

## INQUÉRITO SOROLÓGICO PARA PESQUISA DE LEISHMANIOSE VISCERAL EM POPULAÇÃO CANINA URBANA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, BRASIL (1979 — 1982)

Lygia Busch IVERSSON (1), Mario E. CAMARGO (2), Arnaldo VILLANOVA (3), Maria de Lourdes A. B. REICHMANN (3), Elizabeth Amatuzi de ANDRADE (3) e José Eduardo TOLEZANO (4)

### R E S U M O

Relatam-se os resultados de inquérito sorológico em 968 cães errantes capturados nas proximidades de reservas florestais do Município de São Paulo, no período de 1979-1982, no qual foram realizados testes de imunofluorescência indireta com *Leishmania donovani*. A pesquisa está relacionada à descoberta em 1978 de um primeiro caso humano autóctone de leishmaniose visceral no Município. Nenhum dos cães apresentou título  $\geq 80$  com *Leishmania donovani*, mas 10 de 389 animais examinados mostraram título  $\geq 80$  com *Leishmania braziliensis*. Os resultados foram discutidos tendo em vista outros dados da estrutura epidemiológica local.

### I N T R O D U Ç Ã O

Em agosto de 1978 foi diagnosticada leishmaniose visceral em uma criança de 10 meses de idade, sempre residente na zona urbana de Diadema, um dos 37 municípios da região metropolitana de São Paulo, Brasil, em local próximo a uma área de 5.493.196 m<sup>2</sup> de reserva florestal (Fig. 1).

A investigação epidemiológica do caso evidenciou seu caráter autóctone e a presença, entre a população moradora nas vizinhanças do doente, de três crianças assintomáticas, com dados sorológicos condizentes com o diagnóstico de leishmaniose visceral. Porém, não se conseguiu identificar a fonte de infecção e o mecanismo de transmissão da moléstia (IVERSSON & col.<sup>25</sup>).

Tendo em vista que esta reticulo endoteliose generalizada, de evolução grave quando não tratada, não havia sido identificada no Estado

de São Paulo, tanto em população humana como em canídeos, impunha-se a realização de outras pesquisas que esclarecessem se o fato ocorrido era um evento isolado, resultante da vinda ocasional para o local de um homem e ou um cão doméstico infectados, oriundos de área endêmica, ou se indicava a presença mais generalizada e não diagnosticada de infecção na área.

Programou-se nesse sentido um inquérito sorológico para pesquisa de anticorpos para *Leishmania donovani* em cães errantes capturados nas ruas circunvizinhas de áreas de mata residual existentes na zona urbana do Município de São Paulo. Quando a pesquisa já havia se iniciado foi notificado novo caso de leishmaniose visceral em criança de 2 anos, nascida e sempre residente no Município de São Paulo, em local vizinho a pequena área florestal (AMATO NETO & BLANCO FILHO<sup>7</sup>).

(1) Faculdade de Saúde Pública da USP. Av. Dr. Arnaldo, 715, 01255 São Paulo, Brasil

(2) Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. Av. Dr. Eneias de Carvalho Aguiar, 470, 01255, São Paulo, Brasil

(3) Divisão de Controle de Zoonoses. Rua Santa Eulália, 86, São Paulo, Brasil

(4) Instituto Adolfo Lutz. Av. Dr. Arnaldo, 355, 01255, São Paulo, Brasil



Fig. 1 — Vista aérea de parte da reserva florestal do Parque do Estado, onde se situa o Jardim Zoológico, mostrando no canto superior direito a proximidade da mata com o denso casario do bairro vizinho (foto gentilmente cedida pela Direção da Fundação Jardim Zoológico)

A presença de leishmaniose canina em locais de ocorrência de moléstia humana tem sido evidenciada desde que NICOLLE & COMTE<sup>35</sup> isolaram a *Leishmania donovani* de um cão doméstico em Tunis. Na região neotropical o animal constitui a principal fonte de infecção humana. Os resultados de inquéritos soroparasitológicos em população canina conduzidos no Brasil, em regiões onde se conhecem casos humanos, mostraram taxas de infecção de 1,3% a 33% (ALENCAR & col.<sup>1,3</sup>; LOPES & SARNO<sup>30</sup>, BRENER<sup>13</sup>; COELHO & col.<sup>15</sup>; SHERLOCK & ALMEIDA<sup>43,44</sup>; ALENCAR<sup>2,4,5</sup>; MAGALHAES & col.<sup>32</sup>; MARZOCHI & col.<sup>34</sup>). Entre estas investigações destacam-se os extensos levantamentos realizados no Ceará por ALENCAR<sup>5</sup>, quando foram examinados, no período de 1953 a 1964, 428.154 cães e no período de 1960 a 1964, 201.176, tendo sido respectivamente identificados 7.955 (1,86%) e 6.309 (3,13%) animais infectados.

