observou que o sorovar *hardjo* tem sido bastante considerado na patologia humana. É mantido por bovinos e possivelmente predomina em criações leiteiras. O sorogrupo *hebdomadis-sejroe* possui como hospedeiro de manutenção os bovinos. Já o sorogrupo *australis* é endêmico em cavalos, suínos e uma grande variedade de espécies silvestres. Observou o cão como hospedeiro de manutenção do sorovar *canicola*.

ANDRADE e BRANDÃO (1987) observaram o predomínio do sorovar *icterohaemorrhagiae* nos casos do grande Rio (76,4%) e nos pacientes de outras regiões (41,3%). Relataram o rato como o principal reservatório deste sorovar, sendo, pois, o principal transmissor das leptospiroses em centros urbanos com as características estudadas.

Detectaram também, a presença do sorovar *grippityphosa* em pacientes que tinham contato com o meio rural. Concluíram que a contaminação por esse sorovar ocorreu neste ambiente, levando-se em consideração o isolamento deste sorovar de animais silvestres.

Observaram também que as faixas etárias mais atingidas eram entre 16 e 45 anos nos pacientes do Grande Rio. Destes, 89,9% dos casos eram do sexo masculino.

KINJO et al. (1987) relataram a importância

dos animais selvagens na epidemiologia das leptospiroses. Estes agem como reservatórios das doenças para outros animais selvagens ou domésticos e também para o homem.

CHERNUKHA (1988) mostrou que locais propícios ao desenvolvimento das leptospiroses eram territórios desbravados para plantação de arroz. Essa cultura constitui meio favorável à sobrevivência e multiplicação das espiroquetas. A infecção leptospirica era carreada para as plantações de arroz por roedores presentes na região, levando a formação de focos naturais de leptospiras. Estes focos permanecem no ambiente endemicamente, aumentando a frequência da infecção no período de maturação da agricultura. Assim, estes territórios cultivados pelo agrocultivo tornam-se risco epidêmico somente no período da colheita.

PROKPCAKOTA et al. (1988) encontraram uma positividade de 3,2% para leptospiroses na população de trabalhadores agrícolas em Eastlovak (Checoslovaquia). Constataram a presença dessa zoonose na região, com o predomínio do sorovar *grippotyphosa* (46%).

RIBEIRO et al. (1988) realizaram um inquérito sorológico em 657 bovinos, 30 vacas pós-aborto e 20 cavalos da fazenda experimental da EPAMIG em Governador Valadares, MG, pelo método microaglutinação rápida (RYU, 1970). Observaram que o sorovar *hardjo* predominou nos bovinos (31,1%) e nas vacas pós-aborto (84,7%), enquanto que nos equinos o sorovar predominante foi o *canicola* (65%).

LOMAR e DIAMENT (1991) também descreveram que as leptospiroses afetam animais domésticos e selvagens, sendo o rato o principal reservatório da doença. A transmissão ao homem pode ocorrer ocasionalmente, através do

contato direto com tecidos, órgãos ou rins de animais infectados ou por via indireta, através da água ou solo contaminado com a urina de animais portadores das leptospiros. Relataram a presença do sorovar *icterohaemorrhagiae* em 86% dos casos humanos estudados em São Paulo.

VERONESSI et al. (1991) observaram que a doença atinge maior frequência nos adultos jovens dos 10 aos 40 anos de idade, sendo ainda maior entre os 20 e 29 anos, correspondendo a 75 e 27% dos casos, respectivamente. Relataram que 93% dos casos estudados eram do sexo masculino.



3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MARCO DA AMOSTRA

A microrregião de Januária, localizada na mesoregião do Norte de Minas, apresenta topografia relativamente plana nas proximidades do rio. A oeste encaminham-se as chapadas areníticas, cobertas pela vegetação de cerrado (CENSO DEMOGRAFICO..., 1991).

Possui área total de 33.829 km², densidade com demográfica de 5,97 hab/km², com população residente total de 201.843 habitantes (CENSO DEMOGRAFICO..., 1980).

A economia é baseada em atividades primárias, principalmente na criação de bovinos para corte e nas lavouras de milho, feijão, algodão e arroz (CENSO AGROPECUARIO..., 1985).

Apresenta 14040 estabelecimentos agropecuários, com área total de 2.017.459 hectares, sendo que 30% destes são destinados à agricultura (CENSO AGROPECUARIO..., 1985).

A área plantada de arroz é de 8300 hectares, produzindo 9066 toneladas por ano. Atinge um rendimento médio de 1092 kg/ hectares.

É composta pelos municípios de Itacarambi, Januária, Montalvania, São Francisco e Manga (CENSO DEMOGRAFICO..., 1991).

O município de Manga possui área de 5856 km², com densidade demográfica de 5,65 hab/ km². Possui uma população total de 33275 (CENSO DEMOGRAFICO..., 1980). Nos últimos nove anos,

ocorreu crescimento populacional de 11,8% passando de 33275 habitantes para 37756 (CENSO DEMOGRAFICO..., 1989). Apresenta clima tropical semi-árido, quente, de poucas chuvas.

Possui 3153 estabelecimentos agropecuários com área total de 443907 hectares, sendo que 57,6% destes e 27,5% desta área são destinados à agricultura (CENSO AGROPECUARIO..., 1985).

