

OBSERVAÇÕES SOBRE CALAZAR EM JACOBINA, BAHIA. VI – INVESTIGAÇÕES SOBRE RESERVATÓRIOS SILVESTRES E COMENSAIS.

I. A. Sherlock¹, J.C. Miranda¹, M. Sadigursky¹ e G. Grimaldi Jr.²

Durante os anos de 1982 a 1986, a investigação sobre mamíferos comensais e silvestres, da periferia da cidade de Jacobina, Bahia, mostrou, ao lado do escasso número de exemplares, uma reduzida variedade específica dessa fauna. Capturou-se apenas 11 espécies, entre as quais, predominou o Didelphis albiventris, que abrangeu 44% dos 213 espécimens capturados. Entre os 193 com exames já concluídos, 84 eram exemplares de D. albiventris e 2 estavam infectados pela Leishmania donovani sensu lato, 1 por L. mexicana amazonensis, 1 por L. braziliensis, subespécie e 3 por Trypanosoma cruzi. Também foram observadas formas suspeitas de serem amastigotas de leishmanias, nos esfregaços de órgãos de 3 exemplares de Dasyprocta aguti, 1 Cercomys cunicularius – e 1 Oryzomys eliurus. O restante dos exemplares, inclusive 14 de Lycalopex vetulus, estava negativo para flagelados.

Apesar de reforçado por outros indicadores epidemiológicos, como a predominância específica, a frequência domiciliar, a atratividade para a vetora Lutzomyia longipalpis, e a concomitância com casos humanos nos mesmos locais, o índice de 2,3% de infecção natural do Didelphis albiventris, não autoriza a conclusão definitiva de ser o marsupial o mais importante reservatório natural da leishmaniose visceral em Jacobina.

Palavras Chaves: Leishmaniose visceral americana. Reservatórios silvestres. *Didelphis albiventris*. *Leishmania donovani*. *Leishmania mexicana amazonensis*. *Leishmania braziliensis* subespécie.

Com exceção de um trabalho dos próprios autores do presente⁹, nada mais existe publicado sobre reservatórios extradomésticos da leishmaniose visceral americana em Jacobina, apesar de ser esse um dos mais antigos focos de calazar do Brasil.

Aqui apresentamos alguns resultados de investigações recentes (de 1982 a 1986) que fizemos em Jacobina, Bahia, sobre reservatórios comensais e silvestres de leishmaniose visceral, dando continuidade à publicação da série de observações sobre ecologia e epidemiologia da leishmaniose visceral nesse foco endêmico, que vinham sendo feitas desde 1959 pelo primeiro autor^{4 5 6 7 8 9}.

MATERIAL E MÉTODOS

As zonas periféricas da cidade de Jacobina foram hipoteticamente divididas em sete subáreas, seguindo o critério de Teixeira¹⁰ e Badaró¹ que também faziam simultaneamente observações sobre os aspectos clínicos e epidemiológicos do calazar na mesma área. A subárea 3, Grotinha, onde mais recentemente

vinha ocorrendo maior número de casos humanos da doença, foi a escolhida para servir de área de amostragem para o nosso trabalho. Grotinha corresponde a um pequeno vale, onde existem três ruas de casas desordenadamente localizadas. Fica contínua à área que possui os últimos resquícios de vegetação, da periferia da cidade, representados por matas de formação secundária. No período em que realizamos as observações aqui relatadas, a leishmaniose visceral apresentou-se com transmissão ativa, apesar de que nos anos iniciais, apenas poucos casos tenham sido diagnosticados. No final do período de observações, ocorreu um surto epidêmico, quando foram registrados mais de 50 casos humanos. De 1980 a 1984, segundo Badaró¹, a incidência média global de casos foi de 13,7/1.000 crianças nessa subárea de Grotinha.