Os locais de abrigo das formas adultas da *Lutzomyia longipalpis*, principal transmissor da

leishmaniose visceral na região neotropical, parecem ser constituídos predominantemente por espaços situados sob ou entre pedras e rochas e em grutas. Mas, têm sido assinalados outros tipos de ecótopos naturais, como troncos e ocas de árvores, tocas de roedores e desdentados, arbustos e solos revestidos de folhas (FORATTINI<sup>20</sup>).

Assim, em se pensando em investigar a população canina do Município de São Paulo, optou-se pelo componente da mesma que tivesse fácil acesso a matas residuais existentes na região, pois esses cães teriam uma probabilidade maior de contacto não só com possíveis vetores como com reservatórios silvestres, na eventualidade de *Leishmania donovani* aí existir em um ciclo enzoótico silencioso. Não se pode esquecer que as reservas florestais da zona urbana constituem o último refúgio natural de animais silvestres, alguns dos quais representam fonte de alimento para cães domésticos errantes e famintos.

### METODOLOGIA

A pesquisa foi desenvolvida no período de 27/9/1979 a 13/1/1982, utilizando uma estrutura preexistente de captura e extermínio rotineiro de cães errantes, realizada pela Divisão Contro-

le de Zoonoses de São Paulo, como uma das atividades do Programa de Controle da Raiva no Município de São Paulo.

Realizou-se a coleta obrigatória de sangue de cães que vagueassem pelas ruas circunviz-

