

# INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO INESPECÍFICA COM O BCG SOBRE A SUSCETIBILIDADE DO HAMSTER À INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Leptospira interrogans* SOROTIPO pomona\*

CLEBERT JOSÉ ALVES  
Professor Assistente  
Universidade Federal da Paraíba

SILVIO ARRUDA VASCONCELLOS  
Professor Associado  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

CLAUDIO ROBERTO DE ALMEIDA CAMARGO  
Pesquisador Científico  
Instituto Butantan

NICODEMOS ALVES DE MACEDO  
Professor Assistente  
Universidade Federal do Piauí

ZENAIDE MARIA DE MORAIS  
Técnico Especializado  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

RODOLFO NÜRMBERGER JUNIOR  
Professor Doutor  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

SONIA REGINA PINHEIRO  
Professor Assistente  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

JOSÉ SOARES FERREIRA NETO  
Professor Doutor  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; CAMARGO, C.R.A.; MACEDO, N.A.; MORAIS, Z.M.; NÜRMBERGER JUNIOR, R.; PINHEIRO, S.R.; FERREIRA NETO, J.S. Influência da estimulação inespecífica com o BCG sobre a suscetibilidade do hamster à infecção experimental por *Leptospira interrogans* sorotipo pomona. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v.29, n.2, p.193-9, 1992.

\* Parte da dissertação: ALVES, C.J. Influência da estimulação inespecífica com o BCG sobre a suscetibilidade do hamster à infecção experimental por *Leptospira interrogans* sorotipo pomona. São Paulo, 1991. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

**RESUMO:** Foi investigada a influência do BCG sobre o grau de resistência apresentado pelo hamster à infecção experimental por leptospiras. Foram utilizados 48 animais (machos com peso entre 60 a 80 gramas) dos quais 23 tratados com o BCG (duas aplicações de 0,5 ml, via intraperitoneal com intervalo de sete dias) e 25 tratados com placebo (meio de Souton) nas mesmas condições referidas. No terceiro dia após a segunda dose do imunomodulador ou placebo, os animais foram experimentalmente infectados, via intraperitoneal, com um inóculo de 0,5 ml de uma cultura de *L. interrogans* sorotipo pomona. Os animais ficaram em observação durante 21 dias e os que apresentaram sinais da doença foram sacrificados em fase agônica. A esse tempo foi realizada a colheita de materiais destinados a confirmar o estabelecimento da infecção experimental, através de métodos diretos (visualização em campo escuro e/ou cultura em meio de Fletcher) e indiretos (reação de soroaglutinação microscópica). As proporções de animais mortos por leptospirose dentre os infectados foram de 0/23 (0,00%) e de 20/25 (80,00%), respectivamente, para o grupo tratado com o BCG e o grupo placebo.

**UNITERMOS:** Leptospirose; *Leptospira interrogans*; BCG

## INTRODUÇÃO

Dentre os animais de laboratório empregados como sistema biológico para o estudo da leptospirose, o hamster (*Mesocricetus auratus*) tem sido a espécie de escolha para a reprodução da fase aguda da infecção, pois mostra-se altamente suscetível a diversos sorotipos de *Leptospira interrogans*, entre os quais se destacam o pomona<sup>1,10,13</sup> e o canicola<sup>7,15</sup>. No entanto, torna-se necessário a descoberta de uma forma de reprodução experimental da condição de portador de leptospiras visto que, em surtos de leptospirose nos rebanhos animais de interesse econômico, é frequente a existência de indivíduos que apresentam uma fase aguda assintomática, entrando no período de leptospiúria sem ter acusado a presença de anticorpos<sup>22</sup>.

A despeito da existência de um grande número de investigações sobre a influência do BCG em processos infecciosos provocados por patógenos intracelulares, poucos são os estudos relativos ao uso deste imunomodulador<sup>21</sup> sobre a patogenia de infecções induzidas por agentes extracelulares como as leptospiras, destacando-se a constatação de ADLER e FAINE<sup>2</sup> (1977) em camundongos, relatando a não influência do BCG no curso da infecção por leptospiras em camundongos normais e imunossuprimidos e a de TU et al.<sup>19</sup> (1982) que concluíram ser a estimulação inespecífica de macrófagos com o BCG, incapaz de reverter o efeito letal da infecção em camundongos. No entanto, o insucesso destes autores pode

ser atribuído ao esquema adotado para as aplicações do BCG que incluiu uma única dose do produto e que, segundo ALEXANDER<sup>4</sup> (1973), não possibilitaria que macrófagos armados passassem a condição de ativados.