Todo mês, durante uma semana, colocávamos armadilhas de arame tipo alçapão para a coleta de pequenos animais silvestres e algumas para animais maiores, em pontos que julgávamos estratégicos. As armadilhas eram colocadas pela manhã e à noite, quando eram também feitas inspeções para ver se tinham capturado algum animal, e para reposição das iscas que já tinham sido consumidas. Usamos como iscas frutas, milho, queijo, semente de abóbora, etc.; a isca de abacaxi era a que dava melhores resultados para a captura de marsupiais e a de semente de abóbora, para roedores. Além dos animais que coletamos, adqui-

¹ Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – FIORUZ/UFBA – Salvador, Bahia.

² Instituto Oswaldo Cruz FIOCRUZ – Rio de Janeiro. Financiado pelo International Development Research Centre, Canadá.

Recebido para publicação em 9/3/87.

rimos, dos caçadores locais, os exemplares de raposas, cutias e tatus referidos neste trabalho. É muito difícil a captura de raposas e por isso jamais coletamos um só exemplar em nossas armadilhas.

Todos os animais foram submetidos a xenodiagnósticos com triatomídeos e flebotomíneos. Após sacrificados sob anestesia geral com éter, clorofórmio, tionembutal ou pentobarbital, era feita a necrópsia e retirava-se de cada animal um fragmento de fígado, baço, pele e uma amostra de sangue do coração. Esta última era imediatamente examinada para a pesquisa de tripanossomas. As amostras de todo o outro material eram utilizadas para esfregaços em lâminas que eram corados pelo Giemsa, para o semeio em meios de cultura para flagelados (NNN, LIT, etc.), inclusive o sangue, e para o estudo histopatológico. Os esfregaços em lâminas foram examinados ao microscópio ótico, para a pesquisa de amastigotas. Além desses exames as amostras de fígado e baço eram maceradas e inoculadas intraperitonealmente em hamsteres. Estes animais, a não ser que se apresentassem doentes antes do tempo, eram examinados no período de 6 a 12 meses a contar da data da inoculação.

As espécies dos animais que foram coletadas eram comuns e já conhecidas, não tendo sido necessária uma classificação especial. Nós mesmos as identificamos, comparando-as com exemplares taxidermizados que tinham sido classificados por especialistas do Museu Nacional. A identificação das espécies de leishmânias foi feita nos laboratórios do Instituto Oswaldo Cruz, através de análise da densidade especifi-

ca do DNA, anticorpos monoclonais e composição isoenzimática, assim como também em nossos laboratórios, pelo comportamento de infecção no hãmsster e no tubo digestivo de *L. longipalpis*, crescimento em culturas e aspecto morfológico em esfregaços corados pelo Giemsa.

RESULTADOS

Foram montadas 3.353 armadilhas para a captura dos animais silvestres e comensais em Jacobina, durante os anos de 1982 a 1986, das quais, apenas 166 (5%) conseguiram capturar 178 animais. Isso demonstrou, não a falta de eficácia das armadilhas, mas sim, o escasso número de animais silvestres existentes na periferia da cidade.

Além desses animais que capturamos e que foram representados, na quase totalidade, por marsupiais e roedores, foram adquiridos por compra dos caçadores locais, 8 cutias, 6 tatus, 7 preás e 14 raposas.

Ao lado do reduzido número de espécimens, a variedade específica da fauna era também muito pequena, tendo-se conseguido, incluindo-se os roedores doméstico, apenas 11 espécies de mamíferos, conforme apresentamos na Tabela 1. O animal predominante foi o marsupial *Didelphis albiventris*, localmente chamado de "sariguê", que abrangeu 44% dos animais examinados da área. Em seguida, predominavam os roedores, com cerca de 39% de frequência. A rapo-

Tabela 1 – Animais silvestres e comensais obtidos de 1982 a 1986, em Jacobina, Bahia, para a pesquisa de leishmânias.