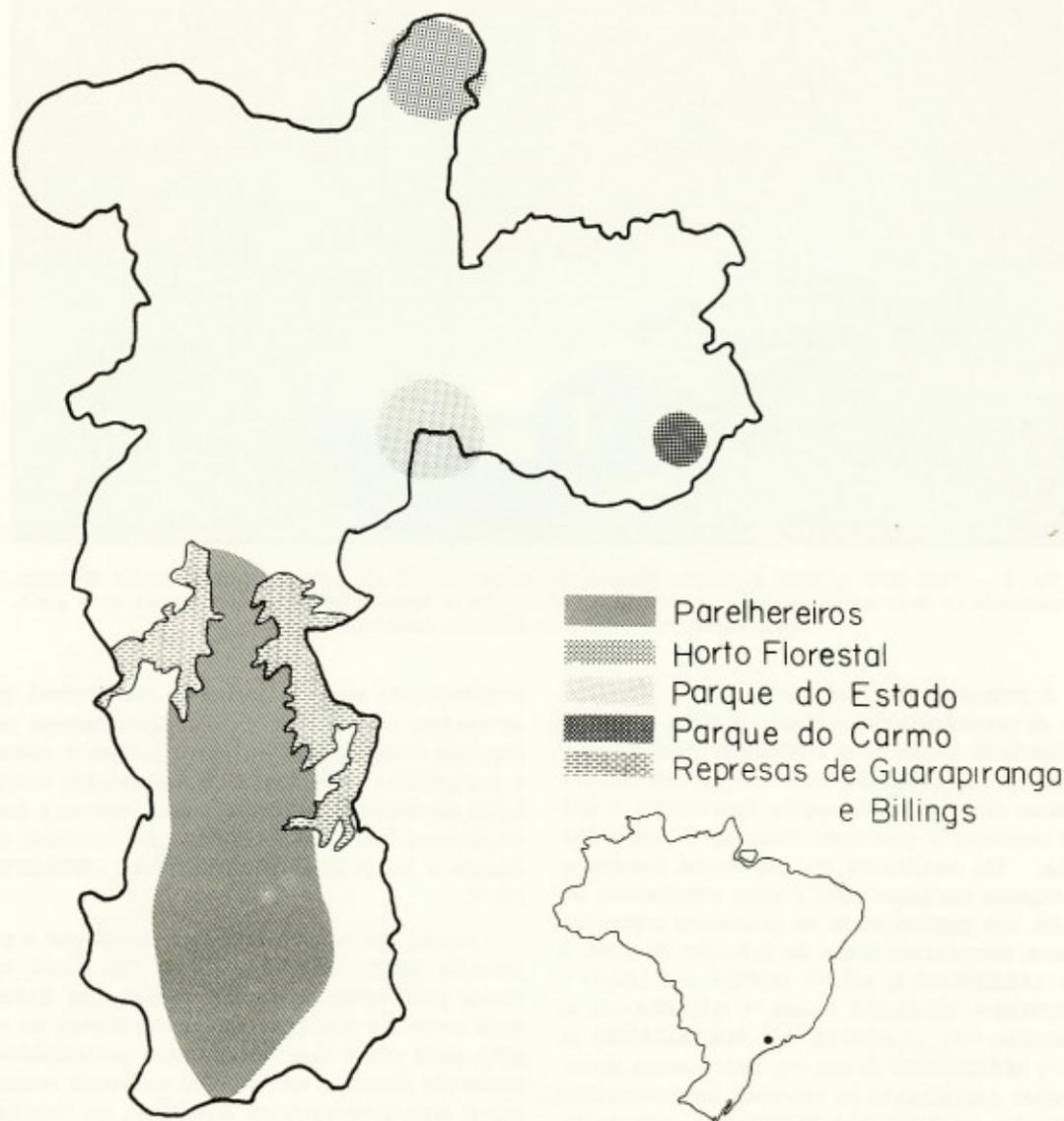


Fig. 2 — Localização no Município de São Paulo das matas residuais, junto as quais foi realizada a captura dos cães.

nhas, a uma distância máxima de 1.500 metros, de quatro zonas de reserva florestal do Município de São Paulo, assinaladas na Fig. 2: Hor-

to Florestal (área de 4.716.000 m<sup>2</sup>), Parque do Estado (5.493.196 m<sup>2</sup>), Parque do Carmo (1.548.627 m<sup>2</sup>) e Parelheiros (aproximadamen-

te 365.000.000 m<sup>2</sup>). Em novembro e dezembro de 1980 foram também apreendidos cães junto a pequena mata no bairro de Capão Redondo, próximo a Parelheiros, pois na vizinhança do local havia sido notificado, em outubro de 1980, um novo caso de leishmaniose visceral em uma criança de 2 anos (AMATO NETO & BLANCO FILHO<sup>7</sup>). Não foi possível, a não ser em raras ocasiões, a captura de cães dentro das matas, dada a facilidade com que os animais conseguem fugir aos laçadores, embrenhando-se em meio da vegetação.

Durante às 72 horas em que os animais permanecessem retidos antes de serem sacrificados, aguardando eventual resgate pelo proprietário, programou-se a realização de testes de imunofluorescência indireta com antígeno de *Leishmania donovani*. Os cães cujos soros apresentassem anticorpos, mesmo em título baixo, seriam submetidos a necrópsia, com coleta de material de fígado, baço e medula óssea para exame direto, cultura em meio de Ducrey e inoculação em hamsters (*Mesocricetus auratus*). Esse procedimento foi seguido a partir de novembro de 1980, quando o laboratório da Divisão de Controle de Zoonoses tornou-se apto a realizar, nas 48 horas seguintes à captura dos cães, os testes de imunofluorescência para diagnóstico de leishmaniose. Em uma primeira etapa da pesquisa, de setembro de 1979 a novembro de 1980, os soros foram coletados e estocados a -20°C. Os animais foram sacrificados após 72 horas, pois, dado o número, não existiam condições de alojamento para mantê-los em observação até o resultado do teste sorológico.

Foram examinados 968 cães capturados em local e época especificados na Tabela I.

TABELA I

Distribuição segundo local de captura no Município de São Paulo, dos cães examinados no período de 1979-1982

Local	Ano	1979	1980	1981-1982(*)	Total
Horto Florestal		90	22	167	279
Parque do Carmo		71	43	148	262
Parque do Estado		71	42	103	216
Parelheiros		101	3	80	184
Capão Redondo		—	27	—	27
<b>Total</b>		<b>333</b>	<b>137</b>	<b>498</b>	<b>968</b>

(\*) Em 1982, até 13 de janeiro.

A variabilidade no número de animais nos diversos anos está relacionada a dificuldades administrativas na execução das atividades programadas, especialmente entre abril e setembro de 1980, quando não foram realizadas capturas. Não expressam, portanto, flutuações populacionais reais.