Portanto, delineou-se o presente estudo cujo objetivo foi verificar a influência da estimulação inespecífica com BCG sobre a suscetibilidade do hamster à infecção experimental por *L. interrogans* sorotipo pomona.

## MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 58 hamsters (*Mesocricetus auratus*) jovens, machos, com peso variando entre 60 a 80 gramas, distribuídos em caixas plásticas forradas com maravalha, em grupos de no máximo três indivíduos.

O inóculo utilizado para provocar a infecção foi a estirpe virulenta de *L. interrogans* sorotipo pomona, tipificada pela prova de absorção de aglutininas<sup>14</sup> e conservada em nitrogênio líquido a 196 °C negativos<sup>3</sup>. No momento da utilização as ampolas foram descongeladas e o seu conteúdo submetido a um exame microscópico para a verificação da presença de leptospiros ativas, sendo posteriormente feita a sementeira em tubos com o meio semi-sólido de Fletcher. Após dez dias as culturas foram submetidas a nova avaliação em microscopia de campo escuro, e a contagem de leptospiros ativas em cinco campos microscópicos apresentou o valor médio de 31,5 microrganismos por campo. Cada animal utilizado recebeu o volume de 0,5 ml do respectivo inóculo, através da via intraperitoneal.

Utilizou-se, ainda, como inóculo, a substância Onco-BCG oral<sup>18</sup>, bacilo de Calmette-Guérin, cepa Moreau na concentração de 100 mg/ml 3,6 a 5,7 x 10<sup>7</sup>, bacilos viáveis por ml. Cada animal utilizado recebeu duas aplicações de 0,5 ml de BCG, através da via intraperitoneal, com intervalo de sete dias. No terceiro dia após a segunda dose do BCG ou placebo, os animais foram experimentalmente infectados, via intraperitoneal, com 0,5 ml de cultura de *L. interrogans* sorotipo pomona.

O diluente adotado para a preparação das suspensões de órgãos e para a diluição dos soros e antígenos foi representado pela solução tamponada de Sorensen<sup>14</sup>.

O meio de Souton foi preparado e utilizado conforme indicado por BRAGA<sup>6</sup> (1941).

A técnica de isolamento de leptospiros, em meio de cultura, foi executada após o processamento de uma suspensão de tecido renal a 10% (peso/volume), sendo preparadas duas diluições seriadas de razão dez, de tal modo a fornecer as concentrações finais de 10, 1,0 e 0,1% (peso/volume). Cada uma destas concentrações foi semeada em dois tubos contendo o meio de Fletcher<sup>14</sup>, os quais foram incubados à temperatura de 28 °C durante oito semanas, realizando-se leituras em microscopia de campo

escuro a cada três dias, nas duas primeiras semanas e semanalmente, nas subsequentes<sup>14</sup>.

A reação de soroprecipitação microscópica foi utilizada para avaliação dos níveis de imunidade humoral anti-leptospira nos animais experimentalmente infectados. Para a execução desta técnica, os antígenos foram representados por culturas de leptospiros vivos, em meio EMJH, enriquecido com L-asparagina, soro estéril de coelho e da solução de cálcio e magnésio<sup>20</sup>.

A fixação dos fragmentos de fígado, baço e rins foi realizada pela imersão de tais materiais em solução de formalina a 10%. Após a fixação, os fragmentos foram incluídos em blocos de parafina e, a seguir, foram realizados os cortes em micrótomo e coloração pelo método de hematoxilina-eosina<sup>5</sup>.

Os 58 hamsters machos foram aleatoriamente divididos em grupos designados pelas letras "A" e "C", contendo cada um deles quatro animais e os grupos "B" e "D", com 25 animais cada.

Os animais foram mantidos em infectório com observação a cada 12 horas para a constatação de alterações clínicas. Os indivíduos que apresentaram sinais clínicos de leptospirose foram sacrificados na fase agônica da doença, sendo os demais sacrificados no 21º dia pós-inoculação.

