

ASPECTOS ECOLÓGICOS DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

8. Avaliação da atividade enzoótica de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, em ambiente florestal e peridomiciliar, região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil (1)

Almério de Castro GOMES (2), Sérgio Gomes COUTINHO (3), Gil Vianna PAIM (4), Sandra Maria Otatti de OLIVEIRA (4), Eunice Aparecida Bianchi GALATI (2), Marise Pinheiro NUNES (3), Antonio Norberto CAPINZAIKI (5), Yoshimi Imoto YAMAMOTO (6) & Paul ROTTER (7)

RESUMO

A evidência da transmissão extraflorestal da leishmaniose cutâneo-mucosa na região do Vale do Ribeira ensejou o presente estudo epidemiológico prospectivo, visando avaliar a atividade enzoótica de *L. (V.) braziliensis*. A pesquisa parasitológica da infecção natural em pequenos mamíferos e população canina foi complementada com o teste de imunofluorescência indireta (IFI) para cães e captura de flebotômios em ambiente florestal e peridomiciliar. A positividade para o teste sorológico e exame parasitológico somente foi observada para cães residentes e com taxas de 5,6 e 2,4%, respectivamente. Entre animais silvestres e sinantrópicos capturados, destacam-se os pertencentes a *Oryzomys (Oligoryzomys)* e *Rattus rattus*, ambos assinalados em proporções equivalentes (29,3%), em ambiente peridomiciliar. Foram capturados apenas 166 exemplares femininos de *Lutzomyia intermedia*, fato atribuído à borrifação das habitações humanas e anexos com DDT. No contexto epidemiológico mais amplo, discute-se a fragilidade do ciclo extraflorestal da *L. (V.) braziliensis*; o papel do cão e de pequenos mamíferos, como fonte de infecção domiciliar, além de analisar o potencial deles na dispersão do parasita na área estudada.

UNITERMOS: Leishmaniose tegumentar, epidemiologia, roedor, cão, flebotômio e transmissão.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose tegumentar americana é considerada essencialmente zoonose do ambiente florestal primitivo, processando-se o ciclo vital do parasita sem a participação humana. Se-

(1) Trabalho financiado pelo CNPq Processos 4455/81 e 40.5737/82.

(2) Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo. Av. Dr. Arnaldo, 715. 01255 São Paulo, SP, Brasil.

(3) Departamento de Protozoologia da FIOCRUZ. Av. Brasil, 4365. 21040 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

(4) Departamento de Prática de Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, Av. Dr. Arnaldo, 715. 01255 São Paulo, SP, Brasil.

(5) Departamento de Saúde do Vale do Ribeira (DEVALE). Município de Registro, São Paulo, SP, Brasil.

(6) Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Caixa Postal 30.786 São Paulo, SP, Brasil.

(7) Pesquisador independente. Rua Desembargador do Vale, 115. 05010 São Paulo, SP, Brasil.

gundo PAVLOVSKI (1965)²⁵, esta feição caracteriza o foco natural ou o caráter nidálico de uma doença. Este aspecto ecológico explica porque há relação fundamental entre o homem, seu contato com as florestas e a manifestação da doença.

Não obstante as várias décadas de estudos dedicados a esta parasitose, a sua epidemiologia ainda evidencia elos obscuros, como a indefinição dos vetores enzoóticos e reservatórios primários. Acresce-se a isto, o fato de que a redução sensível da incidência humana nem sempre está acompanhada da extinção da enzootia (FORATTINI, 1973)⁹, até mesmo diante de certos níveis de desflorestamento, como o transcorrido no Planalto Paulista (PESSOA, 1941)²⁶.

Pelo visto, o tipo mais prevalente de transmissão das leishmanioses tegumentares das Américas ainda é o selvático. Fazem exceção, todavia, os focos de *Leishmania braziliensis* s. l., uma vez que este agente tem sobrevivido sob condições alteradas do ambiente florestal e extraflorestal (FALQUETO et al., 1986⁷ e FORATTINI, 1972¹¹, 1973¹²). Particularmente na região do Vale do Ribeira, a leishmaniose tegumentar passou a ser conhecida com o registro dos primeiros casos humanos feitos por FORATTINI & OLIVEIRA (1957)¹⁰. Nessa ocasião, estes autores referiram às condições mesológicas não florestadas do foco. Assim sendo, a comparação deste evento com o tempo de colonização da população humana na região já sugeriria, desde então, uma endemia tardia em relação ao desflorestamento. Para esclarecer esta situação, várias investigações foram levadas a cabo na região, focalizando basicamente a transmissão regional. Apesar deste esforço trazer contribuições importantes, permanecem ainda desconhecidos os mecanismos de circulação do *L. (Viannia) braziliensis* ou seu potencial enzoótico no ambiente florestal e fora dele.

Face a essas considerações, a multiplicidade e a natureza da estrutura epidemiológica da leishmaniose cutâneo-mucosa impõem várias questões fundamentais a serem discutidas, cujo desdobramento requer estudos ecológicos e experimentais. Neste sentido, analisam-se os resultados obtidos em quatro anos de observações.

MATERIAL E MÉTODOS

A área estudada pertence aos municípios de Miracatu/Pedro de Toledo, situados na região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, a 24° 09' de latitude sul e 47° 17' de longitude oeste (Fig. 1).

O local escolhido é denominado Pedra do Largo e situa-se em um dos enclaves irregulares formados em decorrência da cadeia montanhosa da Serra de Paranapiacaba e está delimitado pelo conjunto de propriedades rurais dispostas ao longo da margem esquerda do rio São Lourençinho (Figs. 1 e 2A).

