

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

INFECÇÃO LEPTOSPÍRICA NA REPÚBLICA DO PANAMÁ - FREQUÊN-
CIA DE AGLUTININAS ANTI-*Leptospira sp.* NO REBANHO BOVINO
LEITEIRO, EM GRUPOS OCUPACIONAIS E EM AMOSTRAS OBTIDAS
EM BANCOS DE SANGUE E LABORATÓRIOS DE PESQUISA CLÍNICA

Ernesto Rodríguez Salas

Belo Horizonte
Minas Gerais
1984

Ernesto Rodrigues Salas

INFECÇÃO LEPTOSPÍRICA NA REPÚBLICA DO PANAMÁ - FREQUÊN-
CIA DE AGLUTININAS ANTI-*Leptospira sp.* NO REBANHO BOVINO
LEITEIRO, EM GRUPOS OCUPACIONAIS E EM AMOSTRAS OBTIDAS
EM BANCOS DE SANGUE E LABORATÓRIOS DE PESQUISA CLÍNICA

Tese apresentada à Escola de Ve-
terinária da Universidade Fede-
ral de Minas Gerais, como requi-
sito parcial para obtenção do
grau de Mestre em Medicina Vete-
rinária.

Área: Medicina Veterinária Pre-
ventiva

Belo Horizonte
Minas Gerais
1984

R 696 i Rodrigues Salas, Ernesto, 1947 -
 Infecção leptospírica na República do Panamá; frequê-
 quência de aglutininas anti-Leptospira sp no rebanho
 bovino leiteiro, em grupos ocupacionais e em amostras -
 obtidas em bancos de sangue e laboratórios de
 pesquisa clínica. Belo Horizonte, Escola de Veterinária
 da UFMG, 1984.


56p. ilustr


Tese, Mestre em Medicina Veterinária


1. Leptospirose. 2. Leptospira sp - frequência de
aglutininas. 3. Doença ocupacional. 4. Bovino. I. Títu-
lo.

CDD - 636.089 692

APROVADA EM: ___/___/___


Prof. JOSÉ BRITTO FIGUEIREDO
- Orientador -


Prof. NIVALDO DA SILVA


Prof. RÔMULO CERQUEIRA LEITE

A meus pais Ernesto Rodríguez
González e Rosa Elvira Salas de
Rogríguez; minha esposa, Rosân-
gela Maia de Rodríguez e meus Fi-
lhos Licênio Ernesto, Alessandra
Maria e Yajaida Maria, pela com-
preensão e ajuda nas dificulda-
des enfrentadas durante o curso
de mestrado.

AGRADECIMENTOS

A muitos devemos muito. Começamos por aqueles que possibilitaram nossa vinda ao Brasil. Ao General de Brigada Rubén Dario Paredes, Dr. Algreto Oranges Bustos, Eng. Frank Omar Pérez Batista, Ministros de Desarrollo Agropecuario do Panamá. A eles agradecemos pelo grande apoio prestado à realização deste trabalho.

Ao professor José Britto Figueiredo, por sua valiosa orientação, compreensão e amizade.

Aos professores Aurora Maria Guimarães Gouveia, Celi-na Maria Modena, Francisco Cecílio Viana, Ivan Barbosa Sampaio, José Ailton da Silva, Nivaldo da Silva, Rabindranath Loyola Contreras, Rômulo Cerqueira Leite e Vera Lúcia Viegas de Abreu, pela colaboração.

Aos Srs. Antônio Benjamin de Paula, João Nepomuceno de Oliveira, Marília da Conceição Nogueira, Nelly de Freitas Martins e demais funcionários do meio de cultura do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola, pelo apoio prestado.

Também agradeço a Alvarina Maria de Jesús, Eliane de Paiva Resende, Marília Carvalho, Rosilene Figueiredo Almeida e demais integrantes da equipe da Biblioteca desta Escola, pela paciência e cordialidade com que sempre nos trataram.

Ao Dr. José Xavier Monteiro, pela ajuda nos trâmites

para introdução dos hemo-soros ao Brasil.

Ao Sr. Toshiyuki Tanaka, responsável da área de computação da EPAMIG, pela ajuda prestada.

No Panamá foi decisiva a cooperação das autoridades ligadas, direta ou indiretamente, a esta pesquisa. Queremos por isso, agradecer ao Eng. Luis Olmedo Castilho Sosa, Diretor do Instituto Nacional de Agricultura, Drs. Agapito Peralta e Hernán Alvarado, Diretor e Sub-diretor do Projeto de Saúde Animal (M.I.D.A. - B.I.D.), Otto Alvarez e Daniel Rodriguez, Diretor e Sub-diretor do Laboratório de Diagnóstico e Investigação Veterinária, Licenciados Maritza Romero de Castillo, Planificadora Direção Nacional de Fomento Leiteiro, Roberto Morales, Chefe do Laboratório de Aquicultura e Victor Del Rosario Lindo, Patólogo Clínico do Laboratório de Investigação Veterinária do "Ministério de Desarrollo Agropecuario", pela ajuda, seja liberando instalações, material de Laboratório, atividades técnicas ou colaboração na obtenção de dados.

Aos Drs. Miguel Kourany, Manuel Maria Vásquez, Rogelio Sinán Dominguez e Vicente Bayard, respectivamente pesquisadores, chefe do Departamento de Drogas e Alimentos e Epidemiologista, do Ministério da Saúde, pela valiosa cooperação no fornecimento de soros humanos, material de laboratório e opiniões abalizadas.

Aos licenciados Dioselina de Ruíz, Gerónima Flórez, Isolina Fernández, Lcoyigildo Ortíz, Margarita Ayala, Olga Lozano e Victor Palma, pela preciosa colaboração na colheita dos hemo-soros humanos.

Aos colegas de curso Angela Cleuza Banzatto de Carvalho, Benedito Luiz Figueiredo, Benvindo Almeida de Aguiar, Cyro de Lima Galvão, Moisés Granzotti e Theia Miriam Machado, pelo companheirismo e grande amizade demonstrados.

Ao amigo Jairo Salomão e esposa Maria Salomão, pelo incentivo e apoio dado em todos os momentos.

A Sônia Maria Guimarães Araújo, por sua grande colaboração na datilografia do presente trabalho.

À minha esposa, Dra. Rosângela Maia de Rodríguez, pela grande colaboração na execução das provas de laboratório; minha sogra, Professora Wolythz França Maia e meus filhos Licenio Ernesto, Alessandra Maria e Yajaida Maria, pelo carinho e estímulos sempre presentes.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao tio Eligio Salas Marín, meu procurador, que com dedicado desempenho, sempre soube, com sábias palavras, incentivar-nos para alcançar o êxito esperado.

BIOGRAFIA DO AUTOR

ERNESTO RODRÍGUEZ SALAS, filho de Ernesto Rodríguez Gonzáles e Rosa Elvira Salas Granados, nasceu em Chitré, província de Herrera, República de Panamá, aos 21 dias do mês de agosto de 1947. Graduado em Medicina Veterinária pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, em dezembro de 1971, iniciou suas atividades profissionais como veterinário de campo, na Área de Soná, onde alcançou a chefia da área desse importante setor agropecuário. Em 1974, ocupou o cargo de Supervisor Nacional de Produção Pecuária e Sanidade Animal da Zona 2 (Regiões três, quatro e oito) do "Ministério de Desarrollo Agropecuario". No ano de 1975 foi promovido ao cargo de Sub-diretor Nacional de Produção Pecuária. No mesmo ano foi nomeado Diretor Nacional do Programa de Suplementação Agropecuária, à base de melação e uréia. Em 1976, ocupou o cargo de Secretário da Agricultura da Província de Herrera, denominada pela Região 3 pelo supra citado Ministério. Participou do programa de Prê-imunização contra Anaplasmosse e Babesiose para bovinos de raças leiteiras importados dos Estados Unidos da América, aclimatados em fazendas estaduais. De 1979 a 1981 desempenhou o cargo de Sub-diretor Nacional de Desenvolvimento Social, contribuindo nesse período à estruturação de programa de transferência de tecnologia para o Setor Agropecuário.

Em 1981, iniciou o curso de Pós-Graduação em nível de mestrado, na área de Medicina Veterinária, através de disciplinas isoladas na Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil. Concluiu-o em 1984.

RESUMO

Com o objetivo de conhecer a prevalência da Leptospirose na República do Panamá, foram examinados 819 hemo-soros de bovinos de raças leiteiras, dos quais 329 revelaram reações a um ou mais sorotipos, com as seguintes frequências:

L. andamana (5,47%), *L. australis* (6,99%), *L. autumnalis* (1,21%), *L. ballum* (5,16%), *L. bataviae* (2,43%), *L. bratislava* (1,21%), *L. butembo* (2,73%), *L. canicola* (1,21%), *L. grippothyphosa* (8,81%), *L. hardjo* (21,88%), *L. icterohaemorrhagiae* (2,73%), *L. javanica* (2,43%), *L. panama* (3,34%), *L. pomona* (7,59%), *L. pyrogenes* (14,28%), *L. serjoe* (1,82%), *L. tarassovi* (1,82%) e *L. wolffi* (8,81%).

Com relação aos positivos, 291 eram fêmeas (88,44%) e 38 machos (11,50%). Distribuídos por idades, apresentaram as seguintes frequências: de zero a dois anos, 99 (30,09%); de dois a quatro anos, 42 (12,76%); de quatro a seis anos, 68 (20,66%) e igual ou maior a seis anos, 120 (36,47%).

Também foram examinados 974 hemo-soros provenientes de grupos ocupacionais considerados de alto risco, ligados a coleta de lixo e rede de água e esgoto e as atividades pecuárias; e de laboratório de análise clínica e bancos de sangue, encontrando-se reações, a um ou mais sorotipos, com as seguintes frequências:

L. andamana (4,12%), *L. autumnalis* (4,12%), *L. canicola*

(5,15%), *L. grippothyphosa* (17,52%), *L. javanica* (1,03%), *L. harjo* (13,40%), *L. pomona* (5,15%), *L. pyrogenes* (20,61%), *L. tarassovi* (1,03%) e *L. wolffi* (11,34%).

Alguns destes sorotipos foram assinalados, pela primeira vez no Panamá. Assim entre os bovinos o *australis*, *bratislava*, *butembo*, *grippothyphosa*, *hardjo*, *panama* e *tarassovi* e nos humanos, os sorotipos *andamana*, *butembo*, *javanica*, *pyrogenes*, *tarassovi* e *wolffi*.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. LITERATURA CONSULTADA.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1. Material.....	11
3.1.1. Características da amostra.....	11
3.2. Metodos.....	17
3.2.1. Prova utilizada.....	17
3.2.2. Preparação dos antígenos.....	19
4. RESULTADOS.....	23
4.1. Hemo-soros bovinos de raças leiteiras.....	23
4.2. Hemo-soros humanos.....	24
5. DISCUSSÃO.....	38
5.1. República do Panamá, suas características e a seleção da área de trabalho.....	38
5.2. População bovina, suas características e amos- tagem.....	39
5.2.1. Aglutininas anti-leptospíricas em hemo-soros obtidos de bovino de raças leiteiras.....	40
5.3. Aglutininas anti-leptospíricas em hemo-soros hu- manos.....	45

	Página
6. CONCLUSÕES.....	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

1. INTRODUÇÃO

WEIL (1886), descreveu a leptospirose como doença caracterizada por febre, icterícia, hemorragias e comprometimento hepato-renal.

SERGEANT & L'HERITTIER (1919) estudando a "Febre hemoglobínúrica", doença diferente da piroplasmose em bovinos na Argélia, levantaram a suspeita de ser causada por espiroquetas.

TERSKIH (1941) ao estudar espiroquetas isoladas de vacas na Rússia, verificou sua semelhança com *L. grippothyphosa*, responsável pela "Febre dos pântanos", doença humana freqüente naquele país.

BAKER & LITTLE (1948) reportaram o primeiro isolamento do agente etiológico da leptospirose em bovinos nos U.S.A. identificada como *L. pomona*.

ENRIETTI (1949), cita LARREY como o primeiro a descrever a doença no Cairo, Egito. Isso ocorria no ano de 1880.

No Brasil, BITENCOURT et alii (1952) reportaram o período de incubação da leptospirose entre sete a dez dias, enquanto que AUSTONI (1953) em Torino, Itália, manifesta que tal período não constitui uma característica fundamental da doença.

STOKARD & WOODWARD (1957), citam LANDOUZY, o qual em 1883 se referiu a uma doença análoga a leptospirose, ocorren-

te no Cairo.

ALSTON & BROOM (1958), em Londres, Inglaterra, estudando a doença no homem e animais, consideraram como de maior letalidade os sorotipos: *icterohaemorrhagiae*, *andamana*, *pyrogenes* e *bataviae*.

RADO (1959), no Perù, demonstrou pela primeira vez em soros bovinos, anticorpos anti-leptospiras.

INADA et alii (1913), citados por CACHIONE (1962), através de trabalhos originais muito contribuíram ao conhecimento da doença de WEIL, chamada por eles de "peste amarela". Descrevem em 1915, o agente causal como de forma espiralada, dando-lhe nome de *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*.

NOGUCHI & KLINGUER (1916), citados por CACHIONE (1962), propõem a denominação de *Leptospira* para o germe descrito por aqueles investigadores japoneses.