A análise estatística, adotada para a interpretação dos resultados obtidos e a comprovação de hipótese de trabalho, aplicou o teste não paramétrico de Qui quadrado<sup>17</sup>.

## RESULTADOS

Todos os animais do grupo "A", tratados inicialmente com BCG e posteriormente com placebo, apresentaram granulomas induzidos pelo *M. bovis* no fígado, baço e rim, caracterizados basicamente pela presença de células epitelióides, circundando os bacilos da tuberculose, sendo que esta reação em órgãos como fígado e baço foi mais freqüente do que nos rins.

Os animais do grupo "C", tratados apenas com placebo, simulando tanto a aplicação do BCG, quanto de leptospiros, não apresentaram nenhuma alteração histológica nos três tipos de órgãos trabalhados (fígado, baço e rim).

A Tab. 1 apresenta os resultados dos exames conduzidos nos animais do grupo "B", tratados inicialmente com duas doses de BCG e posteriormente infectados com diferentes concentrações de *L. interrogans* sorotipo pomona. Persistindo na apresentação da Tab. 1, pode-se constatar que, durante os 21 dias de observação após a inoculação de leptospiros, os 23 componentes do grupo "B" se mantiveram clinicamente normais e a confirmação da infecção por leptospiros só foi obtida nos exames realizados após o sacrifício, salientando-se a demonstração da

presença dos microrganismos nos cultivos de tecido renal de todos os espécimes trabalhados (23/23) e a conversão sorológica em 91,3% dos casos (21/23), ressaltando-se a existência de dois animais (números 19 e 22) com resultado negativo na prova sorológica e positivo na cultura de tecido renal. Todos os animais do grupo "B" apresentaram lesões no fígado, baço e rim, segundo a técnica de coloração da hematoxilina e eosina, caracterizadas por: Rim - quadro evolutivo de nefrite do tipo sub-agudo com baixo índice necrótico/congestivo e presença de infiltrado inflamatório do tipo mononuclear; Fígado - quadro congestivo de pequena intensidade, vacuolização dos hepatócitos e distribuição necrótica médio-zonal; Baço - necrose da polpa vermelha e hiperplasia dos folículos linfóides.

A Tab. 2 apresenta os resultados dos exames obtidos com os animais do grupo "D". Analisando-se esta tabela, observa-se que os 25 animais não tratados com o BCG apresentaram um comportamento totalmente diferente do grupo "B". Os 25 animais do grupo "D" receberam duas doses de placebo (meio de Souton) e, posteriormente, foram infectados experimentalmente com *L. interrogans* sorotipo pomona. A evolução do quadro clínico dos animais revelou que 20 dos 25 desenvolveram sintomas característicos de leptospirose, chegando a óbito ou sendo sacrificados em fase agônica entre o 5º e o 8º dia após inoculação. Os animais de número 43, 50, 55, 57 e 58 conseguiram superar a fase aguda da doença e se encontravam vivos nos 21º dia após inoculação, quando foram sacrificados. Os resultados dos exames laboratoriais dos 25 animais do grupo "D" revelam que, enquanto foram isoladas leptospirosas em todos os materiais trabalhados, as aglutininas anti-leptospira só foram demonstradas em dois dos 25 animais examinados.

As alterações estruturais observadas nos cortes histológicos dos órgãos de todos os animais do grupo "D" foram representadas por Rim: hemorragias intensas ao nível intersticial, tanto na região cortical quanto na medular, necrose de túbulos e glomérulos, hemossiderose e calcificação de túbulos; Fígado: severa congestão e presença de áreas necróticas com distribuição médio-zonal, desorganização trabecular com isolamento dos hepatócitos, sinais de destruição dos sinusóides com degradação dos eritrócitos e liberação do ferro no meio (hemossiderose); Baço: áreas necróticas da polpa vermelha e degeneração eritrocitária, folículos com pouca proliferação dos centros germinativos.

