

# ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS SOBRE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR (LT) E MAL DE CADEIRAS NO MUNICÍPIO DE CORGUINHO, MATO GROSSO DO SUL - ESTUDO DE RESERVATÓRIOS, 1992-1994.

V.L.B. NUNES<sup>1</sup>, E.T. OSHIRO<sup>1</sup>, M.E.C. DORVAL<sup>1</sup>, M.A. ESPÍNDOLA<sup>1</sup>, G. CRISTALDO<sup>1</sup>, H.C. da ROCHA<sup>1</sup>, A.B. NUNES<sup>2</sup>,  
R. da C. PIRES<sup>2</sup> & W.B. GARCIA<sup>2</sup>

(1)Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/UFMS, Campo Grande-MS, Brasil; (2) Alunos de Iniciação Científica. Convênio CNPq/UFMS. Endereço para correspondência: Vânia L.B. Nunes, Departamento de Patologia/UFMS, Caixa Postal 649, Cep 79070-900, Campo Grande-MS, Brasil.

**SUMÁRIO:** Com o objetivo de esclarecer aspectos epidemiológicos sobre leishmaniose tegumentar, foram realizados estudos em 68 animais domésticos e em 58 silvestres, na região de Boa Sorte, município de Corguinho, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, de agosto de 1992 a agosto de 1994. Na oportunidade pesquisou-se, também, infecção por *Trypanosoma evansi*. Não foram detectadas infecções por *Leishmania* sp. Infecção por *T. evansi* foi observada em um cão e em roedor, *Oryzomys* sp, sendo este o primeiro relato de infecção por *T. evansi* nesse gênero de roedor. Deve ser mantida a vigilância na área com exames periódicos nos animais domésticos em busca de infecções por tripanosomatídeos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leishmaniose tegumentar, *Leishmania* sp, "Mal de Cadeiras", *Trypanosoma evansi*, reservatórios.

## INTRODUÇÃO

A leishmaniose tegumentar (LT) é uma doença infecciosa crônica que tem por agentes etiológicos protozoários do gênero *Leishmania*. A protozoose determina lesões cutâneas, simples ou múltiplas, e ou de mucosas sendo as últimas responsáveis por destruições e ou mutilações que se traduzem por marcantes fenômenos psicossociais e estigmatizantes nos pacientes (COSTA *et alii*, 1980; NEVES, 1991; PESSOA & MARTINS, 1982; SAID, 1984). A parasitose apresenta, também, importância em Medicina Veterinária, uma vez que animais silvestres e ou domésticos podem participar de seu ciclo de transmissão, podendo ainda, desenvolver a doença, sem que exista até o momento, terapêutica para os mesmos (PIRMEZ *et alii*, 1988b).

Considera-se que o perfil epidemiológico de transmissão de LT mais comum no Brasil seja o silvestre, em que o homem adquire a parasitose ao adentrar seu foco natural onde coexistem seus reservatórios naturais e vetores (DEDET, 1993; FORATTINI *et alii*, 1980; GRIMALDI Jr. *et alii*, 1989; LAINSON & SHAW, 1987; PESSOA & BARRETO, 1948; PIRAINO *et alii*, 1980; SARAIVA *et alii*, 1981). Entretanto, em algumas regiões do país, particularmente no Sudeste, em áreas em que o agente etiológico é *Leishmania*

(*Viannia*) *braziliensis*, a doença tem mostrado aspectos epidemiológicos diferentes do acima mencionado e tem sido encontrada em regiões há muito colonizadas. Nessas áreas a protozoose vem sendo detectada em animais domésticos, principalmente em cães, existindo, então, uma estreita correlação entre a infecção nos mesmos e a doença humana (AGUILAR *et alii*, 1986, 1987; ARAÚJO FILHO, 1978; BARRETO *et alii*, 1984; COUTINHO *et alii*, 1985; DIAS, 1982; FALQUETO *et alii*, 1986; FORATTINI *et alii*, 1976; OLIVEIRA-NETO *et alii*, 1988; PIRMEZ *et alii*, 1988a; SABROZA, 1981; TOLEZANO *et alii*, 1980; YOSHIDA *et alii*, 1990).