Atualmente, a doença é reconhecida em todo o mundo como zoonose de grande importância para o homem e animais, merecendo especial atenção face aos problemas de ordem social, inclusive mortes humanas e pelas elevadas perdas econômicas. Abortos, nascimentos prematuros, crias débeis, aumento do intervalo entre partos, mamites, diminuição da produção leiteira, influem, assim, na disponibilidade de proteínas de origem animal. Este complexo de malefícios, incide diretamente na economia dos países.

O gênero *Leptospira*, constituído por grande grupo de espiroquetas, inclui, também, muitas de vida livre, distribuídos em sorogrupos e sorotipos, com base em esquemas de sorologia. São 19 sorogrupos e 124 sorotipos, dos quais 16 e 19, respectivamente, constam no QUADRO 1.

A doença é endêmica em áreas de altas precipitações pluviais e umidade. Roedores e animais selvagens, portadores eventuais, oferecem as condições necessárias para que as leptospiras se mantenham "in natura". Sendo eliminadas através de excreções e secreções, os portadores contaminam a água e os alimentos, que se tornam fontes de infecção para o homem e

animais.

O Panamá, com seu clima tropical, possui as condições próprias à criação do ambiente ecológico favorável a gênese e ao desenvolvimento desta zoonose.

A literatura científica panamenha apresenta pouca informação. Assim, CALERO et alii (1957) e WOLFF et alii (1960) indicam percentagens de 19,5% em humanos e 57,1% em bovinos, o que, de per si, sugere conveniência da atualização dos dados epidemiológicos, indispensáveis elementos para a elaboração de programa de controle da doença.

Conseqüentemente, baseados nos dados acima descritos, julgou-se oportuno estudar as prevalências em bovinos e humanos através de amostragens significativas.

Assim, das nove províncias do Panamá, escolheram-se sete, onde a bovinocultura leiteira é de maior importância.

Os bovinos de raças leiteiras são, entre os animais domésticos, elementos importantes na cadeia epidemiológica.

Com relação à população humana, trabalhou-se com indivíduos de alto risco de infecção dentro do próprio grupo ocupacional. Deste modo, considerou-se necessário examinar hemossoros de pessoas ligadas ao meio rural, às seções de limpeza pública (lixeiros), rede de água e esgotos, bem como amostras em bancos de sangue e laboratório de pesquisas clínicas.

Estes objetivos foram alcançados estudando-se o material colhido, frente a uma bateria de antígenos de 19 sorotipos.

2. LITERATURA CONSULTADA

2.1. Pesquisas básicas

SERGEANT & L'HERRITIER (1919) estudando a "Febre hemoglobínica", doença diferente da piroplasmose em bovinos na Argélia, levantaram a suspeita de ser causada por espiroquetas.

MICHIN & AZINOU (1935), no Cáucaso-Rússia, isolaram pela primeira vez leptospira, a partir de sangue colhido de bezerro morto com hemoglobínúria, dando ao agente o nome de *Leptospira icterohaemorrhagiae* ou *L. vitulorum*.

YAGER (1953), pesquisando a doença nos Estados Unidos da América, conclui que as leptospiros patogênicas são perpetuadas nos túbulos renais e que a água, alimentos, solo úmido e habitações humanas são contaminadas por urina destes portadores.

2.2. Estudos epidemiológicos e isolamento do patógeno.

ALEXANDER (1960) em levantamento epidemiológico realizado nos países do Caribe e América do Sul, manifesta que o clima, práticas agrícolas e abundante fauna das extremas zonas de "Meso-América" e América do Sul, são sumamente apropriados à propagação da leptospirose no homem e animais.

No Canadá, ROBERTSON et alii (1964) cultivaram *L.*

hardjo da urina de bovinos em surtos de leptospirose onde ocorriam mamites atípicas e aborto.

SULLIVAN & STALLMAN (1970) descreveram surto de mamite bovina em Queensland, Austrália, associado a *L. hardjo*, no qual os animais apresentavam sintomas de febre, depressão, inapetência, baixa produção leiteira, flacidez do úbere e secreção amarelada contendo coágulos.

CACHIONE (1973), ao referir-se a aspectos epidemiológicos da leptospirose humana e animal na América Latina, manifesta merecer a doença maior importância sócio-econômica. Por outro lado, a análise dos climas do continente Americano tem demonstrado que a doença não é exclusiva de área tropical, não sendo exótica a nenhum país deste continente.

SILVA et alii (1974), pesquisando a epidemiologia da leptospirose humana no Grande Rio-Brasil, reconhece que, nos últimos anos, a doença vem assumindo papel preponderante nos registros de morbidade por doenças infecciosas nos grandes centros urbanos. Os grupos ocupacionais dedicados a atividades de drenagem de águas pluviais, esgoto, manuseio de lixo, ampliam-se na medida que o processo de urbanização se desenvolve, agravando os problemas sócio-sanitários.

SULLIVAN (1974), afirma que na Austrália, a doença é de grande importância econômica em animais domésticos e estes animais são fonte de infecções ao homem. Registra os sorotipos: *L. pomona*, *L. tarassovi* e *L. hardjo*, causadores de anemia hemolítica, hemoglobinúria e nefrite intersticial em bezerras, abortos e suas sequelas em vacas.

SYFRES (1975), em seu trabalho sobre leptospirose como problema de saúde humana e animal, na América Latina e área do Caribe, conclui que a doença está amplamente difundida nas Américas, causando grande impacto à saúde humana e a economia dos povos. As mudanças ambientais, migração e abundância de roedores, interferem na prevalência.

2.3. Estudos de prevalência

2.3.1. Bovinos

CLARK et alii (1966) reportam o sorogrupo *Hebdomadis* como de maior participação nas reações em bovinos na Nicarágua e GARCIA, no mesmo ano, manifesta ser o sorotipo *grippothyphosa*, como o terceiro em significância, em Caldas, Colômbia.

LIMPIAS & SHERMAN (1973), examinaram 520 soros bovinos provenientes de 70 fazendas, distribuídas em 12 municípios de Santa Cruz, Bolívia e de animais importados recentemente do Brasil, Argentina e Paraguai. Através da prova de micro-aglutinação, encontraram 372 soros com aglutininas anti-leptospiras para um ou mais sorotipos, onde as maiores frequências observadas foram para: *L. hardjo* (19,19%), *L. hebdomadis* (21,0%), *L. wolffi* (20,0%), *L. serjoe* (21,2%), *L. australis* (10,5%), *L. tarassovi* (5,9%), *L. pyrogenes* (0,8%), *L. canicola* (0,3%) e *L. ballum* (0,3%).

MYERS et alii (1975) na Argentina, examinando 89 tatus (*Chaetophactus villosus*), através da prova de micro-aglutinação, observaram que 42 (47,1%) tiveram títulos de 1:50, outros 31 (34,8%) demonstraram títulos variáveis entre 1:100 e 1:12.800, frente a um ou mais dos 16 antígenos selecionados.

GORDON (1977), usando a micro-aglutinação pesquisou soros de 110 vacas em Victoria, U.S.A., encontrando 36 (32,7%) com títulos para *L. pomona*. Deste modo, a causa de leptospiúria e mamite diagnosticada estava, provavelmente, associada a este sorotipo.

LARA (1978), em 1976, utilizando a micro-aglutinação examinou 1.452 soros bovinos, provenientes de 20 estados do México e encontrou aglutininas em 300 soros (20,7%), provenientes de 14 dos estados examinados. Predominaram os sorogrupos: *Hebdomadis* (12,1%), *Pomona* (6,0%) e *Tarassovi* (1,4%). No caso de soros com reações a dois ou mais antígenos, como

agente etiológico responsável foi registrado o sorotipo correspondente ao título maior.

HIGGINS et alii (1980), utilizando a micro-aglutinação em Quebec, Canadá, num período de 30 meses, envolvendo 5.841 amostras bovinas, encontraram aglutininas anti-leptospirícas em 355 soros (6,0%), com as seguintes frequências: *L. pomona* (5,5%), *L. icterohaemorrhagiae* (0,02%), *L. harjo* e *L. serjoe* (0,5%) e *L. grippothyphosa* (0,02%).

HIDALGO & MEJIAS (1981) reportam no Perú, o sorogrupo *Hebdomadis*, como de maior participação nas reações sorológicas nesse país.

2.3.2. Humanos

CRUICKISHANK (1968) sobre aspectos epidemiológicos ligados a doença, no capítulo do seu livro, relaciona o rato dos campos (*Microtus montebellai*) como transmissor de leptospirose.

CALDAS et alii (1978), ao examinarem soros de 28,5% dos pacientes do Hospital Couto Maia, em Salvador (BA) - Brasil, encontraram 15,0% de sorologias positivas a leptospirose, onde os sorotipos *icterohaemorrhagiae*, *canicola* e *grippothyphosa* foram os mais frequentes em 20 casos anictéricos. Em dez casos fatais foram mais frequentes os sorotipos *autumnalis*, *icterohaemorrhagiae* e *bataviae*.

GIORGI et alii (1981) num período de seis anos de trabalho no Instituto Biológico de São Paulo (1974-80), examinaram, através de soro-aglutinação microscópica, 418 soros, dos quais 83 (19,5%) resultaram positivos. Com frequências maiores apareceram: *L. icterohaemorrhagiae* (42,2%), *L. javanica* (31,3%), *L. grippothyphosa* (8,4%), *L. ballum* (7,2%) e *L. canicola* (7,2%).

HIDALGO & MEJIA (1981) verificaram, em Iquitos, Perú, anticorpos anti-leptospiras em 20,0% dos trabalhadores de exploração de petróleo e 37,50% dos militares, sendo isolado o

sorotipo *copenhageni* de *Rattus norvergicus* e *R. rattus*, capturados em instalações militares.

2.3.3. A doença no Panamá

CALERO et alii (1957), através da prova de aglutinação-lise, analisaram 670 soros humanos, provenientes de laboratórios de saúde pública e clínicas obstétricas, encontrando aglutininas em 131 (19,5%), com títulos entre 1:100 e 1:10.000, ante os dez antígenos usados. Esta amostra é indicativa de alta prevalência de leptospirose entre a população do Panamá e, segundo os autores, indicaria a presença de pelo menos dez sorotipos de leptospirosas.

Quanto ao sexo, dos 244 homens componentes da amostra, 47 (19,2%) tiveram reação positiva e das 426 mulheres, 84 (19,7%) registraram aglutininas anti-leptospirosas.

De acordo com as faixas etárias, foram achada as seguintes prevalências: dos 230 indivíduos entre 11 e 20 anos, 41 (17,8%), enquanto que dos 312 soros de pacientes com idade entre 21 e 30 anos, 73 (23,3%) registraram sorologia positiva. De 90 indivíduos com idades entre 31 e 40 anos, 12 (13,3%) foram positivos sorologicamente. Em igual percentagem, nas idades entre 41 e 50 anos e na faixa de 51 a 60 anos, de oito pacientes, um (12,5%) reagiu positivamente.

Quanto aos grupos raciais, de 287 brancos, 61 (21,2%) foram positivos, bem como 41 de 208 mestiços (19,7%), 27 (16,7%) de 161 negros, e dois (14,8%) de 14 orientais.

As reações estavam ligadas aos seguintes sorotipos: *L. hebdomadis*, *L. bataviae*, *L. canicola*, *L. autumnalis*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. grippothyphosa*, *L. ballum*, *L. australis A* e *L. australis B*.

WOLFF et alii (1960), estudando a doença no homem e animais, obtiveram reações sorológicas para vários sorotipos de leptospirosas consideradas patogênicas, distribuídos da seguinte forma: 13 (23,6%) de 55 ordenhadores; 15 (55,5%) de 27

bovinos com casos de aborto e 12 (57,1%) de 21 bovinos aparentemente normais. Em 50 amostras provenientes de matadouro, 15 (30,0%) foram positivas. Também foram positivas cinco equinos (27,7%) de 18 e dois (10,5%) de 19 suínos. No homem, o sorotipo predominante foi *L. bataviae*, enquanto, em animais, o sorogrupo *Hebdomadis*, foi o de maior frequência, com seus vários sorotipos patógenos.

MURNANE et alii (1963) analisaram amostras de 471 bovinos, obtidos de 21 rebanhos localizados na províncias de Chiriquí, Coclé, Darién, Herrera, Los Santos, Veraquas e Panamá. A amostra de 333 soros obtidos de animais, aparentemente normais era composta da seguinte forma: 218 soros de bovinos de raças leiteiras e 115 de corte, selecionados aleatoriamente em 13 fazendas leiteiras e seis de corte. As 138 restantes foram obtidas de um rebanho de leite e um de corte, ambos com recentes históricos de aborto.

Num rebanho aparentemente normal, foram observados aglutininas anti-leptospiras em 123 (36,9%) animais e nos rebanhos com episódios de aborto, em 68 (49,3%) animais. Na pesquisa utilizou-se a micro-aglutinação, com emprêgo de 15 sorotipos.

As maiores frequências foram para: *L. borineana* (19,5%), *L. grippothyphosa* (2,4%), *L. autumnalis* e *L. canicola* (1,8%) e *L. pyrogenes* (1,5%) e as menores para *L. pomona* (0,9%), *L. djasinan*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. australis* com (0,6%) cada sorotipo. No rebanho com casos de aborto, as seguintes frequências foram registradas: *L. borineana* e *L. serjoe* (26,1%), *L. grippothyphosa* (5,1%), *L. pyrogenes* (4,3%), *L. canicola* (1,4%), *L. djasinan* e *L. bataviae* (0,7%) cada sorotipo.