## DISCUSSÃO

A comparação dos valores encontrados nos animais dos grupos "A" e "C" evidencia a ausência de alterações estruturais atribuíveis a *L. interrogans* sorotipo pomona, nos órgãos dos animais dos grupos controles "A" e "C" e a presença de granulomas atribuídos ao BCG no fígado, baço

e rim dos animais do grupo controle "A". A presença de granulomas induzidos pelo BCG nas vísceras dos hamsters inoculados com este microrganismo concorda com as afirmações de MITCHELL et al. <sup>12</sup> (1975), que observaram estes achados em camundongos inoculados com o BCG.

A análise dos resultados apresentados na Tab. 1 salienta que os animais inoculados com o BCG conseguiram superar a fase aguda da leptospirose e atingiram o 21º dia pós-inoculação vivos, sem terem exteriorizado nenhum sintoma clínico da infecção por *L. interrogans*. Como a imunidade desencadeada pelo BCG é do tipo celular <sup>11</sup> e a resposta imune envolvida na fase aguda da leptospirose é do tipo humoral <sup>9</sup> concluiu-se que a estimulação inespecífica traduzida pela ativação dos macrófagos deve ter criado condições para que os anticorpos circulantes pudessem ser produzidos mais precocemente. Saliente-se que, neste particular, SCHELL et al. <sup>16</sup> (1983), afirmaram que os macrófagos ativados possuem acentuadas propriedades fagocitárias e bactericidas, não somente contra organismos infectantes, mas também contra organismos filogeneticamente distantes. De fato, a estimulação inespecífica induzida pelo BCG, com a ativação de macrófagos, parece exercer um importante papel na fase aguda da leptospirose, principalmente quando se considera que segundo TU et al. <sup>19</sup> (1982), as células fagocitárias podem influenciar a produção precoce dos anticorpos circulantes, importante mecanismo de defesa do hospedeiro contra patógenos extracelulares.

Os resultados nas Tab. 1 e 2 salientam a marcante influência do tratamento com o BCG sobre a suscetibilidade do hamster à infecção por leptospirosas, no entanto, este tipo de comportamento não foi obtido por ADLER e FAINE <sup>2</sup> (1977) e por TU et al. <sup>19</sup> (1982) que verificaram a não influência do BCG sobre o curso da infecção por leptospirosas em camundongos; porém, cumpre salientar que estes autores utilizaram apenas uma dose de BCG e estabeleceram a infecção com leptospirosas três semanas após o imunomodulador, fase em que, segundo ALEXANDER <sup>4</sup> (1973), já desapareceu a característica de ativação inespecífica dos macrófagos.

Observando-se os resultados dos cultivos de tecido renal apresentados na Tab. 1, verifica-se que no 21º dia pós-inoculação os 23 sobreviventes do grupo B encontravam-se na condição de portadores renais, demonstrando que a inoculação do BCG foi capaz de impedir o estabelecimento do quadro agudo da infecção, mas não a colonização dos túbulos renais dos animais trabalhados, o que está de acordo com os resultados obtidos por FAINE et al. <sup>9</sup> (1974), em seus estudos sobre a imunidade para leptospirose em camundongos.

Os animais de número 19, 22, 43, 57 e 58 (Tab. 1 e 2) não reagentes à prova de soroaaglutinação microscópica e positivos na cultura do tecido renal caracterizam uma situação de grande significado epidemiológico que já foi constatada em condições naturais <sup>8,14,22</sup>.

As alterações estruturais verificadas nos animais do grupo "D", não inoculados com o BCG, são do tipo degenerativo, com severa vacuolização e necrose do epitélio tubular, acrescida de infiltração mononuclear, características de um quadro de nefrite intersticial com evolução sub-aguda.

As informações contidas na Tab. 2 traduzem o comportamento dos animais do grupo "D", não sensibilizado com o BCG. Os dados apresentados revelam a evolução aguda da leptospirose onde 80% (20/25) dos animais morreram entre o 5º e o 8º dia da infecção, após terem apresentado os sinais clínicos da doença. Saliente-se que esta marcante evolução observada no grupo "D", pouco influenciada pela variação na concentração de leptospiras no inóculo, é completamente contrastada pelo comportamento dos animais do grupo "B" (tratados pelo BCG), com 100% de sobreviventes no 21º dia pós-inoculação de leptospiras, dos quais 91,30% (21/23) mostraram elevados níveis de anticorpos aglutinantes anti-leptospira.

