

LEISHMANIOSE TEGUMENTAR — ZOONOSE DE ROEDORES SILVESTRES NA AMAZÔNIA ¹

F. NERY GUIMARÃES

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro,
Guanabara

**MIGUEL AZEVEDO e
REINALDO DAMASCENO**

Instituto Evandro Chagas,
Belém, Pará

(Com 6 figuras no texto)

I — INTRODUÇÃO

Este trabalho resume os estudos feitos sobre a infecção natural por *Leishmania* de roedores do gênero *Oryzomys*, encontrados nas florestas do Utinga (Município de Belém, Estado do Pará). Sobre o assunto, foram publicadas 5 “notas” (1964/1966), sendo a 3.^a delas, apresentada no “I International Congress of Parasitology” (Rome, September, 1964).

A epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar (LT) na Amazônia, assim como em outras partes do país, sempre fez suspeitar da existência de um reservatório silvestre da doença. Durante as atividades do Serviço de Estudos das Grandes Endemias, em Belém (1937/1939), foram encontrados corpúsculos com morfologia suspeita de *Leishmania* em pequenos roedores (*Proechimys oris*). Todavia, esse achado não obteve confirmação, talvez porque a pesquisa era dirigida principalmente para os órgãos internos, uma vez que os trabalhos, na época, tinham como escopo o calasar.

Desde 1937 estávamos convictos da existência de um reservatório silvestre da LT. Entre outros fatos que levaram a essa conclusão, lembramos que uma Turma da Comissão de Limites do Setor Norte, trabalhando nas cabeceiras do rio Mapuera (afluente do rio Trombetas), junto à fronteira com a Venezuela, teve vários dos seus membros atacados pela LT, quase ao mesmo tempo. A região era desabitada, e a rigorosa seleção do pessoal, não admitia o ingresso de indivíduos com ulcerações. Recentemente, quando da abertura da estrada Belém-Brasília, em certa região nas vizinhanças do rio Capim, mais de 50% das pessoas trabalhando na mata adquiriram a doença. Nessa área e em outras vizinhas, até mesmo pessoal em tarefas médico-sanitárias, tem sido atingido pela LT.

¹ Recebido para publicação a 3 de agosto de 1967.

Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz e Instituto Evandro Chagas.

Em agosto de 1963, o Dr. R. Lainson, visitou o Instituto Evandro Chagas, em Belém, e ao saber do grande número de ratos silvestres que eram capturados na floresta do Utinga, chamou a atenção para as suas verificações na Honduras Britânica sobre a infecção natural de roedores (*Ototylomys*, *Heteromys*, *Nyctomys*) por *Leishmania*. As lesões leishmanióticas da cauda são muito características de modo que foram logo encontrados 2 ratos (*Oryzomys goeldii*) infectados (ns. 12.680 e 12.946).

II — CAPTURA DO *ORYZOMYS* E TENTATIVA DE CRIAÇÃO

Em larga faixa das matas do Utinga, nas vizinhanças de Belém, foi demarcada uma grande área, subdividida em outras menores, nas quais são distribuídas armadilhas próprias, onde são capturados roedores silvestres para estudos sobre arboviroses. Esses trabalhos de campo são dirigidos pelo Sr. Arlindo de Souza, Técnico de Laboratório do Instituto Oswaldo Cruz.²

Os animais capturados, depois de examinados, sangrados e marcados, são postos novamente em liberdade. Alguns animais foram recapturados muitas vezes, devendo-se talvez admitir uma provável adaptação às condições de captura, motivada pela facilidade alimentar.

Foi tentada a criação de *Oryzomys* no laboratório, partindo de 2 casais infectados trazidos para o IOC. Chegamos a dispor de 22 animais, porém vários morreram de intercorrência e outros foram aproveitados para experiências, de modo que a criação foi interrompida.

Assim que nascidos, os filhotes de cada casal (geralmente 2 de cada vez, mas podendo nascer 3 e até 4), o macho deve ser separado imediatamente, pois costuma devorá-los. Os filhotes nascem cinza-claro e vão ficando progressivamente cinza-escuro. Somente com cerca de 50 dias vão adquirindo o tom marrom, mais intenso na periferia da face ventral, característica dos adultos, o que se completa entre 3 e 4 meses de idade, quando também atingem o tamanho adulto (12 a 14 cm até a raiz da cauda). O mesmo casal foi observado produzir até 3 ninhadas.

III — LESÕES NATURAIS DOS *ORYZOMYS*

As lesões características da cauda ocorrem principalmente do meio para a base de implantação, mas podem ocupá-la inteiramente. Trata-se de erosões superficiais escamosas, esbranquiçadas (figura 1). Nódulos só aparecem depois das repetidas manipulações (escarificações e punções) para exames diretos e semeaduras. Nos esfregaços corados pelo Giemsa, as leishmanias ora se mostram pequenas e fusiformes, de 5 x 2 micra de diâmetro, em média, ora aparecem maiores, ovóides ou arredondadas, tendo em média 6 x 4 micra. Um animal apresentava lesão ulcerativa de uma pata, na qual não foram encontradas leishmanias.

² Minúcias sobre a área e a captura dos roedores, são encontradas em trabalho da Dra. Calista Causey (Ann. Microbiol., 11, Parte A: 119.)



