

SOROPOSITIVIDADE PARA LEPTOSPIROSE EM ALPACAS CRIADAS NO ALTIPLANO PERUANO. PUNO, PERU*. ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO COM O ÍNDICE PLUVIOMÉTRICO

**J.P. Herrera Carpio¹, S.A. Vasconcellos², Z.M. Morais², F. Ferreira²,
S.M. Sakamoto², J.S. Ferreira Neto², S.R. Pinheiro²**

¹Faculdade de Medicina Veterinária y Zootecnia Universidad Nacional del Altiplano Puno. Pasaje dos de Febrero, 164. Puno, Peru.

RESUMO

Alpacas (*Lama pacos*) criadas em Puno, Altiplano Peruano, América do Sul, foram submetidas ao exame de sorologia microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose frente a uma coleção de antígenos contendo 24 variantes sorológicas de leptospirosas (*australis*, *bratislava*, *autumnalis*, *butembo*, *castellonis*, *bataviae*, *canicola*, *whitcombi*, *cynopteri*, *grippotyphosa*, *hebdomadis*, *copenhageni*, *icterohaemorrhagiae*, *javanica*, *panama*, *pomona*, *pyrogenes*, *hardjo*, *wolffi*, *shermani*, *tarassovi*, *sentot*, *andamana* e *patoc*). No período de dezembro de 1993 a agosto de 1994, foram trabalhadas quatro propriedades: Huanacamaya, INIA, Carolina e La Raia, com duas colheitas de sangue: chuvas (dezembro 93/ janeiro 94); secas (julho/agosto de 1994). No período de dezembro de 94 a janeiro de 1996, foram realizadas três colheitas na propriedade de Huanacamaya. Do total de 810 amostras de soros examinadas houve 53 reações positivas (6,54%) frente a sete variantes sorológicas: *butembo*, *cynopteri*, *hebdomadis*, *icterohaemorrhagiae*, *shermani*, *patoc* e *pomona*. Destas a *pomona* foi a mais freqüente (79, 24%). Não houve diferença das proporções de sororeatores entre as fazendas Huanacamaya, INIA e La Raia, tanto para a colheita de dez93/jan94 (chuvas) quanto para a de jul94/ago94 (seca) ($p>0,05$). Para estas três últimas fazendas foi observada uma diminuição da proporção de soropositivos quando comparados os resultados da colheita de dez93/jan94 (chuvas) com os de jul94/ago94 (seca) (Huanacamaya: $p<0,001$; INIA: $p<0,001$ e La Raia: $p=0,02$).

PALAVRAS-CHAVE: Leptospirose, Alpacas, Peru- Puno, Sorologia.

ABSTRACT

SEROPOSITIVITY TO LEPTOSPIROSIS IN ALPACAS REARED IN FOUR BREEDING FARMS OF PUNO-PERU. ASSOCIATION WITH RAIN LEVELS. Alpacas (*Lama pacos*) reared in Puno, Peruvian Highlands, South America, had their sera examined in order to search for antileptospiral agglutinines (MAT) 24 serovars (*australis*, *bratislava*, *autumnalis*, *butembo*, *castellonis*, *bataviae*, *canicola*, *whitcombi*, *cynopteri*, *grippotyphosa*, *hebdomadis*, *copenhageni*, *icterohaemorrhagiae*, *javanica*, *panama*, *pomona*, *pyrogenes*, *hardjo*, *wolffi*, *shermani*, *tarassovi*, *sentot*, *andamana* and *patoc*). During the period from December 1993 to August 1994 the investigations were performed in four farms (Huanacamaya, INIA, Carolina and La Raia) and in each of them there were two blood collections, one in rainy season (December 1993/ January 1994) and the other in the dry one (July/ August 1994). In the following period (December 94/ January 1996) there were three other bleedings only on the Huanacamaya farm. Of 810 examined serum samples there were 53 positive reactions with seven different serovars (*butembo*, *cynopteri*, *hebdomadis*, *icterohaemorrhagiae*, *shermani*, *patoc* and *pomona*) The most frequent serovar was *pomona* (79.24%). In 1993/1994 the proportions of reactants were significantly lower in dry season than in the rainy one in three of four farms. The other three collections done in the Huanacamaya farm (December 1994 to January 1996) showed always lower results than in the first examination. During the whole experiment Alpacas did not present any clinical evidence of leptospirosis.

