

NOTAS E INFORMAÇÕES/NOTES AND INFORMATION

INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE UM CASO DE LEISHMANIOSE VISCERAL AUTÓCTONE DA GRANDE SÃO PAULO, BRASIL *

Lygia Busch Iversson **
Mário E. Camargo ***
Eduardo Olavo da Rocha e Silva ****
Pedro Paulo Chieffi *****
José Augusto C. de Barros *****

RSPUB9/460

IVERSSON, L. B. et al. *Investigação epidemiológica de um caso de leishmaniose visceral autóctone da Grande São Paulo, Brasil.* **Rev. Saúde públ., S. Paulo**, 13:159-67,

RESUMO: Foi descrita uma investigação epidemiológica realizada na zona urbana de Diadema, município da Grande São Paulo (Brasil), com a finalidade de elucidar a fonte de infecção e o mecanismo de transmissão de um caso de leishmaniose visceral autóctone da área. Foram realizados inquéritos sorológicos através da reação de imunofluorescência indireta na população humana (591 soros) e na população canina (55 soros), e levada a efeito pesquisa entomológica no local da residência do doente e em uma área de reserva florestal situada a 500m desta residência.

UNTERMOS: *Leishmaniose visceral, epidemiologia. Vigilância epidemiológica.*

INTRODUÇÃO

Em agosto de 1978 as autoridades sanitárias receberam a notificação de um caso de leishmaniose visceral em uma criança de 10 meses de idade, nascida no município de São Paulo e residente em Diade-

ma, um dos 37 municípios da Grande São Paulo (Figura 1). O diagnóstico clínico havia sido confirmado pela identificação da *Leishmania donovani* em medula óssea; foram também realizadas reações de imuno-

* Trabalho apresentado ao IV Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, Campinas, SP — 01 a 04 de fevereiro/1979.

** Do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da USP — Av. Dr. Arnaldo, 715 — 01255 — São Paulo, SP — Brasil e do Departamento Regional de Saúde da Grande São Paulo.

*** Do Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da USP — Av. Dr. Eneas Carvalho de Aguiar — 05403 — São Paulo, SP — Brasil.

**** Da Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) — Rua Tamandaré, 693 — 01525 — São Paulo, SP — Brasil.

***** Do Instituto Adolfo Lutz — Av. Dr. Arnaldo, 355 — 01246 — São Paulo, SP — Brasil.

***** Do Departamento Regional de Saúde da Grande São Paulo — Rua Conselheiro Nébias, 1355 — 01203 — São Paulo, SP — Brasil.



Fig. 1 — Localização geográfica dos municípios de São Paulo e de Diadema dentro da área da Grande São Paulo.

fluorescência indireta, hemaglutinação passiva, fixação de complemento, assim como eletroforese de proteínas, com resultados positivos.

Efetou-se uma investigação epidemiológica com o objetivo de esclarecer a fonte de infecção e o mecanismo de transmissão da moléstia no caso notificado. O fato se revestia de significado especial, uma vez que a doença, descrita em todos os Estados litorâneos do Pará ao Espírito Santo e Estados centrais de Minas Gerais, Mato Grosso e Goiás, nunca havia sido identificada no Estado de São Paulo. Pesquisas entomológicas já havia evidenciado a presença da *Lutzomyia longipalpis*, principal transmissor da moléstia no continente americano, em Cássia dos Coqueiros, Salto de Pirapora e Pirapora do Bom Jesus, localidades do Estado de São Paulo (Forattini e col.^s, 1976). Na região Sul do país existe referência a um único caso humano autóctone, em Altonia, Estado do Paraná (Cat e col.^s, 1974).

METODOLOGIA

A investigação foi realizada com a participação de diversas entidades: Departamento Regional de Saúde da Grande São Paulo, através do Serviço de Epidemiologia e do Centro de Saúde de Diadema, Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), Instituto de Medicina Tropical, Instituto Adolfo Lutz e Fundação Jardim Zoológico de São Paulo.

As atividades desenvolveram-se na sequência a seguir.