Fig. 1 — *Oryzomys goeldii*, Thomas, das matas do Utinga (Belém, Estado do Pará) com infecção leishmaniótica natural. Lesões superficiais na cauda. Um terço do tamanho natural.
 Fig. 1 — *Oryzomys goeldii* with natural leishmaniasis. Superficial lesions on the tail. One third of natural size.

A leishmaniose dos orizomis não assume caráter de gravidade, o que é importante para muitos autores, para que uma espécie animal seja considerada um bom “reservatório”.

Numerosos outros roedores, pertencentes a outros gêneros e vários marsupiais, foram examinados com resultado negativo, nada obstante alguns roedores terem sido considerados suspeitos. É possível, entretanto, que alguns destes venham a ser encontrados positivos, futuramente, com pesquisa incluindo a sementeira sistemática em meios de cultivo. Segue-se a relação dos animais cujo exame deu resultado negativo:

<i>Proechimys</i>	61
<i>Nyctomys</i>	8
<i>Caluromys</i>	10
<i>Didelphis</i>	7
<i>Marmosa</i>	12
<i>Metachirops</i>	2

Após o encontro dos 2 primeiros orizomis infectados, outros foram capturados pela 1.^a vez, estando alguns positivos e outros negativos. Entre esses últimos, em recapturas seguintes, foram verificados alguns infectados. Ressalvadas, naturalmente, as possíveis falhas dos primeiros exames (por lesões incipientes, p. ex.), foi possível concluir que a infec-