As feições paisagísticas da área estudada revelam características típicas de zona rural, com a comunidade local parecendo ter padrão de vida muito baixo. Na extensão do povoado, registrou-se ainda a existência de 45 habitações humanas, porém nem todas estiveram ocupadas durante a investigação. A média/ano das casas desocupadas esteve em torno de 10%.

Com relação a cobertura florestal primária, esta encontra-se bastante alterada nas partes próximas ao povoado e nos locais mais acessíveis à extração de madeira (Fig. 2B). Portanto, a contínua interferência humana, neste ambiente, delimita a parte clímax em nível topográfico mais elevado e às faces mais íngremes.

A regional da Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) desenvolvia atividade de controle da doença quando este trabalho começou. O programa consistia na aplicação de DDT, pó molhável, a 75%, nas paredes internas e externas das casas habitadas e foi sistematizado em três ciclos em 1981, quatro em 1982 e um em 1983. Todavia, em decorrência de casos humanos de malária na área, algumas casas foram rociadas com o mesmo produto, sendo duas vezes em 1984 e uma em 1985.

Com a finalidade de atender ao objetivo deste trabalho programaram-se as atividades a seguir:

Teste sorológico para Leishmaniose: No período de março de 1982 a março de 1985 foi realizado inquérito sorológico da população canina

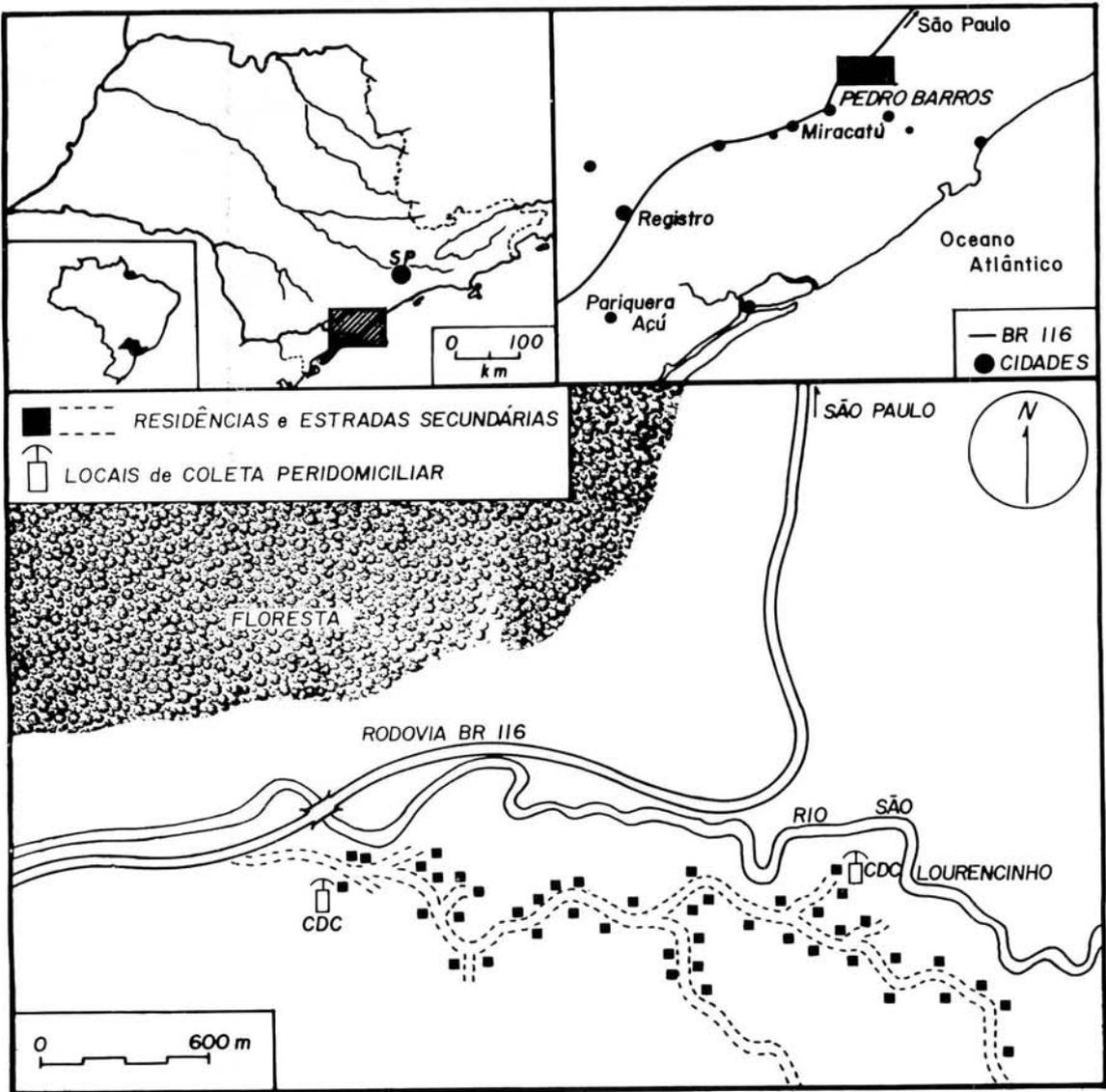


Fig. 1 — Localização geográfica da área estudada e dos pontos de coleta de flebotomíneo em ambiente peridomiciliar.

da área. Para cada animal, determinou-se o título de anticorpos anti-*Leishmania* através da reação de imunofluorescência indireta (IFI). Como antígeno, utilizou-se promastigotas de *Leishmania-major* "like" (cepa JOF) (PIRMEZ et al., 1988)²⁸. O conjugado fluorescente anti-Ig de cão foi gentilmente fornecido pela SUCAM — Ministério da Saúde. O soro de cada animal foi diluído ao dobro, em PBS, sendo considerados positivos os títulos iguais ou superiores a 45. A mesma metodologia foi utilizada para os testes sorológicos dos cães sentinela.

