

PARTICIPAÇÃO DO CÃO NO CICLO DE TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO MUNICÍPIO DE VIANA, ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

ALOÍSIO FALQUETO*, JOSÉ RODRIGUES COURA**, GELCÍLIO COUTINHO BARROS*,
GABRIEL GRIMALDI Fº**, PAULO AUGUSTO SESSA*,
VALQUÍRIA ROCHA DAHER CARIAS*, ANTÔNIO CLAUDINO DE JESUS* &
JOSÉ TASSO AIRES DE ALENCAR***

Em área endêmica de leishmaniose tegumentar no município de Viana, Estado do Espírito Santo, investigou-se a ocorrência de infecção natural por Leishmania em animais domésticos, procurando-se relacionar a presença dos animais infectados com a ocorrência da doença humana.

No período de três semanas foram examinados 186 cães, dos quais 32 (17,2%) estavam parasitados. Durante um ano surgiram, entre os moradores da área, 11 casos novos de leishmaniose tegumentar. Três amostras humanas de Leishmania e 27 amostras isoladas de cães foram identificadas como L. braziliensis braziliensis. Observou-se nítida relação entre a presença de cães infectados e a ocorrência de novos casos humanos da doença. Supõe-se que a moléstia esteja se comportando na área como uma zoonose mantida pelos cães domésticos.

Palavras-chave: *Leishmania braziliensis braziliensis* – cão – leishmaniose cutânea
– ciclo de transmissão

A participação de animais domésticos no ciclo epidemiológico da leishmaniose tegumentar nas Américas é conhecida desde o início deste século. Pedroso (1913) e Brumpt & Pedroso (1913) foram os primeiros a observar a infecção natural em cães, no Estado de São Paulo.

Mazza (1926) encontrou cães infectados em área de desmatamento recente ao norte da Argentina, onde havia alta incidência de leishmaniose cutâneo-mucosa na população humana.

Nas áreas endêmicas da "Uta", forma benigna da leishmaniose tegumentar que ocorre no Peru, Herrer (1949/51) encontrou 46 cães infectados, entre 513 examinados.

No Panamá, Herrer & Christensen (1976) investigaram extensivamente a ocorrência da moléstia em cães domésticos, tendo encontrado 11 infectados entre 333 examinados.

Diversos trabalhos conduzidos em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar na Venezuela demonstraram que, tanto o cão como o jumento (*Equus asinus*), são frequentemente encontrados infectados (Pons & Londres, 1968; Bonfante-Garrido, Morillo & Torres, 1981; Bonfante-Garrido et al., 1981 e Aguilar et al., 1984).

No Brasil, estudos recentes têm demonstrado ser relativamente comum a presença de cães infectados em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar, especialmente na região Sudeste do país (Dias et al., 1977; Araújo Fº, 1978; Barreto et al., 1984 e Coutinho et al., 1985).

No Estado do Espírito Santo, a ocorrência da leishmaniose tegumentar humana é conhecida há longo tempo, tendo sido registrada primeiramente por Machado (1913). Transcorreram então mais de 50 anos sem que fossem realizados estudos mais aprofundados sobre a moléstia, nesse Estado. Em 1980, Barros et al. comunicaram a existência de um foco da doença no município de Viana-ES, onde observaram o acometimento de crianças de baixa idade, além de indivíduos adultos de ambos os sexos. Foi também notada uma alta densidade de flebotomíneos no interior das casas e no peridomicílio, o que fez com que os autores suspeitassem da transmissão domi-

Este trabalho foi realizado com auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e "UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases".

*Centro Biomédico da Universidade Federal do Espírito Santo – Caixa Postal 780, 29069 Vitória, ES, Brasil.

**Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Caixa Postal 926, 20001-Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

***Diretoria da Superintendência de Campanhas do Ministério da Saúde, Regional do Espírito Santo (SUCAM-ES).

Recebido para publicação em 6 de setembro e aceito em 19 de novembro de 1985.

ciliar da doença. Um passo fundamental para a comprovação de tal hipótese seria, pois, a investigação de reservatórios naturais de leishmânias* nas proximidades das casas, o que constituiu o argumento principal para a realização do presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição da área: a área estudada (Fig. 1) localiza-se no município de Viana, Estado do Espírito Santo, a 20°21' de latitude Sul e 40°28' de longitude Oeste, à altura do quilômetro 18 da rodovia BR-262, que liga Vitória, capital do Estado, a Belo Horizonte. Abrange quatro localidades contíguas, denominadas respectivamente Povoação, Perobas, Coacas e Formate, perfazendo cerca de 10 quilômetros quadrados de extensão territorial. Situa-se a 15 quilômetros da costa Atlântica, na encosta inferior da zona serrana, apresentando altitudes que variam de 30 a 340 metros.