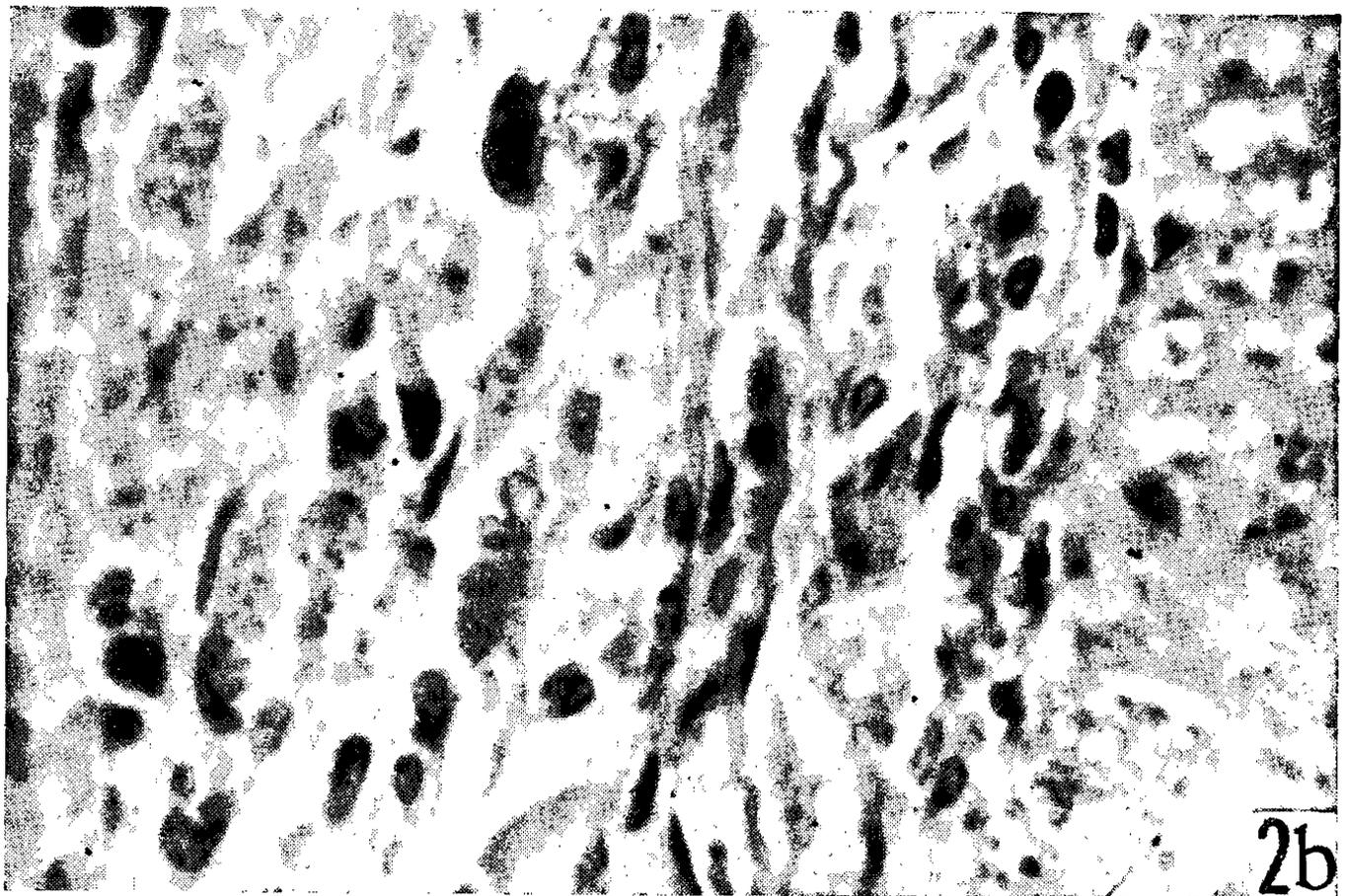
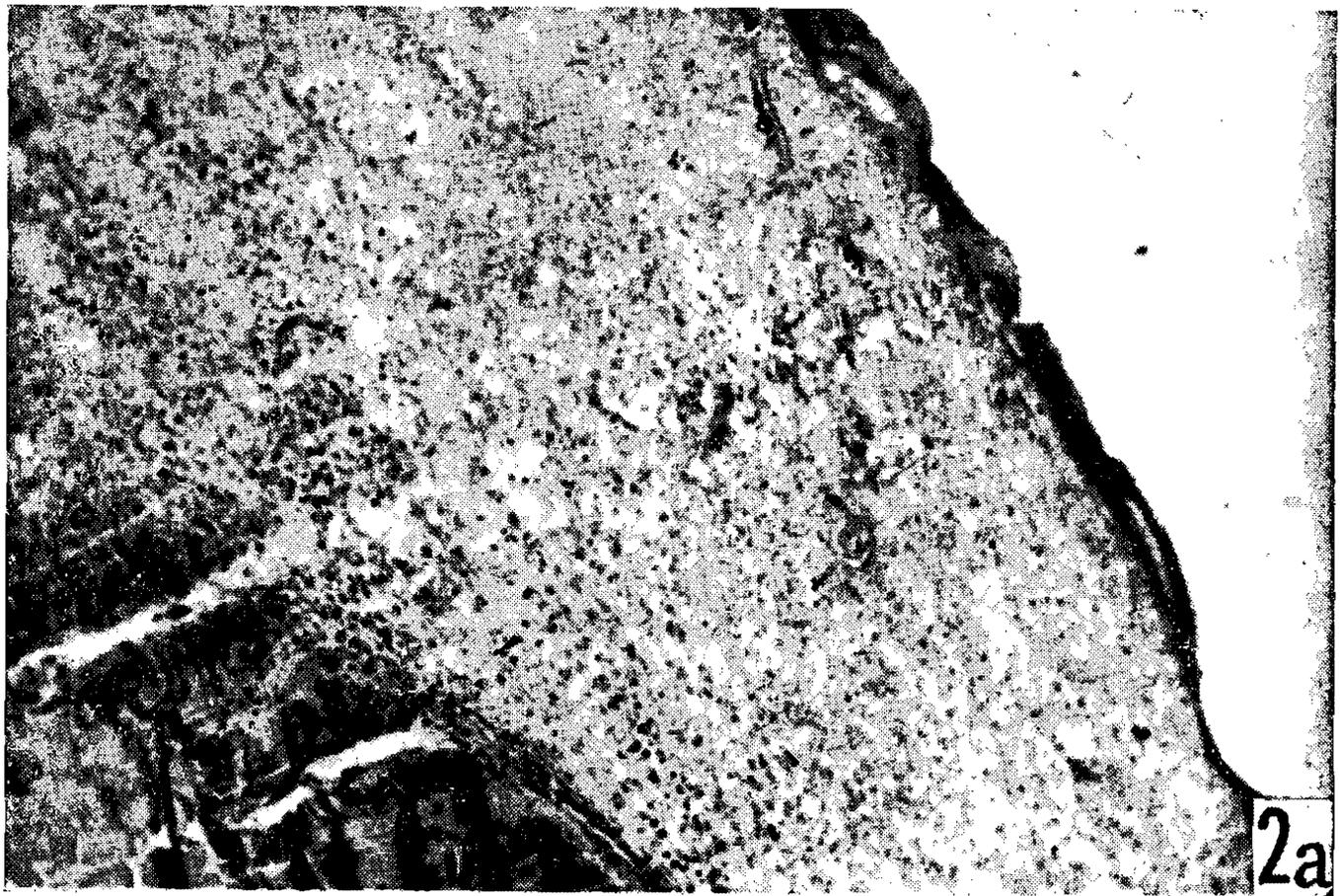


Fig. 2a) — Corte da lesão da cauda do *Oryzomys*, notando-se edema e infiltração de células redondas. b) O mesmo corte ampliado destacando-se as leishmanias.

Fig. 2a) — Section from the lesion of the tail of *Oryzomys*, with oedema and mononuclear cells infiltration and macrophage filled with parasites; b) The same section enlarged showing the leishmaniae.

ção apareceu entre 40 e 70 dias depois do último exame negativo, em 56,2% dos animais, e entre 80 e 110 dias depois, em 37,3%. Essa conclusão teve como base o estudo dos 24 primeiros orizomis positivos.

IV — ISOLAMENTO DA *LEISHMANIA* DOS ORIZOMIS

As leishmanias foram isoladas das lesões da cauda, pela 1.^a vez, de 2 orizomis (13.433 e 13.510), pela semeadura de material obtido por punção, em meio de NNN. As culturas foram mantidas em repiques cada 10-12 dias. Aos 3-4 dias, já foi observada a presença de formas flageladas. Chamou, particularmente a atenção a presença de deptonas muito finas, às vezes o flagelo continuando-se insensivelmente com o corpo parasitário. Mais tarde foram obtidas culturas de outros orizomis, naturalmente infectados, assim como de animais de laboratório com infecção experimental. Além do meio NNN, outros foram usados no decorrer dos trabalhos (Noguchi, Nöller). (Figura 5).