Também foram analisados 16 soros de ordenhadores provenientes das fazendas com casos de abortos, observando-se reações positivas em sete (43,75%), com as seguintes frequências: para *borineana* e *serjoe*, um (14,3%); quatro (57,1%) para *L. canicola* e *L. pyrogenes* e dois (28,6%) para *L. grippothyphosa* ou *L. djasinan*.

Nove (20,0%), dos 45 "ratos espinhosos", deram aglutininas com títulos entre 1:100 e 1:400 com as seguintes frequências: três (33,3%) para *L. pyrogenes*, duas (22,2%) para *L. pyrogenes*, duas (22,2%) para *L. borineana* ou *L. serjoe*, duas (22,2%) para *autumnalis*, e uma (11,1%) para *L. celedoni* e *L. pyrogenes*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Características da amostra

A República do Panamá, com extensão territorial de 77.082 km² limita-se ao Norte com o Oceano Atlântico ou Mar das Antilhas, ao Sul com o Oceano Pacífico, ao Leste com a República de Colômbia e ao Oeste com a Costa Rica. Situa-se nas baixas latitudes do hemisfério Norte, dentro da zona inter-tropical, correspondendo aos seguintes pontos:

- a) Extremo Meridional: Ilha Jicaríta: 7° 12' 9.5",
Norte
- b) Extremo Septentrional: Ilha Tambor: 9° 38' 47",
Norte

Dentro do hemisfério ocidental, as longitudes extremas atingem aos seguintes pontos.

- a) Extremo Oriental: sobre o marco fronteiro N° 10
- Alto Limón do limite com Colômbia: 77° 9' 37,2", O
- b) Extremo Ocidental: sobre o marco fronteiro N° 10
- Punta Burica do limite com Costa Rica: 82° 54'
12,5", O

A temperatura isométrica anual no leste de Colón, San-Blas e Darién é de 26,7°C, enquanto ao resto do país cor-

responde à isométrica anual de $24,0^{\circ}\text{C}$. Calcula-se para a região do Atlântico em $26,9^{\circ}\text{C}$ e para o Pacífico, em $27,2^{\circ}\text{C}$.

As diferenças termométricas existentes entre as duas regiões contribuem claramente para que a região do Atlântico seja mais úmida e chuvosa, com precipitações de até 4.500mm ., sendo que as da região do Pacífico giram em torno de 1.000mm . anuais.

O país encontra-se dividido politicamente em nove províncias, adiante relacionadas e uma comarca indígena. Em cada província existe uma direção regional, distribuídas em regiões, repartições equivalentes às Secretarias da Agricultura de países como o Brasil (FIG. 1).

Províncias	Direções Regionais
Bocas del Toro	Região - 9
Chiriquí	Região - 1
Coclé	Região - 4
Colón	Região - 6 (Buena Vista-sede)
Darién	Região - 10
Herrera	Região - 3
Los Santos	Região - 8
Panamá	Região - 5 (Capira-sede) Região - 7 (Chepo-sede)
Veraguas	Região - 2
San-Blas (Comarca Indígena)	

3.1.1. Tamanho da amostra

A pesquisa de aglutininas anti-lepostiras realizou-se em hemo-soros bovinos leiteiros e de humanos, distribuídos da seguinte forma.

3.1.1.1. Hemo-soros de bovinos de raças leiteiras:

A amostragem foi calculada através da fórmula reco-

mendada pelo grupo do CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS (1979), utilizando-se como base a prevalência de 36,9% encontrada por MURNANE et alii (1963), onde seriam:

p = prevalência esperada

d = margem de erro esperada

z = confiança

$$n = \frac{p(100-p) (z)^2}{\frac{p \cdot d^2}{100}}$$

$$n = \frac{36,9(100-36,9) (1,96)^2}{\frac{36,9 \cdot 10^2}{100}}$$

$$n = \frac{36,9(63,1) (3,841)}{\frac{369}{100}}$$

$$n = \frac{8,941}{\frac{136,161}{10.000}}$$

$$n = \frac{8,941}{13,6}$$

$$n = 657$$

Considerou-se assim uma amostragem de 660 hemo-soros de bovinos de raças leiteiras, distribuídos proporcionalmente de acordo com a população de gado leiteiro das províncias trabalhadas.

Na República do Panamá, a população bovina destinada à produção leiteira, segundo informação da DIREÇÃO NACIONAL DE FOMENTO LEITEIRO (1983), foi estimada naquele ano, em 85.600 cabeças, distribuídas pelas sete províncias selecionadas pela nossa pesquisa, num total de 7,709 propriedades (FIG. 1 e TAB. 1).

3.1.1.1.1. Número de propriedades

Em função do tempo previsto para o levantamento da amostragem, e dado o intenso período de seca atravessado durante o trabalho de campo, situação que motivou a transferência da grande maioria dos animais (vacas 'secas', de primeira cria, de novilhas destinadas à reposição do rebanho) para áreas distantes à procura de alimento, formulou-se a hipótese de se visitarem 100 fazendas, distribuídas de acordo com a concentração das propriedades pelas províncias. (TAB. I e II).

3.1.1.1.2. Fontes de colheita da informação

3.1.1.1.2.1. Hemo-soros bovinos leiteiros

Toda informação relacionada à doença em estudo foi levantada através de questionário e fichas aplicadas por ocasião das visitas a cada fazenda. Identificaram-se os entrevistados, as propriedades e registraram-se algumas de suas características (TAB. I, II e QUADRO 1).

3.1.1.2. Hemo-soros humanos

Visto que um dos objetivos do presente trabalho contempla pesquisa de aglutininas em grupo ocupacional de alto risco, bancos de sangue e laboratório de análise clínica, procurou-se selecionar do total disponível de 6010 indivíduos, amostragem sem dúvida significativa e que atingiu 974 hemo-soros. Os resultados foram testados pelo método de Qui-quadro para verificar diferenças significativas.

3.1.1.2.1. População de alto risco

Consideramos as pessoas que por seus mistérios, estão expostas a maior contágio. Compõe-se este grupo de indivíduos

ligados a trabalhos de colheita de lixo, rede de água e esgoto e atividades pecuárias. O tamanho da amostra foi assim processado.

3.1.1.2.1.1. "Departamento de Asco do Instituto de Acueductos y Alcantarilha dos Nacionales"

Dos 600 funcionários ligados à colheita de lixo urbano na capital, através de amostragem sistemática (MOREIRA, 1975) porém aleatória, selecionaram-se 60 indivíduos, tomando-se um em cada dez, de acordo com o número de inscrição no "Seguro Social". Para obtermos uma amostragem bem representativa, considerou-se os horários de trabalho noturno, manhã e tarde.

3.1.1.2.1.2. "Instituto de Acueductos y Alcantarilla-dos Nacionales (IDAAN)"

De maneira análoga à anterior, 15 indivíduos foram selecionados do total de 150 disponíveis.

3.1.1.2.1.3. Indivíduos ligados à atividades pecuárias*

Foi considerado aquele pessoal que estava ligado às seguintes ocupações: açougueiros, fabricantes ou vendedores de queijo, ordenhadores, salsicheiros, vaqueiros, veterinários e assistentes. Neste grupo também foram incluídos trabalhadores rurais sem profissão definida, por exercerem, eventualmente, algumas das acima relacionadas.

Os hemo-soros colhidos foram inicialmente destinados ao estudo da Brucelose, Febre Q e outras doenças. Embora na previsão se incluísse a leptospirose, tal estudo não pode ser

* Seleção feita pelos Drs. M. KOURANI e M.M. VÁSQUEZ, conjuntamente com funcionários do Ministério da Saúde do Panamá.

ser processado por razões de ordem técnica. Então, de comum acordo com as autoridades de Saúde que cederam material e através de amostragem sistemática, porém aleatória, dos 5087 soros retirou-se um tubo em cada sete, alcançando-se assim um total de 726 hemo-soros. Desde a data da colheita, os hemo-soros foram conservados a -10°C e estavam em perfeitas condições para o trabalho.

3.1.1.2.1.4. Hemo-soros destinados a análise clínica

Por sugestão das autoridades de Saúde, incluíram-se no presente estudo, hemo-soros obtidos no laboratório de análise do Hospital Regional Cecilio Castellero.

Visto que o número de indivíduos deste grupo não fosse grande, considerou-se o universo, isto é, todos os pacientes que compareceram ao laboratório para colheita de sangue, obtendo-se assim, em uma semana, o total de 46 hemo-soros.

3.1.1.2.1.5. Hemo-soros colhidos em Bancos de Sangue

Para atender a um dos objetivos deste trabalho, pesquisou-se aglutininas anti-leptospíricas em doadores a bancos de sangue e, dada a premência de tempo, somente trabalhamos em bancos de maior concorrência.

3.1.1.2.1.5.1. Banco de Sangue da "Caja del Seguro Social" (cidade do Panamá)

Foram colhidos hemo-soros de todos os doadores de sangue, durante uma semana, isto é, o universo, somando-se 50 indivíduos.

3.1.1.2.1.5.2. Banco de Sangue do Hospital Regional Cecilio Castellero (cidade de Chitré)

A Região de Azuero compreende as províncias de Herrera

e Los Santos. Este centro hospitalar, que pertence ao "Sistema Integrado de Salud de Azuero" (S.I.S.A.), ofereceu amostragem menor, porém, bem representativa para a região, e foi obtida após sete dias de trabalho. O universo constituiu-se de 27 amostras.

3.1.1.2.1.5.3. Banco de Sangue do Hospital Santo Tomás (cidade do Panamá)

Foi colhida uma amostragem de 50 indivíduos, o universo correspondente à atividade de sete dias.

3.1.1.2.1.6. Fonte de colheita da informação

Com a ajuda de questionário e fichas, obtiveram-se informações através de entrevistas individuais por ocasião da colheita de sangue. Os dados da população rural foram conseguidos com igual procedimento pelo Ministério da Saúde, à época da colheita

3.2. Métodos

3.2.1. Prova utilizada

Para pesquisa de aglutininas anti-leptospiricas, foi utilizado o método de Micro-aglutinação Rápida (M.A.R.) descrito por RYU (1970) com pequenas modificações. As principais se referem ao não uso de lamínula; menor aumento (320 X ao invés de 400 X) e ao número de micro-organismos observados. Ao invés do mínimo de 30 leptospiras por campo, consideraram-se 100 a 200 micro-organismos (W.H.O. STUDY GROUP ON LEPTOSPIROSIS, 1965).

O resultado era considerado positivo, quando observasse 50% de leptospiras aglutinadas por campo, perda de motilidade e alterações morfológicas, no total de campos microscó-

picos.

3.2.1.1. Diluições prévias

As diluições dos hemo-soros foram feitas com solução salina tamponada, pH. 7,2-7,4, usando-se distribuidor de soluções, sendo as diluições iniciais acertadas a 1:50.

3.2.1.2. Diluições de trabalho.

Após homogeneização da diluição anterior, com ajuda de pipetas de um mililitro, foi distribuída uma gota, correspondendo a 0,055 ml, nas placas de porcelana escavada. Com ajuda de conta-gota padronizado para descarregar a mesma quantidade, acrescentou-se uma gota dos antígenos, em número de 18 sorotipos, Obteve-se, assim, a diluição de trabalho de 1:100.

Após agitação, as placas eram mantidas à temperatura ambiente por período de cinco minutos.

3.2.1.3. Leitura

Com ajuda da alça de platina, as 18 diluições eram distribuídas em lâmina e examinadas ao microscópio, a campo escuro seco, imediatamente (Ocular 12,5X, Objetiva 16X e Optovar 1,60X)*.

3.2.1.3.1. Graduação

A leitura da micro-aglutinação foi assim graduada:

+ = menos de 50% das leptospiras aglutinadas, com paredes rugosas ou imóveis

++ = 50% das leptospiras aglutinadas, com paredes rugosas ou imóveis.

* Microscópio binocular ZEISS, Standart R.A.

+++ = acima de 50% das leptospiiras aglutinadas, com paredes rugosas ou imóveis.

++++ = 75 a 100% das leptospiiras aglutinadas, com paredes rugosas ou imóveis.

3.2.1.3.2. Interpretação da leitura

A reação era interpretada como positiva, quando na diluição de 1:100 ou maior a leitura era de ++(50%).

3.2.1.4. Títulos aglutinantes

Utilizando-se a mesma solução salina tamponada, os soros positivos eram diluídos seriadamente, ao dobro, procurando-se encontrar o título aglutinante responsável pela reação.

3.2.2. Preparação dos antígenos

Os 19 antígenos utilizados, foram obtidos no Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro), transportados ao laboratório em Bacto Fletcher Medium* e repicados imediatamente no meio P.L.M.-5X**.

As culturas, transferidas semanalmente para novos tubos contendo o meio P.L.M.-5X, eram mantidas a temperaturas entre 28-30°C, sendo usadas após período de crescimento de cinco dias até o limite de uma semana.