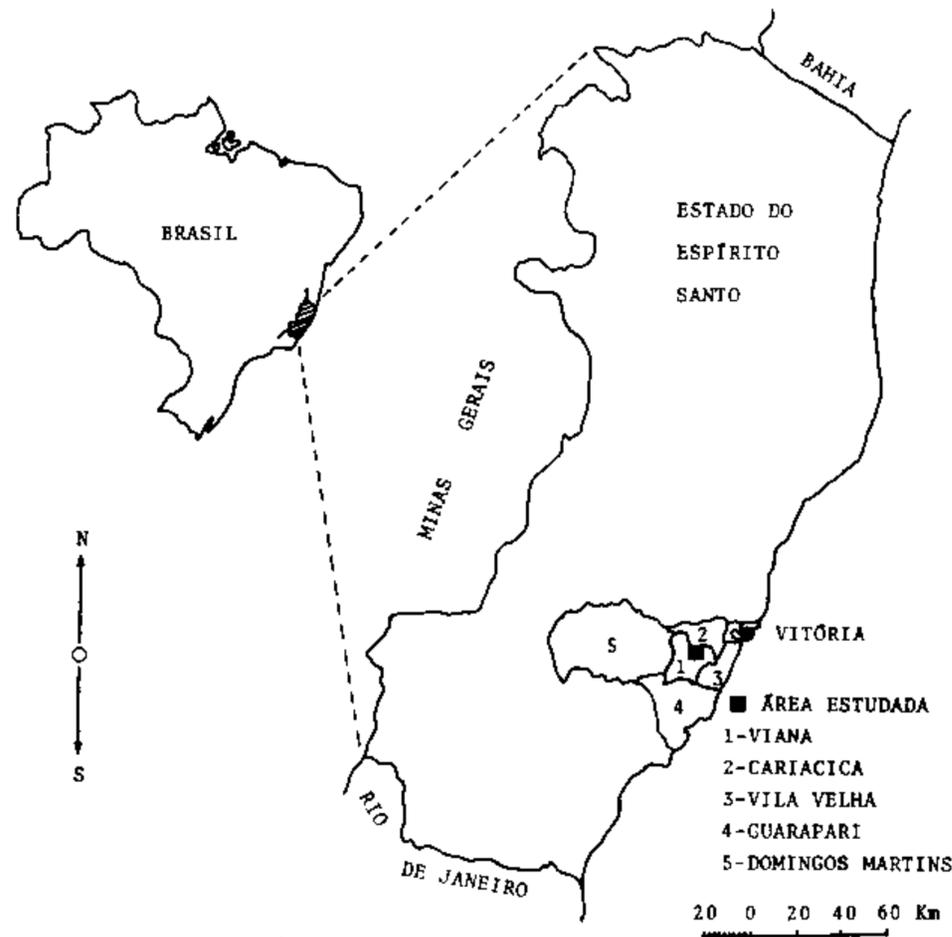


Fig. 1: localização da área estudada, no município de Viana, Estado do Espírito Santo.

Em novembro de 1981 habitavam na área 732 pessoas, compondo 140 núcleos familiares. As famílias moram geralmente em casas próprias, instaladas em pequenas propriedades herdadas de seus ascendentes. No processo de divisão sucessiva das propriedades, as novas casas passaram a ser construídas cada vez mais próximas entre si, constituindo verdadeiros povoados em certas partes da área. Árvores frutíferas de grande porte e extensos bananais recobrem todo o espaço em torno das casas. Da mesma forma que as habitações humanas, também os abrigos de animais domésticos ficam sombreados pela vegetação circundante, mesmo onde as florestas naturais não mais existem nas proximidades (Fig. 2).

A maioria dos habitantes da área dedica-se à agricultura, concentrando suas atividades no cultivo da banana, que ocupa calculadamente 80% da mão-de-obra campesina.

A vegetação natural da área está representada principalmente por florestas secundárias em diversas fases de evolução, aparecendo ainda, com certa frequência, lavouras abandonadas, invadidas por capinzais e arbustos que iniciam o processo de reconstituição das florestas.

Exame dos animais: no período de três semanas, em novembro de 1981, foram visitadas todas as habitações da área, com intuito de se examinar o maior número possível de animais domésticos. Procurava-se detectar lesões no tegumento de cães, gatos, equinos e muares, sendo consideradas lesões suspeitas, úlceras com diâmetro igual ou superior a 0,5cm em qualquer parte do corpo, além dos nódulos em áreas de poucos pêlos. Alterações cicatriciais, manchas, escoriações e peladeiras foram consideradas não suspeitas. Nos animais suspeitos retirava-se, através de biópsia,

*Utilizamos neste texto o termo "leishmânia", como nome genérico para designar parasita do gênero *Leishmania*.