KEY WORDS: Leptospirosis, Alpacas, Peru-Puno, serology.

*Parte da tese de doutoramento. HERRERA CARPIO, J.P. Influência de fatores ambientais sobre a proporção de alpacas sororeadoras para a leptospirose em quatro centros de criação de Puno-Peru. São Paulo, 1997. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil (CNPq 840361/96-3).

² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

INTRODUÇÃO

Dentre os camelídeos sul americanos, as alpacas (*Lama pacos*) representam um contingente de 3,5 milhões de animais (NOVOA & FRANCO, 1970) dos quais cerca de 86% são explorados no Peru, como fontes de carne e lã (RAMIREZ, 1991).

RIVERA *et al.*, em 1984, analisaram 12 rebanhos de alpacas da região de Puno-Peru, encontrando como causas de mortes as doenças infecciosas (41,5%), os transtornos nutricionais (28,3%) e as doenças parasitárias (13,0%). Os indicadores da eficiência reprodutiva destes rebanhos apresentaram grande variação: fertilidade 45 a 60%; natalidade 42 a 80%.

FASSI-FEHRI, em 1987, relatou que dentre os problemas de saúde dos camelídeos sul americanos, 38% são doenças parasitárias, 34% doenças infecciosas, 13% de natureza tóxica e 15% com outras características.

OLAERTE, em 1988, referiu que dentre as principais causas responsáveis pela baixa produtividade das criações de alpacas do Altiplano Andino, consta o abortamento e as suas seqüelas (metrites, cistos foliculares, desvios de cérvix, aderências fibrosas da mucosa, hidrosalpinge e hiperplasia de endométrio) que usualmente ocasionam a infertilidade.

Na região de Puno, sudeste do Peru, as alpacas são criadas em áreas situadas entre a cordilheira dos Andes e o Altiplano, com características ecológicas de estepes, desertos, tundras e baixas temperaturas. No ano de 1981, a região de Puno possuía 1.207.000 alpacas, 276.900 lhamas, 4.276.500 ovinos, 473.430 bovinos, 105.900 suínos e 10.000 vicunhas (RIVERA *et al.*, 1984).

Como a leptospirose causa problemas reprodutivos em espécies animais de produção (FAINE, 1982; VALDÍVIA *et al.*, 1991) e ainda é pouco estudada em alpacas, o presente trabalho foi delineado para investigar a existência de animais sororeatores com as respectivas variantes sorológicas mais freqüentes, bem como de comparar suas proporções entre quatro centros de criação de alpacas em Puno, Peru. Além do que verificar a influência dos índices pluviométricos registrados durante os meses do ano.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais: foram examinadas alpacas fêmeas púberes com pelo menos dois anos de idade, das variedades Huacaya e Suri.

Propriedades:

a) Fazenda Huanacamaya: Distrito de Pizacoma, Província de Chucuito, cordilheira interandina, com 5.000 metros de altitude e clima frio. Os animais eram das variedades Huacaya e Suri criados a campo, em

pastos nativos em convívio com bovinos, lhamas, ovinos e suínos. Não havia fornecimento de suplementação mineral e as condições higiênico-sanitárias eram deficientes. Nesta propriedade foram colhidos 101 soros no período de dez.93/jan.94 (chuvas), 122 soros em jul.94/ago.94 (seca), 113 em dez.94/jan.95 (chuvas), 100 soros em jul.95/ago.95 (seca) e 69 soros em dez.95/jan.96 (chuvas).