V — ANTÍGENO. INTRADERMORREAÇÕES

Com as culturas das leishmanias isoladas dos orizomis, foi preparado um antígeno que mostrou boa sensibilidade e especificidade, comparado com 2 outras *Leishmanias* existentes no laboratório. Dezoito doentes de LT (formas cutâneas e muco-cutânea) foram submetidos a provas com os 3 antígenos; e as respostas positivas (2+, 3+, e 4+) foram razoavelmente comparáveis.

Dois doentes tratados e aparentemente “curados” de LT (doentes acompanhados por vários anos no Hospital Evandro Chagas, de Mangueiras), reagiram fortemente ao antígeno “orizomis” na prova intradérmica: eritema, prurido, edema, nódulo, dor, bôlha, necrose).

De 40 pessoas freqüentadoras das Matas do Utinga (agricultores, lenhadores, caçadores etc.) submetidos a provas intradérmicas com o antígeno “orizomis”, foram encontradas 2 positivas (5,0%) e 2 duvidosas (5,0%), incluindo-se entre os primeiros um auxiliar do IOC que trabalhou na região, tendo adquirido LT. Intradermorreações anteriores deste paciente, feitas com outros antígenos, tiveram resultado semelhante ao obtido com o antígeno “orizomis” (3+).

VI — INFECÇÕES EXPERIMENTAIS

a) *Hamsters e camundongos*. Foram obtidas lesões nesses animais, tanto pela injeção de material direto da cauda de orizomis infectados, como pela inoculação de culturas. Mais tarde, também foi usado material obtido por biópsia de animais infectados experimentalmente. No focinho, as inoculações provocaram lesões nodulares, às vezes de grandes proporções, deformando a cabeça dos animais, principalmente dos camundongos (figura 3). Foram também observadas lesões metastáticas nas patas. As inoculações no peritônio não provocaram franca visceralização, após observação por 85 a 118 dias. Entretanto, embora