A população média de empregados temporários entre os meses de janeiro e maio é de 4000 trabalhadores. O pessoal ocupado é de 23911, sendo que 67,5% são homens e 32,5% mulheres (CENSO AGROPECUARIO..., 1985).

A área plantada de arroz é de 1650 hectares, produzindo 1586 toneladas por ano, com rendimento médio por hectare de 961 kg.

3.2 TAMANHO DA AMOSTRA

3.2.1 TRABALHADORES

Abrangeu toda população residente próximo ao rio Itacarambi, divisa dos municípios de Manga e Itacarambi, das localidades Maracaia, São José das Trairas, Formosa e Fageu. Totalizando 269 pessoas; 134 homens e 135 mulheres.

3.2.2 ROEDORES SILVESTRES

A amostra da população de roedores é composta de 47 animais. Foi obtida através da captura com gaiolas tipo túnel com alçapão. Estas, em número de 80, foram distribuídas à beira do rio (próximo aos canaviais, na várzea do rio, em paiois), nas mesmas

localidades observadas na população de arroteiros. Eram armadas durante o dia com iscas de milho e abóbora e recolhidas na manhã do dia seguinte. Os roedores capturados no dia eram separados por espécies e colocados em gaiolas de madeira teladas, ermeticamente fechadas. Nessas gaiolas, os animais receberam alimentação composta por milho, água e ração, até o dia da colheita do soro sanguíneo no Laboratório de Zoonoses da Escola de Veterinária da U.F.M.G.. Os animais permaneceram em uma sala sem movimento e ventilada até o dia de retorno à Escola de Veterinária da U.F.M.G.

A captura destes animais foi auxiliada pelos funcionários da Fundação Nacional de Saúde, no período compreendido entre os meses de julho e agosto. Para ser realizada, tomaram-se precauções com objetivo de evitar contaminações de doenças transmitidas pelos roedores para o homem. Utilizaram-se botas, macacões, luvas e máscaras no contato direto com os animais.

No transporte destes animais para a Escola de Veterinária, também foram tomadas medidas de segurança biológica. Os animais foram dispostos dentro de caixas de madeira teladas e ermeticamente fechadas, onde o contato com o meio externo era evitado.

Na Escola de Veterinária da U.F.M.G. estes animais permaneceram em um biotério até o dia da colheita do soro sanguíneo. Neste local receberam alimentação composta por milho, ração e água.

3.3 COLHEITA DO MATERIAL

O soro sanguíneo da população de arroteiros foi colhido por punção venosa no volume de

10 ml, nos meses de julho e agosto. Após a colheita, o sangue foi depositado em tubo de ensaio previamente esterilizado e identificado com número correspondente à ordem do trabalhador. O tubo foi colocado em posição inclinada para aumentar a superfície exposta e permaneceu em repouso, em temperatura ambiente, durante uma hora para que ocorresse separação do soro. Os tubos em que o soro não se separou espontaneamente, foram submetidos à centrifugação. O soro foi colocado em outro tubo estéril com número respectivo do trabalhador.

Este material foi devidamente acondicionado em gelo e isopor e enviado ao laboratório de Zoonoses da Escola de Veterinária da UFMG para posterior pesquisa da presença de aglutininas anti-leptospiras.

No ato da colheita os trabalhadores foram identificados por número, nome, idade, sexo e ocupação de acordo com quadro 1.

Os roedores foram identificados por números e classificados de acordo com o gênero e espécie de acordo com os funcionários da Fundação Nacional de Saúde. Foram sacrificados por punção cardíaca para colheita do sangue de acordo com MYERS (1985).

No contato com os roedores para a colheita do sangue no laboratório, foram tomadas medidas de precaução com utilização de luvas e máscaras.

O volume de 1 a 2 ml de sangue dos roedores foi armazenado em tubo de ensaio estéril e identificado com o número correspondente ao do animal. O procedimento utilizado para o processamento dos soros foi semelhante ao dos arroteiros.

3.4 PROCESSAMENTO DO MATERIAL

Os 47 soros de roedores e os 269 soros de arroteiros, no Laboratório de Zoonoses da Escola de Veterinária da UFMG, foram submetidos a pesquisa de aglutininas anti-leptospiras pelo método Rápido de Microaglutinação Direta (MAR) descrito por RYU (1970). Esse método visa à determinação dos níveis de aglutininas anti-leptospiras. Os antígenos são culturas vivas de 20 sorovarietades de leptospiras fornecidas pelo Centro Panamericano de Zoonoses (CEPANZO), mantidas em meio de Fletcher (FLETCHER, 1928).

A cultura utilizada como antígeno tem 5 a 7 dias de crescimento, com aproximadamente 100 microorganismos vivos por campo de microscópio de 400 vezes de aumento. Estes antígenos são submetidos a repiques semanais em meio de Ellinghausen (ELLINGHAUSEN et al., 1965) com objetivo da manutenção do controle da qualidade e do padrão elevado de antigenicidade. Periodicamente são realizadas passagens destes antígenos em hamsters com objetivo de aumentar a sua antigenicidade. A relação dos antígenos está apresentada no quadro 2.

O critério de leitura utilizado foi através do grau de aglutinação e lise mensurando em cruces de negativo a 4 cruces. A reação de 4 cruces (4+) ocorre quando há aglutinação de 100 a 75% das leptospiras no campo. A reação de 3 cruces ocorre quando 75% dos microorganismos estão aglutinados no campo. A reação de 2 cruces (2+) ocorre quando aproximadamente 50% dos microorganismos estão aglutinados no campo. Finalmente, a reação de uma cruz (1+) ocorre quando aproximadamente 25% das leptospiras estão aglutinadas no campo.