Cães sentinelas (*Canis familiaris*): a suscetibilidade do cão à *Leishmania* já é conhecida desde algum tempo, fato este revisado por FALQUETO et al. (1986)⁷. Por isso, usou-se este animal para revelar a circulação de *L. (V.) braziliensis* na área estudada. Neste sentido, foram expostos cães em gaiolas metálicas e distribuídos na floresta e peridomicílio durante dois anos (Fig. 2B). O acompanhamento da infecção canina foi feito utilizando-se a IFI em coletas mensais de sangue e, a qualquer alteração do título tentava-se o isolamento do parasita. O critério

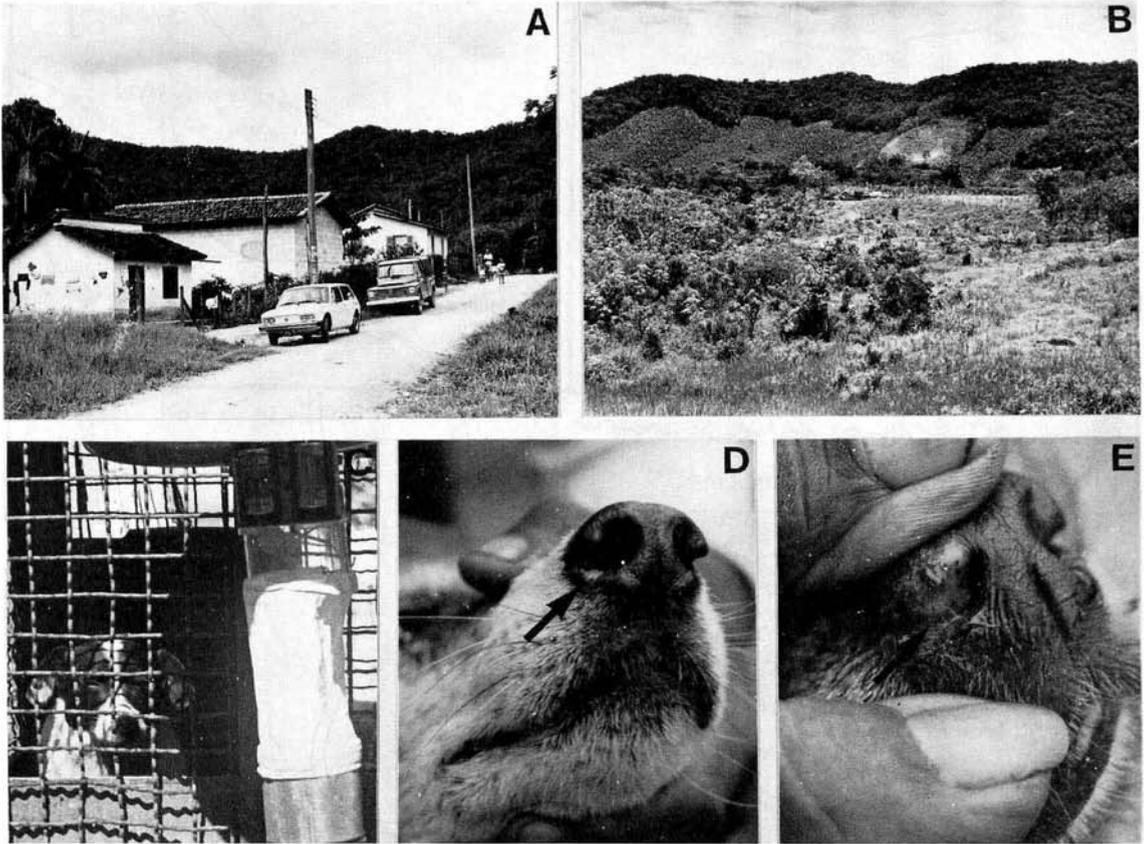


Fig. 2 — Aspecto paisagístico e metodológico empregado no estudo. A — Vista parcial do bairro Pedra do Largo; B — Nível de alteração ambiental; C — Gaiola de exposição dos cães sentinelas e armadilha CDC; D e E — Manifestação da doença na narina de cães residentes na área estudada.

de exposição foi sazonal e após cada período os animais foram confinados em cativeiros, fora da área de estudo. Este tempo de cativeiro foi rigorosamente de seis meses. Completada esta exigência, o animal foi sacrificado e a pesquisa de *Leishmania* foi feita em pele e vísceras. Todos os animais foram fornecidos pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da Prefeitura do município de São Paulo. A seleção foi baseada na idade de 3 a 5 meses, com prova da IFI negativa. Devido a ocorrência do vírus da raiva na área, todos esses cães foram vacinados com antígeno anti-rábico, antes de irem para o campo.

Coleta de roedores: armadilhas iscadas com fruta (laranja, banana) foram distribuídas no ambiente florestal e peridomiciliar. Seu funcionamento foi de dez vezes a cada mês no período compreendido entre março/1983 e fevereiro/1984.

Quando capturados, os animais eram mantidos em gaiolas e transportados para o laboratório de São Paulo, onde recebiam código individual e subsequentemente eram sacrificados para a pesquisa de *Leishmania* em pele e vísceras.

Coleta de flebotomíneos: Foram utilizadas armadilhas tipo CDC em número de duas para o ambiente florestal e igual número para o peridomicílio (Fig. 1). Uma armadilha da mata foi operada junto à gaiola do cão sentinela (Fig. 2C), passando assim a ser considerada iscada por este animal. Quanto aos aparelhos colocados em peridomicílio, seria impropriedade considerá-los iscados pelo cão sentinela, tendo em vista a presença de outros cães e animais domésticos livres ali existentes. O horário dessas capturas foi das 18 às 6 horas, com ritmo de duas vezes por semana, durante o período de março/1982 a fevereiro/1985.