Fig. 2: vista parcial da localidade de Coacas, mostrando um vale onde estão instaladas 11 casas, em meio aos bananais. C - Pontos onde estão instaladas algumas das casas; B - Bananais; F - Floresta secundária.

um ou dois fragmentos das bordas das lesões, para confecção de esfregaços que foram fixados com metanol e corados pelo Giemsa. No exame microscópico das lâminas foram percorridos 1.600 campos antes de se considerar o resultado negativo. O mesmo fragmento utilizado na preparação dos esfregaços foi em seguida macerado em aparelho triturador, de vidro, juntamente com 1,5 ml de solução salina estéril a 0,85%, contendo penicilina e estreptomicina nas concentrações de 400U/ml e 80 μ g/ml, respectivamente. A suspensão foi inoculada por via subcutânea no focinho de hamsters (*Cricetus auratus*), na dose de 0,4 a 0,7 ml cada, sendo utilizados dois hamsters para cada animal suspeito. Os hamsters foram observados durante 10 meses, sendo examinados no decorrer desse período quando apresentassem sinais da doença, ou no final do mesmo, em caso contrário.

Da mesma forma que nos animais suspeitos, fragmentos de pele das orelhas foram colhidos de 23 cães considerados não suspeitos, sendo o material processado segundo as técnicas descritas anteriormente.

Acompanhamento da população humana: a população humana da área foi acompanhada no período de fevereiro de 1982 a janeiro de 1983, sendo diagnosticados e tratados todos os casos novos de leishmaniose tegumentar surgidos nesse período. Para o diagnóstico da doença utilizou-se, além do exame clínico, a Intradermoreação de Montenegro (IRM) e, em alguns casos, biópsias que serviram também para o isolamento de amostras de leishmânias, através da inoculação em hamsters.

Procurou-se relacionar a incidência de novos casos humanos, com a presença de cães doentes nas proximidades das casas.

Caracterização das leishmânias isoladas: a partir dos hamsters infectados as amostras de leishmânias foram cultivadas em meio difásico NNN, ao qual se adicionou antibióticos (200U/ml de penicilina e 200 μ g/ml de estreptomicina) e sangue fresco de coelho a 7,5%, desfibrinado. Como sobrenadante utilizou-se meio líquido de LIT enriquecido com BHI (Infusão de Cérebro e Coração) e suplementado com soro bovino fetal a 10%, inativado (Jaffe, Grimaldi Jr. & McMahon-Pratt, 1984). Para a obtenção da massa parasitária as amostras foram repassadas para o meio líquido de Schneider, suplementado com soro bovino fetal a 20%, inativado, contendo gentamicina (200 μ g/ml) (Hendricks, Wood & Hajduk, 1978).

A identificação dos parasitas a nível de subespécie foi feita através da análise de serodemas com um painel de anticorpos monoclonais específicos para os membros dos complexos *Leishmania braziliensis*, *L. mexicana*, *L. donovani* e *L. tropica* (McMahon-Pratt, Bennett & David, 1982; Jaffe & McMahon-Pratt, 1983; Jaffe et al., 1984; McMahon-Pratt, Jaffe & Grimaldi Jr., 1984 e McMahon-Pratt et al., 1985).

RESULTADOS

Infecção natural em animais domésticos: dos 186 cães existentes na área, 46 eram portadores de lesões suspeitas e destes, 31 estavam parasitados por leishmânias. Entre os 140 cães não suspeitos, 23 foram submetidos a biópsia, sendo que apenas um deste grupo mostrou-se parasitado. Este apresentava área cicatricial com pequenas crostas na orelha, tendo a lesão evoluído para úlcera dois meses após o exame. Em síntese o parasitismo por leishmânias foi comprovado em 32 (17,2%) dos 186 cães da área.

Em 25 cães positivos a doença manifestava-se na forma cutânea e em quatro apareciam somente lesões de mucosas; nos três restantes havia associação das duas formas. O aspecto ulcerado foi observado em 30 cães (Figs. 3 e 4) enquanto que nos dois restantes a doença manifestava-se na forma de nódulos e área cicatricial, respectivamente.



Fig. 3: cão "leão" (CV-23): úlcera leishmaniótica comprometendo a mucosa nasal.