Os soros foram considerados positivos quando ocorreu um mínimo de 50% de aglutinação, ou seja, a partir da reação de 2 cruces (2+), a título de 1:100.

3.5 ANALISE ESTATISTICA

O teste estatístico utilizado foi o não paramétrico de Wilcoxon - Signed rank test (SNEDECOR, COCHRAN, 1980). Teve como objetivo comparar as distribuições de frequências das aglutininas anti-leptospiras nos roedores silvestres e nos arroteiros. Foi assumido um erro de 5%.

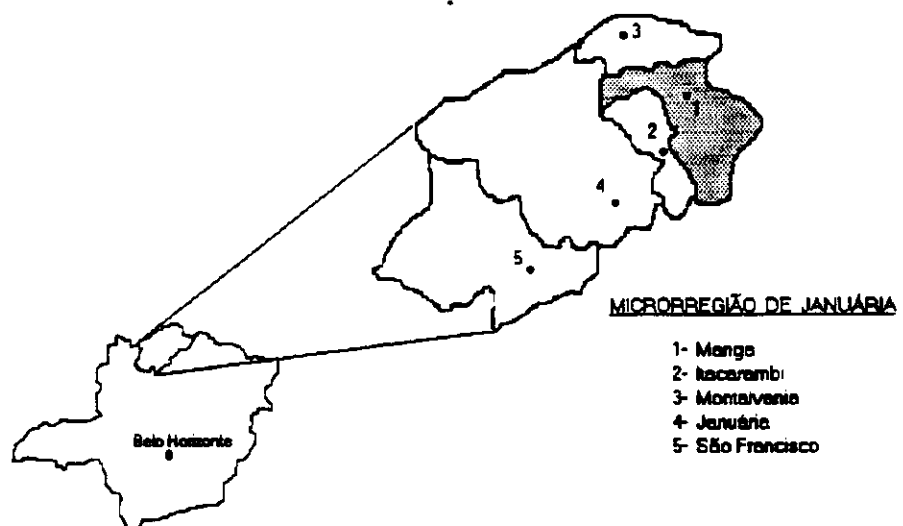


FIGURA 1 Localização do município de Manga, MG, segundo CENSO DEMOGRÁFICO... (1991)

QUADRO 1 Modelo de ficha de identificação dos arroseiros, Manga, MG, 1992

PROJETO MANGA		
LEPTOSPIROSES HUMANAS		
Nº _____		
NOME: _____		APELIDO: _____
ENDEREÇO: _____		

IDADE: _____	SEXO: M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	
ATIVIDADES:		
Arroseiro <input type="checkbox"/>	Dona de casa <input type="checkbox"/>	Lavadeira <input type="checkbox"/>
Vaqueiro <input type="checkbox"/>	Estudante <input type="checkbox"/>	Outra _____
ESTEVE INTERNADO? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>		
SINTOMAS CLÍNICOS:		
Febre <input type="checkbox"/>	Icterícia <input type="checkbox"/>	Vômitos <input type="checkbox"/> Dor de cabeça <input type="checkbox"/>
falta de apetite <input type="checkbox"/>	Dor muscular <input type="checkbox"/>	
OUTRO SINTOMA: _____		

QUADRO 1 - Sorovares de *Leptospira interrogans* usados como antígeno no teste de microaglutinação (MAR), fornecidas pelo Centro Pan-americano de Zoonosias/OMS.

SOROGRUPO	SOROVAR	AMOSTRA DE REFERENCIA
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	RGA
<i>Celledoni</i>	<i>celledoni</i>	Celledoni
<i>Ballum</i>	<i>ballum</i>	Mus 127
<i>Fyrogenes</i>	<i>fyrogenes</i>	Salinem
<i>Autumnalis</i>	<i>autumnalis</i>	Akiyami A
<i>Australis</i>	<i>australis</i>	Ballico
	<i>bratislava</i>	Jez bratislava
<i>Pomona</i>	<i>pomona</i>	Pomona
<i>Grippotyphosa</i>	<i>grippotyphosa</i>	Moskva V
<i>Hebdomadis</i>	<i>hebdomadis</i>	Hebdomadis
	<i>wolffi</i>	3705
	<i>hardjo</i>	Hardjoprajitno
<i>Bataviae</i>	<i>bataviae</i>	Van Tienem
<i>Brasiliensis</i>	<i>brasiliensis</i>	LT 966
<i>Tarassovi</i>	<i>tarassovi</i>	Perepelicin
<i>Panama</i>	<i>panama</i>	CZ 214 K
<i>Semarang</i>	<i>patoc</i>	Patoc I
<i>Andamana</i>	<i>andamana</i>	CH 11
<i>Canicola</i>	<i>canicola</i>	Hond Utrecht IV
<i>Cynopteri</i>	<i>tutembo</i>	Butembo



4 RESULTADOS

A frequência de arroteiros reagentes ao teste de MAR para leptospiros foi de 24 do total de 269, representando 8,9% de soros positivos.