Procedimento parasitológico: O exame parasitológico baseou-se na coleta de fragmentos de pele, baço e fígado, oriundos de necrópsias realizadas em cães e roedores silvestres ou sinantrópicos. Para isso, lançou-se mão do exame direto em lâmina e isolamento do parasita em cultura em meio clássico de N.N.N., com procedimentos específicos para cada animal ou situação.

1) **Cão:** o fragmento de pele foi colhido após remoção do pelo e assepsia dos locais a serem biopsiados, tais como orelha, focinho, pata ou qualquer lesão suspeita. Nos cães sentinelas, após o sacrifício, foram coletados na pele, baço e fígado, enquanto que nos cães livres estes foram apenas de lesões de pele ou mucosa nasal.

2) **Roedores:** após sacrifício, procedia-se a raspagem dos pelos abdominais e escamas da base da cauda. Todo o animal era então lavado com sabão neutro e água corrente de torneira. Em seguida, banhado com solução alcoólica de iodo a 1% e o excesso dessa substância removida com álcool a 80%; enxugado e fixado dorsalmente sobre uma pequena tábua protegida com papel alumínio e transportado à capela asséptica onde procedia-se à coleta de material da pele, baço e fígado.

3) **Cultura:** o meio de N.N.N. foi enriquecido com BHI (Brain Heart Infusion) e soro fetal inativado de bovino, na proporção de 20%. Foram também adicionados ao meio de cultura 200 U/ml de penicilina e 200 ug/ml de estreptomicina. Na trituração do material em geral, adicionaram-se pequenos volumes de solução salina estéril contendo 10% do mesmo soro fetal e 200 ug/ml de gentamicina. O material colhido de lesão ou pele de cães livres foi mantido em solução salina estéril contendo 400 U/ml de penicilina e 80 ug/ml de estreptomicina com soro fetal bovino a 20% e deixado em geladeira por 24 horas. O material em meio de cultura foi colocado em estufa a 24-25°C e examinado com 7, 14 e 21 dias.

Inoculação em hamster: somente o material de pele e vísceras de cães sentinelas necropsiados foi inoculado em patas traseiras de hamsters, os quais foram acompanhados por período de dez meses. A não aplicação desta técnica de isolamento para todo o tipo de material coleta-

do, deveu-se à falta de planejamento na montagem do projeto.

RESULTADOS

Este trabalho pretendeu focalizar a atividade enzoótica de *L. (V.) braziliensis* em ambiente florestal e peridomiciliar.

Com relação aos cães sentinelas, os resultados relativos ao tempo de exposição, em dias, e do teste da IFI constam da Tabela 1. Estão registrados aqui apenas oito animais. Entretanto, o número total utilizado foi de dezoito. Oito deles estiveram envolvidos na floresta e dez em peridomicílio. A ausência de alguns nesta tabela se deveu a exclusões devido à morte precoce e ao estado de saúde inadequado, como paralisia provocada por agentes virais enzoóticos locais. Justamente por isso, os animais substitutos de números 3, 5 e 8 tiveram tempo de exposição inferior ao da estação climática. Os cães sentinelas estiveram expostos em estações distintas, independentemente do ano, porém perfazendo, ao final, um ano integral de observações. Infelizmente, este tempo não foi suficiente para demonstrar a infecção parasitológica ou teste sorológico reativo desses animais.

Quanto à coleta de flebotomíneo, a Tabela 2 mostra o número de exemplares femininos por espécie, coletado com a armadilha CDC, iscada ou não com cão. O sexo masculino teve a seguinte distribuição: *L. intermedia* 87; *L. pascallei* 45 e *P. ayrozai* 190. Populações conhecidamente antropófilas estiveram presentes em número não expressivo, em relação ao número de horas trabalhadas pelo aparelho.

A Tabela 3 apresenta os pequenos mamíferos terrestres capturados durante a investigação. Do total capturado, 76,6% correspondeu ao gênero *Oryzomys* subgênero *Oligoryzomys* (45,3%) e a *Rattus rattus* (31,3%). Merece menção a controvérsia sobre a definição taxonômica entre roedores do gênero *Oryzomys* (COBERT & HILL, 1980⁴, HONACKI et al., 1982²⁰). Destaque deve ser dado ainda à proporção (29,3%) desses animais no peridomicílio. Além disso, a coleta de apenas 24 exemplares daquele grupo na floresta, evidencia a possibilidade desses roedo-

GOMES, A. de C.; COUTINHO, S. G.; PAIM, G. V.; OLIVEIRA, S. M. O. de; GALATI, E. A. B.; NUNES, M. P.; CAPIN-
ZAIKI, A. N.; YAMAMOTO, Y. I. & ROTTER, P. — Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana.
8. Avaliação da atividade enzoótica de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, em ambiente florestal e peridomiciliar,
região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 32(2): 105-115, 1990.

TABELA 1

Resultado do teste sorológico (IFI) para cães sentinelas expostos em ambiente florestal e perido-
miliar e período de cativeiro pós-exposição, São Paulo 1982/1985

Local	Animal número	Dias exposição	Dias cativeiro	Teste IFI
Floresta	1	91	150	NR
	2	90	154	NR
	3	59	158	NR
	4	92	207	NR
Peridomiciliar	5	77	158	NR
	6	92	197	NR
	7	97	153	NR
	8	80	164	NR

TABELA 2

Resultado acumulado de todos os exemplares do sexo feminino coletados com armadilha CDC,
segundo o local e estímulo atrativo, animal ou luz, bairro Pedra do Largo, Miracatu/Pedro de
Toledo, São Paulo, 1982/1985