Em Mato Grosso do Sul (MS) dados disponíveis da Fundação Nacional de Saúde (FNS) indicam a presença de LT em 68 de seus 77 municípios e a ocorrência de formas clínicas graves (MENEZES *et alii*, 1986), desconhecem-se, no entanto, até o momento, as características epidemiológicas da doença no Estado.

Por outro lado, MS é foco, também, de "Mal de Cadeiras" em eqüinos, patologia determinada por *Trypanosoma evansi*, de particular interesse para a região uma vez que esses animais são indispensáveis na bovinocultura a qual constitui importante atividade econômica do Estado. Sabe-se que, focos de "Mal de Cadeiras" podem ser mantidos não só por

animais domésticos: eqüídeos, bovinos e caninos, como também, por animais silvestres, tais como: capivaras, morcegos e quatis (NUNES *et alii*, 1993; SHAW, 1977; STEVENS *et alii*, 1989).

Sabendo-se da ocorrência de LT em Boa Sorte, município de Corguinho, MS, e que o agente etiológico encontrado na área é *Leishmania (Viannia) braziliensis* (Nunes, V.L.B., comunicação pessoal; SERAFINI *et alii*, 1992), o presente trabalho teve por objetivo esclarecer aspectos epidemiológicos da parasitose na região mediante estudos sobre o parasitismo em animais domésticos e silvestres. Na oportunidade pesquisou-se, também, a infecção por *Trypanosoma evansi*.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Descrição da Área de Estudo:** O município de Corguinho está situado na região norte de Mato Grosso do Sul distando a sede aproximadamente 99 km de Campo Grande. Sua área compreende 2.632,2 km<sup>2</sup> e possui 3.689 habitantes (SEPLAN, 1993). A principal atividade da região é a pecuária, com predomínio da bovinocultura. O município compreende o distrito de Baianópolis, o patrimônio de Taboco, o povoado de Fala Verdade e pequenos aglomerados, dentre estes, o de Boa Sorte onde foi desenvolvido o presente estudo.

A localidade de Boa Sorte é formada de propriedades de pequeno porte e está situada a 19°54'42" LS e 55°8'17" LW, a 33 km ao sul da sede municipal. A população compreende cerca de 150 pessoas, com predomínio de nativos da raça negra, com alto grau de casamentos consanguíneos. As casas são muito pobres, não possuem latrina, eletricidade ou abastecimento de água e são na maioria construídas de pau-a-pique e recobertas com sapé. Com raras exceções, não possuem horta e ou pomar, sendo os espaços ao redor das mesmas recobertos por arbustos e capinzais que compõem a vegetação natural da área. Os moradores sobrevivem de pequenas plantações de cana de açúcar, arroz, milho, abóbora, feijão e mandioca ou da criação de pequenos animais, aves e suínos, sendo que muitos trabalham em atividades de pecuária em fazendas adjacentes.

A área caracteriza-se por um relevo ondulado pertencente ao conjunto da Serra de Maracaju, sendo o Morro de Boa Sorte a maior elevação. A vegetação natural está representada por cerrado, manchas de cerradão, matas ciliares e de serra.

**Exame de Animais Domésticos:** Foram visitadas todas as moradias de Boa Sorte, com o objetivo de se examinar a maioria dos animais domésticos da localidade. Cães, gatos e eqüídeos foram examinados em busca de lesões a nível de pele. De lesões compatíveis com LT foram colhidos, após sedação do animal com Amplictil e aplicação de Xylocaina a 2% e assepsia da área com água, sabão e água oxigenada,

fragmentos das bordas utilizando "punch" de 4mm de diâmetro. Parte do material foi utilizada para a confecção de esfregaços por aposição corados pela técnica de Giemsa para a pesquisa de amastigotas e parte para o isolamento do parasita em cultura e ou em hamster. Para tanto, o material foi lavado cerca de 10 vezes em solução salina com antibióticos (penicilina G potássica 2.000 UI e sulfato de estreptomicina 200µg/ml) e triturado com tesoura de ponta fina. A seguir, a suspensão foi semeada em meio 3N com fase líquida constituída de BHI acrescido de 1.000 UI de penicilina e 100µg de sulfato de estreptomicina por ml e inoculada (0,5ml), via intradérmica, nas patas anteriores de dois hamsters, *Mesocricetus auratus*, com aproximadamente 40 dias.