Depois que o material medular do doente foi reexaminado no Instituto Adolfo Lutz para uma verificação do diagnóstico, procedeu-se a um levantamento de dados no domicílio e no hospital onde estava internada a criança, através do qual se verificou que a mesma havia nascido no município de São Paulo, sempre residiu em Diadema, nunca viajou e nunca recebeu transfusões de sangue. Havia sido internada há dois meses com o diagnóstico de broncopneumonia, otite média aguda, anemia e distrofia.

A presença de esplenomegalia e a evolução clínica levantaram a suspeita de outra entidade mórbida, o que determinou a realização dos exames mencionados.

A mãe da criança nasceu e sempre residiu no Estado de São Paulo. Nunca viajou para fora do Estado e nunca recebeu transfusões de sangue.

A família do paciente, pais e irmãos, moravam há dez anos no município de Diadema, em local urbanizado, alto, não arborizado, ensolarado. Em frente à residência existe um canil pertencente à uma Sociedade Beneficente que recebe cães da Grande São Paulo ou de outras procedências. O local situa-se a 500 m do limite do Parque do Estado, área de reserva florestal de 5.493.156 m², onde estão instaladas algumas instituições como o Jardim Zoológico e o Instituto de Botânica.

O município de Diadema tem uma extensão de 24 km², altitude de 762 m, temperatura média de 21,8°C no mês mais quente e 15,4°C no mês mais frio, média pluviométrica anual de 1.300 mm à 1.500 mm e umidade relativa de 80 HR% (Secretaria de Economia e Planejamento¹³, 1974).

Tendo em vista os dados levantados, a equipe envolvida desenvolveu os trabalhos abaixo enumerados:

1 — Realização de exame físico e reações imunológicas para diagnóstico de leishmaniose visceral (imunofluorescência indireta, fixação de complemento e hemaglutinação passiva) na mãe do doente, de forma a excluir a possibilidade de ter ocorrido transmissão congênita da moléstia. O exame físico foi normal e as reações sorológicas negativas (soros não reagentes).

2 — Inquérito sorológico em população humana através da reação de imunofluorescência indireta. Foram examinados 5 soros de familiares da paciente, 542 soros de residentes em um raio de 200 m em torno da casa do doente, na faixa etária de 6 meses a 15 anos, e 44 soros de pessoas que moram dentro do Parque do Estado; trata-se de funcionários do Instituto de Bo-

tânica que residem com suas famílias em casas isoladas situadas junto à mata ali existente.

Em todos os casos investigados com queixa clínica atual procedeu a exame físico realizado por médico. Foram também pesquisados dados de naturalidade, tempo de residência, locais de residência anterior, antecedente de leishmaniose visceral ou tegumentar, moléstia de Chagas, malária, esquistossomose, hanseníase e tuberculose de 419 pessoas investigadas.

Nos soros reagentes foram realizadas reações de fixação de complemento e hemaglutinação passiva para *Leishmania donovani* e imunofluorescência indireta para *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania brasiliensis*.

Em 5 crianças com título ≥ 80 pela prova de imunofluorescência, realizou-se exame direto e cultura de material da medula óssea esternal. Procedeu-se à intradermoreação de Montenegro e eletroforese de proteínas nestas crianças e em 4 irmãos do doente.

Para as reações de imunofluorescência foi utilizada a técnica de Duxbury e Sadun⁷ (1964) empregando-se como antígeno formas promastigotas de *L. donovani* cultivadas em meio de NNN e como conjugado fluorescente antígeno anti-IgG marcado com fluoresceína. Os soros e eluatos foram ensaiados em diluições dobradas, a partir de 1:20, atribuindo-se resultados positivos a partir de 1:40.

Para a reação de hemaglutinação passiva utilizaram-se hemácias humanas, formolizadas e tratadas por ácido tânico e em seguida sensibilizadas por extratos totais de formas promastigotas de *L. donovani*. O reagente de hemaglutinação foi preparado de modo semelhante ao utilizado para o diagnóstico de moléstia de Chagas, conforme descrito por Camargo e col.³ (1973). Atribuíram-se resultados positivos à hemaglutinação com soros a partir de 1:80.

A reação de fixação de complemento com antígeno de *Mycobacterium tuberculosis* preparado conforme descrito por Nussenzweig¹⁰ (1958), foi realizada em microplacas plásticas como descrito por Camargo⁴

(1976), com soros não diluídos e dilu es duplas sucessivas. Atribuiram-se resultados positivos   fixa o de complemento em dilu es 2 vezes maiores do que os níveis de anticomplementariedade do soro, ensaiados em paralelo.