Como rotina, todas as culturas eram examinadas ao microscópio de campo escuro antes do uso, com a finalidade de se verificar o grau de pureza, motilidade, possível auto-aglutinação e contaminação. Visto que as leptospiiras conseguiram

* Bacto-Fletcher Medium Base Code. 0987-Difco Laboratories. Detroit, Michigan, U.S.A.

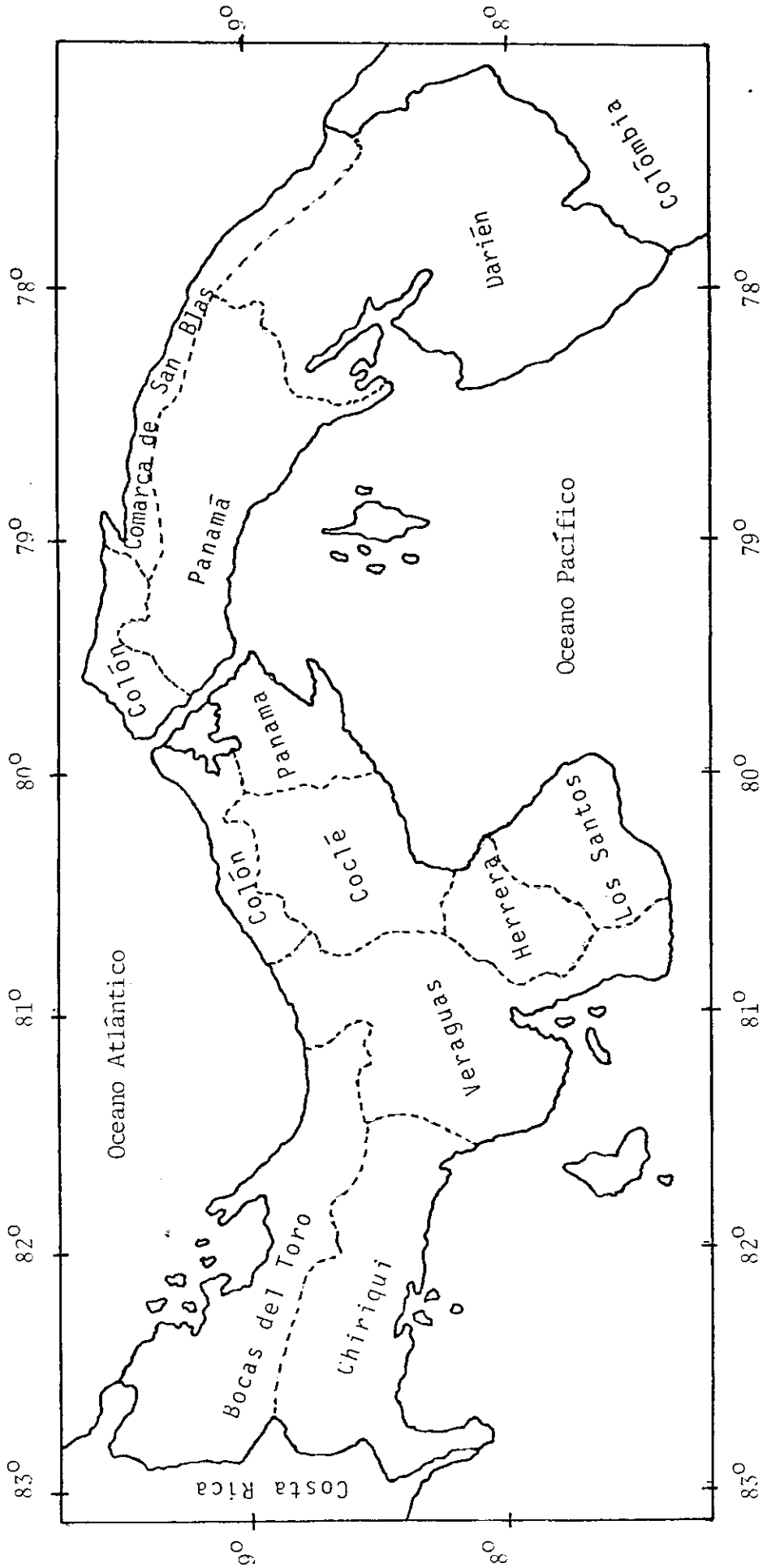
** "Propied Leptospiral Medium", preparada por "Armour Pharmaceutical Division". Kankakee, Illinois-60901, USA N° of Liste 024200

adaptação rápida ao meio, com grande crescimento, foi necessária a sua diluição 1:4 (25,00%), utilizando-se solução salina tamponada pH. 7,2-7,4. Obteve-se assim concentração entre 200 a 400 micro-organismos por campo, os quais ao serem incorporados ao soro, eram diluídos à metade, atingindo-se a faixa numérica indicada (W.H.O., 1965).

Os hemo-soros humanos foram submetidos à prova de triagem utilizando-se o sorotipo *patoc*.

Quando positivos, foram testados frente à bateria de 18 antígenos, especificados no QUADRO 1.

FIGURA - 1 MAPA POLÍTICO DA REPÚBLICA DO PANAMÁ - 1983



QUADRO I

Sorotipos de *Leptospira* usados como antígeno no teste de microaglutinação (MAR)

Sorogruppo	Sorotipo	Amostra
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	RGA
<i>Javanica</i>	<i>javanica</i>	Valdrat Batavia 46
<i>Canicola</i>	<i>canicola</i>	Hond Utrecht VI
<i>Ballum</i>	<i>ballum</i>	Mus 127
<i>Panama</i>	<i>panama</i>	CZ 214 K
<i>Pyrogenes</i>	<i>pyrogenes</i>	Salinem
<i>Tarassovi</i>	<i>tarassovi</i>	Perepelicin
<i>Cynopteri</i>	<i>butembo</i>	Butembo
<i>Autumalis</i>	<i>autumalis</i>	Akyiami A
<i>Australis</i>	<i>bratislava</i>	Jez bratislava
<i>Pomona</i>	<i>pomona</i>	Pomona
<i>Grippotyphosa</i>	<i>gripotyphosa</i>	Moskva V
<i>Bataviae</i>	<i>bataviae</i>	Van Tienen
<i>Bataviae</i>	<i>argentiniensis</i>	LT 1019
<i>Bataviae</i>	<i>brasiliensis</i>	LT 966
<i>Hebdomadis</i>	<i>wolffi</i>	3705
	<i>hardjo</i>	Hardjo prajitwo
	<i>serjoe</i>	M 84

4. RESULTADOS

4.1. Hemo-soros de bovinos de raças leiteiras

Os resultados do presente trabalho estão incluídos em tabelas, elaboradas visando a facilitar as interpretações.

A TAB. I, representa o número de propriedades rurais e bovinos existentes por províncias.

A TAB. II, indica a distribuição da amostragem da população bovina de raças leiteiras do Panamá, por província, propriedades e sexo, nas áreas trabalhadas. As diferenças observadas serão discutidas em capítulo próprio.

A TAB. III e FIG. 1 reúne os resultados de sorologia positiva, 329 dos 819 hemo-soros, distribuídos pelas províncias trabalhadas, enquanto a TAB. IV representa a distribuição dos hemo-soros positivos por províncias e por faixas etárias.

A TAB. V condensa os resultados positivos, distribuídos por províncias e sexos, com porcentagem global de 88,44% para fêmeas e 11,56% para machos.

A TAB. VI registra títulos aglutinantes anti-leptospiras, por províncias, onde o maior foi de 1:3.200, em nove hemo-soros e o menor, 1:200 em 151 provas. Os títulos intermediários de 1:400, 1:800 e 1:1.600 apresentaram a seguinte frequência de reagentes, respectivamente: 98, 52 e 19.

4.2. Hemo-soros humanos

Também, com o uso de tabelas, procurar-se-á facilitar as interpretações.

As TABS. VII e VIII resumem os resultados dos indivíduos que operam em colheita de lixo, rede de água e esgoto e atividades pecuárias. O primeiro grupo apresentou maior frequência de aglutininas anti-leptospíricas (26,66%).

A TAB. IX reúne os resultados de títulos aglutinantes, anti-leptospíricas, em indivíduos de atividade pecuária, onde os ordenhadores foram os mais afetados. O menor título foi 1:200 (48,72%) e o maior 1:1.600 (6,09%).

A TAB. X indica os títulos aglutinantes anti-leptospiras, em hemo-soros de laboratório de análise clínica, onde o título maior corresponde a 1:200, com frequência maior para o sorotipo *pyrogenes* (66,66%).

A TAB. XI registra os títulos aglutinantes anti-leptospiras em hemo-soros de Bancos de Sangue. O título menor corresponde a 1:200 (25,00%) e o maior, 1:800 (25,00%).

O QUADRO 2 proporciona algumas das características que guardam maior relação com a doença.

QUADRO 2 - Distribuição das propriedades per províncias, segundo suas características e conhecimentos da leptospirose pelos proprietários, República do Panamá-1955

Características	P r o v í n c i a s						
	Chiriquí	Coclé	Colón	Herrera	Los Santos	Panamá	Veraguas
Nº de propriedades visitadas	12	8	5	11	15	7	11
Açude	2	7	-	8	6	1	2
Córrego	11	6	5	5	6	1	5
Rio de pouca correnteza	2	5	2	5	1	1	2
Água potável (poço artesiano)	6	5	5	6	4	4	2
Existência de lagoas*	7	5	1	5	5	5	9
Enchentes periódicas	9	5	5	8	5	5	9
Instalações rudimentares	9	8	2	6	9	1	8
Curral com piso de terra	11	8	1	5	15	6	9
Rebedouros	9	4	5	5	4	5	7
Tipo de Exploração							
Extensiva	-	5	-	8	14	2	4
Semi-intensiva	7	5	5	5	1	4	7
Intensiva	5	-	-	-	-	1	-
Mortalidade de bezerras**							
2-4 meses	6	2	2	5	7	5	4
4-6 meses	-	2	-	-	-	-	5
≥ 6 meses	-	2	-	-	4	-	2
Presença de ratos e animais selvagens na propriedade	11	5	3	11	15	4	10
Procedência dos animais							
Local	6	1	1	2	5	1	5
Outras regiões	4	5	2	6	10	5	8
Exterior	1	2	-	5	1	2	-
Não sabe	1	-	-	-	-	1	-
Escolaridade dos proprietários							
Nenhuma	1	1	1	-	-	-	-
Primário	5	5	-	5	7	2	5
Secundário	4	1	1	5	2	2	5
Universitário	4	5	1	1	4	5	5
Conhecimento sobre a leptospirose							
Nenhum.	9	7	1	7	15	2	11
Alguns	1	1	2	1	2	1	-
Bom	2	-	-	5	-	4	-

* Lagoas: são coleções de águas estagnadas, produtos da chuva e enchentes

** Mortalidade: de baixo índice

TABELA I - População bovina e propriedades rurais distribuídas por províncias, nas áreas selecionadas para a pesquisa República do Panamá - 1983

Províncias	Nº de propriedades existentes		Nº de bovinos existentes		Nº de propriedades selecionadas para a pesquisa		Nº de bovinos selecionados	
	Número	%	Número	%	Número	%	Número	%
Chiriquí	3.049	39,55	16.000	18,69	40	0,518	123	0,143
Coclé	578	7,49	5.700	6,65	8	0,103	44	0,051
Colón	198	2,56	400	0,46	3	0,039	3	0,003
Herrera	901	11,68	18.600	21,72	11	0,142	143	0,167
Los Santos	1.184	15,35	34.600	40,42	15	0,194	267	0,311
Panamá	847	10,98	6.800	7,94	11	0,142	53	0,061
Veraguas	942	12,34	3.500	4,08	12	0,142	27	0,031
	7.709	-	85.600	-	100	-	660	-