O emprego do teste de Qui quadrado para a comparação nos grupos "B" e "D", com valores respectivos de 23/23 e 5/25, possibilitou a aceitação da existência de uma maior resistência a leptospirose nos animais tratados pelo BCG ( $p < 0,001$ ).

## CONCLUSÃO

Hamsters machos, submetidos a duas aplicações do BCG (via intraperitoneal, com sete dias de intervalo) resistiram à inoculação com *L. interrogans* sorotipo *pomona* com o estabelecimento de leptospirose em ausência de sinais clínicos da leptospirose.

ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; CAMARGO, C.R.A.; MACEDO, N.A.; MORAIS, Z.M.; NÜRMBERGER JUNIOR, R.; PINHEIRO, S.R.; FERREIRA NETO, J.S. Influence of BCG inespecific stimulation on the hamsters susceptibility to the experimental infection *L. interrogans* serovar *pomona*. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v.29, n.2, p.193-9, 1992.

**SUMMARY:** The influence of BCG on the resistance of hamsters experimentally infected with *Leptospira interrogans* serovar *pomona* was investigated. Forty-eight young male hamsters were used as the follow: 23 of them have administered two intraperitoneal dosis of BCG with seven days of interval; the remaining 25 were treated with placebo (Souton solution) in the same way as in the BCG treatment. On the third day after the second BCG or placebo

administration, each animal was inoculated with 0.5 ml of a suspension of *L. pomona* through the intraperitoneal route. The animals were observed for signs and symptoms of leptospirosis during a period of 21 days and those in the agonic state of disease were killed and their kidney and serum samples were taken for the demonstration of antibodies and leptospiroses, by means of serum agglutination test and by the direct culture of kidney fragments. All of the survivors were killed at the 21<sup>st</sup> day post infection and evaluated for antibodies an leptospire, as described above. For the BCG treated group, no death was recorded (0/23 or 0,00%) whereas in the control group 80% of deaths (20/25) were observed.

**UNITERMS:** Leptospirosis; *Leptospira interrogans*; BCG

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-ABDU, F.; SLEIGHT, S.D. Pathology of *Leptospira pomona* infection in hamsters. *Cornell Vet.*, v.55, p.74-86, 1965.
- 02-ADLER, B.; FAINE, S. Host immunological mechanisms in the resistance of mice to leptospiral infections. *Infect. Immun.*, v.17, p.67-2, 1977.
- 03-ALEXANDER, A.D.; LESSEL, E.F.; EVANS, L.B.; FRANCK, E.; GREEND, S.S. Preservation of leptospiras by liquid nitrogen refrigeration. *Int. J. system. Bacteriol.*, v.22, p.165-9, 1972.
- 04-ALEXANDER, P. Activated macrophages and the antitumor action of BCG. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, v.39, p.127-36, 1973.
- 05-BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS NETO, A.C. **Manual de técnicas para histologia normal e patologia.** São Paulo, EDART/EDUSP, 1976.
- 06-BRAGA, A. **Soros, vacinas, alérgenos e imunógenos.** Rio de Janeiro, Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, 1941. p.83-110: Sobre a titulação da tuberculina.
- 07-BRUNNER, K.T. Notes on *Leptospira canicola* in hamsters (*Mesocricetus auratus*). Pathogenesis, treatment and immunity. *Calif. Vet.*, v.1, n.6, p.18-20, 41, 1948.