<i>Espécie de animal</i>	<i>Capturados em Armadilhas</i>	<i>Adquiridos dos Habitantes</i>	<i>Total</i>
<i>Didelphis albiventris</i> (Sariguê, gambá)	94	–	94
<i>Dasyprocta aguti</i> (Cutia)	–	8	8
<i>Cavia porcellus</i> (Preá)	–	7	7
<i>Cercomys cunicularius</i> (Rato-punurá)	12	–	12
<i>Oryzomys eliurus</i>	8	–	8
<i>Oryzomys subflavus</i> (Rato-do-algodão)	1	–	1
<i>Rattus rattus</i> (Rato preto, guabiru)	20	–	20
<i>Mus musculus</i> (Camundongo doméstico)	42	–	42
<i>Chiroptera</i> (espécie?) (morcego)	1	–	1
<i>Cabassous unicinctus</i>	–	6	6
<i>Lycalopex vetulus</i> (Raposa)*	–	14	14

* Identificamos como *Lycalopex vetulus* por nos parecerem idênticos aos estudados por L.M. Deane² no Ceará e assim determinados pelo Dr. João Moojen, do Museu Nacional. Os exemplares de *Cerdocyon thous*, capturados no Pará por R. Lainson³, parecem-nos maiores e mais escuros.

sa *Lycalopex vetulus* apresentou-se com apenas 14 exemplares. Os roedores silvestres foram menos frequentes que os domésticos.

Foram obtidos e examinados para leishmânias 213 animais (Tabela 1). Entre os 193 com exames já concluídos (Tabela 2), foram encontrados com formas

suspeitas de serem amastigotas de leishmânias, esfregaços de baço e fígado de 4 exemplares de *Dasyprocta aguti* e esfregaços de baços de 1 *Cercomys cunicularius* e 1 *Oryzomys eliurus*. Infelizmente, não foi possível o isolamento, nem a identificação específica dessas suspeitas leishmânias.

Tabela 2 – Animais silvestres e comensais obtidos de 1982 a 1986 em Jacobina, Bahia, encontrados naturalmente infectados por trypanosomatídeos

Espécie do animal	Com infecção por:					
	Examinados	<i>Leishmania donovani</i>	<i>Leishmania mexicana amazonensis</i>	<i>Leishmania braziliensis sub-espécie</i>	Formações suspeitas de serem amastigotas	<i>Trypanosoma cruzi</i>
<i>Didelphis albiventris</i>	84	2	1	1	–	3
<i>Dasyprocta aguti</i>	7	–	–	–	4	–
<i>Cavia porcellus</i>	6	–	–	–	–	–
<i>Cercomys cunicularius</i>	12	–	–	–	1	–
<i>Oryzomys eliurus</i>	8	–	–	–	1	–
<i>Oryzomys subflavus</i>	1	–	–	–	–	–
<i>Rattus rattus</i>	19	–	–	–	–	–
<i>Mus musculus</i>	35	–	–	–	–	–
Chiroptera (espécie?)	1	–	–	–	–	–
<i>Cabassous unicinctus</i>	6	–	–	–	–	–
<i>Lycalopex vetulus</i>	14	–	–	–	–	–
Total	193	2	1	1	6	3

Entre os 94 exemplares de *D. albiventris* coletados, já têm resultados definitivos 84 e destes 4 estavam infectados com 3 espécies de leishmânias e 3 com *Trypanosoma cruzi*, conforme mostramos na Tabela 2. Os exemplares infectados de *D. albiventris*, de acordo com as espécies de leishmânias, e pelo *T. cruzi*, foram: com *Leishmania donovani* lato sensu 2 exemplares nas inoculações de baços em hamsteres; *Leishmania mexicana amazonensis* 1 exemplar infectado na hemocultura; *Leishmania braziliensis* subespécie 1 exemplar infectado em inoculações distintas de fígado e baço, em hamsteres; *Trypanosoma cruzi* em 3 exemplares infectados, sendo 2 através de hemoculturas e 1 através de xenodiagnóstico com triatomíneos.

Na Tabela 3, observa-se que os exemplares de *D. albiventris* foram coletados durante todos os meses do ano, havendo, contudo, um maior número de animais nos meses de junho, julho e agosto. Essa variação estava diretamente correlacionada com a den-

Tabela 3 – Variação mensal de *Didelphis albiventris* em Jacobina, Bahia (1982-1986).