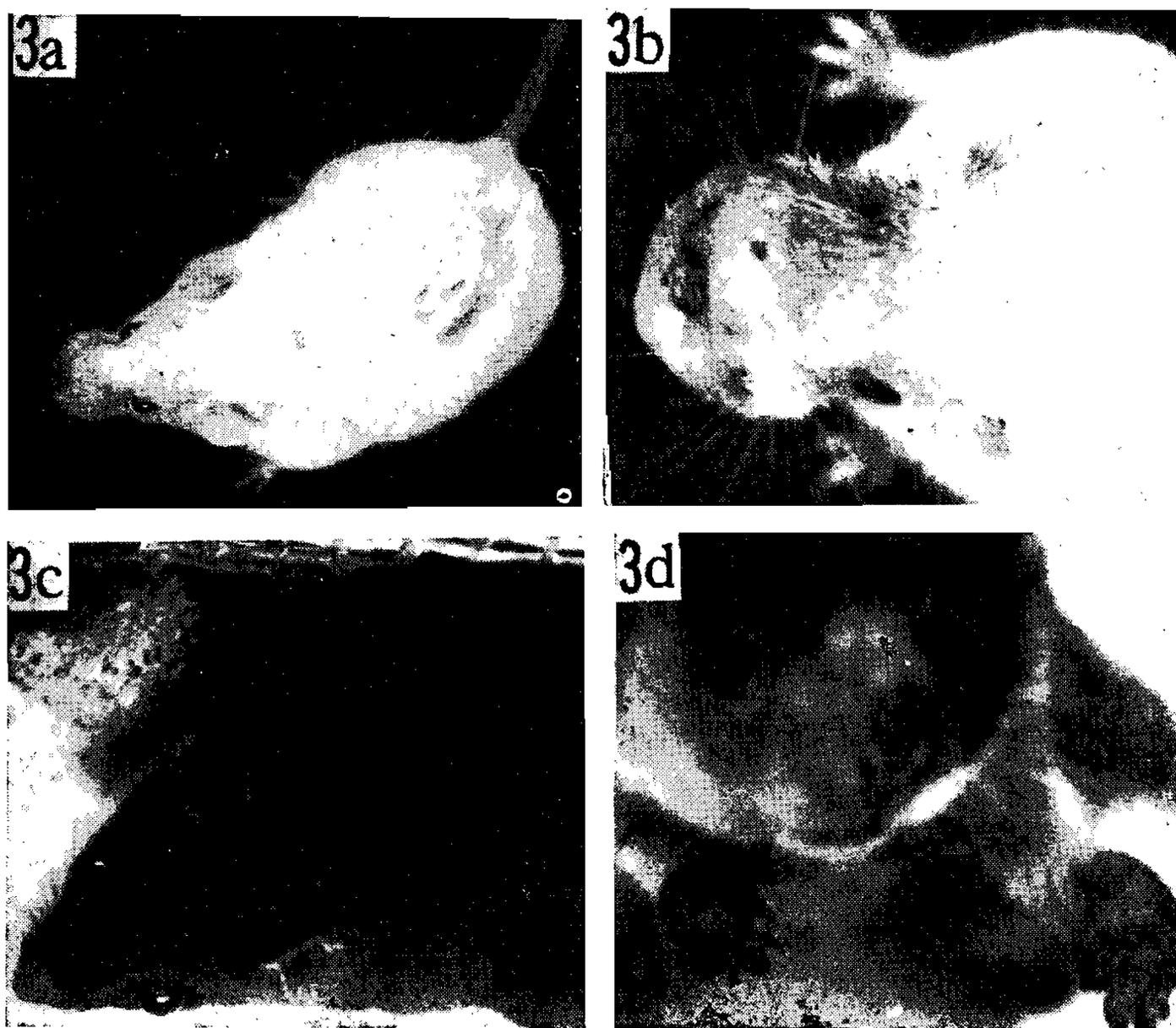


Fig. 3 — Lesões nodulares experimentais no focinho, em roedores. *a* e *b*) camundongos; *c*) *Oryzomys* (de criação de laboratório); *d*) hamster — mostrando também lesões metastáticas nas patas. A base histopatológica dessas lesões é o “histiocitoma leishmaniótico”.

Fig. 3 — Experimental nodular lesions on the nose of rodents. *a*) and *b*) mice with small and great nodules, respectively; *c*) *Oryzomys* from laboratory breeding; *d*) hamster, showing metastatic lesions on the paws. The histopathological basis of all these lesions is the “leishmaniotic histiocytome”.

os animais tivessem aspecto aparentemente normal, quando morreram ou quando foram sacrificados foram encontradas leishmanias nos esfregaços e cortes do baço e fígado. Por outro lado, tôdas as vêzes que foi feita sementeira em meios artificiais, foram obtidas culturas.

No total, somando as várias inoculações, foram inoculados 6 hamsters e 38 camundongos. Metade de cada espécie animal foi injetada no focinho e metade no peritônio. Os nódulos no focinho desenvolveram-se entre 30 e 40 dias, evoluindo depois para as grandes tumorações, que permaneciam até por 5 a 10 meses, nos animais que não foram sacrificados ou que não morreram de intercorrência. Os nódulos metastáticos nas patas surgiram depois de 3 a 4 meses em 50% dos animais, aproximadamente. Dos 19 camundongos injetados no focinho, 4 não desenvolveram os nódulos em 3 a 6 meses de observação e 3 morreram alguns dias depois de inoculados. Aproximadamente, 2/3 dos camundongos positivos, desenvolveram, a partir de 50 a 70 dias, lesões da túnica va-

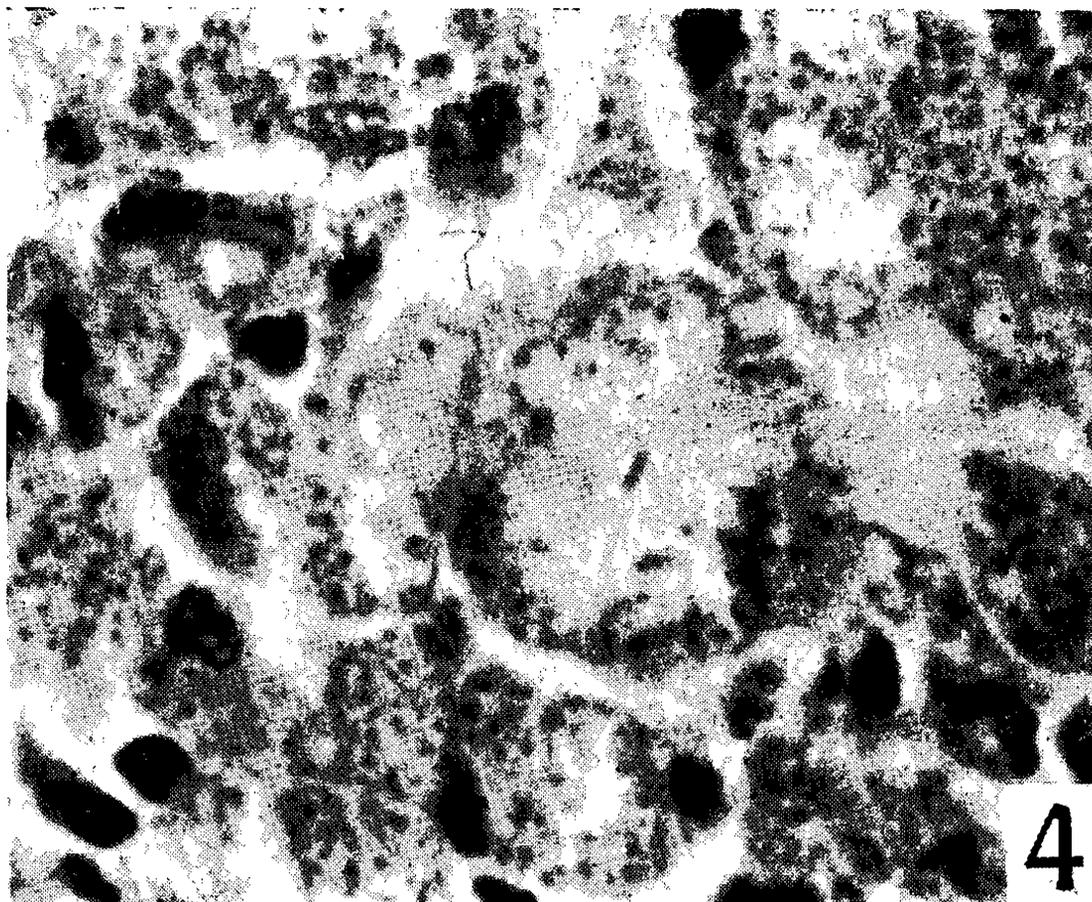


Fig. 4 — Corte de lesão experimental de camundongo, mostrando o “histiocitoma leishmaniótico”.

