

INFECÇÕES NATURAIS DE MAMÍFEROS SILVESTRES EM
ÁREA ENDÊMICA DE *LEISHMANIOSE TEGUMENTAR*
DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL *

Oswaldo Paulo FORATTINI **
Dino B. C. PATTOLI **
Ernesto Xavier RABELLO **
Octávio Alves FERREIRA ***

RSPSP-138

FORATTINI, O. P. et al. — *Infecções naturais de mamíferos silvestres em área endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 6: 255-61, 1972.*

RESUMO — *Descreve-se a presença de foco de leishmaniose tegumentar no vale do rio Moji-Guaçu, em região comum aos municípios de Luiz Antonio, São Carlos, Rincão e Santa Rita do Passa Quatro, no Estado de São Paulo, Brasil. Os casos humanos apresentavam formas clínicas caracterizadas por lesões úlcero-vegetantes, de evolução lenta e pobres em parasitos. As investigações sobre infecção natural em animais silvestres levou ao isolamento de roedores, de três cepas em cultura, duas procedentes de Akodon arviculoides e uma de Oryzomys nigripes. As provas de inoculação em hamsters foram, até o momento, positivas para duas delas, mas com evolução lenta, com manifestações clínicas muito discretas e pobres em parasitos. Pelos dados disponíveis até o momento, parece tratar-se de cepas filiaáveis à raça "lenta", à qual se atribui papel na etiologia da forma cutâneo-mucosa da leishmaniose.*

UNITERMOS — *Leishmaniose tegumentar (reservatórios)*; Akodon arviculoides (infecção leishmaniótica natural)*; Oryzomys nigripes (infecção leishmaniótica natural)*; Endemia leishmaniótica; Enzootia leishmaniótica; Raça "lenta" de leishmaniose tegumentar.*

INTRODUÇÃO

Em nota anterior, noticiou-se a existência de área endêmica de leishmaniose tegumentar, situada na região nordeste do Estado de São Paulo, Brasil (FORATTINI et al. 2, 1972). Nessa oportunidade, foram detectados quatro casos humanos, cujas manifestações clínicas revelaram-se através lesões de aspecto úlcero-vegetantes, de evolução lenta e pobres em formas parasitárias. Tais achados ensejaram a programação de série de investigações destinadas a elucidar aspectos epidemiológicos ainda mal conhecidos. Visaram elas pesquisar a existência de focos naturais e o mecanismo de transmissão local da

* Trabalho realizado com o auxílio parcial da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Proc. C. Médicas 70/788).

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

*** Da Diretoria de Combate a Vetores da Superintendência do Saneamento Ambiental (SUSAM) do Estado de São Paulo — Rua Tamandaré, 649 — São Paulo, SP, Brasil.

parasitose. Os primeiros resultados obtidos são relatados neste trabalho e referem-se a encontros de infecções naturais em mamíferos silvestres.

Região estudada

A área é formada por partes dos municípios de Luis Antonio, São Carlos, Rincão e Santa Rita do Passa Quatro, situada aproximadamente a 21°50' de latitude sul e 48° de longitude oeste e próxima das cidades de Ribeirão Preto, Araraquara e São Carlos (Figura 1).

A região faz parte do vale do rio Moji-Guaçu, que pertence ao sistema hidrográfico do Rio Grande. A altitude média local oscila ao redor dos 500 m acima do nível do mar. O relevo é ligeiramente ondulado, constituído por numerosos vales que acompanham pequenos cursos de água, afluentes daquele rio. A vegetação primitiva é relativamente escassa, representada por algumas glebas de mata que acompanham as margens do Moji-Guaçu e por cerrados que se estendem mais em direção aos espigões. As terras sofreram intensamente as conseqüências da atividade humana, daí resultando campos de cultura ou vegetações de segunda formação.

As pesquisas foram levadas a efeito em área de floresta primitiva, conhecida como Mata do Beija-Flor e pertencente à Fazenda Jataí, onde funciona a Estação Experimental de Luiz Antonio, da Secretaria da Agricultura. Na margem oposta, estende-se o Bairro Falcão que também foi escolhido como sede de investigações e onde foram assinalados vários casos humanos da doença. Outros dados foram observados nas Fazendas União e Vaçununga. Nesta última, observa-se o terreno devastado em grande extensão, restando apenas matas de segunda formação confinadas ao fundo dos vales e onde foram encontrados alguns doentes. As Fi-

guras 2 a 5 dão idéia dos aspectos supradescritos.

