

Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira

Epidemiologic study of bovine and human leptospirosis in eastern Brazilian Amazon

Valéria Stacchini Ferreira Homem^{1*}, Marcos Bryan Heinemann¹, Zenaide Maria Moraes¹,
Silvio Arruda Vasconcelos¹, Fernando Ferreira¹ e José Soares Ferreira Neto¹

Resumo Realizou-se o estudo da soroprevalência da leptospirose em bovinos e humanos especificamente em propriedades familiares na região de fronteira agrícola da rodovia Transamazônica, na Amazônia Oriental. A prevalência da leptospirose bovina foi 97% [90,9 – 99,5%] de propriedades com pelo menos um animal positivo na soroaglutinação microscópica para o diagnóstico da leptospirose. Em 61,2% dos rebanhos o sorotipo hardjo foi apontado como o mais provável, em 9% deles o sorotipo bratislava e em 4,5% o shermani. A prevalência sorológica da leptospirose humana foi 32,8% [23,4 – 43,5%] de núcleos familiares com pelo menos um indivíduo positivo na soroaglutinação microscópica para o diagnóstico da leptospirose. Em 9% dos núcleos familiares o sorotipo bratislava foi apontado como o mais provável, em 6% deles o sorotipo hardjo e em 4,5% o grippotyphosa. Foi discutido o impacto desses achados sobre a produção animal e saúde pública na região e feitas sugestões para minorar o problema.

Palavras-chaves: Bovino. Humano. Leptospirose. Rodovia Transamazônica.

Abstract The seroprevalence study for leptospirosis in bovines and humans was realized in family holder farms along the Transamazon Highway. The prevalence of bovine leptospirosis was 97% [90.9 – 99.5%] of farms with at least one positive animal according to microscopic agglutination test for the leptospirosis diagnostic. In 61.2% of the tested herds, the serovar hardjo was the most common, followed by the serovar bratislava (9%) and the serovar shermani (4.5%). The serologic prevalence of leptospirosis in humans was 32.8% [23.4 – 43.5%] in family groups with at least one positive individual according to microscopic agglutination test for the leptospirosis diagnostic. In 9% of family groups, the serovar bratislava was the most common, while serovar hardjo and grippotyphosa accounted for 6% and 4.5%, respectively. The impact of these results is discussed in relation to animal production and public health. Suggestions have been proposed in order to improve the situation in the region.

Key-words: Bovine. Human. Leptospirosis. Transamazon Highway.

A Amazônia é caracterizada pela grande diversidade ambiental, resultado da combinação de fatores edafoclimáticos, ecológicos, e mais recentemente agrários, econômicos, políticos e socioculturais. A região amazônica vem apresentando a maior taxa de crescimento do rebanho bovino nos últimos 10 anos, em torno de 5 a 8% ao ano⁴⁷. A pecuária vem se desenvolvendo nos últimos 15 anos na região da rodovia Transamazônica (BR 230) entre os pequenos produtores, sendo Uruará um dos municípios localizados ao longo dessa rodovia (Figura 1). Em

função das características do sistema de produção familiar característico da região, o contato homem-animal é relativamente estreito e as famílias invariavelmente consomem os produtos de origem animal produzidos na propriedade.

Poucas são as informações a respeito da patologia animal nos sistemas de produção familiar na Amazônia⁵⁰, importantes tanto do ponto de vista de produção animal quanto do ponto de vista de saúde pública. Mesmo que determinadas afecções de origem infecciosa, parasitária ou viral, sejam bem conhecidas

1. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP.

Estudo financiado pela FAPESP/SP e FUNTEC/PA, 1998.

Endereço para correspondência: Dra. Valéria Stacchini Ferreira Homem. Depto. Med. Veterinária Preventiva e Saúde Animal/FMVZ/USP. Av. Prof. Dr. Orlando de Marques Paiva 87, Cidade Universitária, 05508-000 São Paulo, SP, Brasil.

Tel: 55 11 3818-7931/7653; Fax: 55 11 3818-7928.

e-mail: vhomem@usp.br

Recebido para publicação em 3/4/2000.



Figura 1 - localização geográfica do município de Uruará, PA. Em destaque cortado pela Rodovia Transamazônica (BR 230), São Paulo, 1999.

em outros ecossistemas, é bem provável que o ambiente amazônico contenha certas especificidades etiológicas e epidemiológicas de destaque. Imagina-se que as doenças tendem a adquirir características próprias no ambiente amazônico, especialmente em áreas de fronteira agrícola, e que o diagnóstico das mesmas seria elemento básico para o estabelecimento das alternativas de profilaxia e controle.

Em função do risco de transmissão de zoonoses nas propriedades familiares entre animais domésticos, animais silvestres e o homem e da ocorrência de aborto relatada por 33% dos pequenos produtores⁵⁰, este estudo teve por objetivo estimar a prevalência sorológica da leptospirose bovina e humana, por propriedade rural do tipo familiar, no município de Uruará, PA.