Com relação as aglutininas anti-leptospiros nos arroteiros, pode-se observar na tabela 1, maior frequência do sorovar *celledoni*. Em menores frequências observam-se os sorovares *australis*, *hebdomadis*, *hardjo*, *patoc*, *wolffi*, *pyrogenes*, *pomona*, *icterohaemorrhagiae*, *brasiliensis* e *bataviae*. Já os sorovares *canicola*, *grippotyphosa*, *autumnalis*, *tarassovi*, *andamana*, *butembo*, *ballum*, *bratislava* e *panama*, não apareceram na sorologia destes arroteiros.

Com relação a frequência de aglutininas anti-leptospiros e a idade dos arroteiros, observa-se na tabela 2 maior frequência na faixa etária entre 20 a 40 anos. Como também pode ser observado no gráfico 2.

Com relação a presença de aglutininas anti-leptospiros e o sexo dos arroteiros, o masculino obteve frequência de 59%, contra 41% do sexo feminino.

Foram capturados 47 roedores silvestres no município de Manga, MG, nas margens do rio Itacarambi, com o predomínio das espécies *Orizomys subflavus* e *Rattus rattus*. Além dessas, ocorreu o aparecimento de mais cinco espécies de roedores silvestres como pode ser observado na tabela 3.

A sorologia pelo teste de MAR para a pesquisa de aglutininas anti-leptospiros nos roedores

silvestres, capturados no município de Manga, MG, conforme tabela 1, mostrou uma maior frequência para o sorovar *celledoni*. Os sorovares *hebdomadis* e *patoc*, também apareceram nos roedores, mas em menor frequência. Já o sorovar *panama*, o segundo em frequência nos roedores silvestres apareceu somente neste grupo.

Observou-se uma semelhança entre as distribuições de frequências dos sorovares encontrados na sorologia dos arroteiros e dos roedores silvestres ($p < 5\%$).

TABELA 1 Frequencia de aglutininas anti-leptospiras positivas no teste de MAR em 47 roedores silvestres e 269 arrozeiros, município de Manga, MG, 1992.

SOROVAR	ROEDORES SILVESTRES		ARROZEIROS	
	No	%	No	%
<i>celledoni</i>	24	51,06	07	2,60
<i>hebdomadis</i>	01	2,13	04	1,49
<i>patoc</i>	03	6,38	02	0,74
<i>panama</i>	01	2,13	--	0,00
<i>hardjo</i>	--	0,00	04	1,49
<i>australis</i>	--	0,00	05	1,86
<i>wolffi</i>	--	0,00	02	0,74
<i>icterohaemorrhagiae</i>	--	0,00	01	0,37
<i>pyrogenes</i>	--	0,00	01	0,37
<i>pomona</i>	--	0,00	01	0,37
<i>brasiliensis</i>	--	0,00	01	0,37
<i>bataviae</i>	--	0,00	01	0,37
<i>canicola</i>	--	0,00	--	0,00
<i>grippotyphosa</i>	--	0,00	--	0,00
<i>autumnalis</i>	--	0,00	--	0,00
<i>tarassovi</i>	--	0,00	--	0,00
<i>andamana</i>	--	0,00	--	0,00
<i>butebo</i>	--	0,00	--	0,00
<i>hallum</i>	--	0,00	--	0,00
<i>bratislava</i>	--	0,00	--	0,00

TABELA 2 Frequência de arroseiros positivos, de acordo com a idade, ao teste de MAR para aglutininas anti-leptospiras, município de Manga, MG.

RESULTADOS		
IDADE (em anos)	POSITIVOS	PERCENTAGEM
0 - 20	06	25
21 - 40	10	42
41 - 60	07	29
acima de 60	01	04
TOTAL	24	100

TABELA 3 Classificação dos roedores silvestres capturados no município de Manga, MG, 1992.

ESPÉCIES	Nº DE ANIMAIS
<i>Oryzomys subflavus</i>	14
<i>Rattus rattus</i>	12
<i>Tricomys apereoides</i>	07
<i>Bolomys lasiurus</i>	07
<i>Calomys calosus</i>	01
<i>Nectomys squamipes</i>	06
TOTAL	47

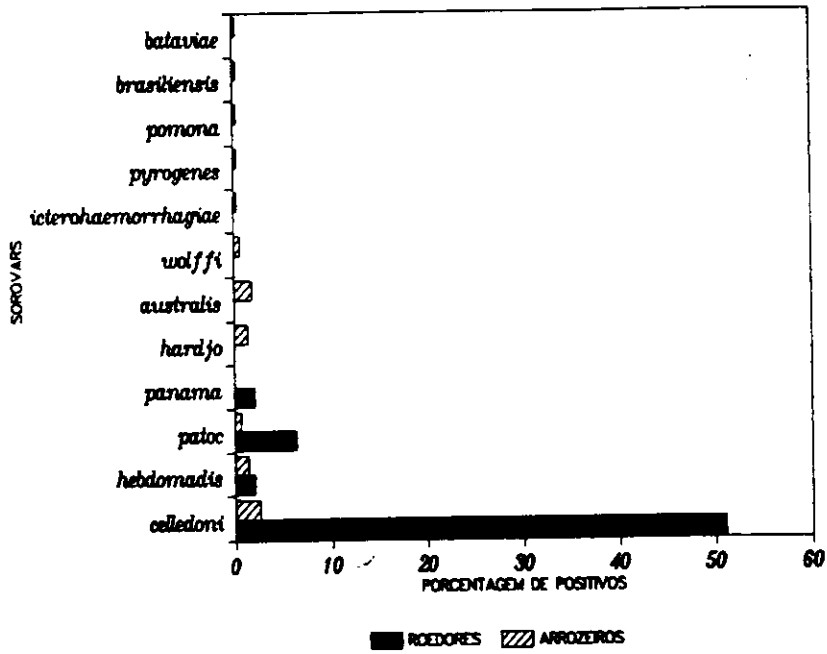


GRÁFICO 1. Frequência de aglutininas anti-leptospiras positivas ao teste de MAR em 47 roedores silvestres e 269 arrozeiros, município de Manga, MG, 1992.