Até o momento, com a inclusão daqueles já descritos anteriormente (FORATTINI et al.², 1972), o número total de casos humanos ascende a nove, assim distribuídos:

Falcão	4
Jataí	2
Vaçununga	2
União	1
Total	9

Todos mostraram aspecto clínico bastante uniforme, com lesões precocemente vegetantes e de evolução longa. Em um deles, observou-se comprometimento mucoso nasofaríngeo.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa de infecção natural em animais foi feita mediante a captura e o transporte dos exemplares vivos ao laboratório. Uma vez ali, eram submetidos ao exame do tegumento para verificar a possível presença de lesões macroscópicas. Tanto na presença como na ausência dessas alterações cutâneas, procedia-se à coleta de material para cultura, de acordo com a técnica descrita por HERRER et al.³ (1966). Rotineiramente, foi obedecida a seguinte seqüência:

- 1 — retirava-se fragmentos cutâneos em vários pontos da cauda, preferivelmente ao longo da metade basal, e da extremidade dos pavilhões auriculares. No caso da presença de lesões macroscópicas, eram elas preferentemente incluídas na colheita;
- 2 — precedendo a retirada, a região era desinfetada com álcool iodado a 7,0% (7,0% de iodo e 3,0% de iodeto de potássio). Antes da secagem, era feita limpeza, a mais completa possível, com éter sulfúrico;