Espécies	Floresta		Peridomicílio	Total
	CDC-cão	CDC-luz	CDC-luz	
<i>Lutzomyia edwardsi</i>	—	3	1	4
<i>Lutzomyia ferreirana</i>	—	1	—	1
<i>Lutzomyia fischeri</i>	5	14	5	24
<i>Lutzomyia guyanensis</i>	1	3	—	4
<i>Lutzomyia intermedia</i>	—	2	164	166
<i>Lutzomyia lanei</i>	1	5	—	6
<i>Lutzomyia microps</i>	3	9	—	12
<i>Lutzomyia migonei</i>	1	1	1	3
<i>Lutzomyia pascali</i>	4	15	10	29
<i>Psychodopygus ayrozai</i>	26	167	10	203
Total	41	220	191	452

res servirem de elo contínuo entre a floresta e o ambiente extraflorestal, incluindo o domicílio. Quanto ao exame parasitológico de material oriundo de pele, baço e fígado, para *Leishmania*, foi negativo para todos. Animais identificados como *Abrothrix sp.*, segundo distribuição geográfica de NOWAK & PARADISO (1983)²⁴, são registrados pela primeira vez no Brasil.

O censo canino longitudinal, associado ao teste sorológico, consta da Tabela 4. Houve um

decréscimo do número de cães residentes a cada censo, o que indica um tempo de exposição individual relativamente pequeno, exceto para seis cães que participaram do início ao final do estudo. Notou-se ainda que as causas mais frequentes, que desencadearam este quadro, foram a flutuação da população humana e a mortalidade canina por causas diversas.

O teste da IFI para sete cães considerados portadores da infecção estão apresentados na

GOMES, A. de C.; COUTINHO, S. G.; PAIM, G. V.; OLIVEIRA, S. M. O. de; GALATI, E. A. B.; NUNES, M. P.; CAPIN-
ZAIKI, A. N.; YAMAMOTO, Y. I. & ROTTER, P. — Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana.
8. Avaliação da atividade enzoótica de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, em ambiente florestal e peridomiciliar,
região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 32(2): 105-115, 1990.

TABELA 3

Resultado da captura de pequenos mamíferos em ambiente florestal e peridomiciliar, bairro Pedra do Largo, Miracatu/Pedro de Toledo, São Paulo, período 1983/1984

Espécies	Local de captura		Total
	floresta	peridomicílio	
<i>Abrothrix</i> sp.	6	9	15
<i>Akodon nigrita</i>	1	1	2
<i>Mus musculus</i>	—	6	6
<i>Oryzomys (Oli.) eliurus</i>	4	10	14
<i>Oryzomys (Oli.) flavescens</i>	1	1	2
<i>Oryzomys (Oli.) nigripes</i>	19	33	52
<i>Marmosa microtarsus</i>	5	1	6
<i>Oximycterus</i> sp.	2	1	3
<i>Nectomys squamipes</i>	1	1	2
<i>Rattus rattus</i>	3	44	47
<i>Zygodontomys lasiurus</i>	—	1	1
Total	42	108	150

TABELA 4

Censo canino e positividade focal do teste de imunofluorescência indireta (IFI) para cães residentes, bairro Pedra do Largo Miracatu/Pedro de Toledo, São Paulo, 1982/1985

		1982		1983		1984		1985		Total
		N	V	N	V	N	V	N	V	
Censo canino		44	—	14	17	19	14	11	6	125
IFI	Reagente	3	—	0	1 ^a	3	1 ^a	0	1 ^a	9
	Não Reagente	41	—	14	16	16	14	11	5	116

V — Cães com mais de um exame sorológico

N — Cães submetidos ao primeiro exame sorológico

a — Trata-se do mesmo animal

Tabela 5. Destes, quatro foram detectados em 1982 e tinham o mesmo título. Clinicamente, o cão 1 apresentava lesões ulceradas no pavilhão auricular e bolsa escrotal; o cão 2 possuía sinais de lesões na mucosa da narina direita (Fig. 2D); o cão 3 mostrava acentuada queda de pelo e emagrecimento, enquanto que o 4 não apresentava qualquer tipo de enfermidade. O exame parasitológico direto desses quatro animais, somente revelou a presença de *Leishmania* no cão 1; enquanto que a tentativa de isolamento do agente foi negativa para os quatro (Tabela 5).

Em 1984, três outros cães incorporados ao grupo de estudo apresentavam títulos IFI de 1:90 (cão 5), 1:80 (cão 6) e 1:80 (cão 7) (Tabela 5). Clinicamente, o cão 7 não apresentava qualquer sinal da doença, porém o cão 5 era portador de lesão, em franca evolução, na mucosa nasal e, após coleta de sangue, foi sacrificado pelo seu proprietário; o cão 6 apresentava sinais patológicos nasais, como manchas hipocrômicas na mucosa e formação nodular submucosa bem delimitada (Fig. 2E). Material de biópsia desta lesão foi positiva para *Leishmania* mas negativa para a cultu-

TABELA 5

Títulos do teste IFI para sete cães portadores da leishmaniose mucocutânea, bairro Pedra do Largo, Miracatu/Pedro de Toledo, São Paulo, 1982/1985

CÃO	ANO			
	1982	1983	1984	1985
1	1:45	1:180	1:180	1:90
2*	1:45	—	—	—
3	1:45	—	—	—
4	1:45	—	—	—
5*	—	—	1:90	—
6*	—	—	1:180	—
7	—	—	1:180	—

* Animais portadores de lesão na mucosa nasal.

ra; finalmente o cão 7 teve exame de lâmina e cultura negativos. Enquanto que a positividade parasitológica foi de 2,4%, a reatividade sorológica (IFI) foi de 5,6%.