Em 23 cães as lesões localizavam-se nas orelhas, sendo que em cinco destes apareciam concomitantemente úlceras em outras partes do corpo. Quatro animais apresentavam lesões exclusivamente no focinho e os cinco restantes mostravam acometimento de outras partes do corpo.

Vinte cães apresentavam lesão única e os outros 12, duas ou mais, chegando um destes a apresentar dez úlceras.

Em relação ao sexo a doença predominou significativamente entre as fêmeas: 23,4% positivas de 81 examinadas, contra 12,4% de 105 machos examinados.

Quanto aos métodos empregados no diagnóstico da leishmaniose tegumentar em cães, observou-se que tanto o exame direto como a inoculação foram igualmente eficientes, com resultados concordantes em 89,9% dos casos.

O exame direto mostrou sempre escassez de parasitas nas lesões. Apenas dois dos 28 esfregaços positivos apresentaram mais de um parasita por campo microscópico. Nos 26 esfregaços restantes, o número de campos examinados para confirmação da positividade variou de 5 a 1.500.

Nas 29 inoculações positivas, os hamsters adoeceram após períodos que variaram de 60 a 300 dias. Em 15 dessas inoculações a doença manifestou-se apenas no local da injeção. Em outras 11, além da lesão local houve também acometimento visceral. Nas três restantes a doença manifestou-se exclusivamente na forma visceral.



Fig. 4: cadela "mocinha" (CV-3), com lesão na face interna da orelha: localização mais frequentemente observada.

Os cães positivos foram acompanhados *in natura* durante dois anos. Ao final desse período havia ainda oito cães com lesões ativas. Dos 24 restantes, 11 foram retirados da área para estudos, nove morreram ou foram eliminados e quatro foram perdidos de controle. Não se observou cura espontânea de qualquer lesão durante o período de observação. Foi possível ainda observar o aparecimento de lesões nas mucosas de três cães que apresentavam inicialmente apenas a forma cutânea da doença.

Além dos cães foram examinados 67 gatos, cinco equinos e nove muares. Apenas dois muares apresentaram pequenas lesões suspeitas, cujo exame foi negativo.

Ocorrência da doença na população humana: os moradores da área foram divididos em dois grupos denominados respectivamente de alto risco e de baixo risco, de acordo com a presença ou não de cães infectados nas proximidades das casas. No período de fevereiro de 1982 a janeiro de 1983 foram registrados 11 casos novos de leishmaniose tegumentar, dos quais dez ocorreram no grupo de alto risco (Tabela I). Destes últimos, sete eram pessoas que moravam em casas com cães doentes. A idade dos pacientes variou de 3 a 65 anos, no entanto oito (72,7%) eram menores de 13 anos. Seis doentes eram do sexo masculino e cinco, do sexo feminino.

TABELA I

Ocorrência de leishmaniose tegumentar em moradores da área endêmica de Viana, Espírito Santo, acompanhados durante um ano

Grupos	Número de residências	Número de moradores	Casos novos de leishmaniose
Alto risco*	57	290	10
Baixo risco**	83	442	1

* Pessoas que moravam em casas com cães doentes e nas habitações vizinhas situadas a uma distância de até 100 metros.

** Moradores das casas afastadas mais de 100 metros, daquelas que albergavam cães doentes.

Caracterização dos parasitas: foram caracterizadas 30 amostras de leishmânias, sendo três isoladas de pessoas e 27 de cães. Todas apresentaram padrões de reatividade semelhantes, com os anticorpos monoclonais espécie e subespécie-específicos para o complexo *L. braziliensis* (Tabela

TABELA II

Amostras de leishmânias isoladas de pessoas e de cães, em Viana, Espírito Santo. Reatividade com anticorpos monoclonais específicos para membros do complexo *L. braziliensis*, através de ensaio radioimunológico indireto

Anticorpos monoclonais	<i>L. braziliensis</i> sp.		<i>L. b. braziliensis</i>	<i>L. b. panamensis</i>	<i>L. b. guyanensis</i>
	VI-4B9-D10	VI-2A4-C1	XIII-3E6-B11	VIII-5G3-F3	XLIV-5A2-H2
MHOM/BR/82/HV1	2+	2+	2+	±	-
MHOM/BR/82/HV2	2+	2+	+	±	-
MHOM/BR/82/HV4	2+	2+	+	±	-
MCAN/BR/82/CV1	2+	2+	2+	-	-
MCAN/BR/82/CV2	2+	2+	+	±	-
MCAN/BR/82/CV3	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV5	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV6	2+	2+	2+	-	-
MCAN/BR/82/CV7	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV8	2+	2+	2+	-	-
MCAN/BR/82/CV16	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV17	2+	2+	2+	-	-
MCAN/BR/82/CV20	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV21	2+	2+	2+	-	-
MCAN/BR/82/CV23	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV25	2+	2+	2+	-	-
MCAN/BR/82/CV27	2+	2+	+	-	-
MCAN/BR/82/CV28	2+	2+	+	-	-
MCAN/BR/82/CV30	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV31	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV32	2+	2+	2+	-	-
MCAN/BR/82/CV33	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV34	2+	2+	2+	-	-
MCAN/BR/82/CV36	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV37	2+	2+	+	-	-
MCAN/BR/82/CV38	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV39	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV40	2+	2+	2+	±	-
MCAN/BR/82/CV42	2+	2+	2+	-	-
MCAN/BR/82/CV43	2+	2+	2+	±	-