As culturas (mantidas a 24°C em estufa incubadora para B.O.D., FANEM, modelo 347) foram examinadas, a partir do 7º até o 30º dia. Os hamsters foram examinados semanalmente em busca de lesões cutâneas por um período mínimo de 1 ano. Após transcorrido esse tempo, procedeu-se a necrópsia dos mesmos e o processamento de fragmentos de pele, baço e fígado para a pesquisa de amastigotas e para isolamento do parasita em meio 3N-BHI como acima descrito.

Dos animais foram ainda, colhidas amostras de sangue periférico para verificação da presença de tripanosomas. As amostras foram processadas através de: centrifugação em tubos de microhematócrito (WOO, 1969) e inoculação intraperitoneal em camundongos (0,5ml). A observação microscópica dos tubos de microhematócrito foi realizada de imediato e os que apresentaram tripomastigotas foram quebrados junto à camada do creme leucocitário para preparação de esfregaços delgados corados pela técnica de Giemsa e estudos morfológicos do tripanosoma. Os camundongos experimentalmente inoculados foram examinados duas ou mais vezes por semana, por um período mínimo de 30 dias, através do exame de sangue a fresco e ou pela técnica do microhematócrito. A partir dos camundongos que apresentaram tripomastigotas, foram preparados esfregaços delgados de sangue corados pela técnica de Giemsa para estudos morfológicos do tripanosoma.

Os cães foram submetidos, também, ao teste de Montenegro (TM) através da inoculação intradérmica na região flanco abdominal lateral esquerda de 0,2ml de antígeno Leishvacin<sup>®</sup> contendo 200µg de nitrogênio proteico por mililitro e a leitura feita após 48 horas (GENARO *et alii*, 1992; MAYRINK *et alii*, 1979; TAFURI *et alii*, 1993). Foram, ainda, colhidas amostras de sangue, para sorologia através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e da reação de fixação de complemento (RFC) (CAMARGO & REBONATO, 1969; COSTA *et alii*, 1991; COUTINHO *et alii*, 1985; PELEGRINO & BRENER, 1958). Para a RIFI foi