MATERIAL E MÉTODOS

Cálculo da amostra. O cálculo foi feito utilizando-se os seguintes parâmetros: $N = 4200$ (número de propriedades do tipo familiar existentes em Uruará, PA); prevalência estimada = 0,50; erro = 0,10; nível de confiança = 0,90. Obteve-se um $n_{amostral}$ de 67. A seguir, procedeu-se o sorteio probabilístico aleatório de 67 propriedades familiares, utilizando-se o programa SPSS versão 9.0 (SPSS for Windows™, SPSS Inc, IL). Como a amostragem foi delineada para a obtenção dos valores de prevalência da leptospirose por propriedade, exigiu, portanto, a coleta de material de todos os bovinos existentes em cada um dos 67 rebanhos selecionados e de amostras de sangue de cada integrante dos 67 núcleos familiares. O critério de positividade da propriedade, tanto para bovinos quanto para humanos, foi o encontro de pelo menos um indivíduo positivo ao teste diagnóstico utilizado. Nas propriedades foi aplicado um questionário contendo questões sobre aspectos gerais e perfil da propriedade, do produtor e do rebanho, manejo zootécnico e sanitário do rebanho, hábitos alimentares da família e questões relacionadas à leptospirose. A localização geográfica de cada propriedade visitada foi obtida através de medida tomada com GPS (*Global Positioning System*).

Colheita e processamento das amostras. Bovinos. De cada animal foi colhida uma amostra de 10ml de sangue com seringa do tipo *vacuumtainer*. Empregou-se a soroglutinação microscópica¹³, empregando-se

uma coleção de antígenos composta por 24 sorotipos *australis*; *bratislava*; *autumnalis*; *butembo*; *castellonis*; *batavie*; *canicola*; *whitcombi*; *cynopteri*; *grippotyphosa*; *hebdomadis*; *copenhageni*; *icterohaemorrhagiae IV*; *javanica*; *panama*; *pomona*; *pyrogenes*; *hardjo*; *wolffii*; *shermani*; *tarassovi*; *andamana*; *patoc* e *sentot*. Os resultados do diagnóstico sorológico da leptospirose foram analisados de acordo com o critério de verificação do sorotipo dito mais provável para cada rebanho bovino ou núcleo familiar, em função dos resultados das reações sorológicas obtidos no laboratório de diagnóstico⁴⁹.

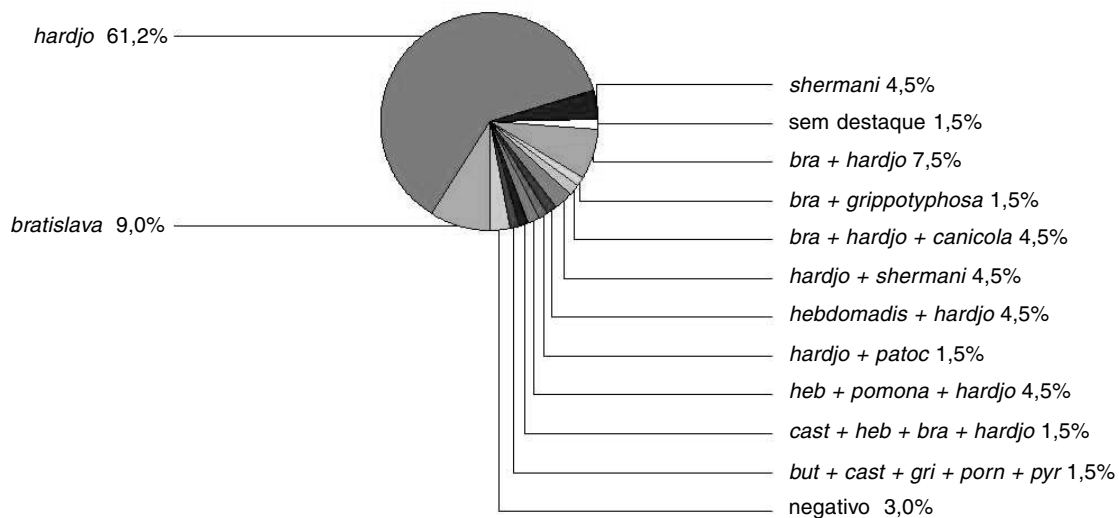
Humanos. De cada um dos integrantes das 67 propriedades visitadas, foi colhida uma amostra de 10 ml de sangue. O procedimento foi o mesmo que o descrito para os bovinos.

Análise dos resultados. As informações referentes a cada propriedade familiar e os resultados laboratoriais foram registrados em um banco de dados elaborado no programa Epi Info versão 6.02. A distribuição espacial das doenças foi feita cruzando-se os dados obtidos nas provas laboratoriais com os valores de latitude e longitude registrados pelo GPS. Para a confecção dos mapas foram utilizados os CD-Rom do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) Malha Municipal do Brasil - Situação em 1997 e Brasil Geográfico. As imagens foram tratadas através do programa Arc View versão 3.1.

RESULTADOS

A prevalência sorológica da leptospirose bovina por propriedades foi de 97% [90,9-99,5%] quando consideradas reações para qualquer dos sorotipos empregados como antígenos (Figura 2). Reações contra os sorotipos *hardjo* e *bratislava* foram as mais freqüentemente encontradas como predominantes nas propriedades (61,2% [50,4-71,2%] e 9% [4,0-16,9%], respectivamente). As Figuras 3 e 4 mostram as localizações das propriedades onde as reações a esses sorotipos predominaram.