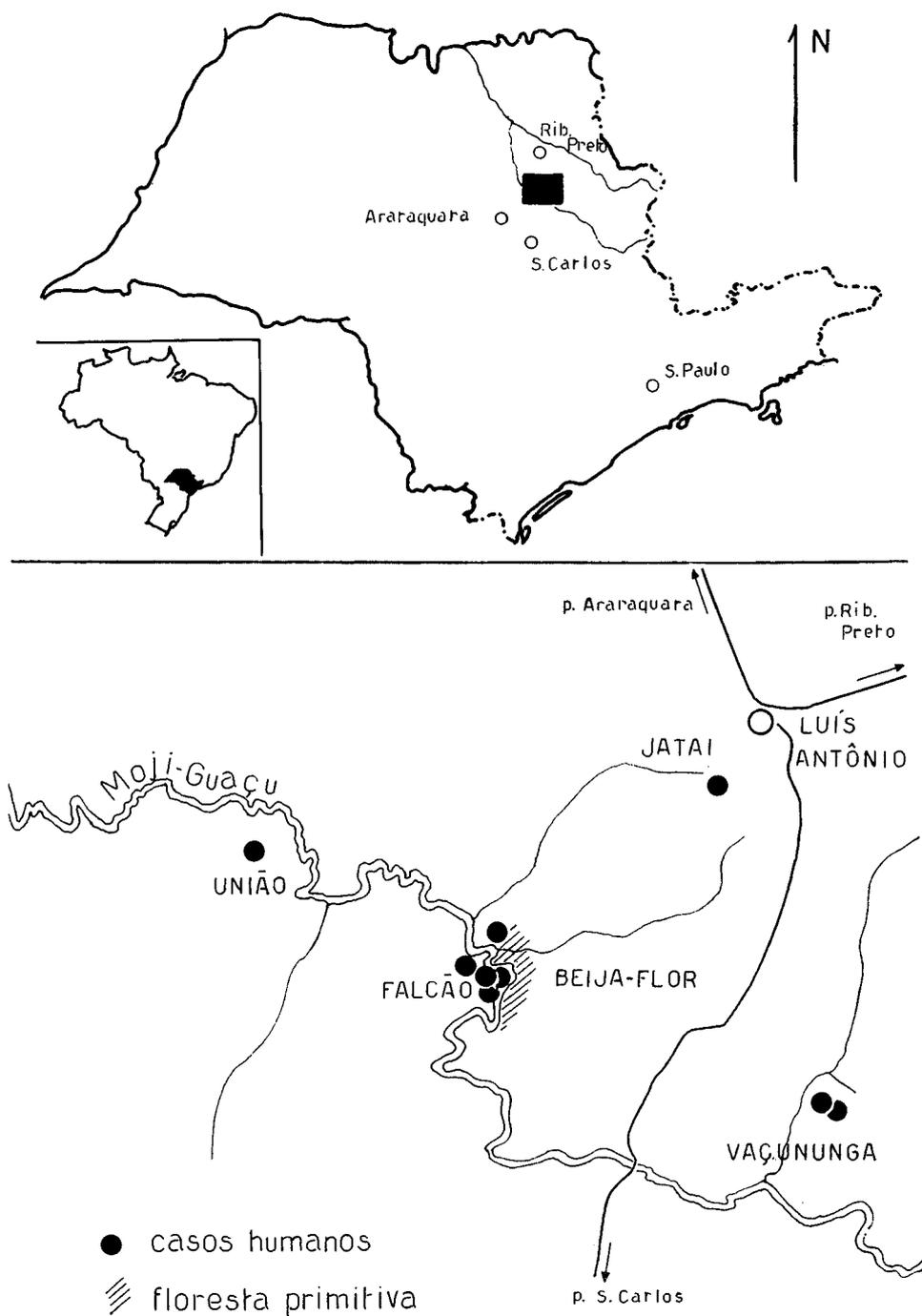


Fig. 1 — Localização da área estudada, mostrando a distribuição dos casos humanos observados

3 — o material retirado era cortado em fragmentos finos, com o auxílio de tesoura e colocado em solução salina, contendo penicilina e estreptomina, na seguinte concentração:

Penicilina G potássica - 1.000 U por ml

Sulfato de estreptomina - 1 mg por ml

4 — os frascos com os fragmentos cutâneos eram mantidos em refrigerador a 4°C, durante 72 horas;

5 — após retirada da solução salina, os fragmentos eram triturados em geral e suspensos em 2 ml de solução

salina com penicilina e estreptomina nas mesmas concentrações já citadas.

O meio de NNN foi utilizado não apenas para o isolamento, mas também para a manutenção de culturas em repiques sucessivos.

As cepas isoladas foram inoculadas por via intradérmica, na região nasal de hamsters. Estes animais foram submetidos ao exame periódico para detectar a ocorrência de alterações cutâneas. Após tempo variável de 2/3 meses, com ou sem desenvolvimento de lesões, procedia-se à retirada da região inoculada para exame histológico.

RESULTADOS

Infecção natural — Na Mata do Beija-Flor, foram coletados e examinados 137

roedores, cujos resultados encontram-se na Tabela 1:

TABELA

Coleta e exame de roedores, na mata de Beija-Flor

Espécie	N.º	Culturas positivas
<i>Akodon arviculoides</i>	50	2
<i>Clyomys laticeps</i>	2	—
<i>Clyomys</i> sp.	1	—
<i>Nectomys squamipes</i>	2	—
<i>Nectomys</i> sp.	2	—
<i>Oryzomys nigripes</i>	40	1
<i>Oryzomys subflavus</i>	3	—
<i>Oryzomys</i> sp.	33	—
<i>Zygodontomys</i> sp.	4	—
Total	137	3

Como se pode ver, foi conseguido o isolamento de 3 cepas, 2 procedentes de *Akodon arviculoides* e uma de *Oryzomys nigripes*. É de se assinalar que houve frequente contaminação por cogumelos a qual, em alguns casos, ultrapassou 50% das sementeiras. Nos três isolamentos, somente um dos animais, representado por exemplar de *Akodon arviculoides*,

apresentava lesões macroscópicas, limitadas à cauda e com aspecto de pequenas áreas escamativas próximas à base (Figura 6). Tais alterações eram pequenas, com apenas alguns milímetros de largura, um tanto esparsas e cobertas de escamas que lhes emprestava tonalidade esbranquiçada.

FORATTINI, O. P. et al. — Infecções naturais de mamíferos silvestres em área endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 6: 1972.



Fig. 2 — Aspecto do rio Moji-Guaçu mostrando trecho da Mata do Beija-Flor, na margem oposta.



Fig. 3 — Trecho da Mata do Beija-Flor, de aspecto primitivo.



Fig. 4 — Aspecto panorâmico da Fazenda Vacununga, notando-se florestas secundárias confinadas no fundo dos vales.



Fig. 5 — Mata secundária de vale na Fazenda Vaçununga.

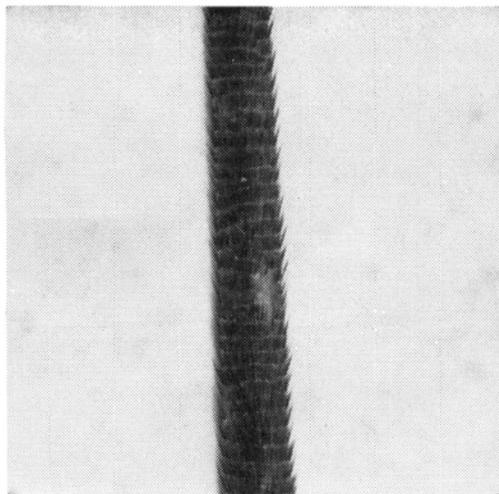


Fig. 6 — Lesão escamativa na cauda de *Akodon arviculoides*.