Os testes de imunofluorescência para *L. donovani* foram supervisionados pela Seção de Imunologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, onde também foram executadas as reações de imunofluorescência para *Leishmania braziliensis* e *Trypanosoma cruzi* em 389 dos soros coletados em 1981. As cepas de *L. donovani* e *L. braziliensis* foram cultivadas a 24°C, 7 dias, em meio NNN adicionado de 2 a 3 ml de meio LIT (Liver Infusion Tryptose). Os soros foram ensaiados em diluições dobradas a partir de 1:20, atribuindo-se resultados positivos a partir de 1:40. Nas reações foi utilizada a técnica de DUXBURY & SADUN<sup>19</sup>, empregando-se como antígeno formas promastigotas de *Leishmania donovani*, *Leishmania braziliensis* e *Trypanosoma cruzi* e, como conjugado fluorescente, anticorpos anti-globulinas de cão marcados com fluoresceína.

## RESULTADOS

As Tabelas II, III e IV mostram os resultados dos testes de imunofluorescência para *L. donovani*, *L. braziliensis* e *T. cruzi*.

TABELA II

Soros reagentes com *L. donovani*, segundo título e local de captura no Município de São Paulo, de 968 cães examinados no período de 1979-1982

Local	Ano			
	Título	1979	1980	1981 — 1982
Parque do Estado		2	—	2*
Parque do Carmo		2	2	—
Horto Florestal		3	—	—
Parelheiros		2	—	—
<b>Total</b>		<b>9</b>	<b>2</b>	<b>2</b>

(\*) Os dois cães foram necropsiados e material de baço, fígado e medula óssea examinado.

As impressões de fígado e baço, os esfregaços de medula óssea, as culturas de macerado de fígado, baço e medula óssea dos dois cães examinados em 1981 (um foi sacrificado e o

outro apresentou morte súbita) mostraram-se negativos para *Leishmania*. O exame de impressões e da cultura de fígado e baço dos hamsters inoculados também não mostraram presença de formas amastigotas de *Leishmania*, 90 dias após a inoculação.

T A B E L A III

Soros reagentes com *L. braziliensis*, segundo título e local de captura no Município de São Paulo, de 389 cães examinados em 1981

Local	Título		
	40	80	160
Parque do Estado	12	4	—
Parque do Carmo	24	2	1
Horto Florestal	31	2	1
Parelheiros	8	—	—
Total	75*	8	2

(\*) Cinco soros apresentaram título 40 para *T. cruzi*

T A B E L A IV

Soros reagentes para *T. cruzi* (\*), segundo local de captura no Município de São Paulo, de 389 cães examinados em 1981

Local	N.º de soros
Parque do Estado	4 (**)
Parque do Carmo	—
Horto Florestal	1 (***)
Parelheiros	6 (**)
Total	11

(\*) Título 40

(\*\*) Dois soros apresentaram título 40 para *L. braziliensis*

(\*\*\*) O soro apresentou título 40 para *L. braziliensis*

## COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

Em inquéritos sorológicos efetivados em populações canídea e humana, em que se utilizou teste de imunofluorescência indireta, títulos  $\geq 160$  ou  $\geq 320$  ou soroconversão após um intervalo de tempo, têm sido considerados com valor diagnóstico para leishmaniose visceral (LANOTTE & col.<sup>28</sup>; TEIXEIRA<sup>46</sup>). Valores menores dos títulos, isoladamente, não permitem uma conclusão, tendo em vista a reatividade sorológica cruzada observada entre a *Leishmania donovani* e outros agentes etiológicos, de forma mais freqüente com *Leishmania braziliensis* e *Trypanosoma cruzi* e bem menos freqüente com *Mycobacterium tuberculosis*, *Schistosoma mansoni* e *Plasmodium* (SADUN & col.<sup>41</sup>; DUXBURY & SADUN<sup>19</sup>; SHAW & VOLLER<sup>42</sup>; BRAY & LAINSON<sup>12</sup>; ARAUJO & MAYRINK<sup>8</sup>; CAMARGO & REBONATO<sup>14</sup>; BEHFOROUZ &

col.<sup>9</sup>; LATIF & col.<sup>29</sup>). No entanto, já foi assinalada a presença de cães com leishmaniose visceral, diagnosticada pelo isolamento do parasita, que apresentaram no teste de imunofluorescência indireta título de 80, 40 e mesmo 20 (LANOTTE & col.<sup>28</sup>).

Desta forma, os resultados sorológicos e parasitológico do presente inquérito sugerem a inexistência de cães infectados pela *Leishmania donovani* entre os 968 animais examinados, devendo ser considerada apenas uma possibilidade de muito remota de infecção nos canídeos com sorologia positiva em título baixo, em que não foi realizada a pesquisa do parasita.