A prevalência sorológica da leptospirose humana por núcleos familiares foi de 32,8% [23,4-43,5%] quando consideradas reações para qualquer dos sorotipos empregados como antígenos (Figura 5). Reações contra os sorotipos *bratislava*, *hardjo* e *grippityphosa* foram as mais freqüentemente encontradas como predominantes nestas famílias (9% - [4,0-16,9%]; 6% [2,0-13,1%] e 4,5% [1,2-11,2%], respectivamente). As Figuras 6 e 7 mostram as localizações das propriedades onde as reações a esses sorotipos predominaram.



but= butembo, cast= castellonis, gri= grippityphosa, pom= pomona, pyr= pyrogenes, heb= hebdomadis, bra= bratislava

Figura 2 - Distribuição dos resultados da soroaglutinação microscópica para diagnóstico da leptospirose em bovinos de Uruará, PA, em 1998, segundo as propriedades, São Paulo, 1999.

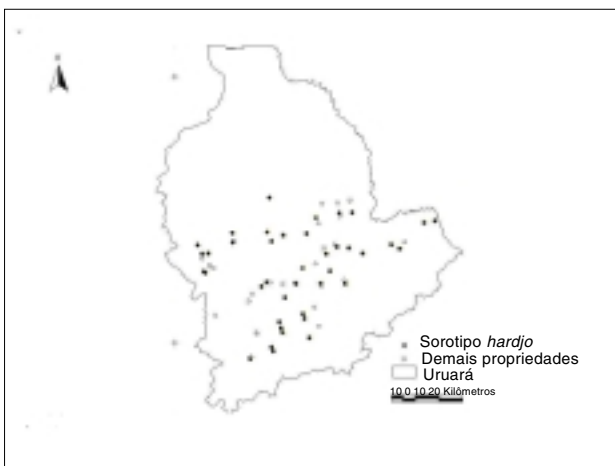


Figura 3 - Localização geográfica das propriedades familiares do município de Uruará com predomínio de bovinos reatores ao sorotipo *hardjo*, em 1998, São Paulo, 1999.

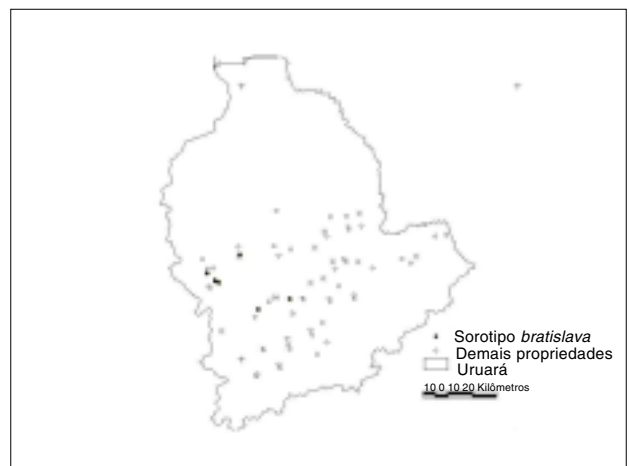


Figura 4 - Localização geográfica das propriedades familiares do município de Uruará com predomínio de bovinos reatores ao sorotipo *bratislava*, em 1998, São Paulo, 1999.

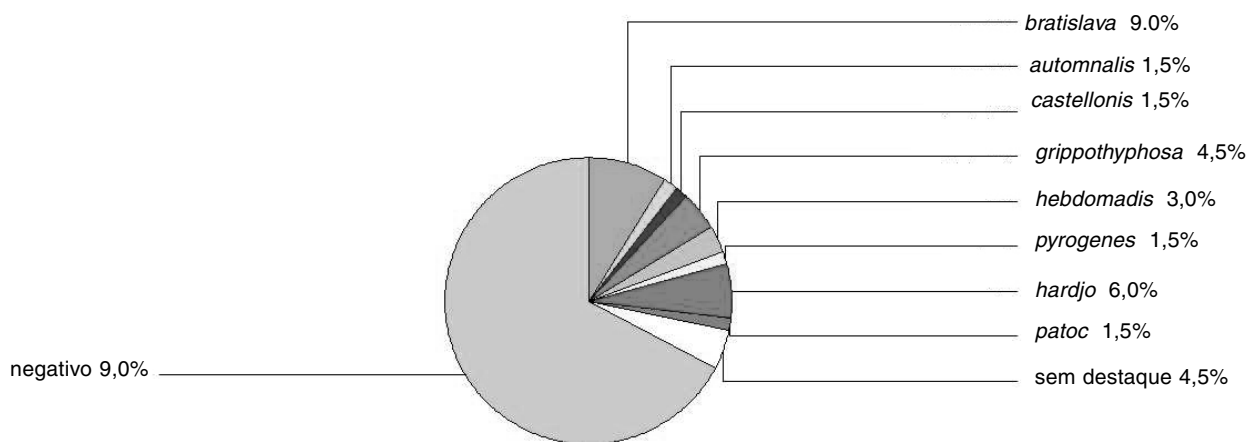


Figura 5 - Distribuição dos resultados da soroaglutinação microscópica para diagnóstico da leptospirose em humanos de Uruará, PA, segundo os núcleos familiares rurais, São Paulo, 1999.

