

Universidade Federal de Minas Gerais
Conselho de Pós-Graduação
Escola de Veterinária

PREVALÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPIRAS EM SOROS SANGUÍ-
NEOS DE BOVINOS DOS ESTADOS DO PARÁ E AMAZONAS - BRASIL

Tânia Mara Sardinha Moreira

Belo Horizonte
Minas Gerais

1982

Tânia Mara Sardinha Morcira

PREVALÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPIRAS EM SOROS
SANGUÍNEOS DE BOVINOS DOS ESTADOS DO PARÁ E AMAZONAS
BRASIL

Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área: Medicina Veterinária Preventiva.

Belo Horizonte
Minas Gerais
1982

M838p Moreira, Tânia Mara Sardinha, 1951-
Prevalência de aglutininas anti-leptospiras em
soros sanguíneos de bovinos dos Estados do Pará e
Amazonas, Brasil. Belo Horizonte, Escola de Ve-
terinária da UFMG, 1982.

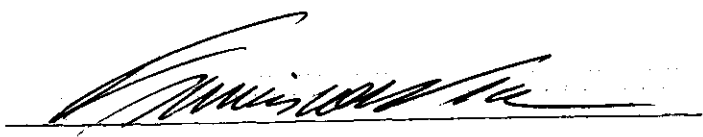
43p. ilust.

Tese, Mestre em Medicina Veterinária.

1. Leptospirose - Bovinos. 2. Teste de agluti-
nação. 3. Sangue - soro.

CDD-636.208.969 2

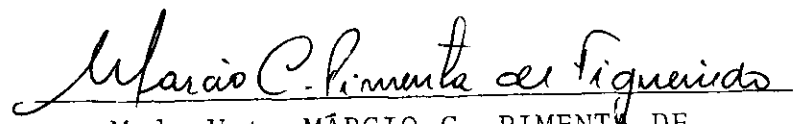
APROVADA EM 17 / 08 / 1982



Prof. FRANCISCO CECÍLIO VIANA
- Orientador -



Prof. JOSÉ AILTON DA SILVA



Med. Vet. MÁRCIO C. PIMENTA DE
FIGUEIREDO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. FRANCISCO CECÍLIO VIANA, pela valiosa orientação, incentivo e amizade.

À FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DO PARÁ, pela oportunidade oferecida.

Às Dr^{as} VERA LÚCIA VIEGAS DE ABREU e MARIA CRISTINA DE MATTOS ALMEIDA pela orientação e apoio prestados nos trabalhos laboratoriais.

Ao Sr. ANTONIO BENJAMIN DE PAULA e demais funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, pela colaboração no presente trabalho.

À SECRETARIA DE DEFESA SANITÁRIA ANIMAL do Ministério da Agricultura, e, em particular ao Dr. RICARDO SANT'ANNA DE AZEREDO pela cessão do material constante da amostra desta pesquisa.

À Dr^a ZÉA C. LINS, pesquisadora do Instituto Evandro Chagas da Fundação Serviços de Saúde Pública, pelas importantes sugestões e colaboração.

À FUNDAÇÃO DE ESTUDO E PESQUISA EM MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA - FEP-MVP, pelo apoio financeiro na realização desta pesquisa.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho.

RESUMO

Com o objetivo de se conhecer a prevalência de aglutininas anti-leptospiras, através da técnica de microaglutinação rápida, em bovinos dos Estados do Pará e Amazonas, foram colhidos de forma probabilística, 1.487 soros sanguíneos em 250 propriedades do Pará e 880 em 154 propriedades do Amazonas. No Estado do Pará, 38,8% dos bovinos foram reagentes para um ou mais sorotipos, sendo mais prevalente *L. hardjo* (21,7%); seguido de *L. wolffi* (15,5%); *L. pomona* (6,7%); *L. bataviae* (6,1%); *L. grippotyphosa* (5,6%); *L. tarassovi* (3,4%); *L. sejroe* (3,4%); *L. ballum* (2,4%); *L. australis* (2,1%); *L. pyrogenes* (1,7%); *L. butembo* (1,5%); *L. autumnalis* (0,9%); *L. brasiliensis* (0,3%); *L. canicola* (0,1%). No Estado do Amazonas, a prevalência de bovinos reagentes a pelo menos um sorotipo foi de 46,3% e o sorotipo mais comum foi também *L. hardjo* (30,2%), seguido de *L. wolffi* (22,5%); *L. bataviae* (6,0%); *L. grippotyphosa* (4,4%); *L. tarassovi* (3,5%); *L. australis* (2,6%); *L. pomona* (2,5%); *L. pyrogenes* (1,7%); *L. butembo* (1,7%); *L. autumnalis* (1,1%); *L. ballum* (1,1%); *L. sejroe* (0,8%).

Não foram registradas aglutinações positivas (título \geq 1:100) para *L. icterohaemorrhagiae* em nenhum dos estratos estudados. Todos os municípios dos dois Estados apresentaram animais reagentes e a prevalência de aglutininas anti-leptospiras foi superior nas áreas de várzeas sujeitas a inundações.

SUMÁRIO

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. LITERATURA CONSULTADA	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
4. RESULTADOS	26
5. DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose bovina tem sido freqüentemente associada a fatores de perdas econômicas, em decorrência de abortos, natimortos, mortalidade de bezerros e mamites provocando, conseqüentemente, diminuição da produção e da produtividade dos rebanhos afetados e decréscimo da disponibilidade de proteína animal para a população humana.

Na América do Sul, é possível que considerável número de casos clínicos de leptospirose bovina sejam confundidos com a brucelose, plasmoses, subnutrição e outras, o que prejudica na identificação de um surto (LIMPIAS & MARCUS, 1973).

Animais domésticos e silvestres contaminados por *Leptospira* constituem risco de infecção para certos grupos de trabalhadores, determinando, dessa maneira, uma zoonose de risco ocupacional, promovendo, muitas vezes, casos fatais.

Ecologicamente, as regiões tropicais e sub-tropicais são mais favoráveis à enfermidade, sabendo-se que em ambientes úmidos as leptospirosas podem sobreviver por longos períodos, aumentando a oportunidade de exposição e contaminação dos suscetíveis, direta ou indiretamente, pela urina, infectada (BLENDEN, 1976).

O requerimento básico para a sobrevivência de um sorotipo particular, num determinado ecossistema é a habili-

dade de parasitar uma espécie de hospedeiro suscetível. As características da infecção de um sorotipo particular são consideravelmente diferentes nas variadas espécies animais em um determinado ecossistema (HATHAWAY, 1981).

Inquéritos sorológicos na população bovina podem dar a informação sobre o grau de exposição às leptospiros, indicar os diferentes sorotipos que estão em jogo na região e avaliar os prejuízos econômicos que a infecção provoca na economia pecuária.

Em 1978 a Secretaria de Defesa Sanitária Animal, do Ministério da Agricultura, elaborou um plano de diagnóstico de saúde animal para a região norte, em que se incluiu o levantamento da leptospirose bovina, visando a elaboração de programa de controle das afecções consideradas prioritárias.

Tendo-se em vista a importância, cada vez mais crescente, que apresenta a pecuária bovina na região norte do País, a escassez de dados nosológicos dessa população animal e as condições ecológicas favoráveis para manutenção e difusão das leptospiros, objetivou-se no presente trabalho:

- a) estimar a prevalência global de bovinos reagentes à *Leptospira* nos Estados do Pará e Amazonas;
- b) estimar a prevalência de bovinos reagentes por sorotipos;
- c) identificar as áreas de maior prevalência desses Estados.

2. LITERATURA CONSULTADA

O reconhecimento inicial da leptospirose no Brasil, deve-se à MAC DOWELL (1917), que diagnosticou clinicamente a doença, em um homem, no Estado do Pará, denominando-a de "icterus epidemicus".

GUIDA et alii (1959) examinaram 763 soros sanguíneos de bovinos de várias localidades do Estado de São Paulo e através do método de aglutinação-lise, encontraram 57 animais reagentes, sendo que o sorotipo *L. icterohaemorrhagiae* foi o mais freqüente.

ROTH & GALTON (1960) estudaram um surto de leptospirose em rebanho bovino no Estado de Louisiana (EUA), que apresentava ao exame de aglutinação macroscópica 36% de animais reagentes para *L. pomona* e 17% para *L. sejroe* e conseguiram, pela primeira vez, o isolamento de *L. hardjo* em bovinos. Observaram os autores que os sorotipos *L. sejroe* e *L. hardjo* eram sorologicamente relacionados, e que *L. hardjo* poderia atuar como sorotipo infectante em muitos outros bovinos que apresentavam título para *L. sejroe*.

Segundo ALEXANDER & EVANS (1962) o isolamento de *L. hardjo* de bovinos com anticorpos contra *L. sejroe* ou *L. wolffi* pode dever-se a três fenômenos: reações inespecíficas, infecções múltiplas ou reações cruzadas, que talvez sejam

as mais prováveis.

BARBOSA (1962) examinou 120 soros sanguíneos de bovinos do Estado de Minas Gerais, através do método microscópico de aglutinação e lise em tubos e 22(18,3%) foram reagentes com predominância de *L. pomona* (7,5%), seguido por *L. icterohaemorrhagiae* (5,8%) e *L. sejroae* (2,5%).