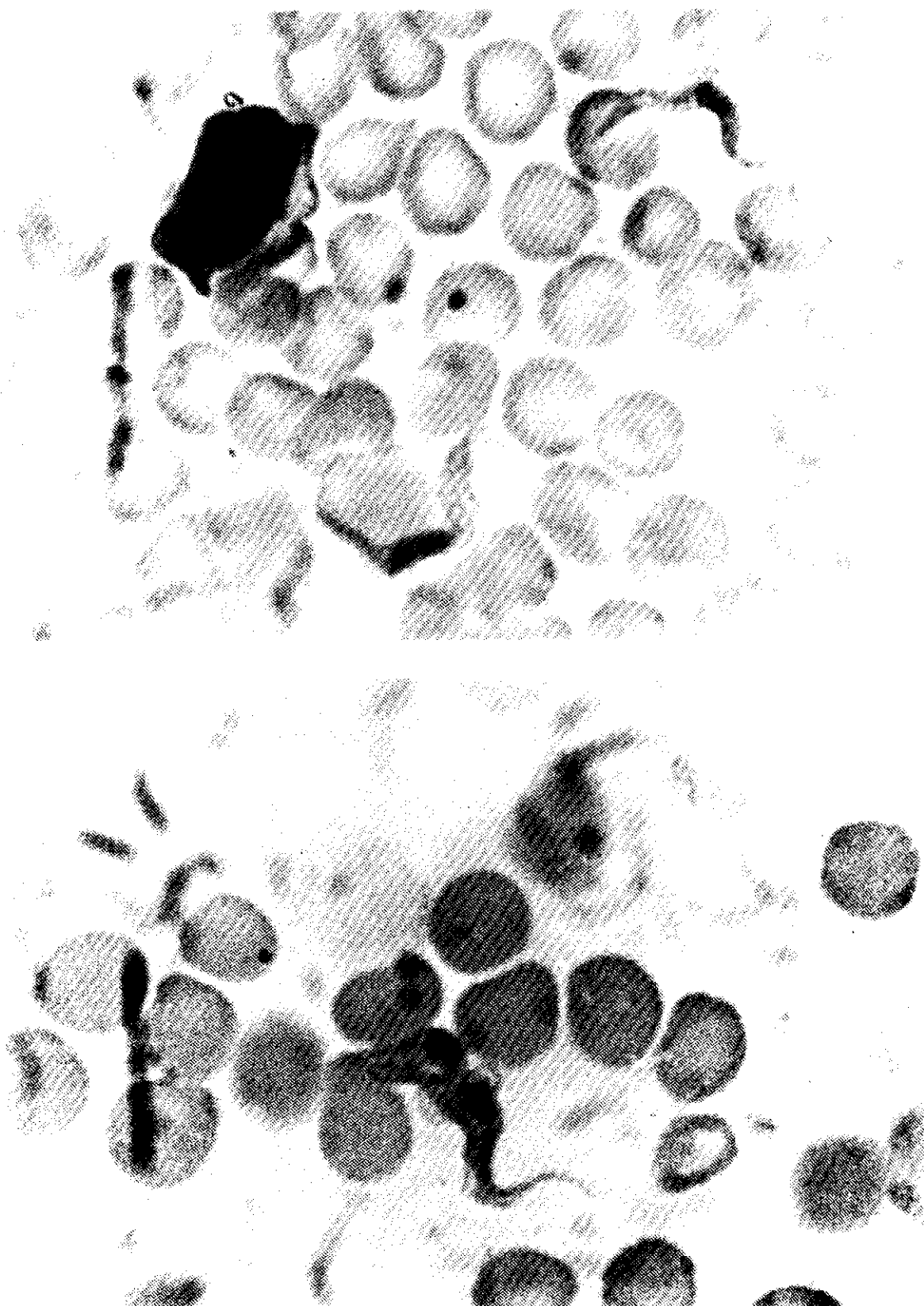


Fig. 1-2. *Trypanosoma evansi*, formas discinetoplásticas isoladas de roedor, *Oryzomys* sp, localidade de Boa Sorte.

empregado como antígeno promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, cepa MHOM/BR/60/BH6, cultivadas em meio LIT (liver infusion tryptose), enquanto que para a RFC foi utilizado antígeno metílico extraído de *Mycobacterium tuberculosis* (CISALPINO *et alii*, 1962).

**Exame de Animais Silvestres:** Para a captura de animais silvestres foram feitas viagens mensais até a localidade de Boa Sorte. Para a atração e apreensão de animais de médio porte, roedores ou não, utilizou-se de armadilhas de madeira construídas com troncos de vegetação nativa com cevas de milho e ou de frutas regionais. Foram utilizados, também, cães de caça. As capturas de animais de pequeno porte foram feitas em armadilhas de arame iscadas com frutas nativas e ou "amendocren", distribuídas em ambientes de cerrado, cerrado e matas, assim como no peri domicílio (TRAVI, 1987). Quando capturados, os animais eram mantidos em gaiolas e transportados para o laboratório de Parasitologia da UFMS em Campo Grande. Procedia-se, então, a anestesia dos mesmos e a colheita de sangue para a verificação da presença de tripanosomas através das técnicas: centrifugação em tubos de microhematócrito, inoculação em camundongos e cultivo em meio 3N-BHI conforme descrito para animais domésticos. A seguir, os animais foram examinados em busca de alterações macroscópicas a nível de pele e sacrificados com clorofórmio. Procedeu-se então, a raspagem da base da cauda e limpeza com sabão neutro e água corrente de torneira. Em seguida os animais foram banhados em solução alcoólica a 70%, enxugados e fixados dorsalmente sobre uma placa de eucatex recoberta com papel alumínio para retirada de fragmentos de orelhas, patas, cauda, baço, fígado e linfonodo. Parte desse material foi utilizada para a confecção de esfregaços por aposição corados pela técnica de Giemsa para a pesquisa de amastigotas e parte para o isolamento do parasita em cultura e ou em hamster, seguindo a mesma metodologia citada para animais domésticos. Para posterior identificação alguns espécimes foram submetidos à taxidermia (VANZOLINI, 1967).