- 08-FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**. Geneva, World Health Organization, 1982. (WHO off set Publication. 67)
- 09-FAINE, S.; ADLER, B.; RUTA, G.A.A. Mechanisms of immunity to leptospirosis. **Aust. J. exp. Biol. med. Sci.**, v.52, p.301-10, 1974.
- 10-HAMDY, A.H.; FERGUSON, L.C. Virulence of *Leptospira pomona* in hamsters and cattle. **Amer. J. vet. Res.**, v.18, p.681-4, 1957.
- 11-MACKANESS, G.B.; AUCLAIR, D.J.; LAGRANGE, P.H. Immunopotential with BCG. I. Immune response to different strains and preparations. **J. Nat. Cancer Inst.**, v.51, p.1655-67, 1973.
- 12-MITCHELL, S.M.; MOKYR, M.B.; KAHANEI. Stimulation of lymphoid cells by components of BCG. **J. Nat. Cancer Inst.**, v.55, p.1337-43, 1975.
- 13-SANGER, V.L.; HAMDY, A.H.; FIZETTE, W.B.; BOHL, E.H.; FERGUSON, L.C. *Leptospira pomona* infection in hamsters. **Cornell Vet.**, v.51, p.489-98, 1961.
- 14-SANTA ROSA, C.A. Diagnóstico laboratorial das leptospirosis. **Rev. Microbiol.**, v.1, p.97-109, 1970.
- 15-SAPP, W.J.; SIDDIQUE, I.H.; WILLIAMS, C.S.; GRAHAM, T. Histopathologic evaluation of livers of pregnant hamsters infected with *Leptospira canicola*. **Amer. J. vet. Res.**, v.41, p.1283-92, 1980.
- 16-SHELL, F.R.; AZADGAN, A.A.; NITSKANSKY, S.G.; LEFROCK, J.L. Effect of local and systemic macrophage activation in hamsters on infection with *Treponema pertenue* and *Treponema pallidum*. **Bosnia A. J. Reticuloendothel. Soc.**, v.33, p.231-8, 1983.
- 17-SIEGEL, S. **Estatística não paramétrica**. São Paulo, Mac Graw-Hill do Brasil, 1975.
- 18-SOERENSE, B.; PEREIRA, M.M.M.; GILDA, A.S.; YAMAGUCHI, I.K.; SCALABRELLI, R. Normas para a preparação do BCG oral destinado ao tratamento coadjuvante das neoplasias. **Vacinas e Soros**, n.1, p.64-70, 1985.
- 19-TU, V.; ADLER, B.; FAINE, S. The role of macrophages in the protection of mice against leptospirosis "in vitro" and "in vivo" studies. **Pathology**, v.14, p.463-8, 1982.
- 20-TURNER, L.H. *Leptospirosis*. III. Maintenance isolation and demonstration of leptospiras. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.64, p.823-46, 1970.
- 21-VANSELOW, B.A. The application of adjuvants to veterinary medicine. **Vet. Bull.**, v.57, p.881-96, 1987.
- 22-VASCONCELLOS, S.A. O papel dos reservatórios na manutenção de leptospirose na natureza. **Comun. cient. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo**, v.11, p.17-24, 1987.

Recebido para publicação em 21/11/91

Aprovado para publicação em 21/05/92

TABELA 1 - Hamsters do grupo "B" segundo o número de identificação, a evolução clínica e os resultados dos exames laboratoriais. São Paulo, 1991.

Nº DE IDENTIFICAÇÃO	DILUIÇÃO INÓCULO*** L interrogans sorotipo pomona	EVOLUÇÃO CLÍNICA			RESULTADOS	
		Data Pi óbito	Data Pi Sacrifício	Sintomas de Leptospirose	Pesquisa do agente Cultura/Rim	Pesquisa Anticorpos SAM L Interrogans sorotipo pomona
5	10 <sup>-0,000</sup>	...	21	N	P	3.200**
6	10 <sup>-0,000</sup>	...	21	N	P	200
8	10 <sup>-0,000</sup>	...	21	N	P	6.400
9	10 <sup>-0,000</sup>	...	21	N	P	6.400
10	10 <sup>-0,000</sup>	...	21	N	P	6.400
11	10 <sup>-0,3010</sup>	...	21	N	P	3.200
12	10 <sup>-0,3010</sup>	...	21	N	P	6.400
13	10 <sup>-0,3010</sup>	...	21	N	P	6.400
14	10 <sup>-0,3010</sup>	...	21	N	P	3.200
15	10 <sup>-0,6021</sup>	...	21	N	P	12.800
16	10 <sup>-0,6021</sup>	...	21	N	P	1.600
18	10 <sup>-0,6021</sup>	...	21	N	P	6.400
19	10 <sup>-0,6021</sup>	...	21	N	P	0
20	10 <sup>-0,9031</sup>	...	21	N	P	3.200
21	10 <sup>-0,9031</sup>	...	21	N	P	3.200
22	10 <sup>-0,9031</sup>	...	21	N	P	0
23	10 <sup>-0,9031</sup>	...	21	N	P	3.200
24	10 <sup>-0,9031</sup>	...	21	N	P	6.400
25	10 <sup>-0,2041</sup>	...	21	N	P	3.200
26	10 <sup>-1,2041</sup>	...	21	N	P	3.200
27	10 <sup>-1,2041</sup>	...	21	N	P	3.200
28	10 <sup>-1,2041</sup>	...	21	N	P	3.200
29	10 <sup>-1,2041</sup>	...	21	N	P	3.200
TOTAL	...	0/23*	23/23	0/23	23/23	21/23