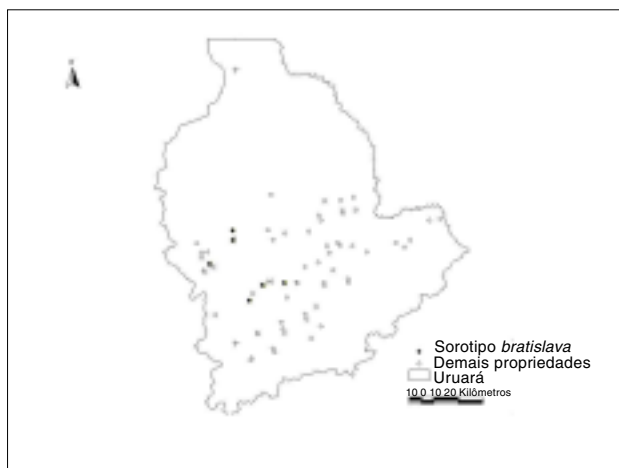


Figura 6 - Localização geográfica das propriedades familiares do município de Uruará com predominio de indivíduos reatores ao sorotipo bratislava, em 1998, São Paulo, 1999.

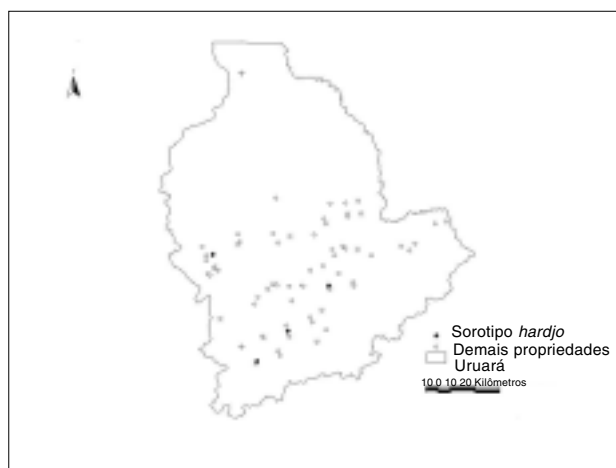


Figura 7 - Localização geográfica das propriedades familiares do município de Uruará com predominio de indivíduos reatores ao sorotipo bratislava, em 1998, São Paulo, 1999.

DISCUSSÃO

São referidos casos de aborto e problemas de fertilidade das vacas respectivamente em 65,7% e 71,6% dos rebanhos, o que indica a capacidade dos criadores em reconhecer sintomas relacionados à esfera reprodutiva e a provável existência de doenças com impacto negativo sobre o desempenho reprodutivo. Foi verificado que 41,8% dos produtores já ouviram falar de leptospirose. Relativamente aos sintomas dessa doença no bovino, entretanto, os criadores disseram saber reconhecê-los caso algum indivíduo se apresente doente no rebanho em 1,5% dos casos. Só um pequeno grupo de 13,4% dos entrevistados relataram saber dos riscos de transmissão da leptospirose do animal para o homem. Nenhum criador entrevistado chegou a vacinar

o seu rebanho contra a leptospirose. Por outro lado, constatou-se que só um dos produtores (1,5%) sabia da existência de vacinas contra a leptospirose bovina. Esses dados indicam que os produtores de Uruará são certamente carentes de informações acerca dessa doença. Qualquer programa sanitário a ser desenvolvido no município terá que necessariamente contemplar um trabalho continuado de educação em saúde, considerando o baixo nível de instrução da população alvo.

A leptospirose bovina é endêmica no Brasil e muito freqüente no rebanho bovino^{17,29}. Os resultados obtidos no presente estudo são inéditos, pois representa o primeiro estudo da leptospirose no município de Uruará. A prevalência dessa doença nos rebanhos bovinos do

município foi estimada em 97%. Praticamente, todos os rebanhos pesquisados possuíam ao menos um integrante soropositivo, indicando que já tiveram contato com a *Leptospira sp.* Importante lembrar que a colheita das amostras sanguíneas foi feita no segundo semestre do ano, correspondente ao período seco do ano, representando um alerta em relação à potencialidade de transmissão do agente na região, uma vez que condições mais favoráveis para a transmissão são alcançadas nos períodos mais úmidos do ano^{11 26}. Isso também significa que a propalada acidez das águas da região Amazônica¹⁹ não é um fator limitador importante da difusão da doença na região.