## RESULTADOS

**Animais Domésticos:** No total foram examinados 68 animais compreendendo: 52 cães, 6 equídeos e 10 gatos. Um cão mostrou lesões compatíveis com LT, porém, os exames parasitológicos não demonstraram a presença do agente etiológico. Os testes de Montenegro foram todos não reagentes. Dois cães apresentaram-se reagentes à RIFI com títulos de anticorpos de 1:80 e 1:160, porém, não mostraram títulos pela RFC nem a presença de lesões cutâneas sugestivas de LT. Em um cão foi observada a presença de *T. evansi*.

**Animais Silvestres:** No total foram examinados 58 animais compreendendo: 30 Cricetidae (16 *Oryzomys* sp e 14 *Nectomys squamipes*); 9 Muridae (*Rattus rattus frugivorus*); 12 Dasypodidae (5 *Euphractus sexcinctus*, 4 *Dasyproctus novemcinctus*, 1 *Cabassous unicinctus* e 2 *Tolypentes* sp); 4 Dasiproctidae (*Dasyprocta fuliginosa*) e 3 Canidae (*Speothos venaticus*). Não foi constatada a presença de lesões compatíveis com LT, nem a presença do agente etiológico nos animais examinados. Tripanosoma semelhante ao *Trypanosoma cruzi* foi observado em 2 tatús (*Euphractus sexcinctus*) e em 2 roedores (*Dasyprocta fuliginosa* e *Nectomys squamipes*) e um *Megatrypanum* em *N. squamipes*.

Em um cricetideo, *Oryzomys* sp, foi observada a presença de *Trypanosoma evansi* (Figs. 1 e 2).

## DISCUSSÃO

O não encontro de leishmaniose nos animais domésticos examinados, somado a outros fatos, tais como: insignificante número de flebotômicos no domicílio humano e seus anexos (GALATI, E.A.B., comunicação pessoal), faixa etária dos pacientes com LT acima de 20 anos (NUNES, V.L.B., comunicação pessoal) levam a crer que o perfil epidemiológico de transmissão da parasitose na região seja, até o momento, silvestre, isto é, mantido através de reservatórios naturais e vetores. No entanto, deve-se manter a vigilância epidemiológica com exames periódicos dos animais domésticos pois o perfil da parasitose na área pode sofrer mudança como tem sido observado em várias regiões do país, principalmente no Sudeste, em que o agente etiológico também é *L. (V.) braziliensis*. Ressalta-se que o provável vetor da parasitose em Boa Sorte, *Lutzomyia whitmani* (GALATI, E.A.B., comunicação pessoal) vem mostrando, em outras regiões, grande capacidade de adaptação nos ambientes antrópicos, incluindo o domicílio humano onde tem apresentado destacado papel na transmissão da endemia (TEODORO *et alii*, 1991).

Questiona-se o porquê dos soros de dois cães terem apresentado títulos de anticorpos pela RIFI. Sabe-se que a RIFI em sangue canino promove diagnóstico de tripanosomatídeos, não devendo seus resultados serem utilizados como indicadores de infecções leishmanióticas ou tripanosomóticas específicas (COSTA *et alii*, 1991). Infecção dos cães por *Leishmania chagasi* parece pouco provável uma vez que, os soros foram não reagentes à RFC, a fauna flebotomínica local não conta com espécie vetora de leishmaniose visceral (LV) em densidade populacional expressiva, desconhece-se casos de LV humana na área e os animais não apresentavam nenhum sinal compatível com LV. Por outro lado, os animais foram não reagentes ao TM e não mostraram lesões cutâneas que pudessem ser biopsiadas para

pesquisa parasitológica de *Leishmania*. Não foi evidenciada, ainda, a presença de tripanosomas. Acrescenta-se que, além das técnicas para pesquisa de tripanosomas anteriormente mencionadas, foram utilizadas, ainda, semeadura em meio 3N-BHI e xenodiagnóstico com cerca de 10 ninfas, 3º e 4º estágios de *Rhodnius prolixus*, para cada cão. Os animais estão em acompanhamento e outros testes para detecção de tripanosomatídeos serão realizados para elucidação final dos casos.