2+ = reação positiva intensa (maior que 10 vezes o nível basal); + = reação positiva moderada (5 a 10 vezes o nível basal); ± = reação positiva fraca (3 a 5 vezes o nível basal); - = reação negativa (menor que 3 vezes o nível basal).

II), sendo identificadas como *L. braziliensis braziliensis*. Nenhuma das amostras apresentou reação cruzada com anticorpos monoclonais específicos para os membros dos complexos *L. mexicana*, *L. donovani* e *L. tropica*.

DISCUSSÃO E COMENTÁRIOS

Há muito se tem suspeitado da importância do cão como reservatório em certas áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar no Novo Mundo. Ainda em 1949, Romaña et al. levantaram a hipótese da transmissão domiciliar da moléstia ao encontrarem pessoas e cães doentes convivendo na mesma casa. Admitiram os autores que os cães teriam contraído a doença na floresta, levando-a para o ambiente doméstico onde teria sido transmitida às pessoas pelos flebotomíneos ali abundantes. Na época parecia opor-se a este ponto de vista o fato de que tal achado, da mesma forma que outros semelhantes (Pifano, 1940 e Mazza, 1926), ocorreram em casas próximas das florestas, sugerindo que tanto as pessoas como os cães teriam contraído a moléstia a partir de uma fonte externa. Predominava então o conceito clássico da transmissão silvestre, reafirmado por Pessoa & Barreto (1948), segundo a qual os animais domésticos seriam hospedeiros acidentais do parasita.

Os achados de Herrer (1949/51), no Peru, revolucionaram de certa forma esse conceito. Nas áreas endêmicas da "Uta" esse autor observou nítida relação entre a presença de cães parasitados e a existência de grande número de crianças doentes, fatos esses associados à aparente ausência de reservatórios silvestres na região.

Alguns anos depois foram publicados os primeiros achados de infecção natural por leishmânias em animais silvestres no Panamá (Hertig, Fairchild & Johnson, 1957) e no Brasil (Forattini, 1960). Seguiu-se, ainda na década de 1960, uma série de novas descobertas sobre o assunto, de modo que a transmissão domiciliar da "Uta" passou a ser vista como uma exceção à nova regra.

Recentemente, porém, com a publicação de novos achados sobre a leishmaniose tegumentar em animais domésticos, parece voltar à tona a antiga hipótese da participação desses animais como reservatórios do parasita.

Em Viana-ES, chama-se atenção para o achado de 32 cães infectados, representando 17,2% dos 186 examinados. Os animais doentes, ao invés de aparecerem em domicílios instalados junto às florestas, foram observados mais frequentemente onde havia maior concentração de casas, geralmente em meio aos bananais. Fato comum foi o achado de mais de um cão doente na mesma casa, ou várias casas albergando cães doentes, distantes entre si poucas dezenas de metros. Em um vale da área (Fig. 2), onde estão instaladas em meio aos bananais 11 residências, foram examinados 18 cães, dos quais nove estavam infectados.

À primeira vista parecia paradoxal a ocorrência de apenas 11 casos humanos da doença em uma área com 732 habitantes, onde 17,2% dos cães estavam infectados. No entanto, quando se iniciaram as pesquisas na área a incidência da doença era bem maior (Barros et al., 1985). Nessa ocasião foi realizada uma tentativa de imunização da população contra leishmaniose tegumentar, tendo sido vacinadas mais de 200 pessoas que apresentavam IRM negativa, das quais 80% tiveram viragem do teste intradérmico após a vacinação (Mayrink et al., 1985). É provável que essa experiência tenha contribuído para diminuir a incidência da doença humana. Soma-se a isto o fato de que muitas pessoas da área já contraíram a doença, enquanto que outras teriam se tornado imunes através da exposição natural, sem manifestação clínica da infecção. Neste sentido Guerra (1982), investigando a ocorrência da infecção subclínica em moradores da área, encontrou, entre 147 indivíduos examinados, 32 (21,8%) com IRM positiva, não vacinados e sem sinais clínicos de leishmaniose.