Fig. 4 — Section from experimental lesion of mouse, showing the “leishmaniotic histiocyte”.

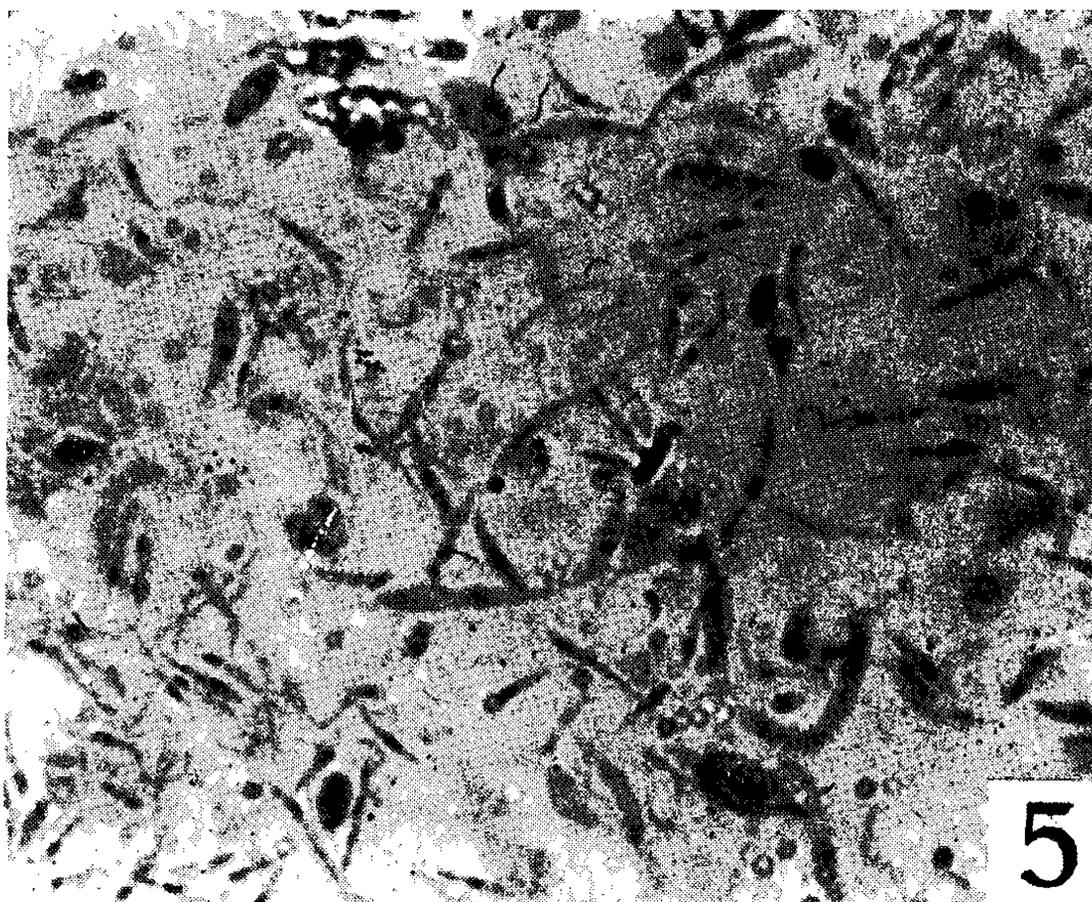


Fig. 5 — Aspectos das culturas das leishmanias dos *Oryzomys*, após semeadura em meio NNN de material das lesões da cauda. Leptomonas finas e largas. Hematoxilina férrica.

Fig. 5 — In NNN and other culture media was obtained growth of leishmaniae from the lesion of the tail of *Oryzomys*. Very thin leptomonad forms, beside the large ones, were remarkable. Schaudinn's iron-hematein.

ginal, resultando finalmente em franca ulceração sob a raiz da cauda. Essas lesões são freqüentes na leishmaniose experimental desses roedores, conforme já mostramos anteriormente.

b) *Cobaios*. Seis cobaios injetados, 2 de cada vez, em épocas diferentes, no focinho e no peritônio (3 para cada via) não apresentaram lesões cutâneas ou viscerais, após 3 a 8 meses de observação.

c) *Oryzomys*. Foram inoculados 10 *Oryzomys* nascidos no laboratório, sendo 4 no peritônio (2 com culturas e 2 com material de lesão experimental de camundongo e 6 subcutâneos). Os animais inoculados no peritônio, observados durante 120 a 150 dias, não apresentaram franca visceralização. Um deles desenvolveu uma lesão nodular metastática na cauda, rica em leishmanias. Pela sementeira de material de baço e fígado dos 3 outros em meio de NNN, obtiveram-se culturas, mas nos cortes dessas vísceras não foram vistos parasitos. Os 6 animais inoculados no focinho, desenvolveram lesões nodulares; mas essas lesões apareceram mais tardiamente que nos hamsters e camundongos; e eram de pequenas dimensões. De qualquer modo, embora não tenham evoluído para as grandes tumorações observadas naqueles roedores, tendo, ao contrário, caráter regressivo, êsses nódulos, nos *Oryzomys*, sugerem que as lesões superficiais características, da cauda, resultam *especificamente* da infecção natural.