3 — Inquérito sorológico na popula o canina através de rea o de imunofluorescência indireta.

Foram coletadas 19 amostras de soros dos 12 cães presentes no canil, do c o da casa do doente e de 6 cães da vizinhança próxima, incluindo o c o das crianças vizinhas que apresentaram soro reagente para *L. donovani*; 22 amostras de soros de todos

os cães pertencentes a famílias que residem no Parque do Estado e 14 amostras de soros de canideos silvestres pertencentes ao acervo do Jardim Zoológico (7 *Canis lupus*, 5 *Chrysocion brachyurus* e 2 *Cerdocyon tross*).

4 — Pesquisa entomológica no canil e no Parque do Estado — foi estabelecida uma linha hipotética ligando a residência do doente ao ponto central do Parque do Estado, distante 2.000m. As capturas foram realizadas em 4 pontos equidistantes ao longo desta linha (Fig. 2), utilizando isca humana e armadilha luminosa (Barraca tipo Shannon), no crepúsculo e   noite.

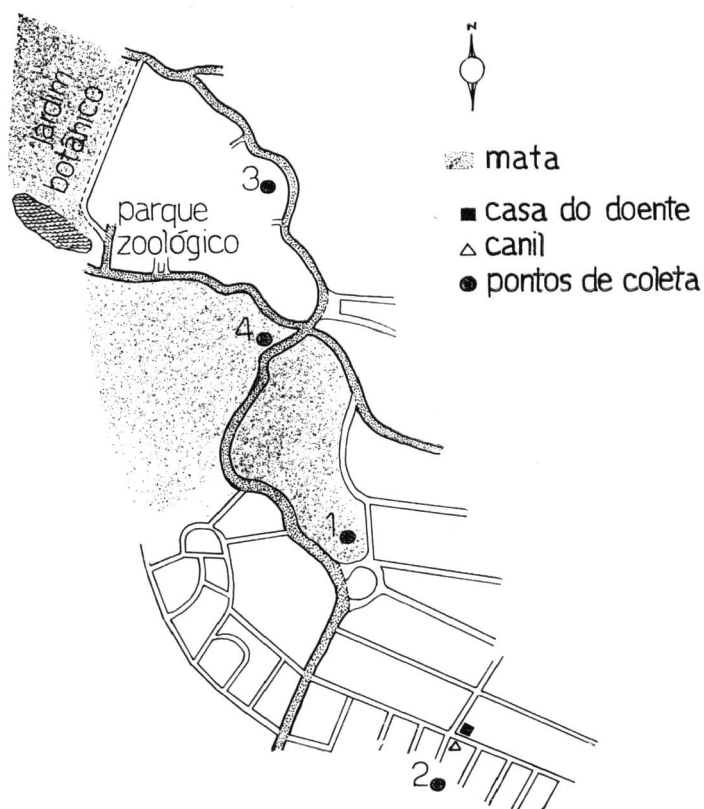


Fig. 2 — Posi o da residência do caso humano de leishmaniose visceral e do canil vizinho em rela o   área florestal do Parque do Estado e localiza o dos pontos onde se realizou coleta de flebotomíneos.

RESULTADOS

Relativos à população humana

Uma proporção de 27,8% dos investigados é natural de outros estados brasileiros, em alguns dos quais existem áreas onde o calazar é endêmico. Porém, só 10,1% desta população migrou para a Grande São Paulo há menos de um ano.

Sete das oito famílias que residem dentro do Parque do Estado moram no local há mais de 2 anos, cinco das quais entre 5 e 25 anos.

O inquérito sorológico (591 soros examinados) revelou a presença de 6 soros reagentes, pertencentes a 2 irmãos do doente, a 3 crianças residentes bem próximo ao doente (30 m aproximadamente) e a uma moradora do Parque do Estado. As 5 primeiras crianças são nascidas na Grande São Paulo, tendo já viajado para Santos e Aparecida do Norte, localidades do Estado de São Paulo. A moradora do Parque do Estado nasceu em Sabará, Minas Gerais, mora há 9 anos no Parque do Estado e só viajou para Sabará.