SANTA ROSA et alii (1969/70), testaram no período de 1960-68, 15.080 soros sanguíneos de bovinos, provenientes, na sua maioria, do Estado de São Paulo e observaram que 23,6% dos animais foram reagentes ao exame de aglutinação macroscópica, predominando o sorotipo *L. wolffi* em 53,3% das reações.

Segundo descrição do INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA (1970), uma das características das micro-regiões do Estado do Pará compreendidas pelo médio Tocantins, Araguaia e Paragominas (estrato I da amostra), é a predominância de "terra-firme" e a formação de pastos em áreas de velhas lavouras ou derrubadas recentes. Nas demais regiões desse Estado e nas do Amazonas compreendidas na amostra, verifica-se a predominância de várzeas influenciando diretamente a prática de manejo bovino, caracterizado pela permanência do gado nas épocas de cheias em "tesos" ou "marombas", que são pequenas elevações de terra não atingidas pelas águas, ou currais flutuantes, característicos dessa região, onde permanecem os bovinos em alta densidade por grandes períodos de tempo. Nas águas baixas, a criação do gado é realizada nas várzeas, quando aí surgem bons pastos.

LICERAS DE HIDALGO (1973) isolou, pela primeira vez no Peru e na América do Sul, os sorotipos *L. hardjo* e *L. pomona* de bovinos aparentemente sadios que apresentavam, à sorologia, maior frequência para *L. wolffi*.

LIMPIAS & MARCUS (1973) testaram 520 bovinos pertencentes a 70 propriedades, em Santa Cruz, Bolívia e 372 (71,5%) resultaram reagentes ao teste de aglutinação microscópica; sendo que os sorotipos *L. hardjo* (51,2%), *L. hebdomadis* (40,5%), *L. wolffi* (38,1%) e *L. sejroae* (34,7%), todos do sorogrupo *Hebdomadis*, foram os mais prevalentes.

REIS et alii (1973), utilizando o teste de micro-aglutinação rápida, examinaram 720 amostras de soros provenientes de 23 rebanhos bovinos e 134 amostras de suínos, procedentes de 4 rebanhos, do Estado de Minas Gerais, e observaram que 39 (5,4%) bovinos e 16 (11,9%) suínos foram positivos à sorologia. Entre os animais reagentes, os sorotipos mais prevalentes em bovinos foram *L. hebdomadis* (89,80%) seguido de *L. pomona* e *L. australis*, ambos com 5,10%.

PINHEIRO et alii (1974) verificaram que 15 (6,7%) dos 222 roedores e marsupiais capturados em vários locais da Rodovia Transamazônica (Pará) mostraram anticorpos contra *L. grippotyphosa*, *L. wolffi*, *L. bataviae* e *L. butembo*, com títulos entre 1:200 e 1:400 e concluíram que *L. wolffi* parecia ser mais freqüente entre os marsupiais e *L. grippotyphosa* entre os roedores. Entre 190 soros sanguíneos de pessoas que habitavam a região, 35 (18,4%) mostraram títulos significativos para *L. pomona* (8,4%), *tarassovi* (3,2%), *grippotyphosa* (2,1%), *australis* (2,1%), *bataviae* (1,2%), *pyrogenes* (0,5%) e *wolffi* (0,5%).

CORDEIRO et alii (1975) examinaram, pela prova de soro-aglutinação microscópica, 1562 soros sanguíneos de bovinos de 64 propriedades agropastoris referentes a 28 municípios do Estado do Rio de Janeiro e encontraram reações positivas com título a partir de 1:100 em 312 (21,85%) dos soros envolvendo principalmente os sorotipos *wolffi* (10,62%), *tarassovi* (2,62%), *grippotyphosa* (1,28%), *pomona* (1,28%), *bratislava* (1,14%) e a cepa Mm-2 (2,48%). Cerca de 84,37% das propriedades visitadas, tinham seus rebanhos animais com aglutinações positivas e somente 2 dos 28 municípios estudados não apresentaram reagentes.

LINS & SANTA ROSA (1975) observaram que 9,2% de 54 bovinos e 42,8% de 42 bubalinos do Estado do Pará apresentaram evidência sorológica para *Leptospira*. Entre os roedores estudados na área, os sorotipos mais freqüentes foram *castellonis*, *ballum*, *grippotyphosa*, *bataviae*, *butembo*, *celledoni*,

panama e *canicola*, e entre os marsupiais, *wolffi* foi o mais frequente, seguido de *bataviae*, *tarassovi*, *icterohaemorrhagiae* e *ballum*. Em primatas os sorotipos relacionados foram *djasiman*, *grippotyphosa* e *tarassovi*. Entre 281 habitantes examinados na área urbana, 15,6% apresentaram títulos sorológicos com predominância para *L. icterohaemorrhagiae*, seguido de *canicola*, *javanica*, *bataviae* e outros. Na zona rural atingida pela Rodovia Transamazônica, observaram um índice de 16,5% de reagentes entre 309 indivíduos e predominaram as reações para o sorotipo *panama*, seguido de *grippotyphosa*, *tarassovi*, *australis* e outros; com total ausência de reagentes para o sorotipo *icterohaemorrhagiae*.

Na Argentina, MYERS & JELAMBI (1975) isolaram amostras de *L. hardjo* de 161 rins de bovinos em matadouros, mostrando que bovinos clinicamente normais podem atuar como reservatório de *L. hardjo*; e demonstraram que 45,8% de 185 soros bovinos provenientes das cinco maiores áreas de criação da Argentina apresentavam aglutininas anti-*L. hardjo* e 41,6% anti-*L. wolffi*.

LINS & SANTA ROSA (1976), em inquérito sorológico no Núcleo Pioneiro de Humboldt, município de Aripuanã, norte do Estado do Mato Grosso, examinaram 234 soros de pessoas habitantes da área e 22 (9,40%) apresentaram anticorpos para *L. panama*, *bataviae*, *andamana*, *tarassovi*, *butembo*, *wolffi* e outros. Entre os animais silvestres, 5 de 50 roedores, 3 de 29 morcegos e 1 de 3 artiodactilos do gênero *Tajassu* (porco do mato) apresentaram reações sorológicas positivas e os sorotipos predominantes foram *celledoni*, *brasiliensis* e *shermani* em roedores, *australis* e *javanica* em morcegos e *brasiliensis* na única espécie de porco do mato. Foi observada a total ausência de reagentes para o sorotipo *icterohaemorrhagiae* nos exames sorológicos efetuados.

ÁVILA et alii (1978) submeteu ao teste de microaglutinação rápida para *Leptospira*, soros de 474 bovinos do município de Jaboticabal, São Paulo, e destes, 130 (27,4%)

mostraram-se reagentes para um ou mais sorotipos, com títulos aglutinantes variando de 1:100 até 1:800. O sorotipo *wolffi* (60,7%) foi o mais frequente entre os animais reagentes, seguido de *pomona* (56,1%), *canicola* (44,6%), *tarassovi* (37,6%), *icterohaemorrhagiae* (33,8%), *ballum* (20,7%), *grippotyphosa* (13,8%).

No Estado de Minas Gerais MOREIRA et alii (1979), testaram para pesquisa de aglutininas anti-leptospiras, 3727 soros sanguíneos de vacas acima de 3 anos de idade, obtidos através de amostragem probabilística (Grupo I); e 2702 soros de bovinos de ambos os sexos remetidos para exames de diagnóstico clínico (Grupo II). No Grupo I, os resultados revelaram que 16,29% dos soros foram reagentes para *L. pomona*, 12,10% para *L. wolffi*, 11,11% para *L. hardjo*, 5,85% para *L. grippotyphosa*, 5,15% para *L. icterohaemorrhagiae* e 2,20% para *L. canicola*. No grupo II, a maior frequência foi para o sorotipo *L. wolffi* (27,83%) e *L. hardjo* (24,12%), seguido de *L. pomona* (11,55%), *L. icterohaemorrhagiae* (4,48%), *L. canicola* (3,61%) e *L. grippotyphosa* (2,20%).

SANDOVAL et alii (1979) encontraram 6,85% de soros com aglutininas anti-leptospira em 829 bubalinos de 7 rebanhos do Estado de São Paulo. Observaram a predominância de *L. pomona* em um rebanho com problema clínico de aborto e nos demais, *L. wolffi* e *L. grippotyphosa* foram as mais frequentes.

AYCARDI et alii (1980) isolaram em bovinos de corte, em uma região tropical da Colômbia, 3 amostras de *L. hardjo* sendo uma de rim de vaca sacrificada, com título de 1:100, ao teste de aglutinação microscópica e duas de urina de vacas que apresentavam título de 1:100 e 1:200.

CACCHIONE et alii (1980) apresentaram dados de 20 anos sobre leptospirose humana e animal na Argentina, através da prova de aglutinação microscópica e, em 28.949 soros bovinos testados, 18.419 (63,2%) foram positivos principalmente para *L. wolffi* (61,61%), *L. pomona* (20,26%), *L. tarassovi* (10,91%).