Mattos (1981) estudou a fauna de flebotomíneos de Perobas, uma das quatro localidades da área, constatando que o número de exemplares capturados em galinheiros foi maior que no interior das casas. É possível então que os animais domésticos estejam mais expostos que o homem ao ataque dos transmissores, o que poderia explicar a elevada proporção de cães infectados.

Diante do exposto supõe-se que tenha ocorrido na área um surto de leishmaniose tegumentar humana que, por motivos diversos, estaria em fase de declínio, acometendo atualmente pessoas ainda suscetíveis. Já os cães continuariam sendo atingidos nas mesmas proporções, visto que as condições em que vivem parecem não terem sido alteradas.

Vários autores têm observado a ocorrência de modificações na epidemiologia da leishmaniose tegumentar, suspeitando de sua transmissão domiciliar em diversas áreas endêmicas na região Sudeste do Brasil (Forattini et al., 1973, 1976; Tolezano, Macoris & Diniz, 1980; Gomes et al., 1982; Dias, 1983 e Sabroza, 1983). Ao que nos parece, os fatores que modificaram a epidemiologia da doença nessas áreas são complexos e variados. O foco de Viana-ES, apresenta muitas características em comum com as referidas áreas; uma delas é a alta densidade de flebotomíneos no ambiente doméstico, com predominância absoluta da espécie *Lutzomyia intermedia*.

Araújo F^o (1978) chamou a atenção para o fato de que em diversas áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar no Estado do Rio de Janeiro foi observada a presença marcante de bananais como parte importante da vegetação local. Em Viana, é possível que a introdução da bananicultura tenha influenciado na modificação da epidemiologia da doença. Os bananais próximos das casas proporcionam uma proteção natural contra a luz solar, além de contribuir para a manutenção de umidade e matéria orgânica no solo, características estas que, segundo Forattini (1953), seriam propícias para a procriação dos flebotomíneos. Soma-se a isto a presença do homem e dos animais domésticos facilitando a alimentação dos insetos que aparecem então em alta densidade no ambiente doméstico.

Por outro lado a banana, alimento apreciado pela maioria dos animais silvestres, atraiu então muitas espécies de mamíferos, entre as quais existiriam reservatórios naturais da *L. braziliensis braziliensis*. Admitindo essa hipótese poder-se-ia supor que algum cão teria contraído a moléstia nas florestas remanescentes, trazendo-a para o ambiente doméstico, onde já existiam condições propícias para sua disseminação. É possível que a manutenção do ciclo doméstico de transmissão independa agora da presença de animais silvestres infectados. Estudos paralelos conduzidos na área

(Falqueto, 1984) demonstraram que a infecção natural em animais silvestres parece ser rara pois, entre 257 mamíferos silvestres capturados, não foi encontrado qualquer indício de parasitismo pela *L. braziliensis braziliensis*. Com estes dados supõe-se que os animais silvestres tenham atualmente importância secundária na manutenção da endemia, tendo cedido lugar ao cão que, pelas circunstâncias, estaria exercendo papel importante como reservatório do parasita na área.

SUMMARY

In an endemic area of cutaneous leishmaniasis in the Viana municipality, Espírito Santo state, an investigation was performed on natural hosts of *Leishmania* among domestic animals, trying to correlate the presence of infected animals with the occurrence of the disease in humans.

Within a three weeks period 186 dogs were examined and 32 (17,2%) were found infected. Eleven new cases of cutaneous leishmaniasis were recorded during one year, among people living in the endemic area. A close relationship was observed between the presence of infected dogs and the occurrence of human leishmaniasis.

In the area studied, the disease seems to behave as a zoonosis maintained by domestic dogs.

Key words: *Leishmania braziliensis braziliensis* – dog – cutaneous leishmaniasis – transmission cycle

AGRADECIMENTOS

A Dra. Diane McMahon-Pratt que gentilmente forneceu os anticorpos monoclonais.