VII — IMUNIDADE DE ENFÊRMOS DE LT (MUCO-CUTÂNEA) E LESÃO EXPERIMENTAL EM VOLUNTÁRIO

Dois doentes de LT (muco-cutânea) e considerados “curados”, após longo tratamento no Hospital Evandro Chagas, foram inoculados sob a pele (antebraço esquerdo) com 0,1 ml da suspensão de 0,9 ml de salina e 0,1 de culturas da amostra “*orizomis*”. (Figura 6).

Ambos desenvolveram reações locais, semelhantes a uma intradermorreação fortemente positiva (4+), evoluindo do 2.º ao 6.º dias. Em seguida, houve franca regressão e nada mais foi observado até 5 meses depois.

Um voluntário, injetado com a mesma quantidade do mesmo inóculo usado na experiência anterior, somente aos 35 dias apresentou uma pequena pápula infiltrada no ponto de inoculação (face anterior do antebraço esquerdo). Aos 41 dias essa lesão, que tendia a ulcerar e media 0,5 cm, foi escarificada, encontrando-se leishmanias no material obtido, corado pelo Leishmann. Com tratamento antimonial essa lesão foi eliminada prontamente e nada mais foi observado (além de pequena cicatriz). A reação de Montenegro realizada 2 anos depois da inoculação, teve resultado duvidoso (1+).

VIII — HISTOPATOLOGIA

a) — *Lesão natural dos Oryzomys*. Foram estudadas biópsias de 5 animais. Embora não fôsse observada, macroscopicamente, ulceração, verificou-se ao microscópio, intensa infiltração inflamatória, com inva-