MADRUGA et alii (1980), observaram que, entre 670 bovinos de 9 municípios da região do cerrado no Sul do Estado de Mato Grosso, 505 (74,3%) apresentaram reações positivas e os sorotipos mais prevalentes foram *L. hardjo* (41%), *L. sejroe* (40%) e *L. wolffi* (30%).

LICERAS de HIDALGO (1981) analisou, na localidade de Tingo Maria (Peru), o papel dos animais silvestres na epidemiologia das leptospiroses; concluiu que de 15 soros de *Philander opossum* examinados, 9 (60%) tinham anticorpos e 11 (73,33%) foram positivos por cultivo de rins. Um espécime estava infectado com leptospiras de dois sorogrupos. Sete das cepas isoladas correspondiam ao sorogrupo *ebdomadis*, 3 ao *Tarassovi*, 1 ao *Pomona* e 1 ao *Cynopteri*. Entre 15 exemplares de *Didelphis marsupialis*, 3 (20%) resultaram sorologicamente positivos e em 7 (46,66%) isolou *Leptospira* por cultivo de rim, correspondendo 4 ao sorogrupo *Hebdomadis*, 2 ao *Cynopteri*, e 1 ao *Autumnalis*. Pelo elevado índice de infecção a autora considerou o *Ph. opossum* um importante reservatório em Tingo Maria, e, possivelmente, em outras localidades da selva peruana, assim como nos países da América Central e do Sul, onde vivem esses animais.

ZELADA (1981) testou 1488 soros de bovinos do Território Federal de Roraima, através do método de micro-aglutinação rápida e verificou que, das 1407 reações positivas aos 15 sorotipos utilizados, 26,1% foram para *L. wolffi*, 14,9% para *L. hardjo*, 10,6% para *L. tarassovi*, 9,0% para *L. bataviae*, 8,6% para *L. ballum*, 7,0% para *L. australis* e 4,8% para *L. grippotyphosa*. Quanto aos demais sorotipos tiveram menor número de reações, sendo que não foram observadas aglutininas frente aos sorotipos *L. brasiliensis* e *L. icterohaemorrhagiae*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1.1. A região

Os Estados do Pará e Amazonas possuem respectivamente, 1.248.042 e 1.564.445 km², 83 e 44 municípios, representando 14,66 e 18,33% do território brasileiro, sendo que as águas internas dos dois Estados somam 25.970 km².

Com uma latitude de 2°37'56" N e 9°50'24" S e longitude Oeste de 59°22'45" do meridiano de Greenwich, o Estado do Pará apresenta uma altitude média de 10m. No Estado do Amazonas, a latitude é de 2°8'30" N e 9°49'00" S e a longitude Oeste de 73°48'06" do meridiano de Greenwich, com uma altitude média de 21m.

A floresta Amazônica domina quase a totalidade desses Estados e a sua presença está estreitamente ligada ao regime pluvial bem distribuído e abundante, atingindo 3.116 mm/ano no Estado do Pará e 2.018 mm/ano no Amazonas; as médias anuais das temperaturas máximas e mínimas atingem, respectivamente, 31,3 e 21,4°C para o primeiro Estado e 31,3 e 22,5°C para o segundo. A umidade relativa média anual chega a 88% no Estado do Pará e 83% no Amazonas, caracterizando em ambos, o clima tropical quente e úmido (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, 1978).

3.1.2. Marco amostral

Foi utilizado para o delineamento experimental do trabalho nos Estados do Amazonas e Pará, o cadastramento de propriedades rurais do INCRA, compilado pelo MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (1979).

Com esta informação, realizou-se uma análise da distribuição geográfica da população bovina e do número de propriedades rurais, com o objetivo de identificar as áreas de maior importância pecuária.

Desta maneira, o marco amostral referente ao Estado do Pará abrangeu 5.184 propriedades, com 838.503 bovinos, distribuídos em 6 micro-regiões homogêneas, constituindo 3 estratos. Para o Estado do Amazonas, foram incluídas 3.814 propriedades com uma população bovina de 101.763 cabeças distribuídas em 3 micro-regiões homogêneas e constituindo 3 estratos.

Este delineamento permitiu abranger 96% da população bovina e 80% de propriedades rurais, equivalentes a 46% da área geográfica do Estado do Pará. No Estado do Amazonas, estes índices atingiram 95% da população bovina, 91% das propriedades rurais e 41% da área geográfica (TAB. I e II).

3.1.3. População e unidade de amostragem

A população bovina efetiva está constituída por fêmeas maiores de 30 meses de idade, dos estabelecimentos pecuários dos Estados compreendidos no diagnóstico. A população de fêmeas naqueles Estados foi estimada em 40% do total de bovinos.

O número estimado de vacas, as propriedades rurais e as micro-regiões homogêneas estão distribuídas na TAB. III, segundo os estratos utilizados na amostragem.

3.1.4. Tamanho da amostra

Segundo a expressão recomendada pelo CENTRO PAN-AMERICANO DE ZOONOSIS (1979), o valor de n para estudos de prevalência foi assim calculado:

$$n = \frac{p(100-p)z^2}{\left(\frac{p \cdot d}{100}\right)^2} \quad \text{onde:}$$

n = número de amostras (soros sanguíneos a serem testados)

p = prevalência esperada

z = grau de confiança

d = margem de erro esperada

Como se trata de um trabalho integrado para o diagnóstico de saúde animal, realizado pelo Ministério da Agricultura, foi feita uma amostragem única em cada Estado, para abranger as várias afecções bovinas dessa região. Neste caso, considerou-se o valor da prevalência esperada (p) igual ao indicado para a brucelose e estimado em 10% segundo informação do pessoal técnico e médicos veterinários da região.

O valor " n " dessa amostra única foi de 2.400 soros para o Estado do Pará e 990 soros para o Estado do Amazonas. Entretanto, o valor de " n " para o estudo da prevalência de aglutininas anti-leptospiras foi recalculado para cada Estado.

3.1.5. Cálculo do tamanho da amostra para o Estado do Pará

Para o cálculo do tamanho da amostra no Estado do Pará, considerou-se um erro (d) não superior a 16% um grau de confiança (z) de 1,96 para 95% de confiança; e uma prevalência esperada (p) conforme critério anterior de 10%. Assim, temos:

$$n = \frac{10(100-10)1,96^2}{\left(\frac{10 \cdot 16}{100}\right)^2} = 1.351$$

A fim de se ter uma maior segurança, o valor de "n" foi acrescido de 11%, resultando desta maneira:

n = 1.500 soros bovinos a serem testados no Estado do Pará

3.1.6. Cálculo do tamanho da amostra para o Estado do Amazonas

Para o Estado do Amazonas, os valores para o cálculo de "n" foram:

p = prevalência esperada (10%)
 z = grau de confiança (1,96 para 95% de confiança)
 d = margem de erro esperada (20%), onde:

$$n = \frac{10 (100-10) \cdot (1,96)^2}{\left(\frac{10 \cdot 20}{100}\right)^2} = 864$$

A fim de se ter uma maior segurança, o valor de "n" foi acrescido de 7%, resultando desta maneira:

n = 924 soros bovinos a serem testados no Estado do Amazonas

3.1.7. Número de propriedades (r) a serem estudadas

Para a seleção de propriedades (r) a serem estudadas, considerou-se sangrar um número constante (b) de 6 animais por estabelecimento, de maneira que em cada Estado, o número de estabelecimentos foi calculado através da seguinte equação:

$$r = \frac{n}{b}, \text{ onde:}$$

r = número de estabelecimentos a serem estudados em cada Estado

n = tamanho da amostra de vacas em cada Estado

b = número constante de animais (vacas acima de 30 meses) a sangrar em cada estabelecimento; assim,

para o Estado do Pará selecionou-se:

$$r = \frac{1.500}{6} = 250 \text{ propriedades, e,}$$

para o Estado do Amazonas,

$$r = \frac{924}{6} = 154 \text{ propriedades}$$

3.1.8. Colheita de informações

Em cada propriedade visitada foi aplicado um questionário abrangendo diversos aspectos de sanidade e manejo animal. Esse material obtido pelo Ministério da Agricultura foi gentilmente cedido para a realização deste trabalho.

3.1.9. Tipo de amostra

Estratificação - o critério de estratificação utilizado para os Estados foi geográfico, e sua distribuição foi proporcional ao número de bovinos. Somente algumas micro-regiões foram consideradas, em virtude de sua maior importância pecuária (FIG. 1 e 2).

3.1.10. Distribuição e seleção da amostra

Estabeleceu-se que o número de animais a serem san-

grados e inquêritos a serem aplicados, deveriam ser distribuídos entre os estratos na mesma proporção que cada um deles participava na população bovina em cada Estado.

Assim, para a seleção da amostra, utilizou-se um procedimento de seleção em duas etapas:

- a) na primeira etapa foram selecionadas as unidades primárias (estabelecimentos)
- b) na segunda etapa selecionou-se as unidades elementares (fêmeas acima de 30 meses), nos estabelecimentos selecionados (TAB. IV).