À Prefeitura Municipal de Viana-ES e à Superintendência de Campanhas do Ministério da Saúde (SUCAM-ES) pelo apoio nas atividades de campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, C.M.; FERNANDEZ, E.; FERNANDEZ, R. & DEANE, L.M., 1984. Study of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in Venezuela. The role of domestic animals. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 79 :181-95.
- ARAÚJO F^o, N.A., 1978. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana na Ilha Grande, Rio de Janeiro. Estudos sobre a infecção humana, reservatórios e transmissores. Tese. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 148p.
- BARRETO, A.C.; CUBA CUBA, C.; VEXENAT, J.A.; ROSA, A.C.; MARSDEN, P.D. & MAGALHÃES, A.V., 1984. 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.
- BARROS, G.C.; SESSA, P.A.; MATTOS, E.A.; CARIAS, V.R.D.; MAYRINK, W.; ALENCAR, J.T.A.; FALQUETO, A. & JESUS, A.C., 1985. Foco de leishmaniose tegumentar americana nos municípios de Viana e Cariacica, Estado do Espírito Santo, Brasil. *Rev. Saúde Pública*, São Paulo, 19 :146-53.
- BARROS, G.C.; SESSA, P.A.; MAYRINK, W.; DAHER, V.R.; MATTOS, E.A. & ALENCAR, J.T.A., 1980. Foco de leishmaniose tegumentar americana no município de Viana, Espírito Santo. In: V Congresso Brasileiro de Parasitologia (Resumos), Rio de Janeiro.
- BONFANTE-GARRIDO, R.; MELENDEZ, E.; TORRES, R.; MORILLO, N.; ARREDONDO, C. & URDANETA, I., 1981. Enzootic equine cutaneous leishmaniasis in Venezuela. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 75 :471.
- BONFANTE-GARRIDO, R.; MORILLO, N. & TORRES, R., 1981. Leishmaniasis cutanea canina en Venezuela. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.*, 91 :160-5.
- BRUMPT, E. & PEDROSO, A., 1913. Pesquisas epidemiológicas sobre a leishmaniose americana das florestas no Estado de São Paulo. *Ann. Paul. Med. Cir.*, 1 :97-136.
- COUTINHO, S.G.; NUNES, M.P.; MARZOCHI, M.C.A. & TRAMONTANO, N., 1985. A survey for american cutaneous and visceral leishmaniasis among 1342 dogs from areas in Rio de Janeiro (Brazil) where the human diseases occur. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 80 :17-22.
- DIAS, M., 1983. Leishmaniose tegumentar americana na zona do Rio Doce, Minas Gerais. Aspectos da doença no homem e estudo de reservatórios. Tese. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- DIAS, M.; MAYRINK, W.; DEANE, L.M.; COSTA, C.A.; MAGALHÃES, P.A.; MELO, M.N.; BATISTA, S.M.; ARAÚJO, F.G.; COELHO, M.V. & WILLIAMS, P., 1977. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana. I. Estudo de reservatórios em área endêmica no Estado de Minas Gerais. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 19 :403-10.
- FALQUETO, A., 1984. Leishmaniose tegumentar em Viana, Estado do Espírito Santo: Investigação sobre a infecção natural em animais e sua relação com a ocorrência da doença humana. Tese. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 135p.
- FORATTINI, O.P., 1953. Nota sobre criadouros naturais de flebótomos em dependências peri-domiciliares no Estado de São Paulo. *Arq. Fac. Hig. Saúde Públ. Univ. São Paulo*, 7 :157-65.
- FORATTINI, O.P., 1960. Sobre os reservatórios naturais da leishmaniose tegumentar americana. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 2 :195-203.