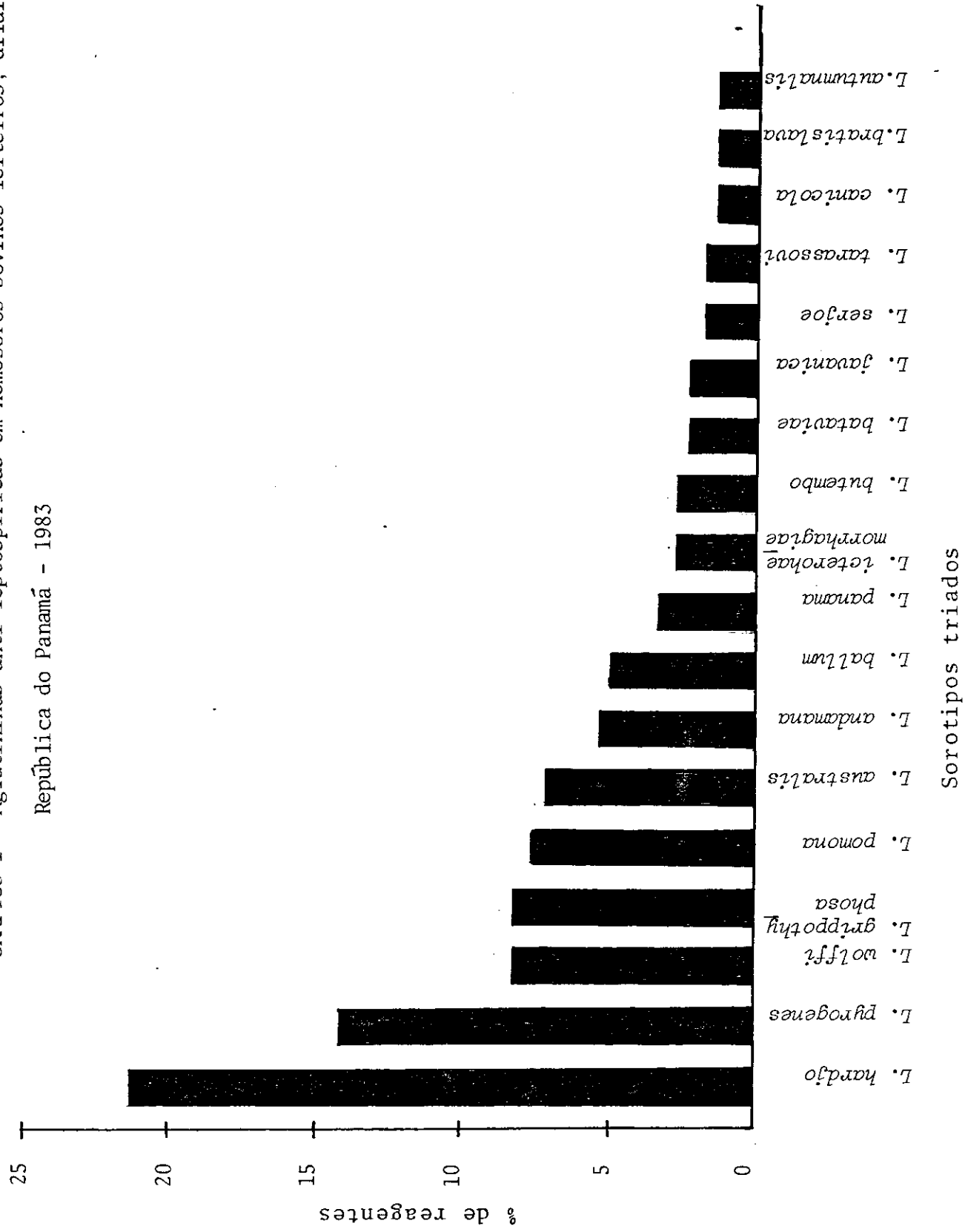
TABELA II - Distribuição da amostragem da população de bovinos de raças leiteiras por províncias, propriedades e sexo, nas áreas trabalhadas - República do Panamá - 1983

Províncias	F a z e n d a s		População bovina		s e x o			
	programação		amostra		Feminino	masculino		
	hipotética	trabalhadas	mínima	trabalhadas			nº	%
	nº	%	nº	%	nº	%		
Chiriquí	40	30,00	123	115,40	129	90,80	13	9,20
Cocle	8	100,00	44	175,00	72	93,50	5	6,50
Colón	3	133,33	3	1.033,33	27	87,10	4	12,90
Herrera	11	100,00	143	104,20	123	82,60	26	17,40
Los Santos	15	100,00	267	100,40	252	94,00	16	6,00
Panamá	11	63,63	53	139,60	64	86,50	10	13,50
Veraguas	12	91,66	27	288,90	63	80,80	15	19,20
Total	100	-	660	-	730	-	89	-

TABELA III - Aglutininas anti-leptospíricas em hemo-soros de bovinos de raças leiteiras, diluição, 1:100, distribuídos por províncias República do Panamá - 1983

Sorotipos	P R O V I N C I A S										Total de reagentes
	Chiriqui	Coclé	Colón	Herrera	Los Santos	Panamá	Veraguas				
<i>L. andamana</i>	9	1	4	-	1	-	3				18
<i>L. australis</i>	5	2	1	-	13	1	1				23
<i>L. autumalis</i>	-	1	-	-	2	-	1				4
<i>L. ballum</i>	2	2	1	1	5	2	4				17
<i>L. bataviae</i>	1	-	-	2	4	-	1				8
<i>L. bratislava</i>	-	1	-	1	1	1	-				4
<i>L. butembo</i>	-	-	-	3	6	-	-				9
<i>L. canicola</i>	-	-	-	-	3	1	-				4
<i>L. grippothyphosa</i>	2	2	2	8	10	1	4				29
<i>L. hardjo</i>	14	6	2	21	21	4	4				72
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	2	2	-	3	-	1	1				9
<i>L. javanica</i>	1	1	1	1	-	3	1				8
<i>L. panama</i>	6	1	-	1	1	-	2				11
<i>L. pomona</i>	3	-	-	5	13	1	3				25
<i>L. pyrogenes</i>	4	5	2	6	22	4	4				47
<i>L. serjoe</i>	-	-	-	-	3	1	2				6
<i>L. tarassovi</i>	1	1	-	-	2	-	2				6
<i>L. wolffi</i>	11	1	-	2	14	-	1				29
Total	61	26	13	54	121	20	34				329

GRÁFICO 1 - Aglutininas anti-leptospíricas em hemossoros bovinos leiteiros, diluição 1:100
República do Panamá - 1983



Serotipos triados

TABELA V - Aglutininas anti-leptospíricas em hemossoros de bovinos de raças Leil baíras, diluição 1:100, distribuídos por províncias e sexo. República do Panamá - 1963

Sero-tipos	Chiriquí		Cocle		Colón		Herrera		Los Santos		Feriada		Veraguas		Total								
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M									
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%									
<i>L. andamana</i>	7	12,72	2	33,33	4	30,76	-	-	-	1	0,90	-	-	2	7,14	1	16,66	18					
<i>L. australis</i>	5	9,09	-	-	1	7,69	-	1	2,32	-	11	9,90	2	20,00	1	3,57	-	24					
<i>L. autumnalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1,80	5	50,00	-	-	1	3,57	9					
<i>L. bellum</i>	2	3,63	-	-	1	7,69	-	1	2,32	-	-	-	-	1	5,55	1	50,00	3					
<i>L. bataviae</i>	1	1,81	-	-	-	-	-	1	2,32	1	9,09	4	3,60	-	-	-	-	1					
<i>L. bratislavae</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	2,32	-	-	1	6,90	-	-	-	-	4					
<i>L. butembo</i>	-	-	-	-	-	-	-	2	4,60	1	9,09	6	5,40	-	-	-	-	9					
<i>L. senicola</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2,70	-	-	-	-	4					
<i>L. trippothyphosa</i>	2	3,63	-	-	2	15,32	-	6	13,96	2	18,18	10	9,09	-	-	4	14,28	29					
<i>L. hardjo</i>	11	20,00	3	5,45	5	21,73	1	33,33	2	15,38	2	18,18	21	18,91	-	-	4	22,22	71				
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	2	3,63	-	-	-	-	-	3	6,97	-	-	-	-	-	-	1	50,00	1					
<i>L. javanica</i>	1	1,81	-	-	1	7,69	-	1	2,37	-	-	-	-	3	16,66	-	-	8					
<i>L. panama</i>	6	10,90	-	-	-	-	-	1	2,32	-	-	1	0,90	-	-	2	7,14	11					
<i>L. punone</i>	4	7,27	-	-	-	-	-	4	9,30	1	9,09	12	10,81	1	10,00	1	5,55	26					
<i>L. pyrogenes</i>	3	5,45	-	-	2	15,38	-	2	4,66	4	36,36	22	19,81	-	-	4	22,22	46					
<i>L. serjoe</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1,80	1	10,00	1	5,55	6					
<i>L. tarassovi</i>	10	18,66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1,80	-	-	-	-	15					
<i>L. wolffi</i>	1	1,81	1	1,81	-	-	-	-	-	-	-	13	11,71	1	0,90	-	-	18					
Total	56	-	6	-	23	-	3	-	13	-	43	-	11	-	10	-	2	-	28	-	6	-	329

SEIA VI - Títulos aglutinantes anti-leptospirosis, diluição 1:100, em hemoceros de bovinos de raças leiteiras, distribuídos por províncias - República do Panamá, 1983.

	O h i r i q u é					C o c l e					C o l o n																									
	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:200	1:400	1:800	1:1600																		
andamana	5	8,19	2	3,27	1	1,63	1	1,63	-	-	1	3,84	-	-	2	15,38	2	15,38	-	-	-	-														
australis	5	8,19	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3,84	1	3,84	-	-	-	-	-	1	7,69	-	-													
autumnalis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3,84	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
ballum	1	1,63	-	-	2	3,27	-	-	-	-	-	-	2	7,69	-	-	1	7,69	-	-	-	-	-													
buzovine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
brasiliana	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3,84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
bahambo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
caricola	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
griffithii	-	-	-	-	1	1,63	1	1,63	1	1,63	1	3,84	-	-	-	-	-	-	-	1	7,69	1	7,69													
marado	1	1,63	3	4,91	4	6,55	5	8,19	1	1,63	-	-	2	7,69	3	11,53	1	3,84	-	-	-	-	-													
icterohaemorrhagiae	1	1,63	-	-	-	1	1,63	-	-	-	1	3,84	1	3,84	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
javayica	1	1,63	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3,84	-	-	1	7,69	-	-	-	-	-	-	-													
panami	3	4,91	1	1,63	2	3,27	-	-	-	-	-	1	3,84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
panama	1	1,63	2	3,27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
pyrogenes	2	3,27	2	3,27	-	-	-	-	-	-	5	19,23	-	-	-	-	-	-	-	-	1	7,69	-	-												
perjov	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
tarasovi	1	1,63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3,84	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
wolff	3	4,91	4	6,55	2	3,27	1	1,63	-	-	-	-	1	3,84	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
MI	24	-	14	-	10	-	11	-	2	-	10	-	8	-	7	-	1	-	-	3	-	4	-	2	-	3	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-

(continua)

TABLEA VI - Títulos azúcares anti-hepatofilia, dilución 1:100, em homo-soro de bovinos leiteiros, distribuídos por províncias - República de Panamá, 1953.

SORCITOS	H e r e t a				L o s S a n t o s				
	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
<i>L. andersoni</i>	1 0,82	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. australis</i>	1 1,85	-	-	-	6 4,94	2 1,65	5 4,13	-	-
<i>L. autumnalis</i>	-	-	-	-	-	2 1,65	-	-	-
<i>L. ballum</i>	-	1 1,85	-	-	1 0,82	4 3,30	-	-	-
<i>L. baylingi</i>	1 1,85	1 1,85	-	-	3 2,47	1 0,82	-	-	-
<i>L. brachiolava</i>	1 1,85	-	-	-	-	-	-	1 0,82	-
<i>L. butambo</i>	3 5,55	-	-	-	3 2,47	2 1,65	1 0,82	-	-
<i>L. canicola</i>	-	-	-	-	-	2 1,65	-	-	1 0,82
<i>L. cypripodiformis</i>	7 12,96	1 1,85	-	-	6 4,95	4 3,30	-	-	-
<i>L. hardjo</i>	9 16,66	2 3,70	7 12,90	1 1,85	7 5,98	12 9,91	2 1,65	-	-
<i>L. jeterchuan-urhngins</i>	2 3,70	-	-	1 1,85	-	-	-	-	-
<i>L. javanica</i>	1 1,85	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. panama</i>	-	-	1 1,85	-	-	1 0,82	-	-	-
<i>L. pokony</i>	4 7,40	1 1,85	-	-	9 7,43	3 2,47	-	1 0,82	-
<i>L. pyrogenus</i>	4 7,40	2 3,70	-	-	19 15,70	1 0,82	2 1,65	-	-
<i>L. neyage</i>	-	-	-	-	2 1,65	1 0,82	-	-	-
<i>L. karapoyi</i>	-	-	-	-	1 0,82	1 0,82	-	-	-
<i>L. wolffi</i>	-	-	1 1,85	-	5 4,13	5 4,13	4 3,30	-	-
Total	33	8	0	2	63	41	14	2	1

(continm)

TADELA VI - Títulos de crédito anti-Infecções, diluição 1:100, em hemocoros de bovinos de raças Leiteiras, distribuídos por província, República de Panamá, 1963.