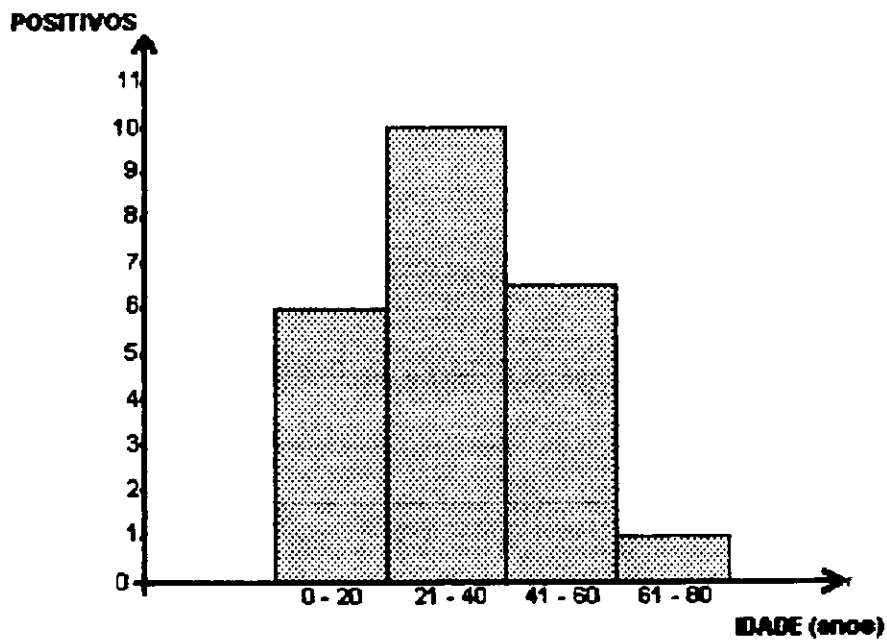


GRÁFICO 2 Frequência de amostras positivas, de acordo com a idade, ao teste de MAR para aglutininas anti-leptospiras, município de Manga, MG, 1992.



5 DISCUSSÃO

O inquérito sorológico para detectar aglutininas anti-leptospiras nos arrozeiros, através do teste de MAR, confirmou a presença de indivíduos reagentes no município de Manga.

A positividade de 8,9% , representando 24 soros do total de 269, superou taxas encontradas por EDELWEISS (1969/70), SANTA ROSA et al., (1970), FOCACCIA et al., (1979) e PROKPCAKOTA et al., (1988) que também relataram aglutininas anti-leptospiras nas regiões estudadas. Por outro lado, BREWER et al., (1960), HYAKUTAKE et al., (1978), RIEDEMAN e ZAMORA (A), (1982) e HOGERZEIL et al., (1986) encontraram taxas de positividade superiores a 8,9% e também constatarem a presença da infecção leptospírica em suas pesquisas.

A diversidade nos resultados de trabalhos envolvendo regiões onde a infecção leptospírica pode estar presente, é explicada por alguns fatores.

Em primeiro lugar, a utilização diferentes técnicas de soroaglutinação, com diferentes títulos mínimos considerados nas reações. Isto, conseqüentemente, leva a diferenciação do resultado, com título mínimo considerado 1:100 pela técnica de RYU (1970), com os demais trabalhos analisados com título mínimo considerado variando de 1:20 a 1:200 (BREWER et al., 1960, EDELWEISS, 1969/70, SANTA ROSA et al., 1970, HYAKUTAKE et al., 1978, FOCACCIA et al., 1979, RIEDEMAN & ZAMORA (A), 1982, HOGERZEIL et al., 1986, PROKPCAKOTA et al., 1988).

Além disso, pode ocorrer variações nos resultados em relação aos trabalhos analisados pelo espectro de antígenos utilizado. Assim, um sorovar considerado com maior frequência em um trabalho, pode não ter sido utilizado em outro.

O sorovar com maior frequência nos arrozeiros (2,6%) e roedores (51,06%) foi o *celledoni*. É um sorovar pouco utilizado em provas sorológicas, além de não ter nenhum registro de seu isolamento no Brasil. Provavelmente, é um sorovar frequente em áreas rurais, já que foi constatada sua presença, pela primeira vez, através de isolamento em trabalhadores rurais no cultivo de cana-de-açúcar na Austrália (ALSTON & BROOM, 1958).

Possíveis variações de sensibilidade e especificidade das amostras utilizadas como antígenos podem ser causas de diferentes resultados nos trabalhos estudados. Culturas de leptospiras vivas possuem maior especificidade quando comparadas com leptospiras formolizadas, onde reações inespecíficas tendem a aumentar, descrito por MAGALDI (1962).