GRUPO EXPERIMENTAL B = Grupo de 23 animais tratados com BCG e posteriormente infectados com L interrogans sorotipo pomona; Pi = Pós-inoculação de L Interrogans; SAM = Soroaglutinação microscópica; P = Positivo; N = Negativo; ... = Dado não disponível; \* = Número de animais positivos/Número de animais examinados; \*\* = Recíproca da maior diluição do soro com 50% de leptospiras aglutinadas por campo microscópico; \*\*\* = Número médio de leptospiras por campo microscópico no inóculo puro = 31,5.

**TABELA 2** - Hamsters do grupo "D" segundo o número de identificação. A diluição do inóculo. A evolução clínica e os resultados dos exames laboratoriais. São Paulo, 1991.

Nº DE IDENTIFICAÇÃO	DILUIÇÃO INÓCULO*** L <i>interrogans</i> sorotipo <i>pomona</i>	EVOLUÇÃO CLÍNICA			RESULTADOS	
		Data Pi óbito	Data Pi Sacrifício	Sintomas de Leptospirose	Pesquisa do agente Cultura/Rim	Pesquisa Anticorpos SAM L <i>interrogans</i> sorotipo <i>pomona</i>
34	10 <sup>-0,000</sup>	5	...	P	P	0**
35	10 <sup>-0,000</sup>	5	...	P	P	0
36	10 <sup>-0,000</sup>	5	...	P	P	0
37	10 <sup>-0,000</sup>	5	...	P	P	0
38	10 <sup>-0,000</sup>	5	...	P	P	0
39	10 <sup>-0,3010</sup>	5	...	P	P	0
40	10 <sup>-0,3010</sup>	5	...	P	P	0
41	10 <sup>-0,3010</sup>	8	...	P	P	0
42	10 <sup>-0,3010</sup>	8	...	P	P	0
43	10 <sup>-0,3010</sup>	...	21	N	P	0
44	10 <sup>-0,6021</sup>	5	...	P	P	0
45	10 <sup>-0,6021</sup>	5	...	P	P	0
46	10 <sup>-0,6021</sup>	6	...	P	P	0
47	10 <sup>-0,6021</sup>	6	...	P	P	NE
48	10 <sup>-0,0601</sup>	6	...	P	P	0
49	10 <sup>-0,9031</sup>	8	...	P	P	0
50	10 <sup>-0,9031</sup>	...	21	N	P	3.200
51	10 <sup>-0,9031</sup>	6	...	P	P	0
52	10 <sup>-0,9031</sup>	6	...	P	P	0
53	10 <sup>-0,9031</sup>	6	...	P	P	0
54	10 <sup>-1,2041</sup>	8	...	P	P	0
55	10 <sup>-1,2041</sup>	...	21	N	P	6.400
56	10 <sup>-1,2041</sup>	8	...	P	P	NE
57	10 <sup>-1,2041</sup>	...	21	N	P	0
58	10 <sup>-1,2041</sup>	...	21	N	P	0
TOTAL	...	20/25*	5/25	20/25	25/25	2/23

**GRUPO EXPERIMENTAL D** = Grupo de 25 animais não tratados com o BCG e experimentalmente infectados com *L. interrogans* sorotipo *pomona*; Pi = Pós-inoculação de *L. interrogans*; SAM = Soroaglutinação Microscópica; P = Positivo; N = Negativo; NE = Soro não examinado; ... = Dado não disponível; \* = Número de animais positivos/Número de animais examinados; \*\* = Recíproca de maior diluição do soro com 50% de leptospiplas aglutinadas por campo microscópico. \*\*\* = Número médio de leptospiplas por campo microscópico, no inóculo puro = 31,5.