Nos bovinos, a leptospirose provoca abortamentos, infertilidade, anorexia, pirexia, apatia, icterícia, anemia hemolítica, hemoglobínúria, mastite e até morte, na dependência do sorotipo envolvido e da idade do indivíduo acometido^{23 28}. A sobrevivência do agente no ambiente é favorecida sobretudo pela presença de umidade e pH neutro^{22 37}. O leite e a carne não têm importância como vias de transmissão do agente ao homem. Portanto, enquanto se mantiverem propícias as condições externas, as leptospirosas permanecerão viáveis para infectarem novos hospedeiros, seja animal silvestre, doméstico, ou o homem. Sendo assim, a prevalência da leptospirose depende de um indivíduo portador que é o disseminador de leptospirosas pela urina, da contaminação do ambiente com leptospirosas vivas, da sobrevivência do agente nesse ambiente e do contato dos indivíduos suscetíveis com o agente³¹. A Amazônia apresenta uma estrutura ecológica favorável à disseminação e à endemicidade das leptospirosas por suas condições de temperatura e umidade, próprias da zona equatorial, associadas à baixa qualidade dos hábitos de higiene da população e à presença de abundante fauna silvestre, potenciais reservatórios de leptospirosas. Por outro lado, pelo fato das águas da Amazônia serem ácidas, o que não é tolerado pelas leptospirosas, também existe uma pressão contrária à disseminação da doença¹⁹.

Numerosos animais são hospedeiros da leptospirose, sendo que cada sorotipo tem um ou mais hospedeiros, com graus diferentes de adaptação. Em decorrência dessa epidemiologia bastante dinâmica e complexa, envolvendo diferentes sorotipos, diferentes espécies de suscetíveis e ainda a presença de fatores ambientais predisponentes, a doença deve ser estudada obedecendo as diferenças regionais quanto a esses fatores¹².

Os resultados da sorologia revelaram que os sorotipos *hardjo*, *bratislava*, a associação desses dois e o sorotipo *shermani* foram os predominantes nos rebanhos bovinos do município.

Títulos positivos para o sorotipo *hardjo* já foram encontrados em bovinos de diversos países, e relacionados com a leptospirose bovina clínica⁴⁴. Este sorotipo tem sido o causador mais freqüente de

infecções entre os rebanhos de bovinos do mundo todo^{11 25}, inclusive no Brasil^{18 31 49}. O seu isolamento já foi feito em bovinos brasileiros²⁹. Na década de 80 foram analisados soros de bovinos do Estado do Pará, tendo sido encontrados títulos para *hardjo* em primeiro lugar, seguido pela *wolffi*, *pomona*, *bataviae*, *grippotyphosa*, *tarassovi* e *sejroe*³⁰.

O sorotipo *bratislava* já foi relatado em diversas espécies, como causador de leptospirose clínica. Já foram verificados títulos em bovinos¹⁸, e vem sendo amplamente descrito em outras espécies, como eqüinos^{1 2 52}, suínos⁴², caninos⁴, guaxinins²⁴, bisões⁴⁵, ratos silvestres⁵¹ e pequenos mamíferos silvestres³⁵. Outros autores⁴¹, examinando soros de bovinos do sul do país, com histórico de repetição de cio, encontraram como sorotipo mais provável o *bratislava*, seguido pelo *hardjo*, *wolffi* e *tarassovi*.

Em relação ao sorotipo *shermani*, foi pela primeira vez isolado do roedor *Proechimys semispinosus* no Panamá em 1982. Têm-se relatos de títulos positivos em suínos, roedores³², caprinos, ovelhas e cães⁵. Foram detectadas²¹ reações sorológicas em roedores capturados no Estado de Mato Grosso. Não há relato associando esse sorotipo com sintomas clínicos em bovinos.

A sorologia realizada nos humanos revelou uma prevalência de 32,8% de núcleos familiares com pelo menos um membro soropositivo, com uma freqüência do sorotipo *bratislava* como o mais provável, seguido pelo *hardjo* e *grippotyphosa*. Tendo sido os sorotipos *hardjo* e *bratislava* também os mais freqüentes nos bovinos, pode-se sugerir que talvez os bovinos tenham alguma importância na transmissão desses sorotipos para a população humana.

O sorotipo *bratislava* já foi relacionado com casos clínicos humanos^{43 46} e encontrado em várias investigações sorológicas^{16 35}, além de já ter sido implicado em casos de infecções ocupacionais^{6 22}. O sorotipo *hardjo* foi pela primeira vez isolado em humano por Wolff em 1938, de um paciente que apresentava sinais de doença. Demonstrou-se⁵³ a soroprevalência do sorotipo *hardjo* em funcionários de matadouro e em empregados de fazendas, sugerindo que o risco de exposição está relacionado a caráter ocupacional, como consequência do contato direto e indireto com os bovinos infectados.

O sorotipo *grippotyphosa* já foi isolado em humano no Brasil⁸ e pode determinar a leptospirose clínica⁴³. No Brasil, tal sorotipo já foi isolado dos silvestres *Dasyptes novemcinctus*²⁰, *Nectomys squamipes*^{39 40}, *Didelphis marsupialis*, *Oryzomys elurus*, *Thaptomes nigrita*, *Oryzomys ratticeps*, *Akodon arviculoides* e *Oxytcterus quaestor*³⁹. Há relatos do encontro de reações sorológicas positivas em diversos hospedeiros silvestres^{20 35 40}, inclusive roedores e marsupiais da Transamazônica³³, cães^{3 4}, suínos²⁷ e eqüinos^{2 52}.