b) Fazenda Carolina: Distrito de Puno, com 3.950 metros de altitude e clima frio. Os animais eram da variedade Huacaya, criados a campo em pastos nativos em convívio com lhamas, caprinos e bovinos. Não havia fornecimento de suplementação mineral. As condições higiênico-sanitárias eram boas. Nesta propriedade foram colhidos 18 soros no período de dez.93/jan.94 (chuvas) e 21 soros em jul.94/ago.94 (seca). Não houve colheita nos demais períodos: dez.94/jan.95 (chuvas), jul.95/ago.95 (seca) e dez.95/jan.96 (chuvas).

c) Fazenda Ministério da Agricultura (INIA): Distrito de Santa Lúcia, Província de Lampa, com 4.300 metros de altitude e clima frio. Os animais eram das variedades Huacaya e Suri, criados em regime semi-estabulado, com acesso a pastos cultivados, suplementação mineral e de ração concentrada, boas práticas de higiene e sanidade. Havia coabitação com bovinos, lhamas, ovinos e suínos. Nesta propriedade foram colhidos 38 soros no período de dez.93/jan.94 (chuvas) e 64 soros em jul.94/ago.94 (seca). Não houve colheita nos demais períodos: dez.94/jan.95 (chuvas), jul.95/ago.95 (seca) e dez.95/jan.96 (chuvas).

d) Fazenda do Centro Experimental de camelídeos Sul Americanos La Raya: Distrito de Santa Rosa, Província de Melgar, altitude de 4.200 a 5.500 metros e clima frio. Os animais eram das variedades Huacaya e Suri, criados a campo em pastos cultivados e nativos, convivendo com bovinos e lhamas, recebendo suplementação mineral e feno, com boas práticas higiênico-sanitárias. Nesta propriedade foram colhidos 70 soros no período de dez.93/jan.94 (chuvas) e 94 soros em jul.94/ago.94 (seca). Não houve colheita nos demais períodos: dez.94/jan.95 (chuvas), jul.95/ago.95 (seca) e dez.95/jan.96 (chuvas).

O tamanho da amostra foi determinado considerando-se uma estimativa de prevalência de 5%, um nível de confiança de 95% e o número de fêmeas púberes em cada rebanho (FAINE, 1982)

Colheitas de sangue: a primeira colheita foi realizada entre dezembro de 1993 a janeiro de 1994, período de verão, época de chuvas. A segunda colheita foi realizada nos meses de julho/agosto de 1994, estação de inverno, época de seca. Posteriormente as demais colheitas foram repetidas, nos mesmos períodos, apenas na fazenda de Huanacamaya, até janeiro de 1996. As amostras de sangue foram colhidas por punção da

veia jugular e os soros foram armazenados a -20°C até o momento do exame.

Informes de precipitação pluviométrica: foram colhidos no decorrer do estudo (1993 a 1996) a partir dos serviços de registro meteorológico locais, Projeto Espacial Binacional do Lago Titicaca.

Meio de Cultivo: foi empregado o Meio de EMJH modificado (ALVES *et al.*, 1996).

Diluyente: foi empregada a solução salina de Sorensen (SANTA ROSA, 1970).

Microtécnica de soroaglutinação microscópica [SAM] (COLE *et al.*, 1973; GALTON *et al.*, 1965): foi executada com uma coleção de antígenos vivos, fornecidos pelo Prof. Dr. Paulo H. Yasuda, ICB/USP, contendo 22 variantes sorológicas de leptospiros patogênicas (australis, bratislava, autumnalis, butembo, castellonis, bataviae, canicola, whitcombi, cynopteri, grippotyphosa, hebdomadis, copenhageni, icterohaemorrhagiae, javanica, panama, pomona, pyrogenes, hardjo, wolffi, shermani, tarassovi e sentot) e duas variantes de leptospiros saprófitas (andamana e patoc). Os soros foram triados na diluição 100 e os que apresentaram resultado positivo foram titulados em uma série de diluições geométricas de razão dois. A variante sorológica considerada foi a que apresentou o maior título. Na eventualidade do maior título ser apresentado por duas ou mais variantes, o animal foi excluído da análise.

Tratamento estatístico: As comparações entre proporções foram realizadas pelo teste Quiquadrado (SIEGEL, 1975) através do programa Epi Info, versão 6.0, e o nível de significância adotado foi de 0,05.