O encontro de um cão infectado por *T. evansi* reveste-se de importância em decorrência da patogenicidade para o próprio animal, assim como, da possibilidade do mesmo servir de reservatório do parasita para outros animais. Recomenda-se, portanto, vigilância epidemiológica, também, para *T. evansi*, com exames periódicos nos cães. Deve-se, ainda, mencionar o estado precário dos animais domésticos, principalmente dos cães, na maioria extremamente magros e infestados por larvas de *Dermatobia hominis*, carrapatos, pulgas, piolhos, situação esta que bem reflete o estado de penúria e de abandono do aglomerado de Boa Sorte.

O não encontro de *Leishmania* sp nos animais silvestres pode ser atribuído ao pequeno número de espécimes capturados, bem como, às dificuldades para a detecção de infecção natural nos mesmos (Dedet, 1993; Gomes *et alii*, 1990; Yoshida *et alii*, 1990). Ressalta-se, ainda, que mudanças no meio ambiente provocadas por atividades humanas, tais como, desmatamentos e queimadas, prejudicaram a apreensão de maior número de animais. Um melhor planejamento nas atividades de captura, com colaboração efetiva de nativos na manutenção das cevas poderá, na continuidade dos trabalhos, trazer melhores resultados, mormente quando da captura de animais de médio porte. Por outro lado, o encontro de infecção natural por *T. evansi* em *Oryzomys* sp, primeiro relato desse parasita em pequeno roedor nas Américas, requer estudos para esclarecer seu papel como reservatório do mesmo e sua importância na cadeia epidemiológica da tripanosomíase no Estado.

## AGRADECIMENTOS

À comunidade de Boa Sorte pela receptividade e colaboração. À FNS, em especial à Sra. Maria Almeida dos Santos e aos motoristas. Aos Drs. Maria Norma Melo, Jeffrey J. Shaw, Eunice A.B. Galati, pelas sugestões, orientação e auxílio. À família Rodrigues, proprietária da Fazenda Monte Alegre, onde foi instalada a base de pesquisa para os trabalhos de campo. À Biobrás Bioquímica do Brasil S.A., Montes Claros, MG, pelo fornecimento do antígeno para os testes de Montenegro. Às Dras. Marilene S.M. Michalick e Cristiane M. de Oliveira, do Departamento de Parasitologia

do ICB/UFMG pelo processamento das reações sorológicas. Ao Departamento de Zoologia do Museu Paraense Emílio Goelti, na pessoa do Sr. Manoel Santa Brígida, pela identificação dos animais. À Câmara de Apoio Acadêmico do CCBS/UFMS pela preparação deste trabalho para publicação.

## SUMMARY

To clarify some epidemiological aspects of tegumentar leishmaniasis, studies were performed on 68 domestic and 58 wild animals, in the region of Boa Sorte, Corguinho County, Mato Grosso do Sul State, Brazil, from August 1992 to August 1994. Simultaneously, infection by *Trypanosoma evansi* was researched. Infections by *Leishmania* sp were not detected. Infection by *T. evansi* was detected in a dog and in a rodent, *Oryzomys* sp, first reference of *T. evansi* infection in this genus of rodent. Constant epidemiological vigilance should be carried in the area, including periodical examinations of domestic animals to identify trypanosomatids infections.

KEY-WORDS: Tegumentar leishmaniasis, *Leishmania* sp, "Mal de Cadeiras", *Trypanosoma evansi*, reservoirs.

## REFERÊNCIAS

- AGUILAR, C.M.; RANGEL, E.F. & DEANE, L.M. (1986). Cutaneous leishmaniasis is frequent in equines from an endemic area in Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 81: 471.
- AGUILAR, C.M.; RANGEL, E.F.; GRIMALDI FILHO, G. & MOMEN, H. (1987). Alta frequência de leishmaniose tegumentar canina em um foco endêmico do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82(supl 1): 56.
- ARAÚJO FILHO, 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, RJ. 148p.
- BARRETO, A.C.; 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. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 17: 59-65.
- CAMARGO, M.E. & REBONATO, C. (1969). Cross-reactivity in fluorescence tests for *Trypanosoma* and *Leishmania* antibodies. A simple inhibition procedure to ensure specific results. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 18: 500-505.