Uma série de exames foi realizada nestas pessoas, cujos resultados estão expressos nas Tabelas 1 e 2.

Observa-se que as 3 crianças vizinhas do doente apresentaram soros reagentes nas 3

reações utilizadas para diagnóstico da leishmaniose visceral (Tabela 1). Chamam a atenção os títulos altos da reação de fixação de complemento. Em duas destas crianças a intradermoreação de Montenegro foi positiva. O exame físico das 3 crianças foi normal; não tinham antecedente de tuberculose ou hanseníase e haviam sido vacinadas com o BCG intradérmico.

Todos os soros examinados não foram reagentes ao *T. cruz* pela imunofluorescência.

Os resultados da eletroforese de proteínas (Tabela 2) mostram em R.M., I.M., S.S. e S.S. discretas alterações: diminuição na fração albumina e alfa 1 globulina e aumento na fração gama globulina. W.M., irmão do doente que apresentou intradermoreação de Montenegro positiva, apresenta aumento das proteínas totais e das globulinas.

Relativos à população canina

Todos os 55 soros examinados por imunofluorescência indireta não foram reagentes

3. Pesquisa entomológica

Nos pontos de captura, assinalados na Fig. 2, foram identificados os seguintes flebotomíneos:

<i>Local de coleta</i>	<i>Espécie de Flebotomíneo</i>	<i>Número de exemplares</i>
Ponto 1 (limite do Parque do Estado)	<i>Pintomyia fischeri</i>	5
	<i>Psychodopygus monticolus</i>	1
	<i>Lutzomyia cortelezzii</i>	1
Ponto 2 (Canil)	nenhum flebotomíneo	
Ponto 3 (centro do Parque do Estado)	<i>Pintomyia fischeri</i>	7
	<i>Psychodopygus monticolus</i>	4
Ponto 4 (intermediário entre o limite e o centro do Parque do Estado)	<i>Pintomyia fischeri</i>	78
	<i>Psychodopygus monticolus</i>	6
	<i>Lutzomyia migonei</i>	1

TABELA 1
Resultados das reações sorológicas, da intracérmoração de Montenegro e da pesquisa de *L. donovani* na medula óssea esternal em familiares e vizinhos de um caso leishmaniose visceral de Diadema (1978).

Nome	Idade	Residência	<i>L. donovani</i>		H	<i>L. brasilienses</i>		T. cruzi	Reação de Montenegro	Medula óssea
			I	F.C.		I	I			
R.M.	4 anos	casa do doente	80	---	40	40	---	---	---	---
I.M.	9 anos	casa do doente	160	---	40	40	---	---	---	---
W.M.	14 anos	casa do doente	---	---	80	---	---	+	---	---
S.S.	13 anos	vizinha do doente	160	128	160	---	---	+	---	---
S.S.	12 anos	vizinha do doente	160	256	80	---	---	+	---	---
A.S.	9 anos	vizinha do doente	160	64	40	---	---	---	---	---
R.M.	16 anos	Parque do Estado	80	---	40	---	---	---	---	---

Fonte: Instituto de Medicina Tropical
Instituto Adolfo Lutz

I — imunofluorescência indireta
F.C. — fixação de complemento com antígeno de *M. tuberculosis*
H — hemaglutinação passiva

TABELA 2

Resultados da eletroforese de proteínas de familiares e vizinhos de um caso de leishmaniose visceral de Diadema (1978).

Nome	Proteínas totais (g%)	Albumina* e alfa 1 globulina (g%)	alfa 2 globulina (g%)	beta globulina (g%)	gama globulina (g%)
R.M.	7,4	3,84	0,86	0,89	1,81
I.M.	7,6	4,02	0,96	0,88	1,74
W.M.	10,3	5,77	0,88	1,65	2,00
S.S.	7,3	4,13	0,65	0,84	1,68
S.S.	7,1	3,87	0,68	0,71	1,84
A.S.	6,9	4,00	0,69	0,82	1,39

Fonte: Instituto Adolfo Lutz

* por problema técnico não foi possível separar a fração albumina da alfa 1 globulina.

COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

A pesquisa realizada não permitiu esclarecer a fonte de infecção e o mecanismo de transmissão da *L. donovani* em Diadema.