RESULTADOS

A Figura 3 mostra que nas quatro fazendas estudadas, situadas nos altiplanos peruanos, os índices pluviométricos permitem a caracterização de dois períodos bastante distintos: um chuvoso - com picos de precipitação nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro - e outro seco - meses de junho, julho e agosto.

Na Tabela 1 verifica-se que do total de 810 amostras examinadas houve 53 (6,54%) para pelo menos uma variante sorológica das 24 utilizadas. A Fazenda Carolina foi a única onde não foram encontrados animais sororeatores. Nas fazendas Huanacamaya, INIA e La Raia não foi constatada diferença entre as proporções de sororeatores, tanto para a colheita de dez.93/jan.94 (chuvas) quanto para a de jul.94/ago.94 (seca) ($p > 0,05$). Para essas três últimas fazendas foi observada diminuição da proporção de soropositivos quando comparados os resultados da colheita de dez.93/jan.94 (chuvas) com os de jul.94/ago.94 (seca) (Huanacamaya: $p < 0,001$; INIA: $p < 0,001$ e La Raia: $p = 0,02$).

A Figura 4 ilustra esse fenômeno. No entanto, para a fazenda de Huanacamaya, onde foram realizadas colheitas subseqüentes, sempre nos mesmos períodos de chuva e seca, a diferença das proporções de sororeatores entre um e outro período não foi mais constatada (jul.94/ago.94 X dez.94/jan.95: $p = 0,1$; dez.94/jan.95 X jul.95/ago.95: $p = 0,83$; jul.95/ago.95 X dez.95/jan.96: $p = 0,28$).

A Figura 5 ilustra a combinação dos índices pluviométricos com as proporções de soropositivos para a fazenda Huanacamaya.

Na Tabela 2 verifica-se que a variante sorológica pomona foi a mais freqüente com 42 reações positivas (79,24%). Houve ainda quatro reações com a variante sorológica *patoc*, duas com a *cynopteri*, duas com a *icterohaemorrhagiae*, uma com a *butembo*, uma com

Tabela 1 - Proporção de alpacas soropositivas à SAM para leptospirose, segundo as fazendas examinadas e a época das colheitas. Puno, Peru, 1997.

Fazendas Colheitas	Huanacamaya		Carolina		INIA		La Raia		Total	
	p/e*	%	p/e	%	p/e	%	p/e	%	p/e	%
dez.93/jan.94 (chuvas)	21/101	20,8	0/18	0,0	9/38	23,7	7/70	10,0	37/227	16,3
jul.94/ago.94 (seca)	1/122	0,8	0/21	0,0	1/64	1,6	1/94	1,1	3/301	1,0
dez.94/jan.95 (chuvas)	6/113	5,3	nf	nf	nf	nf	nf	nf	nf	nf
jul.95/ago.95 (seca)	6/100	6,0	nf	nf	nf	nf	nf	nf	nf	nf
dez.95/jan.96 (chuvas)	1/69	1,4	nf	nf	nf	nf	nf	nf	nf	nf
Total	35/505	6,9	0/39	0,0	10/102	9,8	8/164	4,9	53/810	6,5

* positivos (título ≥ 100 para pelo menos um serovar) / examinados

** nf: não foi feita a colheita

Tabela 2 - Resultados da SAM para diagnóstico da leptospirose em alpacas, segundo a fazenda, a época da colheita e a variante sorológica reatora. Puno, Peru, 1993 a 1996.

Fazenda variante reatora	Huanacamaya			Inia	La Raia	Total
	dez93/jan94	jul94 a ago95	dez95/jan96	dez93 a ago94	dez93 a ago94	
Butembo	...	1	1 (1,9%)
Cynopteri	2	2 (3,8%)
Hebdomadis	1	1 (1,9%)
Icterohaemorrhagiae	...	1	1	2 (3,8%)
Pomona	18	9	...	7	8	42 (79,2%)
Shermani	...	1	1 (1,9%)
Patoc	...	1	...	3	...	4 (7,5%)
Total	21	13	1	10	8	53 (100%)

a hebdomadis e uma com a shermani. A variante pomona foi observada em Huanacamaya, Inia e La Raia; a patoc em Huanacamaya e Inia. As demais variantes só foram observadas na fazenda de Huanacamaya.