- CISALPINO, E.O.; MAYRINK, W. & BATISTA, S.M. (1962). Antígeno metílico em calazar. *O Hospital*, 61: 156-160.
- COSTA, C.A.; GENARO, O.; LANA, M.; MAGALHÃES, P.A.; DIAS, M.; MICHALIK, M.S.M.; MELO, M.N.; COSTA, R.T.; MAGALHÃES-ROCHA, N.M. & MAYRINK, W. (1991). Leishmaniose visceral canina: avaliação da metodologia sorológica utilizada em inquéritos epidemiológicos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 24: 21-25.
- COUTINHO, S.G.; NUNES, M.P.; MARZOCHI, M.C.A. & TRAMONTANO, N. (1985). A survey for american cutaneous and visceral leishmaniasis among 1.342 dogs from areas in Rio de Janeiro (Brazil) where the human disease occur. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 80: 17-22.
- DEDET, J.P. (1993). *Leishmania* et leishmanioses du continent américain. *Annales de L'institut Pasteur*, 4 (1): 3-25.
- DIAS, M. (1982). 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, MG. 88p.
- FALQUETO, A.; COURA, J.R.; BARROS, G.C.; GRIMALDI JÚNIOR, G.; SESSA, P.A.; CARIAS, V.R.D.; JESUS, A.C. de & ALFENCAR, J.T.A. (1986). Participação do cão no ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar no município de Viana, Estado do Espírito Santo, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 81(2): 155-163.
- FORATTINI, O.P. (1960). Sobre os reservatórios naturais da leishmaniose tegumentar americana. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 2: 195-203.
- 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. *Revista de Saúde Pública*, 10: 31-43.
- GENARO, O.R.; RASO, P.; COSTA, C.A. da; CARVALHO, M.D.; AMARAL, F. do; BOTELHO, A.C. de; WILLIAMS, P.; DIAS, M. & MAYRINK, W. (1992). Montenegro skin tests in dogs experimentally infected with *Leishmania viannia braziliensis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87(1): 163-164.
- GRIMALDI JÚNIOR, G.; TESH, R.B. & McMAHON PRATT, D. (1989). A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 41(6): 687-725.
- IBGE (1980) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Coleção de Monografias Municipais, Nova Série, nº 241.
- LAINSON, R. & SHAW, J.J. (1987). Evolution, classification and geographical distribution. In: Peter W. Killick-Kendrick, R. eds. [*The Leishmaniasis in biology and medicine*]. Vol 1. London Academic Press. p. 1-120.
- MAYRINK, W.; COSTA, C.A.; MAGALHÃES, P.A.; MELO, M.N.; DIAS, M.; OLIVEIRA-LIMA, A.; MICHALICK, M.S.M. & WILLIAMS, P. (1979). A field trial of a vaccine against American leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73: 385-387.
- MENEZES FILHO, J.F. de; BARROS, R.M.G. de; SILVA, A.L. da; MAMBELLI, M. & SILVA, P.G. da (1986). Leishmaniose cutânea mucosa ou tegumentar americana. Revisão da literatura e caso clínico. *Odontólogo Moderno*, 13(1): 32-42.
- NEVES, D.P. (1991). Leishmaniose tegumentar. In: *Parasitologia humana*, 8ª edição, Livraria Atheneu Editora, Rio de Janeiro, RJ, Brasil: 34-54.
- NUNES, V.L.B.; OSHIRO, E.T.; DORVAL, M.E.C.; GARCIA, L.A.M.; SILVA, A.A.P. da & BOGLIOLO, A.R. (1993). Investigação epidemiológica sobre *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* no Pantanal sul-mato-grossense. Estudo de reservatórios. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 2(1): 41-44.
- PELEGRINO, J. & BRENER, J. (1958). Reação de fixação de complemento com sangue dessecado no diagnóstico do calazar canino. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 10: 39-44.
- PESSÔA, S.B. & BARRETO, M.P. (1948). Leishmaniose tegumentar americana. Serviço de Documentação - Ministério da Educação e Cultura. Ed. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, RJ.
- PESSÔA, S.B. & MARTINS, A.V. (1982). *Parasitologia Médica*, 11ª edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, Brasil: 78-103.
- PIRAINO, R.; MARTINS, N.; PEREIRA, V.L.; OMORI, Y.; FREITAS, R.S. & BUILLE, J.E.A. (1980). Surto epidêmico de leishmaniose tegumentar americana no município de Lobato - Paraná. *Semina*, 6: 107-110.
- PIRMEZ, C.; COUTINHO, S.G.; MARZOCHI, M.C.A.; NUNES, M.P. & GRIMALDI JÚNIOR, G. (1988a). Canine american cutaneous leishmaniasis: a clinical and immunological study in dogs naturally infected with *Leishmania braziliensis braziliensis* in an endemic area of Rio de Janeiro, Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38(1): 52-58.
- PIRMEZ, C.; MARZOCHI, M.C.A. & COUTINHO, S.G. (1988b). Experimental canine mucocutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 83(2): 145-151.