A seleção de estabelecimentos dentro de cada estrato se fez mediante um mecanismo aleatório, mantendo-se uma probabilidade proporcional ao tamanho, ou seja, ao número de bovinos dos estabelecimentos. Para isto, confeccionou-se uma lista de propriedades para cada estrato com os seguintes dados:

- a) identificação do proprietário (nº);
- b) quantidade de vacas por estabelecimento;
- c) quantidade acumulada de vacas desde o primeiro até o último estabelecimento, considerando 40% da população para esse fim;
- d) intervalo numérico que dentro da seqüência acumulada de vacas do estrato, corresponde à quantidade de vacas de cada estabelecimento;
- e) para selecionar os estabelecimentos mediante um mecanismo aleatório e em forma proporcional ao tamanho, se calculou:

$$fb = \frac{M}{rh}, \text{ onde:}$$

fb = intervalo de seleção

M = total de vacas do estrato

rh = estabelecimentos do estrato na amostra

- f) escolheu-se um número de arranque (R) entre 1 e Fb. A partir de R confeccionou-se uma seqüência somando sucessiva-

mente Fb. Assim obtivemos os seguintes números: R, (R + Fb), (R + 2Fb), (R + 3Fb)....

Os números resultantes caíram dentro de alguns dos intervalos confeccionados com a quantidade acumulada de bovinos por estabelecimento. Onde caía a seqüência aleatória, tinha-se um estabelecimento selecionado.

O número de estabelecimentos e animais sorteados, fração de amostragem, intervalo de seleção por estrato encontram-se na TAB. V.

A probabilidade total e por estratos está representada na TAB. VI.

3.2. Técnica sorológica

A pesquisa de aglutininas anti-leptospiras foi realizada pelo método de micro-aglutinação rápida (M.A.R.), descrito por RYU (1970), com pequenas modificações adotadas por ZELADA (1981).

Através de uma ocular de 10 X e uma objetiva de 16 X, ajustava-se o foco micrométrico e observava-se a presença de aglutinação bacteriana, em vários planos focais.

O grau de aglutinação era lido com 1 + (menos de 50% de leptospiras aglutinadas), 2 + (cerca de 50% de aglutinação) e 3 + (acima de 50% de aglutinação).

Foram consideradas positivas as reações que apresentavam 50% ou mais de leptospiras aglutinadas na diluição 1:100.

Os soros positivos na diluição de 1:100 eram retestados com a finalidade de se encontrar seus títulos finais. Uma série de diluições ao dobro era preparada com o soro e salina tamponada até a diluição final de 1:800.

3.3. Preparação dos antígenos

Como antígeno para a prova de micro-aglutinação-rá-

pida (M.A.R.) foram usadas culturas vivas de 4-14 dias, dos sorotipos indicados pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1967), com pequenas alterações (QUADRO I).

No Estado do Amazonas não foram efetuadas sorologias frente aos antígenos *L. brasiliensis* e *L. canicola*, utilizados no Estado do Pará.

As culturas recebidas do Centro Panamericano de Zoonosis, foram mantidas em meio semi-sólido de FLETCHER (1928) e repicadas para o meio de STUART (1946). Estas culturas eram repicadas de 4-6 dias e conservadas em estufas à temperatura de 28-30°C.

Os antígenos eram examinados previamente, ao microscópio de campo escuro, a fim de se verificar a mobilidade, densidade, auto-aglutinação e contaminação bacteriana.

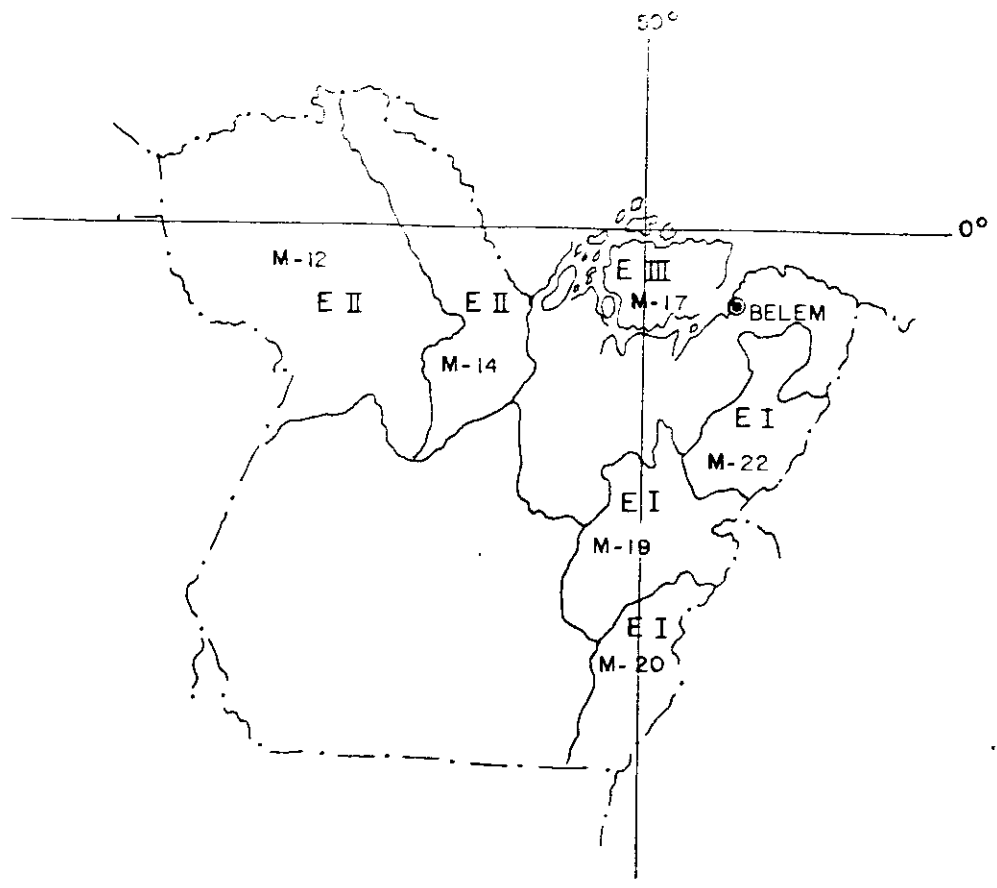
3.4. Análise dos dados

Foi aplicado o teste do Qui-quadrado (SPIEGEL, 1977), com a finalidade de se observar a ocorrência de associação entre os soros reagentes aos diversos sorotipos e os estratos e Estados estudados, através da composição de tabelas de contingência.

QUADRO I - Sorotipos de *Leptospira* usados como antígenos no teste de micro-aglutinação rápida (M.A.R.) fornecidos pelo Centro Panamericano de Zoonosis

Sorogrupo	Sorotipo	Amostra
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	RGA
<i>Canicola</i>	<i>canicola</i> *	Hond Utrecht VI
<i>Ballum</i>	<i>ballum</i>	Mus 127
<i>Pyrogenes</i>	<i>pyrogenes</i>	Salinem
<i>Autumnalis</i>	<i>autumnalis</i>	Akiyami A
<i>Australis</i>	<i>australis</i>	Ballico
<i>Pomona</i>	<i>pomona</i>	Mm -2
<i>Grippityphosa</i>	<i>grippityphosa</i>	Moskva V
<i>Hebdomadis</i>	<i>wolffii</i>	3705
<i>Hebdomadis</i>	<i>hardjo</i>	Hardjoprajitno
<i>Hebdomadis</i>	<i>sejroe</i>	M 84
<i>Bataviae</i>	<i>bataviae</i>	Van Tienen
<i>Bataviae</i>	<i>brasiliensis</i> *	LT 966
<i>Tarassovi</i>	<i>tarassovi</i>	Perepelicin
<i>Cynopteri</i>	<i>butembo</i>	Butembo

* Não foram utilizados no Estado do Amazonas.