DISCUSSÃO

A presença de alpacas sororeadoras em três das quatro fazendas estudadas permite incluir esta espécie no elenco dos animais suscetíveis à infecção por leptospiros.

A diminuição da proporção de soropositivos entre os períodos dez.93/jan.94 (chuvoso) e jul.94/ago.94 (seco), para as fazendas Huanacamaya, INIA e La Raia, sugere que nos altiplanos peruanos - região de clima, topografia e cobertura vegetal particulares - o período chuvoso também funciona como fator condicionante para a infecção por leptospiros (Tabela 1 e Fig. 4). Resultados diversos foram obtidos por MILLER *et al.* (1991) em bovinos dos Estados Unidos da América, mas concordam com os encontrados por ALVES *et al.* (1996) em caprinos criados na região Nordeste do Brasil.

Na fazenda de Huanacamaya, nas chuvas de dezembro de 1993 a janeiro de 1994, a frequência de alpacas soropositivas para a variante sorológica pomona (n=18) foi muito superior ao observado para as outras variantes (cynopteri: n=2; hebdomadis: n=1), nas cinco colheitas efetuadas entre dezembro de 93 a janeiro de 1996, as proporções de reações sorológicas para a variante pomona foram decrescentes e no último exame (dezembro 95/janeiro 96) não foram mais constatados animais reatores para esta variante (Tabela 2). Esta verificação sugere que a somatória de condições favorecedoras para a infecção existentes nas chuvas de dez.93/jan.94, devem ter deixado de existir nos períodos subsequentes, no entanto, houve uma infecção residual que persistiu em níveis baixos, inclusive nos meses de inverno (julho/agosto 94 e julho/agosto 95) aonde são observadas condições ambientais extremas, com ausência de chuvas e temperaturas da ordem de zero a 16°C negativos. A ausência de animais reatores para a variante pomona no verão de 95/96 sugere que as alpacas devam comportar-se como hospedeiro secundário e não como reservatórios primários desta variante, na região (BLENDEN, 1976; FAINE, 1982). Estudos devem ser conduzidos para a busca do provável reservatório primário, tanto



Figura 1: República do Peru.



Figura 2: Região de Puno.

As Figuras 1 e 2 apresentam a localização geográfica das fazendas trabalhadas.

em animais de produção (HILL & WYETH, 1991; VALDIVIA *et al.*, 1991) quanto em silvestres e sinantrópicos. Além do que, infecções experimentais em alpacas poderão esclarecer sua participação na epidemiologia da doença na região. A importância econômica das alpacas para o altiplano peruano justifica tais estudos (RAMIREZ, 1991; RIVERA *et al.*, 1984).

Dentre os 53 animais soropositivos (Tabela 2), a despeito da variante pomona ter sido a predominante (79,24%), também foram observadas reações para outros serovares: patoc (4/53); cynopteri (2/53); icterohaemorrhagiae (2/53); butembo (1/53);

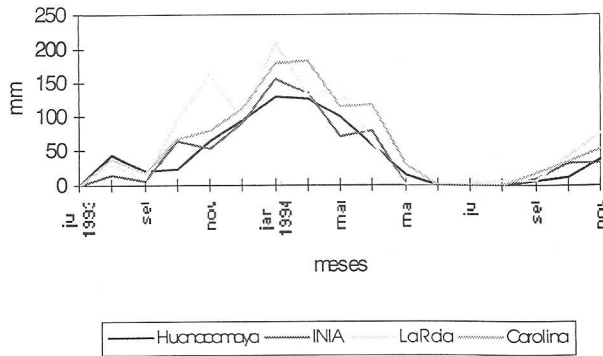


Fig. 3 - Índices pluviométricos de julho/1993 a novembro/1994 para as fazendas de criação de alpacas. Puno, Peru.