Apesar da freqüente ocorrência de reações cruzada entre *L. donovani* e *L. braziliensis*, observou-se, no entanto, uma certa proporção de soros especificamente reagentes à *L. braziliensis*, até título 160. A certeza de uma infecção por este parasita só existiria obviamente após o seu isolamento nos cães suspeitos. Dificuldades operacionais na pesquisa não permitiram o exame sistemático dos animais com sorologia positiva, não só para *L. donovani* como para *L. braziliensis*. Estes resultados sorológicos devem ser considerados, portanto, como uma primeira informação, valorizada pela existência assinalada desde 1916 até recentemente, 1979, de casos humanos autóctones de leishmaniose tegumentar em pessoas residentes no Município de São Paulo, algumas delas em bairros próximos aos locais onde foram realizadas as presentes capturas (NEIVA & BARBARÁ, 1916, citado por PESTANA & PESSOA<sup>37</sup>; SILVEIRA<sup>45</sup>; CUNHA MOTTA<sup>16</sup>; PESTANA & PESSOA<sup>37</sup>; ALMEIDA NETO & PROENÇA<sup>6</sup>; PROENÇA & MÜLLER<sup>39</sup>). Outra informação de interesse epidemiológico diz respeito ao recente isolamento de *Leishmania braziliensis* em cão doméstico na região do Vale do Ribeira, área também situada no Estado de São Paulo, onde casos humanos de leishmaniose tegumentar têm sido diagnosticados (MACHADO & col.<sup>31</sup>).

Os dados do presente trabalho conduzem também a algumas reflexões sobre a ocorrência urbana de leishmaniose visceral em São Paulo.

O extermínio sistemático dos cães errantes, aproximadamente 3.500 por mês, realizado pelas autoridades municipais de São Paulo, objetivando o controle da raiva, pode ter deter-

minado a eliminação de animais com leishmaniose visceral que porventura houvesse existido, considerando que a captura é realizada rotineiramente nas áreas estudadas, consideradas prioritárias no controle da raiva. Mas, a observação do quadro epidemiológico da moléstia em outros locais onde o cão doméstico é o reservatório, mostra que quando começam a surgir casos humanos sempre há no local uma proporção evidenciável de cães infectados, quando um número significativo foi examinado. A maior ou menor frequência dos casos humanos parece resultar de maior ou menor densidade do vetor, até o ponto que existem locais onde não se conhece a doença humana e se observa alta proporção de animais infectados, fato assinalado por ALENCAR<sup>2</sup> em Messajana, subúrbio de Fortaleza, Ceará e por MANSUETO & col.<sup>33</sup> na Ilha de Ustica, Sicília, atribuído à ausência de vetor antropofílico.

O caráter esporádico da atual ocorrência, com aparente ausência de infecção mais generalizada de cães domésticos, leva a pensar em condições especiais de infecção caracterizadas por baixo número de fontes de infecção ou por pouco contacto das mesmas com a população humana. O fato poderia ser explicado seja pela vinda recente e ocasional para o local dos casos de alguns cães domésticos infectados, pertencentes a famílias de migrantes de áreas endêmicas, seja pela existência de reservatórios silvestres nas matas residuais do Município de São Paulo. Essa última hipótese parece possível, já que a *Leishmania donovani* foi isolada de canídeos silvestres na região nordeste e norte do país (DEANE & DEANE<sup>17,18</sup>; LAINSON & col.<sup>27</sup>) e de canídeos e roedores silvestres em áreas endêmicas da África e da Europa (LATISHEV & col. 1946, citado por PAVLOVSKY<sup>36</sup>; HEISCH<sup>22</sup>; HEISCH & col.<sup>23</sup>; HOOGSTRAAL & col.<sup>24</sup>; RIOUX & col.<sup>40</sup>; PETRISCEVA<sup>38</sup>; GRADONI & col.<sup>21</sup>; PETROVIC citado por BETTINI & col.<sup>10</sup>). Referindo-se à possível participação de roedores no ciclo natural do parasita no Brasil, TEIXEIRA<sup>46</sup> menciona observação de SHERLOCK que registra a superposição das áreas endêmicas de peste e de leishmaniose visceral no Estado da Bahia e a diminuição acentuada dos casos de leishmaniose visceral na região de Jacobina, após a eclosão de uma epizootia de peste, que determinou a extinção dos roedores pela pró-

pria infecção pestosa ou pelas medidas profiláticas adotadas.