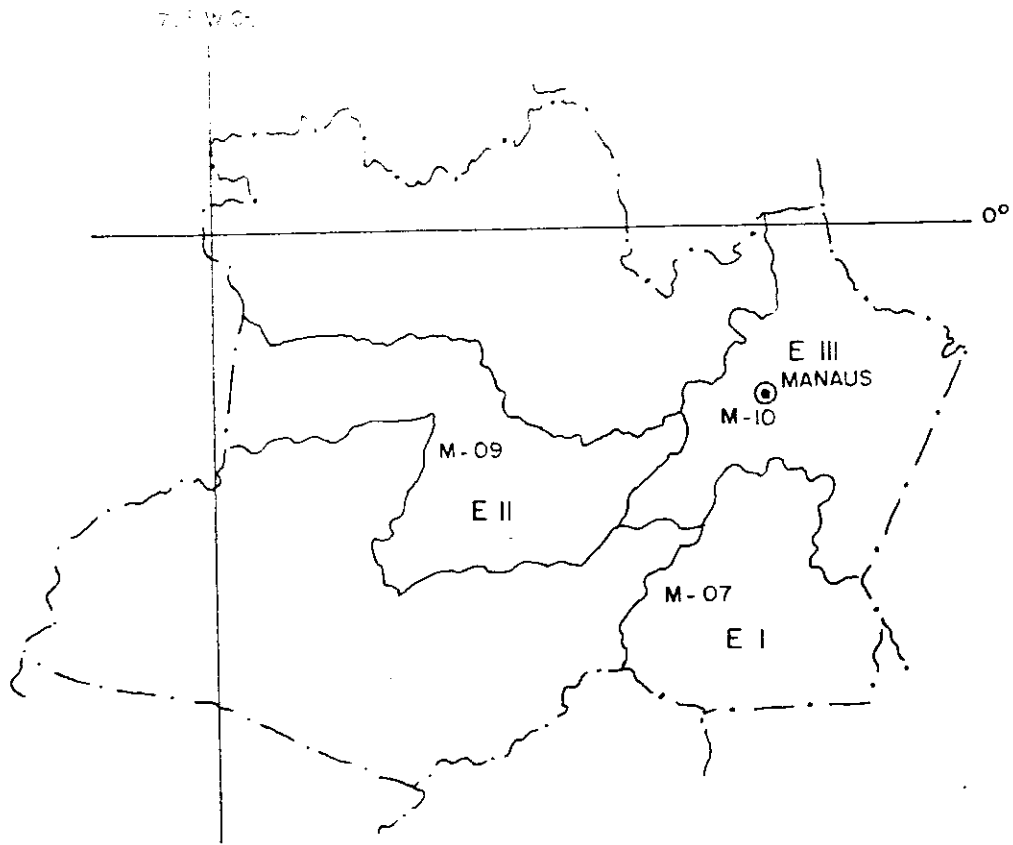
E Estrato

M- Micro - Regiões

 Estado do Pará



Fig. 1 - Caracterização dos estratos estudados no Estado do Pará.



E Estrato

M - Micro - Regiões



Estado do Amazonas



Fig. 2 - Caracterização dos estratos estudados no Estado do Amazonas .

TABELA I - Número de propriedades, população bovina e áreas abrangidas pelas micro-regiões e estratos - Estado do Pará, 1978

Estratos	Micro-regiões homogêneas	Propriedades		Bovinos		Área	
		Nº	%	Nº	%	Km ²	%
I	19 - Médio Tocantins	496	7,64	56.141	6,44	73.015	5,95
I	20 - Araguaia Paraense	526	8,11	62.611	7,18	49.856	4,06
I	22 - Paragominas	926	14,27	139.569	16,01	64.307	5,24
II	12 - Médio Amazonas	2.026	31,22	116.382	13,35	235.656	19,20
II	14 - Baixo Amazonas	344	5,30	59.481	6,82	119.616	9,74
III	17 - Campos de Marajó	866	13,35	404.319	46,38	23.046	1,87
TOTAL DOS ESTRATOS		5.184	79,89	838.503	96,19	256.496	46,06
TOTAL DO ESTADO		6.489	100,00	871.674	100,00	1.227.530	100,00

TABELA II - Número de propriedades, população bovina e áreas abrangidas pelas micro-regiões e estratos - Estado do Amazonas, 1978

Estratos	Micro-regiões homogeneas	Propriedades		Bovinos		Área	
		Nº	%	Nº	%	Km ²	%
I	7 - Madeira	114	2,71	3.813	3,54	208.402	13,37
II	9 - Solimões-Japurá	307	7,29	3.330	3,09	231.317	14,84
III	10 - Médio-Amazonas	3.393	80,67	94.620	88,00	200.917	12,88
TOTAL DOS ESTRATOS		3.814	90,67	101.763	94,63	640.636	41,09
TOTAL DO ESTADO		4.206	100,00	107.528	100,00	1.558.987	100,00

TABELLA III - População bovina, número estimado de vacas e propriedades por estratos e micro-regiões - Estados do Pará e Amazonas, 1978

Estado	Estrato	Micro-regiões homogêneas	População bovina		Número estimado de vacas *	Propriedades	
			Nº	%		Nº	%
Pará	I	19-20-22	258.321	30,81	103.328	1.948	37,58
	II	12-14	175.863	20,97	70.345	2.370	45,72
	III	17	404.319	48,22	161.727	866	16,70
TOTAL	-	-	838.503	100,00	335.400	5.184	100,00
Amazonas	I	7	3.813	3,75	1.525	114	2,99
	II	9	3.330	3,27	1.332	307	8,05
	III	10	94.620	92,98	37.848	3.393	88,96
TOTAL	-	-	101.763	100,00	40.705	3.814	100,00

* Estimado em 40% da população bovina.

TABELA IV - Número e percentagem de vacas e propriedades selecionadas de acordo com a distribuição relativa da amostra por estrato - Estados do Pará e Amazonas, 1978

Estado	Estratos	Propriedades selecionadas		Vacas selecionadas	
		Nº	%	Nº	%
Pará	I	75	30,0	450	30,0
	II	50	20,0	300	20,0
	III	125	50,0	750	50,0
TOTAL	-	250	100,0	1.500	100,0
Amazonas	I	5	3,0	30	3,0
	II	5	3,0	30	3,0
	III	144	94,0	864	94,0
TOTAL	-	154	100,0	924	100,0

TABELA V - Número de propriedades e animais sorteados, fração de amostragem e intervalo de seleção por estrato - Estados do Pará e Amazonas, 1978

Estado	Estrato	Propriedades sorteadas (r)	Animais sorteados (n)	Fração de amostragem (f)	Intervalo de seleção (Fb)
Pará	I	75	450	1/230	1.377
	II	50	300	1/234	1.407
	III	125	750	1/216	1.294
TOTAL	-	250	1.500	1/224	-
Amazonas	I	5	30	1/51	305
	II	5	30	1/44	266
	III	144	864	1/44	263
TOTAL	-	154	924	1/44	-

TABELA VI - Probabilidade total e por estrato - Estado do Pará e Amazonas, 1978

Estado	Estrato	W = Peso relativo do Estrato	Fh = Fração de amostragem do estrato	Produto de W. Fh
Pará	I	0,31	0,00434	0,001345
	II	0,21	0,00469	0,000984
	III	0,48	0,00444	0,002131
Amazonas	I	0,037	0,01960	0,000725
	II	0,033	0,02272	0,000749
	III	0,930	0,02272	0,021129

4. RESULTADOS

Dos 1.500 soros sanguíneos referentes ao Estado do Pará, 13 não foram processados em decorrência de perda durante o manuseio, ou por se apresentarem bastante hemolisados. Entretanto, a distribuição dos 1.487 soros examinados, atingiu aproximadamente as percentagens estimadas para a amostra daquele Estado.

Reagiram positivamente para um ou mais sorotipos, com título igual ou superior a 1/100, 186 (37,6%), 104 (39,7%) e 287 (39,3%) bovinos, dos estratos I, II e III, respectivamente, totalizando 577 (38,8%) soros positivos para o Estado. Observou-se também que todos os municípios amostrados do Pará apresentaram animais reagentes e as maiores taxas foram registradas nos municípios de Alenquer (58,3%) e Juriti (54,2%) no estrato II e Ponta de Pedras (56,8%) e Chaves (47,6%) no estrato III. Esses valores, bem como o número de soros reagentes para cada município dos três estratos, estão registrados na TAB. VII.

Dos 924 soros sanguíneos referentes ao Estado do Amazonas, 44 não foram testados pelos mesmos motivos apontados para o Estado do Pará. Desta maneira, esse número permaneceu abaixo do total estimado como margem de segurança para o Estado, sendo que a distribuição dos 880 soros examinados.

atingiu a percentagem de 94%, calculada para o estrato III, e aproximou dos 3% estimados para os estratos I e II.

O número de bovinos reagentes a pelo menos um sorotipo, no Amazonas, foi 11(61,1%), 12(33,3%) e 384(46,5%) para os estratos I, II e III, respectivamente, resultando em 407 (46,3%) animais reagentes no Estado.

Todos os municípios do Amazonas apresentaram animais reagentes e a maior prevalência (61,1%) foi observada em Humaitá, no estrato I; porém, deve ser considerado o baixo número de animais examinados. O estrato III do Amazonas, com 46,5% de animais reagentes, foi o segundo em prevalência no presente estudo, destacando-se, principalmente, os municípios de Autazes (54,8%) e Barreirinha (52,4%). Esses dados, assim como a prevalência registrada nos demais municípios do Amazonas, e a distribuição segundo os estratos, podem ser observados na TAB. VIII.

Aglutininas anti-*L. hardjo* (21,7%) e *L. wolffi* (15,5%) foram as mais ocorrentes entre os bovinos testados nos 3 estratos do Pará, seguido de *L. pomona* (6,7%), *L. bataviae* (6,1%), *L. grippotyphosa* (5,6%), *L. tarassovi* (3,4%) e *L. sejroe* (3,4%).

No Amazonas, a maior frequência de bovinos reagentes foi também frente aos sorotipos *L. hardjo* (30,2%) e *L. wolffi* (22,5%), seguido de *L. bataviae* (6,0%), *L. grippotyphosa* (4,4%) e *L. tarassovi* (3,5%). A ocorrência de bovinos positivos para *L. pomona* (2,5%) e *L. sejroe* (0,8%) foi inferior à registrada no Pará. Os outros sorotipos apresentaram menor número de reações como pode ser observado na TAB. IX.

Aglutinações positivas para o sorotipo *L. icterohaemorrhagiae* não foram observadas em nenhum estrato dos Estados do Pará e Amazonas.