Mês	Nº armadilhas colocadas	Nº <i>D. albiven-</i> tris capturados	Índice armadilhas positivas
Janeiro	214	4	1,9
Fevereiro	154	2	1,3
Março	233	2	0,9
Abril	299	7	2,3
Mai	334	6	1,8
Junho	342	4	1,2
Julho	353	17	4,8
Agosto	408	14	3,4
Setembro	265	2	0,8
Outubro	280	8	2,9
Novembro	252	6	2,4
Dezembro	218	7	2,8
Total	3.353	79	2,4

* Não incluídos 15 filhotes capturados com as mães.

sidade de *Lutzomyia longipalpis* e com os casos humanos de leishmaniose visceral, conforme pode ser observado em trabalhos já publicados^{7 8 10}.

DISCUSSÃO

Devido, provavelmente, à exterminação indiscriminada feita pelo homem, a fauna de mamíferos silvestres e comensais, que ainda existe na periferia de Jacobina, restringe-se a poucas espécies. Entre as remanescentes, destaca-se o marsupial *Didelphis albiventris*, ali encontrado, pela primeira vez, infectado pela *Leishmania donovani* lato sensu, com o índice de 2,3% de infecção natural. Esse mamífero, foi também encontrado em Jacobina, naturalmente infectado pelas seguintes outras espécies de leishmânias: *L. mexicana amazonensis* (1,1%), *L. braziliensis* subespécie (1,1%), e pelo *Trypanosoma cruzi* (3,5%).

As leishmanioses cutâneas são raras em Jacobina e a doença de Chagas não existe de modo autóctone nessa localidade. A falta de ocorrência dessa tripanosomose humana é explicada pela inexistência de triatomíneos domiciliados e, por isso, somente poucos casos humanos, não autóctones, têm sido registrados na cidade^{1 10}.

Lutzomyia flaviscutellata, que é a principal vetora de *L. m. amazonensis*, não foi assinalada para Jacobina. Entretanto, outra espécie do subgênero *Nyssomyia*, a *Lutzomyia (N.) whitmani*, já foi encontrada na área, podendo ser uma das responsáveis pela transmissão desses tipos de leishmânias. A *Lutzomyia longipalpis*, a vetora principal da *L. donovani* no Brasil, é bem atraída para sugar o *D. albiventris*, tanto no campo como no laboratório⁹, sendo também uma vetora potencial das outras espécies de leishmânias mencionadas.

Os dados foram obtidos durante os meses mais chuvosos do ano, e quando o marsupial com mais frequência procura o domicílio humano, em busca de alimento, o qual torna-se, provavelmente, mais escasso, nos ecótopos silvestres. No ambiente domiciliar, além de restos de comida, o marsupial se alimenta de ovos, galinhas, pintos, que rouba nos abrigos desses animais domésticos.

Além de sua infecção natural, os seguintes fatores corroboraram para incriminar, epidemiologicamente, o *D. albiventris*, como um reservatório primário de *L. donovani* em Jacobina: a variação estacional da atividade domiciliar do mamífero que é correlacionada com a variação estacional da população do vetor e com a prevalência da doença humana e da canina; encontra-se, concomitantemente, em grutas de pedras, tanto *L. longipalpis* como o marsupial; esse mamífero frequenta o peridomicílio, vindo do ambiente silvestre. Os dois exemplares, que foram encontrados naturalmente infectados, foram capturados numa

casa vizinha a uma outra onde, simultaneamente, encontramos um cão doente. Essa casa, por sua vez, era muito próxima a uma terceira casa onde se diagnosticou, ao mesmo tempo, um caso humano de calazar; infecta-se facilmente com *L. donovani* e não sofre danos aparentes provocados pelo parasito. O estudo dos exemplares, naturalmente infectados, e também o de um exemplar infectado, experimentalmente, com a mesma cepa de leishmânia, mostrou discretas alterações histopatológicas, apesar de ter sido usada elevada dose de parasitos no inóculo da observação experimental.

O *D. albiventris* é um animal americano e sua infecção por uma leishmânia que não lhe provoca danos acentuados, parece indicar uma antiga associação parasito-hospedeiro no continente americano. Assim, poder-se-ia explicar a origem americana de uma espécie de leishmânia viscerotrópica que já foi denominada de *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937. O marsupial representaria um dos elos de conexão das cadeias de transmissão doméstica e silvestre.