- 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 Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, RJ. 187p.
- SARAIVA, J.F.K.; ESPÍRITO SANTO, D.; COSTA, I.; ALBERTE, M.C.V.; SOGAYAR, R.; DILLON, N.L. & MENDES, R.P. (1981). Microepidemia de leishmaniose cutânea em Humaitá (AM). In: Resumos do VI Congresso Brasileiro de Parasitologia, p. 77.
- SEPLAN. (1993). Secretaria de Planejamento do Estado de Mato Grosso do Sul. COEST.
- SERAFINI, L.N.; NUNES, V.L.B.; DORVAL, M.E.C.; OSHIRO, E.T.; NOGUCHI, R.C. & HANS FILHO, G. (1992). Estudos epidemiológicos sobre leishmaniose tegumentar (LT) no município de Corguinho, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Inquérito populacional humano. In: Anais do I Encontro de Iniciação Científica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, p. 154.
- SHAW, J.J. (1977). The epizootiology of American Surra with special reference to the lower Amazon region. *Protozoology*, 3: 119-128.
- STEVENS, J.R.; NUNES, V.L.B.; LANHAM, S.M. & OSHIRO, E.T. (1989). Isoenzyme characterization of *Trypanosoma evansi* isolated from capybaras and dogs in Brazil. *Acta Tropica*, 46: 213-222.
- TAFURI, W.L.; RASO, P.; HERMETO, M.V.; VIEIRA-DIAS, D. & MAYRINK, W. (1993). Estudo histopatológico comparativo do teste cutâneo em cães de área endêmica de leishmaniose tegumentar, utilizando dois antígenos: Leishvacin® e o P10.000G. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 26(1): 11-12.
- TEODORO, U.; LA SALVIA FILHO, V.; LIMA, E.M.; MISUTA, N.M.; VERGINASSI, T.G. & FERREIRA, M.E.M.C. (1991) Leishmaniose tegumentar americana: flebotomíneos de área de transmissão no Norte do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Saúde Pública*, 25(2): 129-133.
- 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. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 40: 49-54.
- TRAVI, B. (1987). Animal reservoir sampling methods in leishmaniasis surveillance, with special reference to *Leishmania braziliensis* (ST). Workshop held in Ottawa, Canada, 1-4.
- VANZOLINI, P.E. (1967). Manual de coleta e preparação de animais terrestres e de água doce. São Paulo. Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, 1-223.
- WOO, P.T.K. (1969). The haematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. *Canadian Journal Zoology*, 47: 921-923.
- YOSHIDA, E.L.A.; CORREA, F.M.A.; MARQUES, S.A.; SOLF, H.L.O.; DILLON, N.L.; MOMEN, H. & GRIMALDI JÚNIOR, G. (1990). Human, canine and equine (*Equus caballus*) leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* (= *L.braziliensis braziliensis*) in the south-west region of São Paulo State, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 85(1): 133-134.

(Received 12 December 1994, Accepted 8 February 1995)