Embora os sorotipos *L. hardjo* e *L. wolffi* tenham apresentado maior prevalência no Amazonas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ao nível de $P < 0,05$ na prevalência destes sorotipos entre os estratos II do

Pará e III do Amazonas. Com exceção do estrato I do Pará, não foram observadas diferenças significativas a nível de $P < 0,01$ nos resultados da distribuição desses sorotipos, nos demais estratos dos Estados examinados.

A distribuição das aglutinações para *L. pomona* nos soros de bovinos testados também apresentou homogeneidade a nível de $P < 0,05$ entre os estratos II do Pará e III do Amazonas; porém, nos demais estratos esta ocorrência não foi observada e a maior prevalência para este sorotipo (10,3%) foi observada no estrato III do Pará.

Os resultados quanto à prevalência dos sorotipos *L. bataviae*, *L. grippotyphosa*, *L. tarassovi*, *L. australis*, *L. pyrogenes*, *L. butembo* e *L. autumnalis*, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas a nível de $P < 0,05$, nos valores observados nos Estados do Pará e Amazonas. Aglutininas anti-*L. ballum* ocorreram irregularmente nos diversos estratos e apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os Estados.

Em um total de 1751 reações positivas verificadas nos dois Estados, foram observadas 1567 aglutinações com títulos 1:100, 91 com títulos de 1:200, 71 com títulos de 1:400 e, finalmente, 22 com títulos de 1:800.

Dos 20 soros de bovinos que apresentaram aglutinações com título de 1:800 no Pará, 10 foram para *L. hardjo*, 5 para *L. wolffi*, 2 para *L. pomona*, 2 para *L. grippotyphosa* e 1 para *L. sejroae*.

Os títulos finais aos diversos sorotipos observados nos soros de bovinos do Pará podem ser verificados na TAB. X.

No Amazonas, foram observados 2 soros com títulos finais de 1:800, sendo 1 para o sorotipo *L. wolffi* e 1 para *L. bataviae*. Os demais títulos finais verificados nos diferentes sorotipos estão registrados na TAB. XI.

TABELA VII - Número de soros bovinos testados e reagentes para um ou mais sorotipos de *Leptospira* pela técnica de micro-aglutinação rápida, de acordo com os estratos e municípios amostrados - Estado do Pará, 1978

Estrato	Município	Soros testados	Soros reagentes	
		Nº	Nº	%
I	Conceição Araguaia	137	55	40,1
	Itupiranga	12	5	41,6
	Marabá	35	11	31,4
	Paragominas	270	99	36,6
	São João Araguaia	41	16	39,0
	Sub-total	495	186	37,6
II	Alenquer	60	35	58,3
	Almerim	18	6	33,3
	Jurití	24	13	54,2
	Monte Alegre	48	14	29,2
	Óbidos	34	11	32,4
	Oriximina	36	11	30,6
III	Porto de Moz	12	3	25,0
	Santarém	30	11	36,7
	Sub-total	262	104	39,7
	Cachoeira Arari	171	53	31,0
	Chaves	126	60	47,6
	Muana	57	20	35,1
TOTAL	Ponta de Pedras	155	88	56,8
	Salvaterra	55	21	39,6
	Santa Cruz Arari	56	20	35,7
	Soure	112	25	22,3
	Sub-total	730	287	39,3
	T O T A L	1487	577	38,8

TABELA VIII - Número de soros bovinos testados e reagentes para um ou sorotipos de *Leptospira*, pela técnica de micro-aglutinação rápida, de acordo com os estratos e municípios amostrados - Estado do Amazonas, 1978

Estrato	Município	Soros testados		Soros reagentes	
		nº	%	nº	%
I	Humaitã	18		11	61,1
	Sub-total	18		11	61,1
II	Arari	12		6	50,0
	Coari	6		2	33,3
	Codajás	6		1	16,7
	Japurá	6		2	33,3
	Tefé	6		1	16,7
	Sub-total	36		12	33,3
	Autazes	126		69	54,8
III	Barreirinha	42		22	52,4
	Careiro	174		77	44,3
	Itacoatiara	162		63	38,9
	Manacapuru	90		38	42,2
	Manaus	108		53	49,1
	Maués	106		53	50,0
	Nhamundá	18		9	50,0
Sub-total	826		384	46,5	
T O T A L		880		407	46,3

TABELA IX - Número e percentagem de soros bovinos positivos por sorotipos para *Leptospóia*, pela técnica de micro-aglutinação rápida, segundo os estratos - Estados do Pará e Amazonas, 1978

Sorotipos	E s t a d o d o P a r á						E s t a d o d o A m a z o n a s									
	Estrato I		Estrato II		Estrato III		Estrato I		Estrato II		Estrato III		Total			
	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %	posit. %		
<i>L. icterohaemolytica</i>	78	15,8	68	26,0	177	24,2	323	21,7	4	22,2	7	19,4	255	30,9	266	30,2
<i>L. interrogans</i>	60	12,1	47	18,0	123	16,8	230	15,5	7	38,9	8	22,2	183	22,1	198	22,5
<i>L. pneumophila</i>	21	4,2	4	1,5	75	10,3	100	6,7	-	-	-	-	22	2,7	22	2,5
<i>L. interrogans</i>	40	8,1	15	5,7	36	4,9	91	6,1	-	-	3	8,3	50	6,1	53	6,0
<i>L. interrogans</i>	32	6,5	7	2,7	44	6,0	83	5,6	-	-	-	-	39	4,7	39	4,4
<i>L. interrogans</i>	26	5,2	14	5,3	10	1,4	50	3,4	1	5,6	1	2,8	29	3,5	31	3,5
<i>L. interrogans</i>	23	4,6	17	6,5	10	1,4	50	3,4	1	5,6	-	-	6	0,7	7	0,8
<i>L. interrogans</i>	6	1,2	1	0,4	29	4,0	36	2,4	-	-	1	2,8	9	1,1	10	1,1
<i>L. interrogans</i>	9	1,8	9	3,4	13	1,8	31	2,1	-	-	1	2,8	22	2,7	23	2,6
<i>L. interrogans</i>	14	2,8	3	1,1	8	1,1	25	1,7	4	22,2	1	2,8	10	1,2	15	1,7
<i>L. interrogans</i>	5	1,0	4	1,5	14	1,9	23	1,5	-	-	1	2,8	14	1,7	15	1,7
<i>L. interrogans</i>	4	0,8	-	-	9	1,2	13	0,9	-	-	1	2,8	9	1,1	10	1,1
<i>L. interrogans</i>	3	0,6	1	0,4	1	0,1	5	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. interrogans</i>	1	0,2	-	-	1	0,1	2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
Soros examinados	495	100,0	262	100,0	730	100,0	1487	100,0	18	100,0	36	100,0	826	100,0	880	100,0

TABLE IX - Títulos finais ao teste de micro-aglutinação rápida para *Leptospira* em 1487 soros sangüíneos de bovinos segundo os estratos - Estado do Pará, 1978

Soro tipos	1:100			1:200			1:400			1:800			TOTAL %									
	Estratos			Estratos			Estratos			Estratos												
	I	II	III	Total	%	I	II	III	Total	%	I	II		III	Total	%						
<i>L. interrogans</i>	67	51	142	260	27,8	4	5	16	25	46,3	4	9	15	28	51,0	3	2	5	10	50,0	323	30,4
<i>L. interrogans</i>	53	55	103	191	20,5	1	4	15	20	37,0	4	5	5	14	25,5	2	3	-	5	25,0	230	21,7
<i>L. interrogans</i>	18	4	73	95	10,2	1	-	-	1	1,9	1	1	2	4	3,5	1	-	1	2	10,0	100	9,4
<i>L. interrogans</i>	38	15	30	83	8,9	-	-	2	2	3,7	2	-	4	6	11,0	-	-	-	-	-	91	8,5
<i>L. interrogans</i>	26	6	44	76	8,1	1	1	-	2	3,7	3	-	-	3	5,4	2	-	-	2	10,0	83	7,8
<i>L. interrogans</i>	25	13	9	47	5,0	1	-	1	2	3,7	-	1	-	1	1,8	-	-	-	-	-	50	4,7
<i>L. interrogans</i>	22	17	10	49	5,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	5,0	50	4,7
<i>L. interrogans</i>	6	1	29	36	3,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	36	3,4
<i>L. interrogans</i>	9	9	13	31	3,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31	3,0
<i>L. interrogans</i>	12	2	8	22	2,4	1	1	-	2	3,7	1	-	-	1	1,8	-	-	-	-	-	25	2,3
<i>L. interrogans</i>	5	4	14	23	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	2,2
<i>L. interrogans</i>	4	-	9	13	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	1,2
<i>L. interrogans</i>	3	1	1	5	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	0,5
<i>L. interrogans</i>	1	-	1	2	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0,2
TOTAL	289	158	486	933	100,0	9	11	34	54	100,0	15	15	25	55	100,0	9	5	6	20	100,0	1062	100,0

TABLE XI - Títulos finais ao teste de micro-aglutinação rápida para *Leptospira* em 880 soros sangüíneos de bovinos, segundo os estratos - Estado do Amazonas, 1978