SOURCES	F a n a m á			V e r a s u a s					Total	
	1:200	1:400	1:800	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200		
<u>Is. andamana</u>	-	-	-	1	2,94	2	5,88	-	-	18
<u>Is. australis</u>	-	-	1	5,00	-	-	-	-	-	24
<u>Is. australis</u>	-	-	-	-	1	2,94	-	-	-	4
<u>Is. ballum</u>	1	5,00	-	3	5,00	-	-	-	-	18
<u>Is. bataviae</u>	-	-	-	-	1	2,94	2	5,88	1	2,94
<u>Is. brattolava</u>	1	5,00	-	-	-	-	-	-	-	8
<u>Is. butembo</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
<u>Is. canicola</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9
<u>Is. cripproblytica</u>	-	-	-	-	1	5,00	-	-	-	4
<u>Is. hardjo</u>	-	2	10,00	2	10,00	-	-	-	-	29
<u>Is. icterohaemorrhagiae</u>	-	1	5,00	-	-	-	1	2,94	2	5,88
<u>Is. javanica</u>	1	5,00	2	10,00	-	-	-	-	-	71
<u>Is. panama</u>	-	-	-	-	-	-	1	2,94	-	9
<u>Is. pomona</u>	-	-	-	-	-	-	1	2,94	-	8
<u>Is. pyrogena</u>	1	5,00	2	10,00	1	5,00	-	-	-	11
<u>Is. sericeus</u>	-	1	5,00	-	-	-	1	2,94	1	2,94
<u>Is. tarapaca</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25
<u>Is. wolffi</u>	-	-	-	-	-	-	1	2,94	1	2,94
<u>Is. wolffi</u>	-	-	-	-	-	-	1	2,94	1	2,94
<u>Is. wolffi</u>	-	-	-	-	-	-	1	2,94	-	6
<u>Is. wolffi</u>	-	-	-	-	-	-	1	2,94	1	2,94
<u>Is. wolffi</u>	-	-	-	-	-	-	1	2,94	-	6
<u>Is. wolffi</u>	-	-	-	-	-	-	1	2,94	-	28
Total	4	8	6	2	14	15	5	-	-	329

TABELA VII - Aglutininas anti-leptospíricas, diluição prévia 1:100, em hemossoros humanos do grupo ocupacional, ligado à colheita de lixo urbano e rede de água e esgoto - República do Panamá - 1983

Sorotipos	I				D				A				total	
	1:200	%	1:400	%	1:400	%	1:800	%	1:200	%	1:400	%		1:800
<i>L. andamana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. grippothyphosa</i>	-	-	-	-	-	-	1	12,50	-	-	-	-	-	1
<i>L. hardjo</i>	2	25,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>L. panama</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	12,50	1	12,50	-	2
<i>L. pyrogenes</i>	1	12,50	-	-	-	-	-	-	2	25,00	-	-	-	3
Total	3	-	-	-	-	-	1	-	3	-	1	-	-	8

TABELA VIII - Aglutininas anti-leptospíricas, diluições prévia 1:100, em hemossoros do grupo ocupacional de atividades pecuárias - República do Panamá - 1983

Sorotipos	açougueiros		ordenhadores		vaqueiros		sem profissão definida		total
	reagentes	%	reagentes	%	reagentes	%	reagentes	%	
<i>L. andamana</i>	-	-	2	3,38	-	-	-	-	2
<i>L. australis</i>	-	-	5	8,47	-	-	2	28,57	7
<i>L. autumnalis</i>	-	-	1	1,69	2	22,22	1	14,28	4
<i>L. butembo</i>	-	-	1	1,69	-	-	-	-	1
<i>L. canicola</i>	-	-	4	6,77	-	-	-	-	4
<i>L. grippothyphosa</i>	1	14,28	11	18,64	1	11,11	-	-	13
<i>L. hardjo</i>	2	28,57	7	11,86	1	11,11	1	14,28	11
<i>L. panama</i>	-	-	5	8,47	2	22,22	-	-	7
<i>L. pomona</i>	-	-	4	6,77	1	11,11	-	-	5
<i>L. pyrogenes</i>	3	42,85	11	18,64	1	11,11	1	14,28	16
<i>L. tarassovi</i>	-	-	1	1,69	1	11,11	-	-	2
<i>L. wolffi</i>	1	14,28	7	11,86	-	-	2	28,57	10
Total	7	-	59	-	9	-	7	-	82

TABLE IX - Ítulos aglutinantes anti-leptospiras, diluição prévia 1:100, em remanesços do grupo ocupacional, ligado a atividades pecuárias. República do Panamá - 1963

Somagrupos	A g u e i r o		O r d e n a d o r		V a q u e i r o s		S e m p r o f e s s ã o d e f i n i d a		Total
	1:200 nº %	1:400 nº %	1:200 nº %	1:400 nº %	1:200 nº %	1:400 nº %	1:200 nº %	1:400 nº %	
<i>L. auduberti</i>	-	-	2	3,38	-	-	-	-	2
<i>L. australis</i>	-	-	4	6,77	1	1,69	-	-	2
<i>L. subcallis</i>	-	-	1	1,69	-	-	1	11,11	1
<i>L. butembo</i>	-	-	1	1,69	-	-	-	-	1
<i>L. canicola</i>	-	-	4	6,77	-	-	-	-	4
<i>L. grippothyphosa</i>	2	25,00	6	10,16	3	5,08	2	3,33	14
<i>L. hardje</i>	1	12,50	5	8,47	2	3,38	-	-	10
<i>L. panama</i>	-	-	-	-	4	6,77	1	1,69	7
<i>L. panama</i>	-	-	4	6,77	-	-	-	-	5
<i>L. pyrogenes</i>	2	25,00	5	8,47	1	1,69	-	-	10
<i>L. tarassovi</i>	-	-	1	1,69	-	-	-	-	1
<i>L. wolffi</i>	1	12,50	7	11,86	-	-	-	-	11
Total	6	2	40	11	3	5	4	6	82

TABELA X - Títulos aglutinantes anti-leptospiras diluição prévia 1:100, em hemossoros humanos, destinados a análise clínica, do Hospital Cecílio Castellero - República do Panamá - 1983

	<u>Doméstica</u>			<u>Secretaria</u>			Total
	<u>1:200</u>		<u>idade</u> (ano)	<u>1:200</u>		Idade	
	Nº	%		Nº	%		
<i>L. javanica</i>	1	33,33	42	-	-	-	1
<i>L. pyrogenes</i>	1	33,33	36	1	33,33	21	2
total	2	-	-	1	-	-	3

TABELA XI - Títulos de aglutininas anti-leptospiric, atribuída em 1960, em homenagem de doadores de sangue - repetição de 1960

Sotogrupos	L a t o e i r o			I n s p e t o r d o I C A A L			P o l i c i a l d e s F o r ç a s A r m a d a s			S e n p r o f e s s ã o d e f i n i d a		
	1:200			1:800			1:1000			1:1000		
	Nº	%	Idade (ano)	Nº	%	Idade (ano)	Nº	%	Idade (ano)	Nº	%	Idade (ano)
L. andamana	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L. tripartithyphosa	1	25,00	31	-	-	25	100	-	-	-	-	-
S. maris	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- (B) Ministério de Obras Públicas
- (D) Empresa privada
- (C) Forças Armadas
- (V) Desempregado

5. DISCUSSÃO

No presente trabalho, material, métodos e sobretudo, resultados, serão abordados de forma a permitir melhor entendimento dos objetivos e das bases de nossas conclusões.

5.1. República do Panamá, suas características e a seleção da área de trabalho

A República do Panamá, por sua localização na América Central, em área tropical, tem condições ecológicas propícias ao desenvolvimento de várias doenças, as quais, na sua cadeia epidemiológica têm, nos animais silvestres e, principalmente roedores, elo de significativa importância. De acordo com esta realidade, procurou-se estudar e apresentar a situação atual da leptospirose no país, propiciando condições adequadas à organização de programas de controle da doença.

As condições do clima e solo panamenho não diferem das descritas por ALEXANDER (1960), para América Latina em seu todo, o que favorece a gênese e endemicidade da doença nestas áreas (SYFRES, 1975).

Das nove províncias e uma Comarca Indígena que constituem a divisão política do país (FIG. 1), foram selecionadas sete províncias, relacionadas na TAB. I, onde são apresentados dados relativos ao número de propriedades existentes

e a população bovina leiteira.

Esta seleção constituiu-se a área de trabalho, com características bastante uniformes e possuidoras da quase totalidade do gado bovino de raças leiteiras panamenhas.

Não foram incluídas as províncias de Bocas del Toro e Dariên por apresentarem características ecológicas, similares entre si, porém diferentes das demais áreas do país. Nestas províncias, com relação à população bovina, há dominância de gado de corte, com inexpressivo número de gado leiteiro.

Com base nestas características, organizou-se a amostragem procurando torná-la a mais significativa possível.

5.2. População bovina, suas características e amostragem

Na República do Panamá, a população bovina destinada à produção leiteira, segundo informação da DIREÇÃO NACIONAL DE FOMENTO LEITEIRO (1983) foi estimada naquele ano, em 85.600 cabeças as quais se distribuíram pelas sete províncias selecionadas para esta pesquisa, num total de 7.709 propriedades (FIG. 1 e TAB. I).

Em consequência da exiguidade de tempo disponível para as atividades de campo e dada a intensa seca que, à época, atravessava o país, motivando o traslado de grande parte de animais para outras áreas com melhores condições de sobrevivência, formulou-se a hipótese de visitar 100 propriedades rurais. Isto teve respaldo em autoridades governamentais especializadas em planificação na área animal e conhecedoras, perfeitamente, da realidade do país.

A amostragem foi considerada representativa e os estabelecimentos leiteiros visitados foram selecionados aleatoriamente.

É preciso considerar-se o tipo de propriedades existentes na área selecionada. A grande maioria se constituía de minifúndios, com a razão mais estreita para Colón, onde a den-

tidade média era de 2,0 animais por propriedade. A província de Los Santos, com uma média de 292 animais por propriedade, representa a maior área leiteira do país, predominando fazendas ou estabelecimento leiteiros de maior tamanho.

Nesta amostragem, por isso mesmo, as percentagens de bovinos selecionados para a pesquisa variam de 0,003 para Colón a 0,312 para Los Santos, cerca de 100 vezes mais. A amostra de bovinos, em número de 660, foi calculada de acordo com recomendações do CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS (1979).

Com relação às propriedades, Chiriquí concorreu com o maior número, no percentual de 0,518, sendo o menor 0,039 correspondente à província de Colón (TAB. II).

A TAB. II reúne dados da distribuição da amostragem da população efetivamente trabalhada, por província, propriedade e sexo. A análise da tabela mostra algumas discrepâncias com o programado, anteriormente descrito, com relação às províncias de Chiriquí, Colón, Panamá e Veraguas. Estas variações, para mais ou para menos, tiveram como motivos a situação de penúria encontrada nessas áreas, a retirada de grande número de animais e, em alguns casos, recusa dos proprietários por temerem pela saúde dos seus animais extremamente debilitados. Ante esta situação, dado as características bastante similares das propriedades trabalhadas nessas áreas descritas, elevou-se o número de animais para atingir a amostra programada. (TAB. II e QUADRO 2) sabendo-se que quanto maior o volume da amostra, mais significativa torna-se.

5.2.1. Aglutininas anti-leptospíricas em hemo-soros obtidos de bovinos de raças leiteiras.

Através da prova de micro-aglutinação rápida (RYU, 1970), foram examinados 819 hemo-soros provenientes de sete das nove províncias do Panamá (FIG. 1). Destes, 329 (40,17%) tiveram resultados sorológicos positivos a um ou mais sorotipos (TAB. III).

A seleção dos 18 sorotipos teve como base a maior prevalência destes na literatura internacional especializada (QUADRO I).

Os resultados mostram que a maior prevalência correspondeu à província de Los Santos, seguida de Chiriquí, Herrera, Veraguas, Coclé, Panamá e Colón, onde as frequências se relacionam aos sorogrupos: *Hebdomadis* (32,21%), *Pyrógenes* (14,28%), *Grippothyphosa* (8,81%), *Australis* (8,51%), *Pomona* (7,59%), *Andamana* (5,47%), *Ballum* (51,16%) e *Panamá* (3,34%). As menores prevalências corresponderam a *Tarassovi* (1,82%), *Autumalis*, *Bratislava* e *Canicola* (1,21%), respectivamente (TAB. III).

As taxas de prevalência são bastante próximas entre as áreas estudadas, exceto nas províncias de Colón e Panamá, onde são de 3,95% e 5,07%, respectivamente (TAB. III).

Pode-se acreditar que nestas províncias, as condições de manejo, instalações das fazendas e melhor conhecimento sobre a leptospirose, contribuam para justificar as menores taxas encontradas (QUADRO 2).

Os sorotipos *australis*, *bratislava*, *butembo*, *grippothyphosa*, *hardjo*, *panamá*, e *tarassovi*, constantes na (TAB. III) foram encontrados pela primeira vez, no Panamá, em bovinos. É possível que outros pesquisadores não os tenham introduzido nas baterias de teste. Neste caso, poderiam existir no país há longo tempo. Também é possível, entretanto, ter havido infecção recente por introdução de animais recém-adquiridos, devido ao traslado periódico de animais entre as regiões. A maior prevalência ocorreu na província de Los Santos: 121 casos em 329 registrados, ou seja, 36,77% e a menor na de Colón, com 13 (3,95%) de sorologias positivas (TAB. III).

A TAB. IV dá outros detalhes quanto a faixas etárias. No conjunto geral, 99 bezerros de até dois anos registraram sorologia positiva, o que corresponde a 30,00% do total de

reagentes.

Nas faixas etárias compreendidas entre quatro a seis anos e seis anos ou mais, as percentagens de reatores foram 20,66% e 36,47%. O fato é explicado pelas condições de manejo das fazendas panamenhas. Os resultados de pesquisas de aglutininas anti-leptospíricas em bovinos, realizados em outros países, com metodologia análoga à desenvolvida neste trabalho, assemelham-se aos resultados encontrados para as maiores idades, 120 reagentes (36,47%). Esta foi a maior taxa de prevalência encontrada (TAB. IV). Talvez em consequência de maior tempo de exposição dos animais à infecção dado o tipo de exploração existente no Panamá, justificariam os resultados.

O maior número de fêmeas com sorologia positiva, 291 (88,44%), não pode ser considerado devido às condições ligadas ao sexo e sim a manejo e idade. A minoria incluiu 730 fêmeas e 89 machos (TAB. IV e V).

Essa grande diferença de número de animais justificaria, também, a pouca influência aparentemente exercida pelo sexo (TAB. II e V).