COMENTÁRIOS

Cães sentinelas, após permanência de um ano em exposição na floresta, apresentaram resultados parasitológicos e sorológicos negativos (Tabela 1), ao contrário do que foi obtido com sucesso no Panamá (HERRER & CHRISTENSEN, 1976¹⁷ e HERRER et al., 1971¹⁸, 1973¹⁹). Surpreendente, ainda, para o mesmo local, foi verificar que hamster exposto simultaneamente em igual período, se tornara infectado com *L. (V.) braziliensis* (GOMES et al., 1989)¹⁵. Uma das explicações para este fato está na ação vetorial. Assim, o comparecimento inexpressivo de flebotomíneo na armadilha CDC, iscada com cães sentinelas, em ambiente florestal, não demonstrou qualquer sinal da existência de uma espécie com hábito cinofílico (Tabela 2). Aliás, o resultado do estudo do hábito antropofílico de representantes desta fauna, levado a cabo na mesma região (GOMES & GALATI, 1989)¹⁴, muito pouco diferiu do obtido com cães. Portanto, a coincidência destes dois resultados, frente a comprovação da atividade focal silvestre de *L. (V.) braziliensis*, parece excluir ambos os hospedeiros (homem e cão) de terem participação epidemiológica importante na transferência do parasita do

ambiente florestal para fora dele. De igual modo, o resultado da coleta de flebotomíneo não sugeriu que este papel fosse desempenhado por algum dos representantes desta fauna (Tabela 2). Por outro lado, a ausência da infecção entre cães sentinelas expostos no peridomicílio, também está relacionada à ação vetorial. Isto porque, a coleta de apenas 166 exemplares femininos de *L. intermedia*, em quatro anos ininterruptos de coleta, pode justificar a existência de densidade aquém do limiar necessário à transmissão local do agente. Para isso, certamente muito contribuiu a borrifação com DDT nas habitações humanas e anexos.

Excluída a possibilidade do cão ser o veículo de dispersão do parasita na área estudada, a suspeita subsequente recairia sobre animais silvestres, com raio de ação envolvendo o ambiente domiciliar. Contudo, os exames parasitológicos de 125 pequenos mamíferos (Tabela 3), à semelhança do que ocorreu com DIAS et al. (1977)⁶, em Minas Gerais, em nada contribuíram para elucidar o ciclo vital de *L. (V.) braziliensis*. Não obstante esta conclusão, são dignas de nota as proporções de roedores pertencentes ao gênero *Oryzomys*, em níveis de 16,0% e 29,3%, respectivamente para a mata e peridomicílio, cujos representantes há registros de isolamento de *L. braziliensis* s. 1. (FORATTINI et al., 1972¹¹, 1973¹²; LAINSON & SHAW, 1970²¹ e NERY-GUMARÃES & AZEVEDO, 1964²³), se bem que *Rattus rattus* tendo contato com a mata não deixa de representar também uma possibilidade a mais de mobilidade de *Leishmania*, semelhantemente ao já demonstrado para o *Trypanosoma cruzi* (FORATTINI et al., 1983)¹³. Outra razão seria a impossibilidade de dissociar os resultados negativos das conhecidas desvantagens da técnica parasitológica aqui utilizada (unicamente cultura em meio clássico de N.N.N.). Durante os anos de observação, encontraram-se apenas quatro cães suspeitos e dois comprovadamente parasitados (5,6 e 2,4% respectivamente), entre os cães residentes na área estudada (Tabela 4). Embora os animais positivos estivessem convivendo livremente com outros, não reagentes ou parasitologicamente negativos, não foi perceptível a propagação da infecção na área. Isto sugere a dificuldade na circulação de *L. (V.) braziliensis*, cuja causa comum poderia ser atribuída a ação vetorial. Assim, o risco de infecção local

poderia ter sido igual tanto para cães sentinelas do peridomicílio como para os cães residentes (tabelas 4, 5). Conseqüentemente, conclui-se ser ainda muito frágil a enzootia extraflorestal.

Em outras áreas endêmicas, autores como AGUILAR et al. (1984)¹; BARRETO et al. (1984)²; COUTINHO et al. (1985)³; DIAS et al. (1977)⁶ e FALQUETO et al. (1986)⁷, admitem que o cão possa desempenhar algum papel epidemiológico importante. Todavia, isto continua sendo uma questão aberta e a exigir novos estudos, particularmente quanto as interrelações parasita-hospedeiro. Como exemplo, basta lembrar as diferenças significativas entre a manifestação sintomática e parasitológica de *Leishmania (V.) peruviana* e *L. (V.) braziliensis*, na população canina (HERRER, 1951¹⁶; FORATTINI et al., 1953⁸, 1973⁹ e PESSOA, 1961²⁷). Portanto, estas diferenças fazem deduzir que, para o mesmo hospedeiro, há distintos níveis de adaptação para os dois agentes. Neste sentido, *L. (V.) braziliensis* se diferencia por estar em estágio de adaptação menos desenvolvido. A pobreza parasitária e a infecção severa no cão, são comumente assinaladas, quer em área endêmica “nova”, quer em “velha”. Sob este prisma, o processo evolutivo em questão, ou a relação parasita-hospedeiro, embora variando de área “nova” para área “velha”, de alguma forma está influenciada pela atividade humana. Daí existirem, de um lado, as causas intrínsecas dando origem a capacidade do agente ocupar novos nichos ecológicos, o que implicaria vencer barreiras naturais e artificiais e, de outro, as extrínsecas, resultantes do tipo de organização social ou ocupacional do homem.