Soro-tipos	1:100			1:200			1:400			1:800			TOTAL	%			
	Estratos			Estratos			Estratos			Estratos							
	I	II	III	Total	%	I	II	III	Total	%	I	II			III	Total	%
<i>L. interrogans</i>	4	7	240	251	59,6	-	-	11	11	29,6	-	4	4	25,0	-	266	38,6
<i>L. interrogans</i>	7	7	166	180	28,4	-	1	11	12	32,4	-	5	5	31,2	1	198	28,7
<i>L. interrogans</i>	-	3	42	45	7,1	-	-	6	6	16,2	-	1	1	6,3	1	53	7,7
<i>L. interrogans</i>	-	-	35	35	5,5	-	-	2	2	5,4	-	2	2	12,5	-	39	5,6
<i>L. interrogans</i>	1	-	27	28	4,4	-	-	1	1	2,7	-	1	2	12,5	-	31	4,5
<i>L. interrogans</i>	-	1	20	21	3,3	-	-	2	2	5,4	-	-	-	-	-	23	3,3
<i>L. interrogans</i>	-	-	20	20	3,1	-	-	1	1	2,7	-	1	1	6,3	-	22	3,2
<i>L. interrogans</i>	2	1	10	13	2,1	1	-	1	1	2,7	1	-	1	6,3	-	15	2,2
<i>L. interrogans</i>	-	1	13	14	2,2	-	-	1	1	2,7	-	-	-	-	-	15	2,2
<i>L. interrogans</i>	-	1	9	10	1,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	1,5
<i>L. interrogans</i>	-	1	9	10	1,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	1,5
<i>L. interrogans</i>	1	-	6	7	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	1,0
TOTAL	15	22	597	634	100,0	1	1	35	37	100,0	1	1	14	16	100,0	689	100,0

5. DISCUSSÃO

A prevalência de 38,8% de bovinos reagentes para um ou mais sorotipos de leptospira no Pará e 46,3% no Amazonas foi superior às encontradas nos Estados do Sudeste, particularmente em Minas Gerais, de acordo com BARBOSA (1962), REIS et alii (1973), e em São Paulo, segundo GUIDA et alii (1959), SANTA ROSA et alii (1969/70) e ÁVILA et alii (1978). A única citação de inquérito sorológico realizado em bovinos no Pará (LINS & SANTA ROSA, 1975), corresponde a uma taxa de 9,2% de bovinos reagentes. No entanto, o número de animais testados não permite uma análise mais consistente.

A alta prevalência de aglutininas anti-leptospiras observada nos Estados do Pará e Amazonas e o considerável número de reservatórios detectados em diversos trabalhos (PINHEIRO et alii, 1974; LINS & SANTA ROSA, 1975; LINS & SANTA ROSA, 1976; LICERAS DE HIDALGO, 1981), acrescido das condições mesológicas existentes, tornam esta região uma vasta área propícia para a disseminação e endemicidade das leptospiroses, justificando os índices observados na presente pesquisa.

O sorogrupo *Hebdomadis* foi o mais frequente nos dois Estados analisados, achado de conformidade com a maioria dos inquéritos sorológicos realizados em bovinos no Brasil (SANTA ROSA et alii, 1969/70; REIS et alii, 1973; CORDEIRO et

alii, 1975; ÁVILA et alii, 1978; MOREIRA et alii, 1979; MADRUGA et alii, 1980; ZELADA, 1981).

O sorotipo *L. hardjo* foi o mais prevalente em ambos os Estados e tem sido evidenciado em diversos levantamentos como o mais freqüente em bovinos (LIMPIAS & MARCUS, 1973; MYERS & JELAMBI, 1973; AYCARDI et alii, 1980) e no Brasil, a escassez de trabalhos sorológicos evidenciando a sua presença se deve provavelmente à pouca utilização desse sorotipo nas baterias dos antígenos usados nas provas sorológicas, como também observaram MADRUGA et alii (1980).

As taxas de aglutininas anti-*L. hardjo*, em bovinos registrados em nosso País, variam de 11,11% no Estado de Minas Gerais (MOREIRA et alii, 1979) a 41,1% no Estado do Mato Grosso (MADRUGA et alii, 1980) e os resultados obtidos no Estado do Pará (21,7%) e Amazonas (30,2%) também encontram-se dentro desses limites, sugerindo ser este sorotipo, um dos principais agentes responsáveis pelas leptospiroses bovinas na região.

O sorotipo *L. wolffi* foi o segundo mais prevalente nos Estados e acompanhou a distribuição da *L. hardjo* em todos os estratos. Apesar desse sorotipo apresentar predominância em diferentes inquéritos sorológicos (SANTA ROSA et alii, 1969/70; LICERAS DE HIDALGO, 1973; CORDEIRO et alii, 1975; ÁVILA et alii, 1978; SANDOVAL et alii, 1979; CACCHIONE et alii, 1980; ZELADA, 1981) e seguir aproximadamente a distribuição verificada pela *L. hardjo*, como foi observado na Bolívia (LIMPIAS & MARCUS, 1975), Argentina (MYERS & JELAMBI, 1975) e Brasil (MOREIRA et alii, 1979; MADRUGA et alii, 1980; ZELADA (1981), a sua presença pode estar relacionada às reações cruzadas entre sorotipos do mesmo sorogrupo, conforme citação de ROTH & GALTON (1960) e que segundo ALEXANDER & EVANS (1962) são mais prováveis de ocorrer que as infecções múltiplas. Neste caso, o registro de maior percentagem de títulos elevados (1:400 e 1:800) para o sorotipo *L. hardjo* no Pará, seguido pelas reações frente ao sorotipo *L. wolffi*, ambos do

sorogrupo *Hebdomadis*, sugere a infecção pelo primeiro, como observou MYERS & JELAMBI (1975). O fato dos títulos finais referentes ao Amazonas estarem distribuídos de maneira homogênea pode dever-se ao baixo número dos títulos finais observados. Da mesma maneira, a ocorrência de bovinos reagentes ao sorotipo *L. sejroae*, registrados no Pará e Amazonas, provavelmente esteja relacionada às mesmas reações cruzadas para os demais sorotipos do grupo *Hebdomadis*.

A distribuição de aglutininas anti-*L. hardjo* e *L. wolffi* nos estratos analisados apresentou no Pará, especificamente no estrato I, sua menor ocorrência, enquanto nos demais estratos foi homogênea; este fato provavelmente se deve à distinção das características do meio ambiente existente entre estas duas áreas, segundo descrição do INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA (1970).

A criação de bovinos nas áreas de várzeas, onde se faz uso da prática de "tesos" ou "marombas", colocando os bovinos em estreita relação com um ambiente úmido, associado à presença de animais silvestres, portadores e também fugitivos das águas, explicariam, possivelmente, a diferença observada na prevalência de reações positivas entre essas regiões.

Embora a dinâmica da infecção da leptospirose entre animais silvestres e domésticos não esteja ainda bem elucidada, a participação destes primeiros é um fato aceito universalmente; neste particular, os marsupiais, muito comuns na região em estudo e relacionados sorologicamente com sorotipos do grupo *Hebdomadis*, conforme os achados de PINHEIRO et alii (1974) e LINS & SANTA ROSA (1975), podem estar desempenhando um importante papel de reservatório, conforme observou LICERAS DE HIDALGO (1981), e contribuindo sobremaneira para a manutenção de focos endêmicos de leptospirose bovina na região estudada.

A ausência de soros bovinos reagentes para *L. icterohaemorrhagiae*, verificada no Pará e Amazonas, foi também observada no Território de Roraima por ZELADA (1981). Nos

inquêritos sorológicos envolvendo esse sorotipo, a prevalência foi baixa conforme BARBOSA (1962) e MADRUGA et alii (1980). Entretanto, ÁVILA et alii (1978) verificaram maior prevalência (33,8%), discordando dos presentes resultados.

A não ocorrência do sorotipo *L. icterohaemorrhagiae* em habitantes da zona rural do Pará, de acordo com LINS & SANTA ROSA (1975), e em animais silvestres no Estado do Mato Grosso, segundo LINS & SANTA ROSA (1976), sugere também que a ausência de reações para este sorotipo em bovinos provavelmente esteja ligada a fatores do ecossistema, desfavorecendo a relação entre agente e hospedeiro, contrastando com as áreas urbanas onde este sorotipo é predominante, conforme trabalho de LINS & SANTA ROSA (1976).

Aglutininas para *L. pomona* ocorreram em 6,7% de soros bovinos do Pará e 2,5% do Amazonas, resultados inferiores aos observados em Minas Gerais por BARBOSA (1962) e MOREIRA et alii (1979) e superiores aos de REIS et alii (1973) também em Minas Gerais. No entanto, inquéritos sorológicos realizados em regiões limítrofes, como no Estado do Mato Grosso, por MADRUGA et alii (1980), e no Território de Roraima por ZELADA (1981), registraram taxas que variam de 6,5 a 3,8%, respectivamente, próximas às observadas no presente trabalho. Entretanto, os possíveis fatores relacionados com a não homogeneidade verificada na distribuição da prevalência desse sorotipo, bem como da *L. ballum* nos diversos estratos examinados na presente pesquisa, não puderam ser esclarecidos.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na prevalência de bovinos reagentes a *L. tarassovi*, *L. bataviae*, *L. australis*, *L. grippotyphosa*, *L. butembo*, *L. pyrogenes* e *L. autumnalis* entre os estratos examinados. O fato também verificado no Território de Roraima por ZELADA (1981), com respeito aos cinco primeiros sorotipos acima citados, e provavelmente esta ocorrência denuncie um equilíbrio nos fatores de interrelação responsáveis pela manutenção e endemicidade desses agentes.