Existem diversas descrições do encontro de reações sorológicas também no homem^{9 22 43 48}, com relato de indivíduos soropositivos na região da Amazônia^{8 38} e mesmo da Transamazônica³³. Sorologia positiva para o sorotipo *grippytyphosa* é freqüentemente descrita em humanos de localidades rurais da Amazônia³³, e é sempre relacionada ao contato com os reservatórios silvestres da região. Esses fatos sugerem que o(s) reservatório(s) desse sorotipo para a população rural de Uruará provavelmente esteja(m) no ambiente silvestre.

Houve também casos isolados de reações sorológicas nos humanos para os sorotipos *autumnalis*, *castellonis*, *hebdomadis*, *pyrogenes* e *patoc*.

Alguns estudos brasileiros também descreveram o encontro de títulos em humanos para o sorotipo *autumnalis*^{7 9 10}, em habitantes da região da Transamazônica, no Pará³⁴, e do Estado do Amazonas³⁸. O sorotipo *castellonis* já foi isolado de um paciente³⁶, e existem relatos de evidências sorológicas em humanos do sul do país^{10 40}, inclusive de integrantes de tribos indígenas do Pará¹⁹ e habitantes da área de influência da Transamazônica³⁴. Já foram também detectados títulos positivos em animais silvestres²⁰ mesmo da Transamazônica³⁴. O sorotipo *hebdomadis* foi pela primeira vez isolado do *Dasyus novemcintus* no Brasil²⁰ e reações sorológicas para ele já foram observadas em bovinos³¹, e em humanos, tanto do Estado de São Paulo¹⁰ quanto da região Norte do Brasil⁸. O sorotipo *pyrogenes* já foi isolado do silvestre *Nectomys squamipes* no Brasil⁴⁰, com resultados sorológicos positivos em roedores, bovinos³¹ e humanos^{9 48} também da região Norte do Brasil^{8 34 38}. O sorotipo *patoc* já foi verificado em inquéritos sorológicos conduzidos na população humana do Rio de Janeiro⁹, de São Paulo¹⁰ e do Piauí²². É bem provável que animais silvestres sejam reservatórios dos sorotipos *autumnalis*, *castellonis*, *hebdomadis*, *pyrogenes* e *patoc* para a população rural de Uruará.

Foi interessante a total ausência de reatores para o sorotipo *icterohaemorrhagiae*, fato também verificado na área de influência da Transamazônica e em outras áreas rurais dos Estados do Pará e Amazonas^{8 19 38}. Interessante ressaltar que, contrariamente ao que já se tinha observado em estudos anteriores que utilizaram soros humanos provenientes de habitantes de localidades do interior da Amazônia e da Transamazônica^{7 19 21 33 34}, no presente trabalho não foram verificadas reações sorológicas para o sorotipo *panama*.

É grande a importância dos animais silvestres na manutenção das leptospiroses em seu habitat natural. As trocas que ocorrem na ecologia humana e animal quando da colonização de determinada área podem favorecer a transmissão dessa zoonose ao homem, pois propiciam um contato deste e dos animais domésticos com os focos originais de infecção. O desmatamento e a ocupação pelo homem de novas áreas tendem a originar um ecossistema constituído de diferentes biocenoses que podem influenciar a difusão das zoonoses²¹. Nas regiões de colonização recente, o contato dos humanos com animais silvestres é mais comum e freqüente do que se pensa, face ao hábito das caçadas, da adoção de animais silvestres como de estimação e a presença freqüente do *D. marsupialis* nos arredores das casas próximas a áreas de mata na Amazônia²⁰.

A epidemiologia da leptospirose no município de Uruará poderia ser melhor entendida através de estudos subseqüentes que utilizassem a sorologia como triagem e métodos diretos para a confirmação dos sorotipos envolvidos, aplicados à população de animais domésticos, silvestres e sinantrópicos e também à humana. A colaboração entre os serviços humanos e veterinários de saúde deve ser estreitada para que os casos humanos de leptospirose sejam adequadamente diagnosticados e tratados.

AGRADECIMENTOS

Aos funcionários da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Amazônia Oriental pelo trabalho a campo e todo apoio estrutural; aos produtores, à equipe da Secretaria Municipal de Saúde de Uruará e à toda equipe do Departamento Medicina Veterinária e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barwick RS, Mohammed HO, McDonough PL, White ME. Risk factors associated with the likelihood of leptospiral seropositivity in horses in the State of New York. *American Journal of Veterinary Research* 58:1097-1103, 1997.
2. Bernard WV, Bolin C, Riddle T, Durando M, Smith BJ, Tramontin RR. Leptospiral abortion and leptospiuria in horses from the same farm. *Journal of American Veterinary Medicine Association* 202:1285-1286, 1997.
3. Brem S, Kopp H, Meyer P. Leptospira antibody detection in dog serum in the years 1985 to 1988. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 103:6-8, 1990.
4. Brown CA, Roberts AW, Miller MA, Bolin CA, Arecki-Black J, Greene CE, Miller-Liebl D. *Leptospira interrogans* serovar grippytyphosa infection in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association* 209:1265-1267, 1999.
5. Ciceroni L, Bartoloni A, Ciarrochi S, Pinto A, Guglielmetti P, Valdez Vasquez C, Gamboa, Barahona H, Roseli M, Parasidi E. Serological survey of leptospiral infections in sheep, goats and dogs in Cordillera Province, Bolivia. *New Microbiology* 20:77-78, 1997.
6. Ciceroni L, Pinto A, Benedetti E, Pizzocaro P, Lupidi R, Cinco M, Gelosa L, Grillo R, Rondinella V, Marcuccio L. Human leptospirosis in Italy, 1986-1993. *European Journal of Epidemiology* 11:707-710, 1995.