Apesar dessas fortes evidências, ainda não se pode afastar a possibilidade de ter sido o marsupial infectado a partir do homem, de cães ou de roedores, infectados pela *L. donovani*, que tenham sido introduzidos na área.

Também, em vista do pequeno número de exemplares examinados de outros mamíferos, incluindo-se raposas e roedores, não fica excluída a possibilidade de que esses tenham importantes papéis como reservatórios primários da leishmaniose visceral americana. O baixo índice de infecção natural de *D. albiventris* pela *L. donovani* (2,3%), apesar de sugerir, não autoriza a fazer-se uma conclusão definitiva sobre o assunto. Isto exige a realização de mais investigações para o esclarecimento de quais são os mais importantes reservatórios naturais de leishmaniose visceral no continente americano.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos nossos técnicos auxiliares, a seguir relacionados, a colaboração que nos deram tanto nos trabalhos de campo como no laboratório: Antônio Carlos Santos, Jorge Lessa Tolentino, Ronaldo Pereira Lima e Raimundo José Ferreira.

SUMMARY

From 1982 to 1986, investigations on the natural infection with leishmanias of the sylvatic and commensal mammals were carried out around the city of Jacobina, Bahia, one of the oldest endemic foci of visceral leishmaniasis in Brazil.

The species of *Marsupialia* *Didelphis albiventris* predominated, with the rate of 44%, over the total of 213 specimens belonging to only 11 different species of mammals collected there. Among the 84 specimens of *D. albiventris* examined, 2(2.3%) were infected with *Leishmania donovani sensu lato*; 1 with *L. mexicana amazonensis*, 1 with *L. braziliensis sub species*, and 3 with *Trypanosoma cruzi*. Also, amastigote suspected bodies were seen in the smears of spleens and livers of 3 *Dasyprocta aguti*, 1 *Cercomys cunicularius* and 1 *Oryzomys* sp.

Although strengthened by some epidemiological evidences, such as specific predominancy, peri domestic and domestic occurrence, attractiveness for the vector *Lutzomyia longipalpis* and the concomitancy with human cases of visceral leishmaniasis at the same place, the low rate of the natural infection of *D. marsupialis* still do not allow a definitive conclusion that the opossum is a primary and the most important reservoir of visceral leishmaniasis in Jacobina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Badaró RJ S. Epidemiologia da leishmaniose visceral. Estudo prospectivo da infecção e doença na área endêmica de Jacobina-Bahia (1980-1984). Tese Mestrado. Universidade Federal da Bahia, 1985.
2. Deane LM. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Serviço Nacional de Educação Sanitária, Rio de Janeiro, 1956.
3. Lainson R. Our present knowledge of the ecology and control of Leishmaniasis in the Amazon Region of Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 18:47-56, 1985.
4. Sherlock IA. Observações sobre calazar em Jacobina, Bahia. I – Histórico e dados preliminares. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais* 21:523-534, 1969.
4. Sherlock IA, Almeida SP. Observações sobre calazar em Jacobina, Bahia. II – Leishmaniose canina. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais* 21:535-540, 1969.
6. Sherlock IA, Almeida SP. Observações sobre calazar em Jacobina, Bahia. V – Resultados de medidas profiláticas. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais* 22:715-728, 1970.
7. Sherlock IA, Guitton N. Observações sobre calazar em Jacobina, Bahia. III – Alguns dados sobre o *Phlebotomus longipalpis* o principal transmissor. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais* 21:541-548, 1969.
8. Sherlock IA, Guitton N. Observações sobre calazar em Jacobina, Bahia. IV – Variação horária e estacional do *Phlebotomus longipalpis*. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais* 21:715-728, 1969.
9. Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi Jr. G. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia Didelphidae) with *Leishmania donovani* in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 79:461-470, 1984.
10. Teixeira R. Experiências vividas com a leishmaniose visceral 1954/1980 (Aspectos epidemiológicos, sorológicos e evolutivos). Tese. Universidade Federal da Bahia, 1980.