A procura de diluições finais, em que ocorriam reações positivas, ou seja, títulos aglutinantes, foi executada visando deduzir, de maneira algo imprecisa, a maior duração da infecção ou o nível diferenciado de patogenicidade.

Os títulos de 1:200 (45,90%); 1:400 (29,81%); 1:600 (5,84%) e 1:3.200 (2,72%), parecem ser indicativos da endemicidade da leptospirose no Panamá, correspondendo aparentemente a três estágios da doença: os títulos 1:200 seriam indicativos de infecção crônica; 1:400 a 1:1.600, sub-aguda e títulos superiores, infecção aguda recente. A TAB. VI mostra detalhes da infecção por províncias, sorotipos e títulos.

Como ficou descrito anteriormente o Panamá possui condições propícias à gênese e desenvolvimento da infecção leptospírica. As instalações rurais são, na grande maioria, ainda deficientes, tornando difícil ou inadequado o controle desta e outras doenças.

Há grande quantidade de roedores e animais silvestres capazes de atuarem como reservatório e agentes comunicantes da infecção. A tudo isto, com destaque, deve ser acrescentado o baixíssimo grau de conhecimento sobre a zoonose demonstrado pela grande maioria dos criadores entrevistados (QUADRO 2).

Os resultados do presente trabalho, para indivíduos de labores em rede de água e esgotos (26,66%) e ordenhadores e vaqueiros (82,92%) são superiores aos reportados por CALERO et alii (1957). Esta é uma evidência da endemicidade da leptospirose em solo panamenho. Outra evidência é a constatação de novos sorotipos: em bovinos de raças leiteiras (*australis*, *bratislava*, *butembo*, *grippothyphosa*, *hardjo*, *panamá* e *tarassovi*) e em humanos (*andamana*, *butembo*, *javanica*, *pyrogenes*, *tarassovi* e *wolffi*).

No Panamá, os médicos veterinários reportam com frequência, achados de hemoglobinúria em bezerros, fato também constatado por SERGENT & L'HERRITTIER (1919) na Argélia e MICHIN & AZINOU (1935) na Rússia.

ALSTON E BROOM (1958) reportaram mortalidades de bezerros, ligada ao sorotipo *hardjo*. É na Europa que isto também possa estar ocorrendo no Panamá, com, além deste sorotipo, a participação de outros (*andamana*, *autumalis*, *ballum*; *grippothyphosa*, *pomona* e *pyrogenes*), face a conhecida patogenicidade e frequências encontradas na presente pesquisa.

ALEXANDER (1960) manifesta que o clima e faunas das extremas zonas de "Meso-américa" e América do Sul, são sumamente apropriados à propagação da leptospirose no homem e a animais. Este seria o caso da República do Panamá.

A frequência dos sorogrupos encontrada no presente trabalho, coincide com as registradas por WOLFF et alii (1960) e MURNANE et alii (1963), no Panamá.

ROBERTSON et alii (1964), no Canadá e SULLIVAN & STALMAN (1970) na Austrália, cultivaram e descreveram *L. hardjo*, como responsável pelas mamites e abortos nesses países.

O sorotipo *grippothyphosa* ocupou o terceiro lugar em significância, coincidindo com os resultados encontrados por GARCIA (1966), na Colômbia.

CLARK et alii (1966) na Nicaraguá registrou o sorogrupu *Hebdomalis* como o de maior participação das reações nesse país, achado este similar a do presente trabalho.

SULLIVAN & STALMAN (1970), na Austrália, reportam casos de mamites com flacidez de úbere, diminuição da produção leiteira e coágulos. Tais informações foram dadas também, pelos fazendeiros, durante as visitas às fazendas para a colheita de material. Segundo estes autores, estes surtos de mamite bovina estavam associados a *L. hardjo*. A alta frequência deste sorotipo em solo panamenho, e os achados constantes de mamites diagnosticados pelos médicos veterinários de campo, demonstram grande relação com o descrito por eles.

CACHIONE (1973), ao referir-se a aspectos epidemiológicos da leptospirose, manifesta que a doença não é exclusiva de área tropical, não sendo exótica em nenhum país da América Latina. Panamá, localizado neste continente, se encaixa dentro do reportado por este pesquisador.

A percentagem de reatores ao sorotipo *hardjo* em bovinos de raças leiteiras (21,58) foi superior à encontrada por LIMPIAS & SHERMAN (1973) em Santa Cruz, Bolívia (19,19%)

Achados de SULLIVAN (1974), indicando a *L. hardjo* como causadora de anemia hemolítica em bezerros, poderiam ligar este sorotipo à debilidade e mortalidade de bezerros frequentes em fazendas panamenhas.

MYERS et alii (1975), na Argentina, reportaram em 41,1% o índice de reação em Tatús (*Chaetophractus villosus*), frente a 16 antígenos. A presença desta espécie como provável reservatório em solo panamenho, chama a atenção para futuras pesquisas no Panamá.

Os achados de GORDON (1977) coincidem com os do presente trabalho, reportando o sorogrupu *Hebdomadis* como de maior frequência.

Procuramos estabelecer títulos de aglutinação com o objetivo de, nos casos de múltiplas reações, registrar o sorotipo que apresentou o título mais elevado. Assim o maior título, corresponderia ao sorotipo responsável pela reação, conforme o sugerido por LARA (1978), no México.

HIGGINS et alii (1980), na Grã-Bretanha, e Irlanda do Norte, identificaram *L. hardjo* como responsável por surtos de mamite e síndrome febril em bovinos. Dada sua alta participação (21,88%) nas reações observadas por nós, esperamos que futuros programas de diagnóstico permitirão conhecer melhor a importância deste sorotipo em outros tipos de animais.

HIDALGO & MEJIA (1981), no Perú, identificaram o sorogrupo *Hebdomadis* como o de maior participação nas reações sorológicas, coincidindo assim com nossos achados. Reportaram, também, o isolamento de *L. copenhagen* de *Rattus norvegicus* e *R. rattus*. A grande população destes roedores no Panamá (QUADRO) 2) sugerem futuros trabalhos de pesquisa nestas espécies.

GIORGI et alii (1981), também reportam o sorogrupo *Hebdomadis* como de maior frequência, coincidindo com os achados do presente trabalho. Eles trabalharam em São Paulo, Brasil.

5.3. Aglutininas anti-leptospíricas em hemo-soros humanos

O presente trabalho inclui categorias de humanos de atividades diversas, algumas julgadas de alto risco dentro do grupo ocupacional. Todos soros foram submetidos à prova de triagem frente ao sorotipo *patoc* na diluição de 1:100. Quando positivos, foram retestados frente aos 18 sorotipos integrantes da bateria (QUADRO 1).

5.3.1. Trabalhadores em limpeza pública e rede de água e esgotos

Este grupo ocupacional da cidade do Panamá, a Capital, onde 750 indivíduos exerciam suas atividades em condições regularmente satisfatórias quanto a segurança sanitária, isto é, dispunham de botas de borracha luvas e capacete. Resultados deste grupo de trabalhadores urbanos se encontram reunidos na TAB. VII. A prevalência do grupo de lixeiros, 10,66% foi inferior a encontrada entre o pessoal que opera na rede de água e esgotos, engançados no I.D.A.A.N., com percentagem de 26,66%.

Há grande concentração de ratos em redes de esgoto em todo o mundo. Desde que a urina destes roedores com frequência, contenha leptospiros, o pessoal que invade este nicho ecológico por dever de funções, sem a menor dúvida, está sujeito a contaminação (CRUICKSHANK 1968). Pesquisadores como YAGER (1953), AZEVEDO & CORRÊA (1968), o primeiro nos USA e o segundo em Recife-Brasil, chamam a atenção para a importância dos ratos de esgoto na transmissão de doenças. A possibilidade de contaminação aumenta com o desenvolvimento de normas sanitárias ou pela não aplicação destas normas, principalmente, quanto à roupas de trabalho pouco adequadas. Ambas situações ocorriam no país quando da realização desta pesquisa.

No Panamá, também é observado o incremento das atividades ligadas a rede de água e esgoto e manuseio de lixo, em consequência do aumento das populações, dada a migração de indivíduos, para a capital (Panamá), observando-se os fenômenos reportados por SILVA et alii (1974) no grande Rio-Brasil.

Os valores obtidos foram testados pelo método de Qui-quadrado, para verificar diferenças significativas entre os grupos ocupacionais e hospitalares. Tomou-se como critério de significação 0,05% da probabilidade. Durante a execução do teste acima descrito, tanto os valores esperados como os obser-

vados, menores que cinco, submeteram-se à correção de Yates, conforme, o apresentado por SPIEGUEL (1977).

A pequena amostragem obtida, quatro indivíduos positivos em 15 trabalhadores (26,66%) em rede de água e esgotos, igual ao número de positivos para lixeiros triados, estatisticamente não foi significativa (3,36) se comparada com os dados da atividade pecuária (0,23) ou com os dados de laboratório de análise clínica ou bancos de sangue (3,59).

Com relação à frequência de sorotipos neste grupo ocupacional de lixeiros e trabalhadores de rede de água e esgotos, o *grippothyphosa* apresentou o maior título, 1:800, e os demais, aglutinações de 1:200 ou mais (TAB. VIII), sorotipo reportado por CALDAS et alii (1978), como um de maior frequência em sorologias positivas em pacientes do Hospital Couto Maia, em Salvador (BA), Brasil.

Não foram registradas reações a mais de um sorotipo, exceto para o *patoe*, utilizado como prova de triagem, a título de 1:100.

5.3.2. Grupo ocupacional com atividades pecuárias

A colheita não foi feita por nós. Pessoal habilitado e altamente competente, selecionou a população a ser amostrada para grande levantamento sanitário em nível nacional, envolvendo várias entidades mirmidas, principalmente zoonoses. O trabalho foi executado sob os auspícios do Ministério da Saúde do Panamá, há 16 anos.

Todo o material sorológico foi muito bem acondicionado e preservado em ótimas condições, pelo que os resultados registrados merecem confiança.

A análise estatística procedida (Qui-quadrado), julgou significativo o material positivo obtido de trabalhadores rurais (7,24) quando comparado com o de hospitais. Entretanto, não foi significativo frente aos de rede de água e esgoto e colheita de lixo (3,26) (TAB. VII). Entre outras palavras, o

risco de contágio para o homem rural em contato direto com animais domésticos (ordenhadores, vaqueiros etc.) é importante e o contágio torna-se mais freqüente do que em relação ao pessoal de hospitais e menor do que em operário de limpeza pública e rede de esgotos. Cabe salientar que os indivíduos que laboram em atividades, efetuam seus trabalhos sem as mínimas medidas sanitárias de proteção.

Foi satisfatória a amostragem de 726 indivíduos do grupo de atividades pecuárias, resumido na TAB. IX, onde 11,39% de reações são positivas à micro-aglutinação de 1:100, nível escolhido para o diagnóstico de triagem.

Dados relativos às profissões e prevalência de sorotipos encontram-se na TAB. X. Aqueles indivíduos que se declararam ordenhadores, como principal atividade, tiveram o maior índice de infecção, ou seja, 71,95%.

O presente trabalho registrou como sorogrupos de maior prevalência o *Hebdomadis*, *Pyrogenes* e *grippothyphosa*, coincidindo desta forma com os achados de CALERO et alii (1957) e WOLFF et alii (1960). É provável que atividades ligadas a drenagem de solo, possam ter relação com a *L. grippothyphosa*, reportado por TERSKIH (1940), como responsável pela "Febre dos pântanos", na Rússia.

A alta incidência de reação frente ao sorogrupo *Hebdomadis*, isto é, 14 em 59 (23,72%) positivas, em ordenhadores, foi considerada como relacionada a manejo de animais com mamite, ou à introdução de animais recém adquiridos de outras áreas. Consideramos que este fato possa guardar relação com surto de mamite por *L. hardjo*, do mesmo sorogrupo, reportado por SULIVAN (1974) na Austrália.

Na mesma condição pode ser incluído o grupo ligado ao manejo de gado por vaqueiros, TAB. X.

Os indivíduos sem profissão definida, com atividades de limpeza, drenagem de águas, irrigação, corte de cana e outras, podem se infectar por água e ambiente contaminado pela urina de ratos, conforme CACHIONE (1973).

Neste trabalho a frequência de 11,86% do sorotipo *wolff* para ordenhadores e 40,00% em indivíduos sem profissão definida (TAB. X), poderia estar ligada a atividades anteriores envolvendo ou não contato com bovinos em propriedades com alta prevalência da doença, situação que levaria a maiores riscos de contágio.

A TAB. X, inclui os sorotipos *andamana*, *butembo*, *javânica*, *pyrogenes*, *tarassovi* e *wolffi*, encontrados pela primeira vez no Panamá. As possíveis razões deste achado foram discutidos no ítem relativo a bovinos.

Procurou-se estabelecer títulos de aglutinação com o objetivo de, nos casos de múltiplas reações, registrar-se o sorotipo que apresentou título mais elevado. Este sorotipo seria o principal responsável pela infecção, segundo o sugerido por LARA (1978), no México.

A TAB. XI, registra os títulos e múltiplas reações para sorotipos diversos. O maior título, 1:1.600, foi encontrado em cinco ordenhadores (8,50%), frente ao sorotipo *pyrogenes*.