7. Correa MOA. Leptospiroses em São Paulo. Revista do Instituto Adolfo Lutz 29/30:29-37, 1969/1970.
8. Correa MOA. Human leptospirosis in Brazil. International Journal of Zoonoses 2:1-9, 1975.
9. Cruz MLS, Andrade J, Pereira MM. Leptospirose em crianças no Rio de Janeiro. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 27:5-9, 1994.
10. Daud E, Simões MLN. Leptospirose. Boletim Informativo de Controle de Zoonoses Urbanas 9:105-117, 1986.
11. Elder JK, McKeon GM, Duncalfe F, Ward WH, Leutton RD. Epidemiological studies on the ecology of *Leptospira interrogans* serovars pomona and hardjo in Queensland. Preventive Veterinary Medicine 3:501-521, 1986.
12. Ellis WA. Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. Preventive Veterinary Medicine 2:411-421, 1984.
13. Faine S. Guidelines for the control of leptospirosis. 2nd edition World Health Organization, Geneva, 1982.
14. Ferreira LA, Tourrand JF, Veiga JB, Quanz D, Vieira LC, Simão-Neto M. La production laitière en Amazonie brésilienne. In: Cirad (ed) Elevage et Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, Montpellier p. 77-85, 1997.
15. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios 1996. IBGE 1998.
16. Levesque B, De Serres G, Higgins R, D'Halewyn MA, Atsob H, Grondin J, Major M, Garvie M, Duval B. Seroepidemiologic study of three zoonoses (leptospirosis, Q fever and tularemia) among trappers in Quebec, Canada. Clinical Diagnostic Laboratory Immunology 2:496-498, 1995.
17. Lilienbaum W, Santos MRC, Barbosa AAV. Leptospirose em reprodução animal: II. Bovinos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Revista Brasileira de Ciência Veterinária 2:1-6, 1995.
18. Lilienbaum W, Santos MRC. Effect of management systems on the prevalence of bovine leptospirosis. Veterinary Record 138:570-571, 1996.
19. Lins ZC. Doenças bacterianas. In: Veronesi R (ed) Doenças Infecciosas e Parasitárias, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.1146-1148, 1982.
20. Lins ZC, Lopes ML. Isolation of *Leptospira* from wild forest animals in Amazonian Brazil. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 78:124-126, 1984.
21. Lins ZC, Santa Rosa CA. Investigações epidemiológicas preliminares sobre leptospiroses em Humboldt, Aripuanã, Mato Grosso. Acta Amazonica 6:49-53, 1976.
22. Macedo NA. Aglutininas anti-leptospira em soros humanos do Estado do Piauí, com particular referência aos aspectos ocupacionais, 1994 a 1996. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 1997.
23. Michna, 1970 apud Milner AR, Wilks C, Calvert K, p. 327, 1980.
24. Mikaelian I, Higgins R, Lequent M, Major M, Lefebvre F, Martineau D. Leptospirosis in raccoons in Quebec: 2 case reports and seroprevalence in a recreational area. Canadian Veterinary Journal 38:440-442, 1997.
25. Miller DA, Wilson MA, Beran GW. Relationships between prevalence of *Leptospira interrogans* in cattle, and regional, climatic, and seasonal factors. American Journal of Veterinary Research 52:1766-1768, 1991.
26. Miller DA, Wilson MA, Beran GW. Survey to estimate prevalence of *Leptospira interrogans* infection in mature cattle in the United States. American Journal of Veterinary Research 52:1761-1765, 1991.
27. Miller DA, Wilson MA, Owen WJ, Beran GW. Porcine leptospirosis in Iowa. Journal of Veterinary Investigation 2:171-175, 1990.
28. Milner AR, Wilks C, Calvert K. The prevalence of antibodies to members of *Leptospira interrogans* in cattle. Australian Veterinarian Journal 56:327-330, 1980.
29. Moreira EC. Avaliação de métodos para erradicação de leptospiroses em bovinos leiteiros. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1994.
30. Moreira TMS. Prevalência de aglutininas antileptospíricas em soros sanguíneos dos Estados do Pará e do Amazonas - Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1982.
31. Niang M, Will LA, Kane M. Seroprevalence of leptospiral antibodies among dairy cattle kept in communal corrals in periurban areas of Bamako, Mali, West Africa. Preventive Veterinary Medicine 18:259-265, 1994.
32. Oca OZM, Sanchez-Mejorada HM, Guerrero AV. La rata en la epizootiología de la leptospirosis en granjas porcinas. Técnica Pecuária em México 52:29-44, 1986.
33. Pinheiro FP, Bensabath G, Andrade AHP, Lins ZC, Fraiha H, Tang AT, Lainson R, Shaw JJ, Azevedo MC. Infectious diseases along Brazil's Trans-Amazon highway: surveillance and research. Bulletin of the Pan American Health Organization 8:111-122, 1974.
34. Pinheiro FP, Bensabath G, Travassos da Rosa APA. Public health hazards among workers along the Transamazonian highway. Journal of Occupational Medicine 19:490-497, 1977.
35. Prokopcakova H, Peterkova J, Pet'ko B, Stanko M, Cislakova L, Palinsky M. Occurrence of *Leptospira* serovars in old foci of leptospirosis. Epidemiology Mikrobiology Immunology 43:87-89, 1994.
36. Sakata EE, Yasuda PH, Romero EC, Silva MV, Lomar AV. Sorovares de *Leptospira interrogans* Isolados de casos de leptospirose humana em São Paulo, Brasil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 34:217-221, 1992.
37. Santa Rosa CA. Leptospirose em animais silvestres. Isolamento de um Novo Sorotipo, brasiliensis, no Sorogrupo bataviae. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 1970.
38. Santa Rosa CA, Lacaz CS, Machado PA, Yanaguita RM, Castrillón AL, Ferraroni JJ, Fonseca OJM. Leptospirose no Estado do Amazonas: inquérito sorológico. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 22:265-268, 1980.
39. Santa Rosa CA, Sulzer CR, Giorgi W, da Silva AS, Yanaguita RM, Lobao AO. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of a new serotype in the pyrogenes group. American Journal of Veterinary Research 36:1363-1365, 1975.
40. Santa Rosa CA, Sulzer CR, Yanaguita RM, Silva AS. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of serovars canicola, pyrogenes and grippotyphosa. International Journal of Zoonoses 7:40-43, 1980.