6. CONCLUSÕES

1) As prevalências de 38,8% e 46,3% de bovinos reagentes para *Leptospira* nos Estados do Pará e Amazonas, respectivamente, podem ser consideradas muito elevadas.

2) Os três sorotipos mais prevalentes no Pará foram *L. hardjo* (21,7%), *L. wolffi* (15,5%), *L. pomona* (6,7%); e no Amazonas, *L. hardjo* (30,2%), *L. wolffi* (22,5%), *L. bataviae* (6,0%).

3) Nas áreas consideradas de "terra firme" (estrato I do Pará) a prevalência de bovinos reagentes à *Leptospira* foi menor do que nas demais áreas do Pará e Amazonas.

4) Os sorotipos *L. tarassovi*, *L. bataviae*, *L. australis*, *L. grippotyphosa*, *L. butembo*, *L. pyrogenes* e *L. autumnalis* não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quanto a prevalência nos Estados do Pará e do Amazonas.

5) A ausência de reações positivas frente ao sorotipo *L. icterohaemorrhagiae*, em bovinos, nos Estados do Pará e Amazonas, sugerem a existência de condições ecológicas desfavoráveis à difusão e manutenção desse sorotipo nesta espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Rio de Janeiro, v.39, 1978. p.26, 32, 56, 386.
2. ALEXANDER, A.D. & EVANS, L.B. The significance of *Leptospira sejroae* agglutinins in bovine serums. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 23(93):267-75, 1962.
3. AYCARDI, E.R.; TORRES, B.; GUZMÁN, V.H.; CORTÉS, M. Leptospirosis in Colombia. Isolation of *Leptospira hardjo* from beef cattle grazing tropical savannas. Rev. Latinam. Microbiol., Mexico City, 22(2):73-7, 1980.
4. ÁVILA, J.A.; COSTA, A.J.; MORAES, F.R.; PINHEIRO, L.E.L.; MANGERONA, A.C.S. Pesquisa de aglutininas anti-*Leptospira* em soros de bovinos no município de Jaboticabal, Brasil. Científica, Jaboticabal, 6(33):451-3, 1978.
5. BARBOSA, M. Aglutininas e lisinas anti-leptospira em soros de bovinos, eqüinos e suínos em Minas Gerais. Arq. Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 14:1-26, 1962.
6. BLENDEN, D.C. Aspectos epidemiológicos de la leptospirosis. Washington, Organización Panamericana de la Salud, 1976. p.160-8. (Publicación Científica, 516).

7. CACCHIONE, R.A.; CASCELLI, E.S.; SARAIVI, M.A.; MARTINER, E.S. Difusion y importancia de las leptospirosis animal y humana en la Argentina. Rev. Med. Vet., Buenos Aires, 1980.
8. CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. Ramos Mejia. Procedimientos para estudios de pa prevalencia por muestro. Ramos Mejia, Buenos Aires, 1979. 35p. (Nota técnica, 18, Rev.1)
9. CORDEIRO, F.; GUIDA, H.G.; RAMOS, A.DE A.; MENDONZA, T.R. Aglutininas anti-leptospira em soros de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. Pesqui. Agropecu. Bras. Ser. Vet., Rio de Janeiro, 10(8):9-19, 1975.
10. FLETCHER, W. Recent work on leptospirosis, tsutsugamushi disease and tropical typhus in the Federated Malay States. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 21:265-87, 1928. In: Manual sobre métodos de laboratório para leptospirosis. Centro Panamericano de Zoonosis. (Nota técnica, 9), 1968
11. GUIDA, V.O.; SANTA ROSA, C.A.; APICE, M.D.; CORREA, M.O.; NATALIE, V. Pesquisa de aglutininas anti-leptospira no soro de bovinos do Estado de São Paulo. Arq. Inst. Biol. São Paulo, 26:109-18, 1959.
12. HATHAWAY, S.C. Leptospirosis in New Zeland: an ecological view. N.Z. Vet. J., Wellington, 29:109-12, 1981.
13. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA, Rio de Janeiro. Divisão do Brasil em micro-regiões homogêneas. 1968. Rio de Janeiro, 1970, 563p.
14. LICERAS DE HIDALGO, J. Leptospiras *hardjo* y *pomona* aisladas de vacunos del Peru. Rev. Inst. Zoon. Invest. Pec., Lima, 2 (1/2)46:52, 1975.
15. LICERAS DE HIDALGO, J. Leptospirosis en Tingo Maria, Departamento de Huanuco, Peru. Estudio en animales silvestres. Bol. Of. Sanit. Panam., Washington, 91(11):47-54, 1981.

16. LIMPIAS, E.V. & MARCUS, S.J. Encuesta sorologica de la leptospirosis en Santa Cruz, Bolivia. Bol.Ofic.Sanit. Panam., Washington, 75(2):139-45, 1973.
17. LINS, Z.C. & SANTA ROSA, C.A. Considerações sobre o aspecto epidemiológico das leptospiroses na Amazônia com especial referência ao Estado do Pará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 6°. Salvador, 1975. p.288 (Resumo).
18. LINS, Z.C. & SANTA ROSA, C.A. Investigações epidemiológicas preliminares sobre leptospiroses em Humboldt. Aripuanã, Mato Grosso. Acta Amazônica, Manaus, Supl. 6 (4):49-53, 1976.
19. MC DOWELL, A. Do icterus epidemicus. Arch. Bras. Med., Rio de Janeiro, 7:633-5, 1917.
20. MADRUGA, C.R.; AYCARDI, E.; PUTT, N. Frequência de aglutininas anti-leptospira em bovinos de corte da região do cerrado do Estado de Mato Grosso. Arq. Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 32(2):245-9, 1979.
21. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Secretaria de Defesa Sanitária Animal, Brasília. Diagnóstico de saúde animal dos Estados do Acre, Amazonas, Pará e dos Territórios de Rondônia e Amapá. Brasília, 1979.
22. MOREIRA, E.C.; SILVA, J.A.; VIANA, F.C.; SANTOS, W.L.M.; ANSELMO, F.P.; LEITE, R.C. Leptospirose bovina: I - Aglutininas anti-leptospiras em soros sanguíneos de bovinos de Minas Gerais. Arq. Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 31(3):375-88, 1979.
23. MYERS, D.M. & JELAMBI, F. Isolation and identification of *Leptospira hardjo* from cattle in Argentina. Trop. Geogr. Med., Amsterdam, 27:63-70, 1975.

24. PINHEIRO, F.P.; BENSABATH, G.; ANDRADE, A.H.P.; LINS, Z. P.; FRAIHA, H.; TANG, A.T.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; AZEVEDO, M.C. Vigilância e investigación de las enfermedades infecciosas a lo largo de la carretera transamazonica del Brasil. Bol. Ofic. Sanit. Panam., Washington, 77(3):187-98, 1974.
25. REIS, R.; RYU, E.; PENA, C.M. Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras em bovinos e suínos de Minas Gerais, Brasil. Arq. Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 25(1):11-4, 1973.
26. ROTH, E.E. & GALTON, M.M. Isolation and identification of *Leptospira hardjo* from cattle in Louisiana. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 21(82):422-7, 1960.
27. RYU, E. Rapide microscopic agglutination test for leptospira without non-specific reaction. Bull. Off. Int. Epizoot., Paris, 73(1):49-58, 1970.
28. SANDOVAL, L.M.; ARRUDA, N.M.; TERUYA, J.M.; GIORGI, W.; AMARAL, L.B.S.; MAZANTI, M.T. Pesquisas em bubalinos: prevalência da brucelose e leptospirose no Estado de São Paulo - Brasil. Biológico, São Paulo, 45(11/12) : 209-12, 1979.
29. SANTA ROSA, C.A.; PESTANA DE CASTRO, A.F.; SILVA, A.S. ; TERUYA, J.M. Nove anos de leptospirose no Instituto Biológico de São Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz, São Paulo, 29/30:19-27, 1969/70.
30. SPIEGEL, M.R. O teste do Qui-quadrado. In: Estatística, 13a. ed. McGraw Hill eds., 1977. p.331-61.
31. STUART, R.D. The preparation and use of a simple culture medium for leptospire. J. Pathol. Bacteriol., Edinburgh, 58(3):343-5, 1946.

32. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Current problems in leptospirosis research. Report of a WHO Expert Group. Wld.Hlth. Org. Tech. Rep. Ser., 380, 1967.
33. ZELADA, H.M. Prevalência de aglutininas anti-leptospiras em soros sanguíneos de bovinos do Território Federal de Roraima - Brasil. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1981. 43p. (Tese, Mestre em Medicina Veterinária).