Pode-se conjecturar que, em vista dos resultados, a probabilidade maior   que a fonte de infecção tenha sido um c o do canil vizinho   residência do doente. No local há grande rotatividade de animais, procedentes algumas vezes de outros Estados, trazidos por famílias que se deslocam para São Paulo. O c o teria estado no canil nos 3 ou mais meses anteriores   data da investigação e possivelmente não apresentou sintomatologia evidente. A presenç a de cães infectados sem lesões aparentes tem sido mencionada por Deane e Deane⁶ (1955), Nussenzweig e col.⁹ (1957), Alencar e Cunha¹ (1963), Torrealba¹⁵ (1970), entre outros.

A transmissão ocorrida parece ter se constituído num evento raro, atingindo o doente e pelo menos duas das crianç as vizinhas, que além dos soros reagentes apresentaram reação de Montenegro posi-

tiva. Embora exista possibilidade de ocorrência de falsos positivos na reação de fixa o de complemento com *M. tuberculosis*, já assinalada por Nussenzweig¹⁰ (1958) em 9,4% dos doadores de sangue da cidade de São Paulo, os soros são fracamente reagentes, o que não   o caso das crianç as em estudo. Além disso, a não ocorrência de falsos positivos nas reações de imunofluorescência para *L. donovani*, em portadores de anticorpos para tuberculose, torna muito significativa de infecção leishm nica a concomitância de positividade nos testes de imunofluorescência com *L. donovani* e de fixa o de complemento com *M. tuberculosis*. Além do mais, a intradermoreação de Montenegro   dotada de muita sensibilidade e especificidade. O município de Diadema não   área end mica de leishmaniose tegumentar e as crianç as não apresentavam lesões ou cicatrizes de lesões cutâneas. Torrealba¹⁵ (1970), Pampiglione e col.^{11,12} (1974, 1975) observaram positividade desta reação em doentes de calazar após a cura. Têm sido também encontradas reações positivas em assinto-

míticos residentes em região onde o calazar   endêmico e onde não se encontra leishmaniose tegumentar (Pampiglione e col.^{11,12} 1974, 1975; Teixeira¹⁴, 1977).

Presume-se, em razão do acima exposto, que as crianças de Diadema tenham tido uma infec o leishm nica sub-clínica. Embora não seja um achado específico, as discretas altera es observadas no protei-nograma plasmático destas crianças são as encontradas de forma mais nítida nos doentes de calazar, que apresentam hipergama-globulinemia, com tendência   hiperprotei-nemia global e diminui o mais ou menos acentuada da albumina.

Os resultados dos soros dos canídeos silvestres do Jardim Zoológico invalidam a hipótese que estes canídeos possam ter introduzido a infec o de outras áreas. Porém, não pode ser afastada a hipótese, embora remota, que a moléstia exista em um ciclo enzoótico silvestre no interior da mata do Parque do Estado.

A pesquisa entomológica não revelou a presença da *Lutzomyia longipalpis*. Deve ser considerado que as capturas não foram realizadas em época em que a temperatura e umidade favorecessem uma densidade maior de flebotomíneos. Impõe-se uma vigilância entomológica no local, que per-

mita observa es em um período bem maior de tempo. Entre os flebotomíneos capturados a partir de 500 m da casa do doente, predominou a *Pintomyia fischeri*, espécie dotada de antropofilia e domesticidade, a qual se atribui provável responsabilidade na transmissão de casos esporádicos de leishmaniose tegumentar nos arredores da cidade de São Paulo (Barreto², 1943). Resumindo, os dados levantados não permitem conclusão sobre a responsabilidade de flebotomíneos na transmissão ocorrida.

Recomenda-se manter a vigilância epidemiológica na área, abrangendo a popula o humana, os reservatórios animais e os vetores biológicos. A continuidade da pesquisa aqui descrita fornecer  melhores elementos para elucida o do problema.

AGRADECIMENTOS

A Dra. Terezinha Lorenzi, do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas de São Paulo, aos Drs. Alvaro Escrivão Júnior e Oswaldo Antonio Donnini, do Serviço de Epidemiologia do Departamento Regional da Grande São Paulo e ao Dr. Faisal Simon, da Funda o Jardim Zoológico, pela colabora o prestada na coleta de material nas popula es humana e canina.