Admitindo-se que nas matas residuais do Município de São Paulo possam existir focos naturais de leishmaniose visceral tal como parecem existir de leishmaniose tegumentar, modificações ambientais alterando a cobertura vegetal podem ter obrigado animais silvestres infectados, especialmente roedores, a penetrar em áreas circunvizinhas a procura de alimento, colocando-os em contacto com roedores domésticos e com a habitação humana. Um aspecto comum na paisagem dos locais de moradia dos dois casos humanos de leishmaniose visceral mencionados é a presença de depósitos, a céu aberto, de lixo e de detritos.

Mas, independentemente da aproximação ativa de possíveis reservatórios da população humana, um vetor zooantropofílico teria realizado eficazmente ao frequentar o ambiente silvestre e o domicílio ou peridomicílio urbano. No curso das investigações epidemiológicas de leishmaniose visceral, as raras capturas de flebotomíneos efetuadas nas matas próximas e na residência dos doentes identificaram, nas primeiras, algumas espécies antropofílicas, em densidade baixa, entre as quais não se inclui a *Lutzomyia longipalpis* (IVERSSON & col.<sup>25 26</sup>).

Uma última consideração de caráter especulativo merece ser aventada, tendo em vista que na confirmação diagnóstica dos três casos humanos de leishmaniose visceral, ocorridos na Grande São Paulo, não foi possível determinar, por métodos bioquímicos ou/e biológicos, a taxonomia das leishmânias do material medular: poderia a moléstia estar sendo causada excepcionalmente por uma espécie dermatotrópica que se visceralizou?

Assim, pesquisas parasitológicas dirigidas aos roedores silvestres e cães domésticos que vivem dentro das matas em estado semi-selvagem ou orientadas para um conhecimento mais completo dos artrópodes hematófagos, nos locais onde ocorreram casos humanos de leishmaniose visceral, talvez possam elucidar essa indesvendada situação epidemiológica ou, pelo menos, trazer subsídios para maior conhecimento do foco natural da leishmaniose tegumentar no Município de São Paulo.

## SUMMARY

### Serological survey for research of visceral leishmaniasis on dogs in the urban zone of São Paulo, Brazil, 1979-1982.

The results of a serological survey (indirect fluorescent antibody test) for the diagnosis of leishmaniasis on dogs captured in the surroundings of residual forest within the urban zone of the City of São Paulo, Brazil, in 1979-1982, were reported. The research was carried out after the recent identification of autochthonous visceral leishmaniasis in a child living near a forest reserve. None of the mentioned dogs presented serological titers  $\geq 80$  with *Leishmania donovani* but 10 out of 389 examined animals had values  $\geq 80$  with *Leishmania braziliensis*. The results, together with other local epidemiologic informations, were discussed.