Outro fato a ser analisado é o risco de infecção. Este pode variar de local para local, pois depende de fatores como o pH da água, tipo de solo, densidade de roedores nos campos, tempo de exposição e inundações conforme constatou FAINE (1982).

Com relação ao risco de infecção dos arrozeiros na área de colheita, deve ser levado em consideração a sobrevivência das leptospiras nas águas dos arrozais. É comum a água atuar como fonte de infecção nestes locais. O arroz é cultura que cresce em áreas alagadiças onde a água permanece estagnada ou com leve correnteza, rica em substâncias

Orgânicas, constituindo meio favorável à sobrevivência e multiplicação das espiroquetas, conforme observou CHERNHUKA (1988).

Na várzea do rio Itacarambi ocorre essas características nos meses de fevereiro a abril, época de colheita do arroz. Assim, os arroteiros permanecendo com mãos e pernas imersas na água por período de tempo prolongado, vão apresentar a pele amolecida e predisposta a abrasões, levando ao maior risco de contaminação pelas leptospiras.

A presença dos sorovares *hardjo*, *wolffi*, *hebdomadis* e *pomona* na sorologia humana pode ter ocorrido pelo contato com os animais domésticos, conforme observaram ÁVILA et al., (1977), MOREIRA et al., (1979), FAINE (1982), ELLIS (1986), RIBEIRO et al., (1988) e LOMAR e DIAMENT (1991). Isto deve ser levado em consideração, já que os animais domésticos são frequentemente utilizados como transporte dos arroteiros e da produção agrícola. São animais criados em regime extensivo, permanecendo, muitas vezes, bem próximo à maioria das moradias destes trabalhadores.

Com relação ao sorovar *grippotyphosa*, este possui estreita relação com roedores silvestres, animais domésticos e meio rural conforme observou MAGALDI (1962) e ANDRADE e BRANDÃO (1987). Além disso, foi encontrado com maior frequência na Turquia, conforme BREWER (1960) e na Checoslovaquia, de acordo com PROKPCAKOTA et al. (1988). Entretanto, não foi detectado na população de arroteiros do município de Manga.

Provavelmente a ausência deste sorovar está relacionada à sua baixa incidência na região. Conforme ELLIS (1986), cada região apresenta

particularidade nas frequências de seus sorovares. Assim, os 200 sorovares presentes em todo mundo apresentam-se com frequências diferentes nas diversas regiões. Por isso, o monitoramento, através de inquéritos sorológicos intervalados a cada ano, é importante instrumento de vigilância epidemiológica para detecção de possíveis modificações dos sorovares presentes na região.

Esta mesma explicação pode ser atribuída à ausência dos sorovares *butembo*, *panama*, *ballum*, *bratislava*, *andamana* e *autumnalis*. São sorovares frequentes em ambientes rurais, onde estão vinculados à presença de animais domésticos e roedores silvestres conforme observaram COSTA (1969/70), CORREA et al. (1973), HIDALGO (1975), SCHENK (1976) no Brasil, RIEDEMAN e ZAMORA (B) (1982) nas áreas rurais do sul do Chile e ELLIS (1986) na Inglaterra.

A baixa frequência do sorovar *icterohaemorrhagiae* pode ser explicada pela sua maior incidência em ratos de esgotos, ou seja em grandes centros urbanos, conforme constatou MAGALDI (1962), ANDRADE e BRANDÃO (1987) e LOMAR e DIAMENT (1991). Caracterizam-se por grandes aumentos populacionais e pelo estabelecimento de moradias inadequadas, o que facilita a proliferação do roedor *Rattus norvegicus*, reservatórios do sorovar *icterohaemorrhagiae* (ANDRADE & BRANDÃO, 1987).

O sorovar *canicola* tem o cão como hospedeiro de manutenção, sendo principalmente transmitido por ele. Este sorovar não foi encontrado na população de arroseiros, provavelmente, possui baixa frequência ou nenhuma na região, pela pequena população de cães (SULLIVAN, 1974, ELLIS, 1986).

A presença de arroseiros positivos reagentes aos sorovares *australis*, *batariae*, era esperada. Provavelmente, ocorreu contaminação através do contato com animais domésticos ou roedores silvestres, já que são sorovares frequentes no meio rural. Estes sorovares, segundo MAGALDI (1962) estão relacionados com o ambiente rural. ELLIS (1986) também relatou que amostras do sorogrupo *australis* são endêmicas em cavalos, suínos e cães, além de grande variedade em animais silvestres.

A frequência de aglutininas anti-leptospiras de 59% nos homens e 41% nas mulheres, pode ser explicada pelo maior contato dos homens com os animais domésticos no curral, na hora da ordenha, em auxílio em partos ou abortos de bovinos ou suínos e com roedores silvestres quando trabalham na colheita de cereais na região isto também foi observado por SILVA et al. (1974), CALDAS et al. (1979), ANDRADE e BRANDÃO (1987) e VERONESSI et al. (1991).

O mesmo pode ser explicado para o resultado referente à idade dos trabalhadores e a frequência de aglutininas anti-leptospiras, observado no gráfico 2. Este resultado não difere daqueles relatados por diversos autores (MAGALDI, 1962, SILVA et al. 1974, CALDAS et al., 1979, ANDRADE & BRANDÃO, 1987, VERONESSI et al., 1991), demonstrando que a infecção ocorre com maior frequência na faixa etária mais produtiva da população.