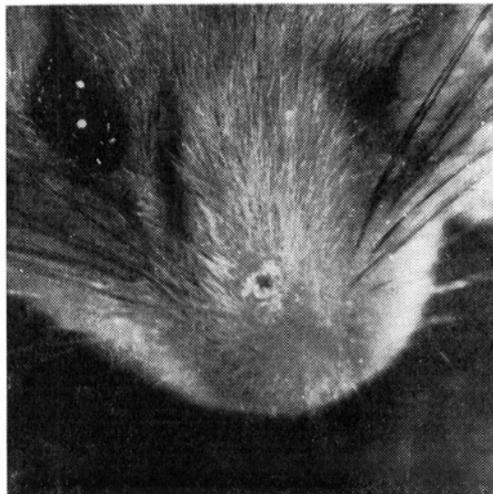


Fig. 7 — Lesão nodular crostosa obtida em hamster com a cepa R, após 40 dias de evolução, positiva para formas de leishmania.

Identificação — A natureza leishmaniótica dos isolamentos foi comprovada através inoculações em laboratório, levadas a efeito em hamsters.

As cepas foram designadas pelas siglas seguintes:

R₁ (RPX 1965) — *Akodon arviculoides*

R₂ (RPX 1688) — *Akodon arviculoides*

R₃ (RPX 1703) — *Oryzomys nigripes*

Até o momento, foram obtidos os seguintes resultados:

1.^a *Inoculação* — Em 8.II.72, primeiro repique das culturas em hamsters jovens.

R₁ — Em 17.III.72, observou-se a presença de ligeiros nódulos crostosos na região inoculada (Figura 7). Em 9.VI.72, o aspecto mostrava-se inalterado. Um dos animais foi sacrificado e o exame histológico revelou-se positivo para formas em leishmania.

As outras duas cepas apresentaram resultados negativos até o momento.

2.^a *Inoculação* — Em 22.II.72, terceiro repique das culturas em hamsters jovens. Nada pode-se observar até agora. Os animais continuam em observação.

3.^a *Inoculação* — Em 24.III.72, quarto repique das culturas, em dois lotes de hamsters jovens para cada cepa. Um deles normal e outro tratado com corticoides. Em 1.IV.72 e 4.IV.72, morreram dois animais dos lotes R₃ e R₁, respectivamente, e que tinham sido submetidos à ministração da droga. O exame histológico da região inoculada revelou a presença de formas parasitárias em leishmânia. Os outros animais continuam em observação, até o momento.

Assim sendo, até agora somente se revelaram positivas as cepas R₁ e R₃ e, apenas ao exame histológico de animal tratado. Os demais continuam em observação.

É de se notar que houve freqüente desenvolvimento de nódulos, peladas e crostas na região inoculada sem, contudo, ainda se revelarem positivas à pesquisa de parasitos. Dessa maneira, a identificação completa das culturas isoladas está sendo tentada, esperando-se obter maiores informações em data posterior.

COMENTARIOS

Em épocas mais recentes, tem-se acumulado o número de dados sobre encontro de infecções leishmanióticas naturais em animais silvestres da região neotropical. E isso, graças a investigações levadas a efeito em diversas áreas centro e sulamericanas. No caso particular do Brasil, as investigações de LAINSON & SHAW⁴ (1970) revelaram certas feições a serem utilizadas na interpretação dos achados dessa natureza. As pesquisas desses autores na região norte do Estado de Mato Grosso, levaram à diferenciação de duas raças do parasita, denominadas "rápida" (fast) e "lenta" (slow). As duas podem coexistir na mesma área, diferenciando-se pelo comportamento em inoculações experimentais e em cultura. A primeira tende a produzir lesões em poucos meses, com produção de grande número de histiocitos e formas em leishmânia. A segunda é de evolução bem mais vagarosa, com a produção de lesões discretas, nodulares, dotadas de reação tissular evidente, mas pobres em parasitos.

Pelos dados obtidos até agora, tudo leva a crer que as cepas isoladas por nós devam ser classificadas como da forma "lenta", pois as lesões foram discretas, pouco produtivas e pobres em leishmânias. Nas citadas investigações executadas em Mato Grosso, a espécie encontrada naturalmente infectada por essa raça "lenta" foi a correspondente ao roedor *Oryzomys concolor*. A ela poderíamos acrescentar, com estas observações no Estado de São Paulo, possível papel aná-

logo desempenhado por *Akodon arviculoides* e *Oryzomys nigripes*. Este último, aliás, já tendo sido observado como parasitose natural por formas de leishmânia no Estado do Rio de Janeiro (BARBOSA et al.¹, 1970).