Face aos aspectos parasitológicos e edáfico-social, a importância epidemiológica do cão precisaria ser analisada sob dois ângulos, ou seja, em área endêmica “nova” de ocorrência dos casos humanos e em área “velha”, onde a incidência passaria a ser esporádica. Na primeira situação, a infecção humana e canina seriam acidentais, isto porque, a transmissão dependeria da estrutura natural do foco silvestre. Além disso, sendo o cão um animal estranho à fauna primitiva, dificilmente desempenharia papel de um bom reservatório, sem que para isso houvesse uma fase de adaptação do parasita ao novo hospedeiro. No caso da área “velha”, a sobrevivência do agente já indicaria processo de adaptação

em curso, o qual se completaria com a formação dos elos essenciais do parasita no novo ambiente. Assim, pois, se a experimentação de interrelações da *L. (V.) braziliensis* com o cão evoluir para uma estabilidade, forçosamente a zoonose extra-florestal assumiria grau de importância epidemiológica, a semelhança do que ocorre com a leishmaniose visceral por *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Como este aspecto não está claramente definido, considera-se ainda potencial a estabilidade deste quadro. Contudo, taxas de infecção canina de 17,2% assinaladas no Espírito Santo (FALQUETO et al., 1986⁷), o encontro deste agente em linfonodo, mas com intenso parasitismo visceral canino (MARZOCHI et al., 1984²²) e taxa expressiva de isolamento do agente em cães portadores da doença (PIRMEZ et al., 1988²⁸), na cidade do Rio de Janeiro, ambas consideradas áreas “velhas”, reforçam a suspeita de que este animal seja um virtual hospedeiro extraflorestal do agente em questão. Entretanto, para isso tornar-se integralmente aceito, o cão precisaria satisfazer os critérios de “good reservoir” propostos por BRAY (1982³).

CONCLUSÕES

1. A exposição de cães sentinelas na floresta e peridomicílio, ao lado dos exames parasitológicos negativos para roedores, em nada contribuiu para revelar a atividade enzoótica de *L. (V.) braziliensis* no bairro Pedra do Largo.
2. A baixa freqüência flebotomínea em armadilhas CDC que operaram em ambiente florestal é concordante com outras observações realizadas anteriormente na região, enquanto que o resultado do peridomicílio não poderá ser dissociado da aplicação de DDT nas habitações e anexos.
3. A taxa de positividade da infecção canina encontrada, entre 2,4 a 5,6%, é concordante com outras áreas endêmicas brasileiras, porém sugere papel epidemiológico não significativo do cão como hospedeiro extraflorestal do parasita.
4. Os quatro anos de estudos prospectivos na população canina residente na localidade Pedra do Largo e parcialmente monitorada por cães sentinelas, não tornou perceptível a cir-

culação da *L. (V.) braziliensis* no ambiente domiciliar. Conseqüentemente, sugere uma enzootia muito frágil, não assegurando ainda ciclos estáveis do parasita. Isso deve ter sido muito afetado pelas atividades de controle vetorial postas em prática nesta área.

SUMMARY

Ecological aspects of American cutaneous leishmaniasis. 8. Assessment on enzootic activity of *Leishmania (V.) braziliensis*, in forest and peridomicile environments of the Ribeira Valley region, São Paulo State, Brazil.

The evidence of mucocutaneous leishmaniasis transmission in the non-forest environment in the Ribeira Valley region, São Paulo, Brazil, has made this epidemiologic four years' study possible, viewing the enzootic activity of *L. (V.) braziliensis*. Furthermore, the natural infection in small mammals and the domestic dog population has been completed in collecting of phlebotomine sandflies in the forest and peridomiciliar environments. Positive test-results have only been found in resident dogs (*Canis familiaris*) with a rate of 5.6 and 2.4% for serological and parasitological test respectively. Among silvatic and synanthropic rodents collected, *Oryzomys (Olygoryzomys)* and *Rattus rattus* are pre-eminent having both been collected in equal proportions, in peridomiciliar environment. The sandfly *Lutzomyia intermedia* has contributed only with 166 feminine specimens due to insecticide (DDT) application on and in the human and domestic habitations. From the general epidemiologic standpoint the fragile *L. (V.) braziliensis* cycle in the unforested areas as well as the canine and small mammals roles as a domiciliar infection source are discussed, and their potential in the dispersion of this parasite in the researched area is analysed too.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Controle de Zoonoses da Secretaria de Higiene e Saúde Pública da Prefeitura Municipal da Cidade de São Paulo, em especial à Dra. Maria de Lourdes A. B. Reichman; The Wellcome Parasitology Unit, na pessoa de Dr. Ralph Lainson — Belém, Brasil; a Eng^a Carmem Moreno Classer — Diretora Técnica do Sr-2, Su-