A presença do sorovar *panama* em um exemplar da amostra era possível, apesar de não aparecer na sorologia da população dos arroseiros. Além disso, está presente em regiões rurais, onde há variedade de reservatórios de leptospiras e uma densidade populacional reduzida. O mesmo foi observado

por COSTA et al. (1969/70) onde observou o aparecimento deste sorovar na sorologia de um roedor silvestre no estado do Pará. CORREA (1973) também relatou a presença deste sorovar em regiões menos povoadas e economicamente atrasadas do Brasil. HYAKUTAKE et al. (1978) e FOCACCIA et al. (1979) também observaram o predomínio deste sorovar em suas pesquisas, confirmando sua presença em ambientes rurais.

A presença do sorovar *hebdomadis* nos roedores ocorre, provavelmente, pela interrelação entre bovinos e roedores silvestres. Sendo o mesmo observado por MYERS et al. (1977) e RIEDENANN & ZAMORA (B), (1982).

Observou-se uma semelhança nas distribuições das frequências dos sorovares reagentes na sorologia dos arrozeiros e dos roedores silvestres. Assim, os sorovares mais frequentes nos roedores silvestres, possivelmente, serão os mais frequentes nos arrozeiros. Esse resultado se assemelha a maioria dos autores que relatam o roedor silvestre como principal transmissor da infecção leptospírica para o homem nas áreas agrícolas (BERMAN et al., 1973, SILVA et al., 1974, SULLIVAN, 1974, HANSON, 1982, KINJO et al., 1987, CHERNUKHA, 1988).

Assim, é provável que a infecção leptospírica nos arrozeiros tenha os roedores silvestres como fonte de infecção. Entretanto, deve ser considerado a possibilidade da infecção também ocorrer pelo contato do arrozeiro com os animais domésticos.

Com isso, as leptospiroses tornam-se preocupantes a nível de saúde pública na região, já que essa possui um clima tipicamente tropical e condições ecológicas e sociais favoráveis a manutenção endêmica desta enfermidade.

6 CONCLUSÃO

Existe uma provável relação entre os sorovares presentes nos roedores silvestres e nos arrozeiros.

SUMMARY

Leptospirosis infection was analyzed in 269 field rice workers and 47 wild rodents in Manga, north of Minas Gerais, Brazil. Blood samples from both of them were checked for 20 leptospiras sorovars with Rapid Microscopic Agglutination Test (MAR). A prevalence of 8,9% of positives workers was detected, with *L.celledoni* as the most common sorovar among workers (2,6%) and rodents (51,06%). Differences of sorovars between workers and rodents were not happened ($p. < 5\%$), when tested by non parametric WILCOXON test. So, it may be relation among them.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALSTON, J., M., BROOM, J., C.
Leptospirosis in man and animals. London:
Levistone Ltda. 1958. 367p.
- ANDRADE, J., BRANDÃO, A. P. Contribuição ao
conhecimento da epidemiologia da
Leptospirose humana com especial referência
ao Grande Rio, Brasil, no período de 1970 a
1982. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**
Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v.82, n.1.
p.91-100, 1987.
- AVILA, F., A., MOREIRA, E., C., VIANA, F.,
C., COSTA, A., J. Frequência de aglutininas
anti-leptospiras em soros de suínos de
Minas Gerais. **Arquivo da Escola de**
Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, v.29,
n.3. p.263-268, 1977.
- BERMAN, S. J., TSAI, C., HOLMES, K., FRESH,
J., WATTEN, R. Sporadic anicteric
leptospirosis in South Vietnam. **Annals of**
Internal Medicine, Philadelphia, v.79.
p.167-173, 1973.
- BREWER, W. E. et al. Rice field leptospirosis
in Turkey. A serological survey. **American**
Journal of Tropical Medicine and
Hygiene, Lawrence, v.9. p.229-239, 1960.
- CALDAS, E. M. et al. Estudo epidemiológico de
surto de leptospirose ocorrido na cidade de
Salvador, Bahia, em maio e junho de 1978.
Revista do Instituto Adolfo Lutz, São
Paulo, v.39, n.1. p.85-94, 1979.

- CENSO AGROPECUARIO: Minas Gerais. Rio de Janeiro: IBGE, 1985.
- CENSO DEMOGRAFICO. Rio de Janeiro: IBGE, 1980.
- CENSO DEMOGRAFICO, resultados preliminares. Rio de Janeiro: IBGE, 1989.
- CENSO DEMOGRAFICO, resultados preliminares. Rio de Janeiro: IBGE, 1991.
- CHERNUKHA, Yu. G. Ecology of leptospirae. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, Rishon Le-Zion, v.44, n.1. p.67-68, 1988.
- CORREA, M. O. A. Panorama atual das leptospiroses humanas no Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.33. p.55-72, 1973.
- COSTA, C. A., REZENDE, M., LINS, Z. Leptospiroses no estado do Pará e território federal do Amapá. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.29/30. p.1-4, 1969/70.
- EDELWEISS, E. L. Leptospiroses no Rio Grande do Sul. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.29/30. p.5-11, 1969/70.
- ELLIS, W. A. Leptospirosis. **Journal of Small Animal Practice**, Cheltenham, v.27, n.10. p.683-692, 1986.
- ELLINGHAUSEN, H., C., et al. Nutrition of leptospira pomona and growth of 13 other serotypes: fraction of oleic albumin complex and medium of bovine albumin and polysorbate 80. **American Journal of Veterinary Research**, Fairfield, v.26. p.45-51, 1965.