No grupo ocupacional ligado a atividades rurais não foram incluídos os trabalhadores de arroz e canaviais, devido à não coincidência de tais atividades quando da realização do trabalho de campo. Oportunamente, investigações poderão abranger esta área de atividades.

5.3.3. Amostras de laboratório de análise clínica

Nenhum dos indivíduos que compuzeram a amostragem foi ao laboratório com diagnóstico ou suspeita clínica de leptospirose.

O Hospital Cecílio Castellero, situado em Chitré, populosa cidade da província de Herrera, inclui entre sua vasta clientela, pessoal oriundo de áreas rurais. Esta regionalidade atribui às amostras ali colhidas maior amplitude e, sem dúvida, melhor significância.

A presença de aglutininas anti-leptospírica neste gru

po é esperada dada a prevalência da doença no país. Estudos posteriores, de maior envergadura, poderão melhor informar da importância deste achado.

5.3.4. Amostras colhidas em bancos de sangue

Eram três os estabelecimentos trabalhados, atingindo uma amostragem de 127 hemo-soros, dos quais 27 foram obtidos no interior, na cidade de Chitré, na zona sul do país, com condições ecológicas variáveis. Apesar de ser uma região bastante seca, possui áreas úmidas, em consequência de enchentes e do represamento dos rios em seus estuários, pela ação das marés do grande Oceano Pacífico, proporcionando condições apropriadas à transmissão da leptospirose.

Os outros 100 doadores forneciam sangue em Bancos localizados na cidade do Panamá. Em todos eles só era permitido doar sangue, obviamente, indivíduos aparentemente sadios.

Do total de 127 amostras, quatro foram reagentes. Todas provieram do Banco de sangue do "Hospital de La Caja del Seguro Social", localizado na capital do Panamá, ligado a área de assistência social. Isto dá a frequência de 8,00% para este Banco de sangue e de 3,14% para o total (TAB. XI e QUADRO 3).

Os detalhes referentes à ocupação, empregador, frequência da doação e idade dos doadores, talvez pelo tamanho da amostra, não possibilitam interrelações seguras. Entretanto, torna-se evidente a necessidade da introdução deste tipo de exame na rotina dos Bancos de sangue para o diagnóstico de infecções inaparentes ou crônicas, possíveis em doadores aparentemente sadios.

No conjunto, os resultados desta investigação demonstram ter a leptospirose caráter endêmico na República do Panamá. Há condições ecológicas propícias para tal. Torna-se necessário controle adequado quanto às populações bovinas e maior proteção ao grande grupo ocupacional.

6. CONCLUSÕES

. A prevalência de leptospirose bovina, em raças leiteiras, encontrada na República do Panamá, em 1983, foi de 40,17%.

. As maiores frequências foram encontradas nas províncias de Los Santos, Chiriquí, Herrera e Veraguas.

. Em bovinos, os sorotipos de maior frequência foram *hebdomadis* (30,69%), *pyrogenes* (14,28%) e *grippothyphosa* (8,81%).

. No grupo ocupacional de alto risco, o da rede de água e esgoto foi registrada a maior frequência (26,66%).

. A intensidade do risco é bastante variada no grupo ocupacional ligado a atividades pecuárias. Os ordenhadores foram as mais atingidas (71,95%) dentro da prevalência global de 11,39%.

. Os resultados desta investigação demonstraram que a doença é de caráter endêmico no país, necessitando controle adequado em relação às populações bovinas e maior proteção ao grupo ocupacional. Os sorotipos detectados pela primeira vez no país corroboram esta afirmação.

. O encontro de doadores com sorologia anti-leptospírica positiva, indica a conveniência da introdução da prova de micro-aglutinação rápida para diagnóstico de leptospirose, na rotina dos Bancos de sangue.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALEXANDER, R.D. La distribución de la leptospirosis en América Latina. *Bol. Of. Sanit. Panam.* Washington 49(2): 149-164, 1960.
2. ALSTON, S.M. & BROOM, J.C. Leptospirosis in man and animals. Edinburg, E. & S. Livingston, 1958.
3. AUSTONI, M. Le leptospirosi. Torino. Edizione Minerva Med., 1953.
4. AZEVEDO, R. & CORRÊA, M.O. Considerações em torno da epidemiologia de leptospirose na cidade de Recife em 1966; aspectos epidemiológicos, laboratoriais e clínicos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.*, São Paulo, 28:85-115, 1968.
5. BAKER, J.A. & LITTLE, R.B. Leptospirosis in cattle. *J. Exp. Med.*, New York, 88:295-308, 1948.
6. BITENCOURT, J.M.T.; CORRÊA, M.O.A.; FUSSIOKA, T.; TRACHESI, J. & BEDRIKOV, B. O líquido cefaloraquidiano na moléstia de Weil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.*, São Paulo, 12: 145-161, 1952.
7. CACHIONE, R.A. Leptospirosis y técnicas de laboratorio. *Rev. Invest. Ganad.*, Buenos Aires, 14:105-124, 1962.
8. CACHIONE, R.A. Enfoques de los estudios de la leptospirosis

- humana y animal en América Latina. *Rev. Asoc. Argent. Microbiol.*, Buenos Aires, 5:36-53, 1973.
9. CALDAS, E.M.; COSTA, E.; SAMPAIO, M.B. Leptospirose na cidade de Salvador-Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop.*, São Paulo, São Paulo, 20(3):164-176, 1978.
 10. CALERO, C.M.; REINARD, K.R.; OWEN, C.R. Leptospirosis of in the Isthmus of Panamá. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, Lawrence, 6:1054-60, 1957.
 11. CARDOZE, N.; TEMPONE, C. GEOGRAFIA REGIONAL DE PANAMÁ. Universidad de Panamá (Facultad de Filosofía, Letras e Educación). Escuela de Geografía. 320 a., 1980, 97 pg.
 12. CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. Ramos Mejia. Procedimientos para estudios de prevalencia por muestreo. Buenos Aires, Ramos Mejia, 1979. 35p. (Nota técnica, 18 Rev. 1)
 13. CLARK, L.G.; DIAZ, V.V.M.; SULZER, C.R.; MARSHAK, R.R.; HOLLISTER, C.J. Leptospirosis in Nicaraguá: preliminary report on the first year of study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, Lawrence, 15(5):735-742, 1966.
 14. CRUICKSHANK, R. *Microbiologia Médica*. 2a. ed. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian. 1968, pgs. 375-383.
 15. DIRECION NACIONAL DE FOMENTO LECHERO. Población bovina lechera distribuida por província. Comunicación y circulación interna. Ministério de Desarrollo Agropecuario., Panamá, 1983.
 16. ENRIETT, M.A. *Contribuição ao conhecimento da incidência de leptospirose em murídeos, caninos e suínos no Paraná*. Curitiba, Escola Superior de Agricultura e Veterinária do Paraná, 1949 p. (Tese apresentada para concurso à cátedra).
 17. GARCIA, C.C. Leptospirosis animal em Caldas. *Vet. Zootec.* Colombia, 7(11):45-69, 1966.

18. GIORGI, W.; TERUYA, J.A.; SILVA, A.S.; GENOVEZ, M.E. Leptospirose: resultados das soroaglutinações realizadas no Instituto Biológico de São Paulo durante os anos de 1974-80. *Biol. São Paulo*, São Paulo, 47(11):299-309, 1981.
19. GORDON, L.M. *Leptospira interrogans* serotype hardjo outbreak in Victorian Dairy Herd and associated infection in man. *Aust. Vet. J.*, Bruinswik, 53(5):227-229, 1977.
20. HIDALGO, J.L. & MEJIA, D.E. Leptospirosis en Iquitos, Departamento de Loreto-Perú. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.* 90(2):152, 1981.
21. HIGGINS, R.J.; HARBOURNE, J.F.; LITTLE, T.W.A.; ESTIVENS, A.E. Mastitis and abortion in dairy cattle associated with leptospira of the serotype hardjo. *Vet. Rec.*, London, (13):307-310, 1980.
22. INADA; IDO; HOCHI; KANEKO; HITO & MATSUZAKI apud CACHIONE, R.A. Leptospirosis y técnicas de laboratorio. *Rev. Asoc. Argent. Microbiol.*, Buenos Aires, 5:36-53, 1913.
23. LANDOUZY (1883) apud STOKARD, J. L. & WOODWARD, T. E. Leptospirosis: infections in man. *Vet. Med.*, Prague, 50: 548-552, 1957.
24. LARREY (1880) apud ENRIETTI, M.A. *Contribuição ao conhecimento da incidência de Leptospirose em murideos, caninos e suínos no Paraná*. Curitiba, Escola Superior de Agricultura e Veterinária do Paraná, 1949 (Tese apresentada para concurso à catedra).
25. LARA, L.L. Estudio serológico de leptospirosis en bovinos y cerdos de México. *Zoonosis*. Buenos Aires, 20(3-4):78-82, 1978.
26. LIMPIAS, V.E. & SHERMAN, J.M. Encuesta serológica de la leptospirosis en Santa Cruz de La Sierra, Bolivia. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.* Washington, 75(1):139-145, 1973.
27. MICHIN, N.A. & AZINOV, S.A. Spirochaetal jaundice of cattle

- in Nort Caucasus. *Sogevet. Vet.*, 10:23-27, 1935.
28. MOREIRA, D. Métodos estatísticos para Administradores e Economistas. São Paulo, Edições Loyola, 1975, 378p.
 29. MURNANE, T.; ALEXANDER, A.; MURPHY, L.; EVANS, L.; MEDINA, G. The occurrence of leptospiral antibodies in cattle in Panamá. *Zoonos. Res.*, New-York, 2(2):83-90, 1963.
 30. MYERS, D.M.; CAPARO, A.C.; MORENO, J.P. Aislamiento del sorotipo y otras leptospirosas de armadillos de Argentina. *Bol. Ofic. Sanit. Panam*, Washington, 83(7):56-65, 1975.
 31. NOGUCHI & KLINGUER (1916) apud CACHIONE, R.A. Leptospirosis y técnicas de laboratorio. *Rev. Invest. Ganad.*, Buenos Aires, 14:105-124, 1962.
 32. RADO, R. El método de destoeper en la investigación serológica de la leptospirosis bovina (Tesis). *Fac. Med. Vet. Univ. Mayor San-Marcos*, 1959.
 33. ROBERTSON, A.; BOULANGER, P.; MITCHELL, D. Isolation and identification of leptospira of the hebdomadis serogroup (*L. hardjo*) from cattle in Canadá. *Can. J. Comp. Med.*, Ottawa, 28:8-13, 1964.
 34. RYU, E. Rapid microscopic agglutination test for leptospira without non-specific reaction. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, Paris, 73(1):49-58, 1970.
 35. SERGENT, E.; L'HERRITIER, A. Fiver billieuse hemoglobinurique du boeuf d'Alegerie, maladie des piroplasmoses. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, Paris, 12:108-120, 1919.
 36. SILVA, A.R.M.B.; QUADRA, A.A.F.; QUADRA, J.A.F.; CORDEIRO, H.A. Aspectos epidemiológicos das leptospirosis humanas no grande Rio-Brasil. *Bol. Ofic. Sanit. Panam*, Washington, 72(2):122-133, 1974.
 37. SPIEGUEL, M.R. *Estatística*. Rio de Janeiro, Livro Técnico. 1977, 580p.

38. STALMAN, N.D. & CALLAN, D.P. Isolation of leptospira hardjo cows with mastitis. *Aust. Vet. J.* Brunswick, 46:537-539, 1972.
39. SULLIVAN, N.D. Leptospirosis in animals and man. *Aust. Vet. J.*, 50(5):216-223, 1974.
40. SULLIVAN, N.D. & SATALLMAN, N.D. The isolation of strain of leptospira, serotype hardjo from cattle in Queensland. *Aust. Vet. J.*, Brunswick, 45:281-283, 1970.
41. STOKARD, J.L. & WOODWARD, T.E. Leptospirosis: infections in man. *Vet. Med.*, Prague, 50:548-552, 1957.
42. SYFRES, B. La leptospirosis como problema de salud humana y animal en América Latina y Area del Caribe. In: *Reunión Interamericana sobre el Control de la Fiebre Aftosa y otras Zoonosis*. 8, Guratemala, 1975. Washington, O.S.P., 1976, p.125-141 (Publicación Científica nº 316).
43. TERSKIH. V.I. The etiology of infections icterus among the cattle. *J. Microb.*, Moscou, 8:66-68, 1940 apud BOHL & FERGUSON. *Bull. Hyg.*, Ottawa, 16:335-341, 1941.
44. WEIL, A. Veber eine eigenthumbche mit mits tumor, icterus und nephrites en inhergehend, acute inflections. *Kran Kheit Dtsch. Arch. Klin. Med.*, Munich, 30:209, 1886.
45. W.H.O. STUDY GROUP ON LEPTOSPIROSIS. Classification of leptospire and recent advance in leptospirosis. *Bull. W.H.O.*, Switzerland, 32:881-891, 1965.
46. WOLFF, J.W.; HEIRMAN, A.L.; BOLHANDER, H.J. A survay of the ocurrence of leptospirosis in dairy herd in the Republic of Panamá. *Trop. Geogr. Med.*, Amsterdam, 12: 82-90, 1960.
47. YAGER, R.H. Epidemiology of leptospirosis. *Bull. Acad. Med.*, New York, 29(8):650-651, 1953.