Em princípio, a cepa "lenta" seria filial à etiologia da forma cutâneo-mucosa da doença. Nos casos humanos observados na região, pudemos verificar o desenvolvimento de lesões mucosas em um deles mas, como regra geral, todos eram portadores de pequeno número de lesões, pobres em parasitos e de aspecto produtivo. Assim sendo, quer-nos parecer que, pelo menos, o comportamento das cepas R₁ e R₃ é de molde a levar-nos à hipótese de certa identidade com os casos humanos locais. As provas de inoculação das cepas humanas encontram-se em andamento e serão comunicadas oportunamente.

Por outro lado, a elevada contaminação que ocorreu nas tentativas de isolamento, impede a estimativa de coeficientes de infecção natural. Para obviar esse inconveniente, nas observações em continuação introduziu-se, de maneira rotineira, o exame histológico do material retirado.

De qualquer forma, estas observações acrescentam às já realizadas em outras partes do Brasil e pela primeira vez, a possível responsabilidade epidemiológica de *Akodon arviculoides* e *Oryzomys nigripes* como reservatórios da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo.

CONCLUSÕES

Face ao apresentado, é lícito concluir:

1 — Existe região endêmica de leishmaniose tegumentar no vale do rio Moji-Guaçu, na altura dos municípios de Luis Antonio, São Carlos, Rincão e Santa Rita

do Passa Quatro, no Estado de São Paulo, Brasil.

2 — Essa endemia está provavelmente filiada a foco enzoótico, do qual participam roedores. Entre estes, provaram encontrar-se como portadores da infecção natural, representantes de *Akodon arviculoides* e *Oryzomys nigripes*.

3 — As cepas que infectam esses animais, pelo menos duas delas, parecem pertencer à raça "lenta" de LAINSON & SHAW⁴ (1970) que, por sua vez, encontra-se associada à etiologia da forma cutâneo-mucosa da parasitose.

4 — Tudo leva a crer que as cepas isoladas desses animais têm comportamento semelhante às de origem humana dos casos encontrados na região.

AGRADECIMENTO

Ao Dr. Cory T. de Carvalho, sob cuja supervisão procedeu-se à identificação dos mamíferos coletados.

RSPSP-138

FORATTINI, O. P. et al. [Natural infection of sylvatic mammals of cutaneous leishmaniasis in S. Paulo State, Brazil.] *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 6: 255-61, 1972.

SUMMARY — An endemic area of cutaneous leishmaniasis in the State of S. Paulo, Brazil, is described. Clinical aspects of human cases showed few lesions with slow evolution and few parasites. From investigations on natural infections of local sylvatic mammals by skin cultures technique ensued three strains isolations from *Akodon arviculoides* and *Oryzomys nigripes* rodents. Two of these showed to infect hamsters experimentally, but with discrete cutaneous manifestations and few parasites. This aspect seems to be alike the behaviour of "slow" strain, who was included in the possibility of the mucocutaneous leishmaniasis etiology. The pre-

FORATTINI, O. P. et al. — Infecções naturais de mamíferos silvestres em área endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 6: 255-61. 1972.

sence of sylvatic enzootic forms of the disease is concluded.

UNITERMS — *Cutaneous leishmaniasis reservoirs**; *Akdon arviculoides, natural leishmanial infection**; *Oryzomys nigripes, natural leishmanial infection**; *Mucocutaneous leishmaniasis*; *Sylvatic enzootic forms of cutaneous leishmaniasis*; *Endemic area of cutaneous leishmaniasis*; *"Slow" strain in mucocutaneous leishmaniasis etiology.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBOSA, F. S. et al. — Nota sobre a infecção natural de roedores por *Leishmania* sp. nos limites dos municípios de Teresópolis — Nova Friburgo, Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 4: 113-5, 1970.
2. FORATTINI, O. P. et al. Nota sobre um foco de leishmaniose tegumentar na região nordeste do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 6: 103-5, 1972.
3. HERRER, A. et al. — Natural infections of *Leishmania* and trypanosomes demonstrated by skin culture. *J. Parasit.*, 52: 954-7, 1966.
4. 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 man and forest animals. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 64: 654-67, 1970.

Recebido para publicação em 12.7-1972

Aprovado para publicação em 26.7-1972