- FORATTINI, O.P.; PATTOLI, D.B.G.; SERRA, O.P.; ROCHA E SILVA, E.O. & RABELLO, E.X., 1973. Nota sobre leishmaniose tegumentar no litoral Sul do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Públ.* (São Paulo), 7 :447-52.
- FORATTINI, O.P.; RABELLO, E.X.; SERRA, O.P.; COTRIM, M.D.; GALATI, E.A.B. & BARATA, J.M.S., 1976. Observações sobre a transmissão da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Públ.* (São Paulo), 10 :31-43.
- GOMES, A.C.; RABELLO, E.X.; SANTOS, J.L.F. & GALATI, E.A.B., 1982. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 2. Ecótopo artificial como abrigo de *Psychodopygus intermedius* e observações sobre alimentação e reprodução sob influência de fatores físicos naturais. *Rev. Saúde Públ.* (São Paulo), 16 :149-59.
- GUERRA, M.O.P., 1982. Infecção subclínica na leishmaniose tegumentar americana. Tese. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 84p.
- HENDRICKS, L.D.; WOOD, D.E. & HAJDUK, M.E., 1978. Haemoflagellates commercially available liquid media for rapid cultivation. *Parasitology*, 76 :309-16.
- HERRER, A., 1949/51. Estudios sobre leishmaniasis tegumentaria en el Peru. V. Leishmaniasis natural en perros procedentes de localidades utógenas. *Rev. Med. Exp.* (Lima), 8 :87-118.
- HERRER, A. & CHRISTENSEN, H.A., 1976. Natural cutaneous leishmaniasis among dogs in Panama. *The Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 25 :59-63.
- HERTIG, M.; FAIRCHILD, G.B. & JOHNSON, C.M., 1957. Leishmaniasis transmission-reservoir project. *Ann. Rep. Gorgas Memorial Laboratory*, 1956 :9-11.
- JAFFE, C.L.; BENNETT, E.; GRIMALDI JR., G. & McMAHON-PRATT, D., 1984. Production and characterization of species-specific monoclonal antibodies against *Leishmania donovani* for immunodiagnosis. *J. Immunol.*, 133 :440-7.
- JAFFE, C.L.; GRIMALDI JR., G. & McMAHON-PRATT, D., 1984. The cultivation and cloning of *Leishmania*. In: MOREL, C.M. (Ed.). *Genes and Antigens of Parasites. A Laboratory Manual*. 2nd Edit. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, pp. 121-35.
- JAFFE, C.L. & McMAHON-PRATT, D., 1983. Monoclonal antibodies specific for *Leishmania tropica*. Characterization of antigens associated with stage and species-specific determinants. *J. Immunol.*, 131 :1987-92.
- MACHADO, W., 1913. Comunicação à sessão de 28 de maio, da Sociedade Brasileira de Dermatologia. *Bol. Soc. Bras. Dermatol.*, 2 :25-8.
- MATTOS, E.A., 1981. Bionomia dos flebotomíneos de Perobas, município de Viana (ES), área endêmica de leishmaniose tegumentar americana. Tese. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 137p.
- MAYRINK, W.; WILLIAMS, P.; COSTA, C.A.; MAGALHÃES, P.A.; MELO, M.N.; DIAS, M.; LIMA, A.O.; MICHALICK, M.S.M.; BARROS, G.C.; SESSA, P.A.; CARVALHO, E.F. & ALÊNCAR, J.T.A., 1985. An experimental vaccine against American dermal leishmaniasis: experience in the State of Espírito Santo, Brazil. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 79 :259-69.
- MAZZA, S., 1926. Leishmaniosis tegumentaria y visceral. *Bol. Inst. Clin. Quir.*, 2 :209-16.
- McMAHON-PRATT, D.; BENNETT, E. & DAVID, J.R., 1982. Monoclonal antibodies that distinguish subspecies of *Leishmania braziliensis*. *J. Immunol.*, 129 :926-7.
- McMAHON-PRATT, D.; BENNETT, E.; GRIMALDI JR., G. & JAFFE, C.L., 1985. Subspecies and species-specific antigens of *Leishmania mexicana* characterized by monoclonal antibodies. *J. Immunol.*, 134 :1935-40.
- McMAHON-PRATT, D.; JAFFE, C.L. & GRIMALDI JR., G., 1984. Application of monoclonal antibodies to the classification of *Leishmania* species. In: MOREL, C.M. (Ed.). *Genes and Antigens of Parasites. A Laboratory Manual*. 2nd Edit. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, pp. 47-91.
- PEDROSO, A.M., 1913. Leishmaniose local do cão. *Ann. Paul. Med. Cirurg.*, 1 :33-9.
- PESSOA, S.B. & BARRETO, M.P., 1948. Leishmaniose tegumentar americana. Ministério da Educação e Saúde, Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 727 p.
- PIFANO, F., 1940. La leishmaniasis tegumentaria en el Estado Yaracuy, Venezuela. *Rev. Polic. Caracas*, 9 :3639-58.
- PONS, A.R. & LONDRES, H., 1968. Leishmaniasis tegumentaria americana en el Asentamiento Campesino de Zipayare. Aspectos epidemiológicos clínicos e imunológicos. Su importancia en la reforma agraria. *Kasmera*, 3 :5-59.
- ROMAÑA, C.; NÁJERA, L.; CONEJOS, M. & ABALOS, J.W., 1949. I. Leishmaniosis tegumentaria en perros de Tucuman. II. Foco doméstico de leishmaniosis. *An. Inst. Med. Regional.*, 2 :283-92.
- SABROZA, P.C., 1983. O domicílio como fator de risco na leishmaniose tegumentar americana. Estudo epidemiológico em Jacarepaguá, município do Rio de Janeiro. Tese. Escola Nac. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 187p.
- TOLEZANO, J.E.; MACORIS, S.A.G. & DINIZ, J.M.P., 1980. Modificação na epidemiologia da leishmaniose tegumentar no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolpho Lutz*, 40 :49-54.