perintendência de Controle de Endemias (SUCEM) — São Paulo, e ao Sr. José Lopes — Líder Comunitário.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUILAR, C. M.; FERNANDEZ, E.; FERNANDEZ, R. de & DEANE, L. M. — Study of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in Venezuela: the role of domestic animals. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 79: 181-195, 1984.
2. BARRETO, A. C.; CUBA-CUBA, C.; VEZENAT, J. A.; ROSA, A. C.; MARSDEN, P. D. & MAGALHÃES, A. V. — Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do Estado da Bahia. II — Leishmaniose canina. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 17: 59-65, 1984.
3. BRAY, R. S. — The zoonotic potencial of reservoirs of leishmaniasis in the Old World. *Ecol. Dis.*, 1: 257-267, 1982.
4. COBERT, G. B. & HILL, J. E. — A world list of mammalian species. London, British Museum/Comstock Publ., 1980.
5. COUTINHO, S. G.; NUNES, M. P.; MARZOCHI, M. C. A. & TRAMONTANO, N. — A survey for American cutaneous and visceral leishmaniasis among 1,342 dogs from areas in Rio de Janeiro (Brazil) where the human disease occur. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 80: 17-22, 1985.
6. DIAS, M.; MAYRINK, W.; DEANE, L. M.; DA COSTA, C. A.; MAGALHÃES, P. A.; BATISTA, S. M.; ARAUJO, F. G.; COELHO, M. V. & WILLIAMS, P. — Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana. I — Estudo de reservatórios em área endêmica no Estado de Minas Gerais. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 19: 403-410, 1977.
7. FALQUETO, A.; COURA, J. R.; BARROS, G. C.; GRIMALDI F^o, G.; SESSA, P. A.; CARIAS, V. R.; JESUS, A. C. & ALENCAR, J. T. A. — Participação do cão no ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar no município de Viana, Estado do Espírito Santo, Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 81: 155-163, 1986.
8. FORATTINI, O. P.; PATTOLI, D. & AUN, R. — Algumas observações sobre o comportamento da *Leishmania braziliensis* em cães. *Arq. Fac. Hig. S. Paulo*, 7: 139-155, 1953.
9. FORATTINI, O. P. — *Entomologia médica*. São Paulo, Edgard Blücher; EDUSP, 1973. V. 4.
10. FORATTINI, O. P. & OLIVEIRA, O. — Um foco de leishmaniose tegumentar na zona sul de São Paulo, Brasil. *Arq. Fac. Hig. S. Paulo*, 11: 23-34, 1957.
11. FORATTINI, O. P.; PATTOLI, D. B. G.; RABELLO, E. X. & FERREIRA, O. A. — Infecções naturais de mamíferos silvestres em área endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde públ. (S. Paulo)*, 6: 255-261, 1972.

GOMES, A. de C.; COUTINHO, S. G.; PAIM, G. V.; OLIVEIRA, S. M. O. de; GALATI, E. A. B.; NUNES, M. P.; CAPINZAIKI, A. N.; YAMAMOTO, Y. I. & ROTTER, P. — Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 8. Avaliação da atividade enzoótica de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, em ambiente florestal e peridomiciliar, região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 32(2): 105-115, 1990.

12. FORATTINI, O. P.; PATTOLI, D. B. G.; RABELLO, E. X. & FERREIRA, O. A. — Nota sobre infecção natural de *Oryzomys capito laticeps* em foco enzoótico de leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde públ. (S. Paulo)*, 7: 181-184, 1973.
13. FORATTINI, O. P.; FERREIRA, O. A.; RABELLO, E. X.; BARATA, J. M. S. & SANTOS, J. L. F. — Aspectos ecológicos da tripanossomíase americana. XVII. Desenvolvimento da domiciliação triatomínea regional, em centro de endemismo de *Triatoma sordida*. *Rev. Saúde públ. (S. Paulo)*, 17: 159-199, 1983.
14. GOMES, A. de C. & GALATI, E. A. B. — Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 7. Observações sobre capacidade vetorial flebotomínea em ambiente florestal primário do sistema da Serra do Mar, Região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde públ. (S. Paulo)*, 23: 136-142, 1989.
15. GOMES, A. de C.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; OTTATIS, S. M. & YAMAMOTO, I. — Active transmission of *Leishmania braziliensis braziliensis* in the Serra do Mar, São Paulo, Brazil. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 83: 193, 1989.
16. HERRER, A. — Leishmaniasis natural em perros procedentes de localidades utógenas. *Rev. Med. exp.*, 8: 87-118, 1949-51.
17. HERRER, A. & CHRISTENSEN, H. A. — Natural cutaneous leishmaniasis among dogs in Panamá. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 25: 59-63, 1976.
18. HERRER, A.; CHRISTENSEN, H. A. & BEUMER, R. J. — Use of sentinel animals in epidemiological studies of cutaneous leishmaniasis. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 65: 538-539, 1971.
19. HERRER, A.; CHRISTENSEN, H. A. & BEUMER, R. J. — Detection of leishmanial activity in nature by means of sentinel animal. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 67: 870-879, 1973.
20. HONACKI, J. H.; KINMAN, K. E. & KOEPL, J. W. — *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Lawrence, Ka., Allen Press, 1982.
21. LAINSON, R. & SHAW, J. J. — Leishmaniasis in Brazil: V. studies on the epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Mato Grosso State and observations on two distinct strains of *Leishmania* isolated from and forest animals. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 64: 654-657, 1970.
22. MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SABROZA, P. C.; SOUZA, M. A.; TOLEDO, L. M. & RANGEL F., F. B. — Leishmaniose visceral canina no Rio de Janeiro, Brasil. *Cadern. Saúde públ.*, 1: 432-436, 1985.
23. NERY-GUIMARÃES, F. R. & AZEVEDO, M. — Roedores silvestres ("*Oryzomys*") (Goeld) da Amazônia com infecção natural por *Leishmania*. *Hospital (Rio de J.)*, 66: 280-285, 1964.
24. NOWAK, R. M. & PARADISO, J. L. — *Walker's mammals of the world*. 4. ed. Baltimore, Johns Hopkins University Press, 1983. v. 2.
25. PAVLOVSKI, E. — *Natural nidity of transmissible diseases*. Moscow, Peace Publishers, 1965.
26. PESSOA, S. B. — Índices de disseminação da leishmaniose tegumentar em algumas zonas novas do Estado de São Paulo. *Rev. Biol. Hig. (S. Paulo)*, 11: 1-8, 1941.
27. PESSOA, S. B. — Classificação das leishmanioses e das espécies do gênero *Leishmania*. *Rev. argent. Hig. Saúde públ.*, 26: 41-50, 1961.
28. PIRMEZ, C.; COUTINHO, S. G.; MARZOCHI, M. C. A.; NUNES, M. P. & GRIMALDI Jr., G. — Canine american cutaneous leishmaniasis: a clinical and immunological study in dogs naturally infected with *Leishmania braziliensis* in an endemic area of Rio de Janeiro, Brazil. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 38: 52-58, 1988.

Recebido para publicação em 05/5/1989.