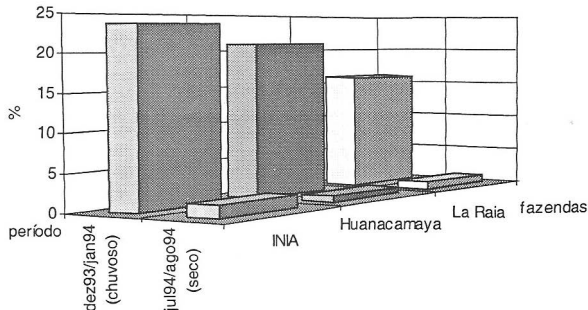


Fig. 4 - Proporção de alpacas soropositivas para leptospirose em fazendas de criação de gado, segundo o período chuvoso e seco. Puno, Peru.

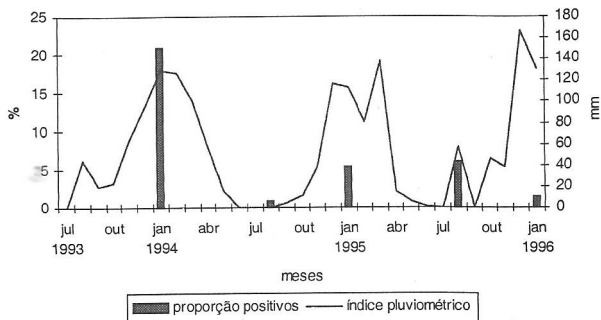


Fig. 5 - Proporção de alpacas soropositivas para leptospirose e índices pluviométricos para a fazenda Huanacamaya de 1993 a 1996. Puno, Peru.

hebdomadis (1/53) e shermani (1/53). Destes o icterohaemorrhagiae, evidenciado apenas em Huanacamaya, sugere a possível participação dos murídeos sinantrópicos, reservatórios universais desta variante (CORREA & MEARIN, 1969/70) e inclui as alpacas entre as espécies animais de potencial importância zoonótica, pois a variante icterohaemorrhagiae é a mais freqüente e a responsável pelos quadros de maior gravidade em seres humanos (CORREA & MEARIN, 1969/70; FAINE, 1982).

As reações observadas com a variante patoc de *L. biflexa* podem ser interpretadas como reações cruzadas, induzidas por variantes de leptospirosas patogênicas, talvez a própria pomona que foi a mais freqüente no conjunto das reações obtidas. De fato tem sido relatado que as reações cruzadas com amostras de *L. biflexa* podem ser mais precoces do que as próprias reações específicas (FAINE, 1982; VASCONCELLOS *et al.*, 1989).

No relativo ao cotejamento dos resultados sorológicos do presente estudo, com os de isolamentos já efetuados no Peru, cumpre ser destacada a confirmação das variantes pomona e sejroe em suínos da Cidade de Tumbes (HIDALGO & HIDALGO, 1970) e as variantes pomona, shermani, bratislava e canicola, na Cidade de Huánuco (HIDALGO *et al.*, 1981; HIDALGO & MEIA, 1980).

Os resultados obtidos sugerem que a ocorrência de leptospirose em alpacas no Altiplano de Puno deve ter uma etiologia multifatorial e que não há uma associação isolada com o regime de chuvas.

A ausência de sinais clínicos, em especial de trans-tornos reprodutivos nas alpacas dos quatro centros estudados, nos anos de 93 e 94 e, em particular, no de Huanacamaya, onde a observação persistiu até janeiro de 1996, não inviabiliza a hipótese de que a leptospirose seja uma das patologias infecciosas que afetam os índices de produtividade dos rebanhos criados no Altiplano Andino.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; CAMARGO, C.R.A.; MORAIS, Z.M. Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro reatores para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil. *Arq. Inst. Biol., São Paulo*, v. 63, p.11-18, 1996.
- BLENDE, D.C. Aspectos epidemiológicos de la leptospirosis. In: ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. REUNION INTERAMERICANA SOBRE EL CONTROL DE LA FIEBRE AFTOSA Y OTRAS ZONOSIS, 8, 1975. Guatemala. Washington D.C.: ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1976. p.160-168. (Publicacion científica, 316).
- COLE JUNIOR, J.R.; SULZER, C.R.; RUSELL, A.R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. *Appl. Microbiol.*, v.25, p.976-980, 1973.
- CORREA, M.O.A. & MEARIN, A.B. Leptospiroses em São Paulo. *Ver. Inst. Adolfo Lutz*, v.29/30, p.29-37, 1969/1970.