## AGRADECIMENTO

A Dr<sup>a</sup>. Junia Chaves, do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo e ao Dr. Joaquim Alencar, do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Ceará, que gentilmente nos cederam soros de cães infectados por *Leishmania donovani*, utilizados no controle do teste sorológico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ALENCAR, J. E. de; HOLANDA, D. & CAVALCANTI, J. D. N. — Calazar no Vale do Jaguaribe, Ceará, 1955. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças trop.* 8: 33-47, 1956.
2. ALENCAR, J. E. de — Calazar canino. *Contribuição para o estudo da epidemiologia do Calazar no Brasil*. Fortaleza, 1959 [Tese].
3. ALENCAR, J. E. de; PESSOA, E. de P. & COSTA, O. R. da — Calazar em Santarém, Estado do Pará, 1961. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças trop.* 14: 371-377, 1962.
4. ALENCAR, J. E. de — Investigações em torno de foco de Calazar no Paraíba. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças trop.* 14: 367-369, 1962.
5. ALENCAR, J. E. de — Aspectos atuais do Calazar no Ceará. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças trop.* 26/27: 27-53, 1974-1975.
6. ALMEIDA NETO, E. de & PROENÇA, N. — Ocorrência da leishmaniose tegumentar americana autóctone no Município de São Paulo e adjacências. *Rev. Paul. Med.* 56: 374-379, 1930.
7. AMATO NETO, V. & BLANCO FILHO, F. — Leishmaniose visceral adquirida no Estado de São Paulo (Brasil). *Rev. Saúde públ. S. Paulo* 15: 643-645, 1981.
8. ARAUJO, F. G. & MAYRINK, W. — Fluorescent antibody test in visceral leishmaniasis. II — Studies on the specificity of the test. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10: 41-45, 1968.
9. BEHFOROZ, N.; REZAI, H. R. & GETTNER, S. — Application of immunofluorescence to detection of antibody in *Leishmania* infections. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 70: 293-301, 1976.
10. BETTINI, S.; GRADONI, L. & POZIO, E. — Isolation of *Leishmania* strains from *Rattus rattus* in Italy. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 72: 441-442, 1978.
11. BETTINI, S.; POZIO, E. & GRADONI, L. — Leishmaniasis in Tuscany (Italy). II — *Leishmania* from wild Rodentia and Carnivora in a human and canine leishmaniasis focus. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 74: 77-83, 1980.
12. BRAY, R. S. & LAISON, R. — The immunology and serology of leishmaniasis. I — The fluorescent antibody staining technique. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 59: 535-544, 1965.
13. BRENER, Z. — Calazar canino em Minas Gerais, Belo Horizonte, 1957. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais].
14. CAMARGO, M. E. & REBONATO, C. — Cross reactivity in fluorescence test for *Trypanosoma* and *Leishmania* antibodies. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 18: 500-505, 1969.
15. COELHO, M. de V.; CUNHA, A. S. & FALCÃO, A. R. — Notas sobre um foco de Calazar no Sudeste do Estado de Goiás. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças trop.* 17: 143-148, 1965.
16. CUNHA MOTA, L. — Histo-Patologia da leishmaniose tegumentar cutânea. *Ann. Fac. Med. Univ. São Paulo* 3: 101-115, 1928.
17. DEANE, L. M. & DEANE, M. P. — Encontro de leishmânias nas vísceras e na pele de uma raposa, em zona endêmica de calazar, nos arredores de Sobral, Ceará. *Hospital (Rio)* 45: 419-421, 1954.
18. DEANE, L. M. & DEANE, M. P. — Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios, da *Leishmania donovani* em área endêmica de calazar no Ceará. *Hospital (Rio)* 48: 61-76, 1955.
19. DUXBURY, R. E. & SADUN, E. H. — Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of visceral leishmaniasis. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 13: 525-529, 1964.
20. FORATTINI, O. P. — *Entomologia Médica*. Vol. 4 São Paulo, Edgard Blücher e Ed. U.S.P., 1973.

IVERSSON, L. B.; CAMARGO, M. E.; VILLANOVA, A.; REICHMANN, M. de L. A. B.; ANDRADE, E. A. de & TOLEZANO, J. E. — Inquérito sorológico para pesquisa de leishmaniose visceral em população canina urbana do Município de São Paulo, Brasil (1979-1982). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 25:310-317, 1983.