- FAINE, S. Section A: An Overview. In: **Guidelines for the control of leptospirosis**, ed. 67. Geneva: World Health Organization, 1982. p.15-36.
- FLETCHER, W. Recent work on leptospirosis, tsutsugamushi disease and torpical types in Federated Malay States. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine**, London, v.21. p.265-287, 1928.
- FOCACCIA, R. et al. leptospiroses. Estudo sorológico entre habitantes de ilhas do litoral sul do estado de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.39, n.1. p.1-23, 1979.
- HANSON, L. E. Leptospirosis in domestic animals the public health perspective. **Journal the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.181. p.1505-09, 1982.
- HIDALGO, J. L. Leptospirosis en San Martin, Peru. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, Washington. p.411-421, 1975.
- HOGERZEIL, H. V., et al. Leptospirosis in rural Ghana. **Tropical and Geographical Medicine**, Dordrecht, v.38, n.2. p.162-166, 1986.
- HYAKUTAKE, S. et al. Investigaçáo sorológica sobre leptospiroses em um grupo populacional do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.38, n.1. p.3-8, 1978.
- KINJO, T., et al. Serologic studies on five selected zoonoses in wild japanese serows. **Japanese Journal of Veterinary Science**, Tokyo, v.49, n.6. p.1027-1033, 1987.

- LOMAR, A. V., DIAMENT, D. Leptospiroses humanas. In: RAMOS, O., L. & ROTH SCHILD, H., A. **Atualização terapêutica por um grupo de colaboradores especializado. Manual prático de diagnóstico e tratamento.** 15 ed., Livraria editora Artes Médicas Ltda, 1991.
- MAGALDI, C. **Contribuição à epidemiologia das leptospiroses. Investigação em trabalhadores da rede de esgotos da cidade de São Paulo.** São Paulo: Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo, 1962, 114p. Dissertação (Doutorado na área de Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas).
- MOREIRA, E., C., et al. Leptospirose Bovina: I - Aglutininas anti-leptospiras em soros sanguíneos de bovinos de Minas Gerais. **Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG,** Belo Horizonte, v.31, n.3. p.375-388, 1979.
- MYERS, D., M. **Manual de Metodos para el diagnostico de laboratorio.** Martinez: Organizacion Panamericana de la Salud, 1985. 46p.
-, et al. Aislamiento del sorotipo *hardjo* y otras leptospiras de armadillos de Argentina. **Boletin de la Oficina Sanitaria Panamericana,** Washington, v.83, n.1. p.56-65, 1977.
- NOGUCHI, H. Spirochaeta icterohaemorrhagiae in American wild rats and its relationship to the Japanese and European strains. **Journal Exp. Medicine.,** v.25. p.755-763, 1917.
- PROKPCA KOTA, H., et al. **Pracovni Lekarstvi,** Prague, v.40, n.10. p.446-450, 1988. (resumo)

RIBEIRO, S., C., A., MOREIRA, E., C., GOMES, A., G., VALE, C. Infecção por *Leptospira interrogans*, numa Fazenda de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.40, n.2, p.137-144, 1988.

RIEDEMANN, S., ZAMORA, J. (A) Aspectos epidemiológicos de leptospirosis humana en el medio rural. **Zentralblatt Veterinaermedizin Reihe B**, Hamburg, v.29, n.9, p.702-707, 1982.

(B) Leptospirosis en pequeños roedores en el Área rural de Valdivia. **Zentralblatt Veterinaermedizin Reihe B**, Hamburg, v.29, n.10, p.764-768, 1982.

RYU, E. Rapid microscopic agglutination test for *Leptospira* without non-specific reaction. **Bulletin de L'Office International des Epizooties**, Paris, v.73, n.1, p.49-58, 1970.

SANTA ROSA, C. A. et al. Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras em soros de trabalhadores de diversas profissões. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.1, p.19-24, 1970.

SCHENK, J., A., P. **Isolamento de leptospira do sorogrupo hebdomadis de tatus (*Dasypus novemcinctus*) capturados no estado de Minas Gerais**, Belo Horizonte: Escola de Veterinária da U.F.M.G., 1976, 58p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva)

SILVA, A. R. M. B. et al. Aspectos epidemiológicos das leptospiroses humanas no Grande Rio, Brasil. **Boletim de la Oficina Sanitaria Panamericana**, Washington, p.122-33, 1974.

- SNEDECOR, GEORGE, W. & COCHRAN, WILLIAM, G.
Metodos estadisticos. 7 ed. Mexico: Compñia
Editorial Continental, S.A., 1980. 703 p.
- STUART, R. D. The preparation and use of a
simple cultura medium for Leptospiroses.
Journal of Pathology and Bacteriology,
Edinburg, v.58. p.343-349, 1946.
- SULLIVAN, M. V. Leptospirosis in animals and
man. **Australian Veterinary Journal,**
Brunswick, v.50, n.5. p.216-223, 1974.
- VERONESSI, R., et al. Doengas causadas por
espiroquetas 73. Leptospiroses. In:
VERONESI, R. **Doengas Infecciosas e**
Parasitárias, 8 ed. Rio de Janeiro: Ed.
Guanabara ,Koogan, 1991. p.565-579.