- FAINE, S. *Guidelines for the control of leptospirosis*. Geneva: World Health Organization, 1982. 171p. (WHO set off publications, 67).
- FASSI-FEHR, Las enfermedades de los camelidos. *Ver. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.*, v.6, p.355-373, 1987.
- GALTON, M.M.; SULZER, C.R.; SANTA ROSA, C.A.; FIELDS, J.M. Application of a microtechnique to the agglutination test leptospiral antibodies. *Appl. Microbiol.*, v.13, p.81-85, 1965.
- HIDALGO, L.J. & HIDALGO, R.R. Leptospirosis en el ganado y matarifes de Tumbes, Peru. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, v.68, p.297-305, 1970.
- HIDALGO, L.G.; HIDALGO, R.R.; FLORES, G.M. Leptospirosis en Tingo Maria Departamento de Huánuco, Peru I. Estudio en el hombre y animales domésticos. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, v.90, p.430-439, 1981.
- HIDALGO, L.J. & MEJIA, D.E. Leptospirosis en Iquitos. Departamento de Loreto, Peru. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, v.90, p.152-159, 1980.
- HILL, F.I. & WYETH, T.K. Serological reactions against *Leptospira interrogans* serovars in Alpacas after vaccination. *N. Z. Vet. J.*, v.39, p.32-33, 1991.
- MILLER, D.A.; WILSON, M.A.; BERAN, G.W. Relationships between prevalence of *Leptospira interrogans* in cattle, and regional, climatic, and seasonal factors. *Am. J. Vet. Res.*, v.52, p.1766-1769, 1991.
- NOVOA, C.S. & FRANCO, E. Empadre complementario de alpacas hembras vacias. CONVENCION SOBRE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, 1, 1970. Una-Puno, Peru. *Anales. Una-Puno*: 1970. p.144-147.
- OLAERTE, D.H. Aspectos anatomopatológicos del aparato genital de alpacas dos veces vacias. *Ver. Invest. Camélidos Sudamericanos*, v.1, p.36-42, 1988.
- RAMIREZ, A. Enfermedades infecciosas en alpacas y llamas. In: NOVOA, C.S. & FLOREZ, A. *Produccion de ruminantes menores: alpacas*. Lima: INIIA, 1991. Resúmenes. p.201-247.
- RIVERA, R.C.; ZAFERSON, E.J.; AMEGHINO, C.E. *Proyecto para el diagnóstico de las enfermedades que afectan a las explotaciones ovinas y alpacunas del Departamento de Puno, Peru*. Puno: UNA/PRODERJU/CSU. 1984. 128p.
- SANTA ROSA, C.A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. *Rev. Microbiol.*, v.1, p.97-109, 1970.
- SIEGEL, S. *Estatística não paramétrica para as ciências do comportamento*. São Paulo: Mc Graw Hill, 1975. 350p.
- VALDIVIA, S.P.S.; TERAN, D.M.; WINDSOR, R.S. *Leptospira interrogans* serovar canicola: a causal agent of sow abortion in Arequipa, Peru. *Trop. Anim. Health Prod.*, v.23, p.233-240, 1991.
- VASCONCELLOS, S.A.; OHTSUBO, I.; MORETTI, A.S.A.; ITO, F.H.; PASSOS, E.C.; CÔRTEZ, J.A.; MORENO, A.G.; YASUDA, P.H. Emprego do antígenos de *L.biflexa* estirpe Buenos Aires na reação de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico laboratorial da leptospirose em suínos experimentalmente infectados com *L.interrogans* sorotipo *pomona*. *Rev. Microbiol.*, v.20, p.62-70, 1989.

Recebido para publicação em 14/4/00