21. GRADONI, L.; POZIO, E.; BETTINI, S. & GRAMICIA, M. — Ricerca di leishmanie in carnivori selvatici della provincia di Grosseto. *Igiene e Sanità Publica* 34: 257-268, 1978.
22. HEISCH, R. B. — The isolation of *Leishmania* from a ground squirrel in Kenya. *East African Med. J.* 34: 183, 1957.
23. HEISCH, R. B.; GRAINGER, W. E. & HARVEY, A. E. C. — The isolation of a *Leishmania* from gerbils in Kenya. *J. Trop. Med. Hyg.* 62: 158-159, 1959.
24. HOOGSTRAAL, H.; VAN PEENEN, P. F. D.; REID, T. P. & DIETLEIN, D. R. — Leishmaniasis in the Sudan Republic. 10. Natural infections in rodents. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 12: 175-178, 1963.
25. IVERSSON, L. B.; CAMARGO, M. E.; ROCHA E SILVA, E. O da; CHIEFFI, P. P. & BARROS, J. A. C. de — Investigação epidemiológica de um caso de leishmaniose visceral autóctone da Grande São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde públ. S. Paulo* 13: 159-167, 1979.
26. IVERSSON, L. B.; PIRES, R. B. E.; RIBEIRO, M. A.; TAKEDA, A. K.; ESCRIVÃO JUNIOR, A.; TOLEZANO, J. E. & BURALLI, G. M. — Investigação epidemiológica de um novo caso de leishmaniose visceral ocorrido na Grande São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde públ. S. Paulo* 16: 205-219, 1982.
27. LAINSON, R.; SHAW, J. J. & LINS, Z. C. — Leishmaniasis in Brazil. IX. The fox *Cercocyon thous* (L.) as a reservoir of *Leishmania donovani* in Pará State, Brazil. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 63: 741-745, 1969.
28. LANOTTE, G.; RIOUX, J. A.; CROSET, H. & VOLLHARDT, Y. — Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 7. Dépistage de l'enzootie canine par les méthodes immunosérologiques. *Ann. Parasit. (Paris)* 49: 41-62, 1974.
29. LATIF, B. M. A.; AL-SHENAWI, F. A. & AL-ALOUSI, T. I. — The indirect fluorescent antibody test for diagnosis of Kala-Azar infection in Iraq. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 73: 31-35, 1979.
30. LOPES, J. A. & SARNO, P. — Leishmaniose visceral canina em Jacobina, Bahia, Brasil. *Bol. Fund. Gonçalo Moniz* 11: 1-51, 1956.
31. MACHADO, M. I.; GOMES, A. de C.; MILDRE, E. V.; GRIMALDI FILHO, G.; MOMEN, H. & CAPINZAIKI, A. N. — *Leishmania braziliensis braziliensis* at the Ribeira Valley, São Paulo. In: IX Reunião Anual de Pesquisa Básica em Doença de Chagas, Caxambú, 1982. Programa e Resumos de Comunicações, 1982, p. 126.
32. MAGALHÃES, P. A.; MAYRINK, W.; COSTA, C. A. da; MELO, M. N.; DIAS, M.; BATISTA, S. M.; MICHALICK, M. S. M. & WILLIAMS, P. — Calazar na zona do Rio Doce — Minas Gerais; resultados de medidas profiláticas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 22: 197-202, 1980.
33. MANSUETO, S.; GIALLOMBARDO, G.; MICELI, M. D. & QUARTARARO, P. — Indagini epidemiologiche sulla leishmaniasis in Sicilia occidentale: il focolaio canino del isola di Ustica-primi rilievi. *Rev. Parasit.* 42: 433-441, 1981.
34. MARZOCHI, N. C. A.; COUTINHO, S. G.; MARZOCHI, K. B. F.; ALMEIDA, J. M.; TOLEDO, L. M.; GRIMALDI FILHO, G. & MOMEN, H. — Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral autóctone na cidade do Rio de Janeiro (1977-1981). In: Congresso da Sociedade de Medicina Tropical. Resumos. Ribeirão Preto, 1982, p. I-3.
35. NICOLLE, C. & COMTE, D. — Origine canine du Kala-Azar. *Bull. Soc. Path. Exot.* 1: 299-301, 1908.
36. PAVLOVSKY, Y. N. — Human diseases with natural foci. Moscow. Foreign Languages Publ., 1960, p. 334.
37. PESTANA, B. R. & PESSOA, S. B. — Leishmaniose tegumentar autóctone no Município de São Paulo. *Ann. Paul. Med. Cir.* 38: 435-442, 1939.
38. PETRISCEVA, P. A. — The natural locality of leishmaniasis in USSR. *Bull. Wild. Hlth. Org.* 44: 567-576, 1971.
39. PROENÇA, N. & MULLER, H. — Nota sobre a ocorrência de leishmaniose tegumentar americana na Serra da Cantareira, S. Paulo, SP, Brasil. *Rev. Saúde públ. S. Paulo* 13: 56-59, 1979.
40. RIOUX, J. A.; ALBARET, J. L.; HOUIN, R.; DETET, J. P. & LANNOTTE, G. — Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 2. Les réservoirs selvatiques: infestation spontanée du renard (*Vulpes vulpes* L.). *Ann. Parasit. Hum. Comp.* 43: 421-428, 1968.
41. SADUN, E. H.; DUXBURY, R. E.; WILLIAMS, J. S. & ANDERSON, R. I. — Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of African and American trypanosomiasis in man. *J. Parasit.* 49: 385-388, 1963.
42. SHAW, J. J. & VOLLER, A. — The detection of circulating antibody to Kala-Azar of means of immunofluorescent techniques. *Trans. Soc. Trop. Med. Hyg.* 58: 349-352, 1964.
43. SHERLOCK, I. A. & ALMEIDA, S. P. — Observações sobre calazar em Jacobina, Bahia. II — Leishmaniose canina. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças trop.* 21: 535-539, 1969.
44. SHERLOCK, I. A. & ALMEIDA, S. P. — Notas sobre leishmaniose canina no Estado da Bahia. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças trop.* 22: 231-242, 1970.
45. SILVEIRA, R. C. — Distribuição e frequência da leishmaniose em São Paulo, 1919. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo].
46. TEIXEIRA, R. — Experiências vividas com a leishmaniose visceral 1954-1980 (aspectos epidemiológicos, sorológicos e evolutivos). Salvador, Bahia, 1980. [Tese para Professor Titular, Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia].

Recebido para publicação em 28/9/1982.