41. Santana AOB, Oba E, Langoni H, Uribe LFV. Aglutininas anti-leptospíricas em fêmeas bovinas repetidoras de cio. *Revista Brasileira de Reprodução Animal* 21:169-172, 1997.
42. Schonberg A, Hahn-Hey B, Kampe U, Schmidt K, Ellis WA. The isolation and identification of *Leptospira interrogans* serovar bratislava from a pig in Germany. *Zentralbl Veterinarmed* 39:362-368, 1992.
43. Sehgal SC, Murhekar MV, Sugunan AP. Outbreak of leptospirosis with pulmonary involvement in North Andaman. *Indian Journal of Medical Research* 102:9-12, 1995.
44. Sullivan, 1974 apud Milner AR, Wilks C, Calvert K, p. 327, 1980.
45. Taylor SK, Lane VM, Hunter DL, Eyre KG, Kaufman S, Frye S, Johnson MR. Serologic survey for infectious pathogens in free-ranging American bison. *Journal of Wildlife Diseases* 33:308-311, 1997.
46. Thompson L, Hassi M, Haenseler I, Award C. Weil's syndrome caused by *Leptospira interrogans* serogroup Australis serotype bratislava. *Revista Medica Chilena* 114:346-348, 1986.
47. Tourrand JF, Veiga JB, Ferreira LA, Ludovino RMR, Pocard-Chapuis R, Simão-Neto M. Cattle ranching expansion and land use change in the Brazilian eastern Amazon. *In: Conference on Patterns and Processes of Land Use and Forest Change in the Amazon*, Gainesville, FL, USA, p.77-80, 1999.
48. Vasconcelos LM, Ramos Vieira MN, Osório-Cisalpio E, Cota-Koury M. Survey of anti-*Leptospira* agglutinins in workers from the city of Londrina-Paraná, Brazil. *Revista Latinoamericana de Microbiologia* 35:153-157, 1993.
49. Vasconcellos SA, Barbarini Júnior O, Umehara O, Morais ZM, Cortez A, Pinheiro SR, Ferreira F, Fávero ACM, Ferreira Neto JS. Leptospirose bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Período de janeiro a abril de 1996. *Arquivos do Instituto Biológico* 64:7-15, 1997.
50. Veiga JB, Tourrand JF, Quanz D. A pecuária na fronteira agrícola da Amazônia. O caso do município de Uruará, PA, na região da Transamazônica [Documentos, 87], EMBRAPA-CPATU, Belém, 1996.
51. Webster JP, Ellis WA, MacDonald DW. Prevalence of *Leptospira* spp in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on UK farms. *Epidemiology and Infection* 114:195-201, 1995.
52. Williams DM, Smith BJ, Donahue JM, Poonacha KB. Serological and microbiological findings on 3 farms with equine leptospiral abortions. *Equine Veterinary Journal* 26:105-108, 1994.
53. Zamora J, Riedemann S, Montecinos MI, Cabezas X. Serological survey of human leptospirosis in a high-risk population in Chile. *Revista Medica Chilena* 118:247-252, 1990.