RSPUB9/460

IVERSSON, L. B. et al. [Epidemiological survey of one case of autochthonous visceral leishmaniasis] *Rev. Saúde p bl.*, S. Paulo, 13:159-67, 1979.

ABSTRAT: Description of an epidemiological survey carried out in the urban area of Diadema, a district of Great S. Paulo (Brazil), with the aim of elucidating the source of infection and the mechanism of transmission of one case of visceral leishmaniasis in the area. Serological surveys were carried out (immunofluorescent test) in the human population (591 serums) and in the canine population (55 serums). Also an entomological survey was done in the neighbourhood of the patient's house and in a forest reserve 500m from the house.

UNITERMS: Leishmaniasis, visceral, epidemiology. Epidemiologic surveillance.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALENCAR, J. E. & CUNHA, R. V. Inquéritos sobre Calazar canino no Ceará: novos resultados. *Rev. bras. Malar.*, 15:391-40, 1963.
2. BARRETO, M. P. *Observações sobre a biologia, em condições naturais dos flebotômíneos do Estado de São Paulo (Diptera; Psychodidae)*. São Paulo, 1943. [Tese — Faculdade de Medicina da USP].
3. CAMARGO, M. E. et al. Hemagglutination with preserved, sensitized cells, a practical test for routine serologic diagnosis of American trypanosomiasis. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 15: 81-5, 1973.
4. CAMARGO, M. E. Diagnostic information from serologic tests in human toxoplasmosis. 1 — A comparative study of hemagglutination, complement fixation and imunofluorescence tests in 3752 serum samples. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 18:215-26, 1976.
5. CAT, I. et al. Leishmaniose visceral autóctone no oeste paranaense. *An. Med. Univ. Fed. Paraná*, 16/17:27-35, 1973/1974.
6. DEANE, L. M. & DEANE, M. P. Leishmaniose visceral urbana (no cão e no homem) em Sobral, Ceará. *Hospital*, Rio de Janeiro, 47:75-87, 1955.
7. DUXBURY, R. E. & SADUN, E. H. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of visceral leishmaniasis. *Amer. J. Med. Hyg.*, 13:525-9, 1964.
8. FORATTINI, O. P. et al. Novos encontros de flebotômíneos no Estado de São Paulo, Brasil, com especial referência a *Lutzomyia longipalpis*. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 10:125-8, 1976.
9. NUSSENZWEIG, V. et al. Leishmaniose visceral canina nos arredores de Fortaleza, Estado do Ceará. Inquérito sorológico utilizando a reação de fixação de complemento com antígeno extraído do bacilo de Tuberculose. Observações sobre o diagnóstico e epidemiologia da doença. *Hospital*, Rio de Janeiro, 52:111-29, 1957.
10. NUSSENZWEIG, V. *Contribuição para o estudo da reação de fixação de complemento na leishmaniose visceral, com antígeno extraído de bacilos de Tuberculose*. Rio de Janeiro, Ed. Serviço Nacional de Educação Sanitária, 1958. [Tese — Faculdade de Medicina da USP]
11. PAMPIGLIONE, S. et al. Studies on Mediterranean leishmaniasis. 2. Asymptomatic cases of visceral leishmaniasis. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 68: 447-53, 1974.
12. PAMPIGLIONE, S. et al. Studies in Mediterranean leishmaniasis 3. the leishmanin skin test in Kala-azar. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 69:60-8, 1975.
13. SECRETARIA DE ECONOMIA E PLANEJAMENTO DO ESTADO. *Conheça seu município: Região da Grande São Paulo*. São Paulo, 1974. v. 5, tomo 1.
14. TEIXEIRA, R. coord. *Projeto Jacobina — Relatório de atividades do período de maio de 1976 a dezembro de 1977*. Salvador, Universidade Federal da Bahia, 1977. (C W Pg — Projeto nº 5285/75. SIP/08-141).
15. TORREALBA, J. W. *Observaciones sobre diagnóstico, terapéutica y evolución de la Leishmaniasis visceral humana y canina*. Caracas, 1970. [Tese — Facultad de Medicina Universidad Central de Venezuela]

Recebido para publicação em 14/03/1979

Aprovado para publicação em 22/03/1979