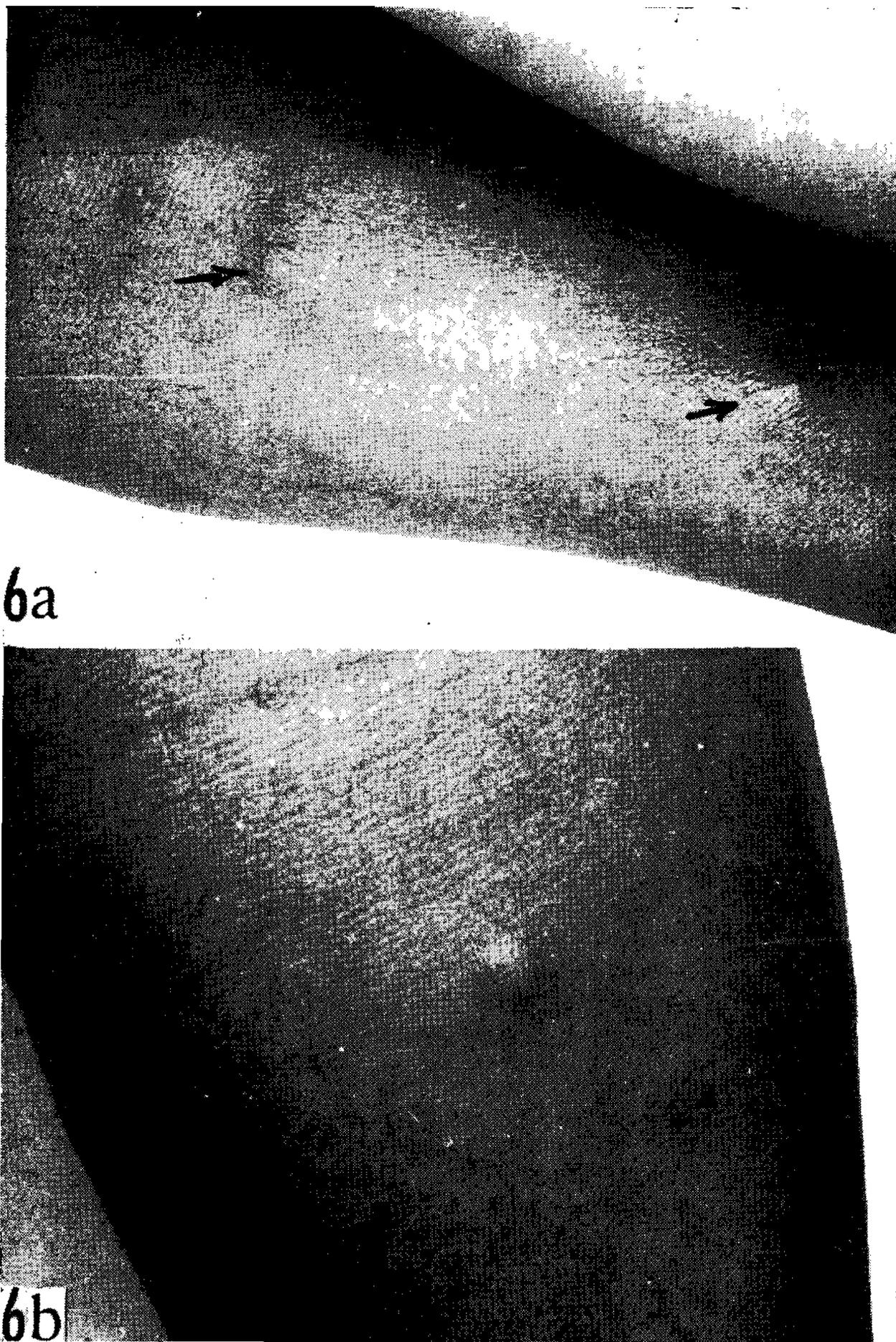


Fig. 6a) — Intradermorreações de Montenegro positivas, obtidas com antígeno *Oryzomys* (esquerda) e com antígeno humano (direita); b) Intradermorreação semelhante, obtida pela inoculação de cultura da amostra *Oryzomys* em paciente tratado de LT (forma muco-cutânea).

Fig. 6a) — Positive Montenegro's reaction obtained in a patient with tegumentar leishmaniasis with *Oryzomys leishmaniae* antigen (left) and with human leishmaniae antigen (right); b) A similar reaction obtained by injection of culture of *Oryzomys* strain in a patient treated of tegumentar leishmaniasis (muco-cutaneous form).

são da epiderme. Esta, mostrava-se adelgada em alguns pontos e completamente desorganizada em outros. Presença excepcional de acantose, discreta. No derma, havia edema e invasão de células mono e polimorfonucleares, estas se organizando em microabcessos no hipoderma, atingindo os músculos. Grupos de macrófagos cheios de leishmânias distribuíam-se entre as células inflamatórias. (Figura 2).

b) — *Lesões experimentais nos roedores*. Biópsias das lesões nodulares obtidas no focinho de 3 hamsters, de 8 camundongos e de 3 orizomis, foram estudadas histopatologicamente. Em tôdas foi encontrado o *histiocitoma leishmaniótico*, isto é, uma proliferação quase exclusiva de macrófagos vacuolados (“foamy cells”) cheios de parasitos. Essa reação histológica na leishmaniose foi por nós descrita, pela 1.^a vez, em um caso de “forma lepromatóide” de LT (Figura 4).

O mesmo quadro histológico foi observado nos cortes de 4 lesões metastáticas (1 de hamster, 2 de camundongos e da única de orizomis).

IX — DADOS GERAIS SÔBRE A INFECÇÃO NATURAL DOS ORYZOMYS

De agosto de 1963 a abril de 1964, foram encontrados 24 orizomis positivos para *Leishmania*, de um total de 121 examinados (19,8%). De maio de 1964 a fevereiro de 1966, foram encontrados apenas 10 orizomis infectados, de um total de 213 examinados (4,7%). Houve, portanto, uma queda na prevalência da infecção, que passou a ser mais de 4 vezes menor que a encontrada no primeiro período. As razões prováveis dêsse fato, estão, de um lado, na retirada do foco de 13 orizomis infectados (morte acidental durante a sangria ou morte por causa desconhecida; animais sacrificados para estudos histopatológicos; e animais enviados para Manguinhos). Isto representou a eliminação de mais de metade das fontes de infecção encontradas até abril de 1964. E, por outro lado, embora talvez de menor significação, também a retirada pelas capturas de milhares de flebótomos. Não pode também ser desprezada a possibilidade de que lesões incipientes da cauda dos orizomis podem ter passado despercebidas. Talvez seja significativo que no período das capturas sistemáticas dos flebótomos (de junho a dezembro de 1965, com uma média de 18 capturas por mês), apenas em dezembro foi encontrado um orizomis infectado. Aliás, de outubro de 1964 a novembro de 1965, período em que foram capturados 155 orizomis, todos estavam negativos. (Quadro I).

Todavia, é possível que essas causas por nós apontadas não sejam exclusivas dentro do significado que lhes quisemos atribuir, uma vez que, de dezembro de 1965 a fevereiro de 1966, ocorreram 3 *Oryzomys* positivos. Mas, não deve ser desprezada, também, a possibilidade de ter sido superada a influência das causas referidas.

QUADRO I

Distribuição mensal dos *Oryzomys* capturados e infectados no período de agosto de 1963 a fevereiro de 1966

TABLE I

Monthly distribution of *Oryzomys* captured from August 1963 to February 1966.

MESES	1963		1964		1965		1966		TOTAIS	
	Número capturados	Número positivos								
Janeiro.....			15	6	3	—	4	3	22	9
Fevereiro.....			14	1	8	—	6	1	28	2
Março.....			12	5	22	—			34	5
Abril.....			18	2	18	—			36	2
Maió.....			9	2	21	—			30	2
Junho.....			8	—	16	—			24	0
Julho.....			5	—	10	—			15	0
Agosto.....	11	2	6	—	4	—			21	2
Setembro.....	6	—	15	3	8	—			29	3
Outubro.....	7	2	11	—	10	—			28	2
Novembro.....	20	2	12	—	7	—			39	2
Dezembro.....	17	4	5	—	5	1			27	5
TOTAIS....	61	10	130	19	132	1	10	4	313	34

X — ESTUDOS PRELIMINARES DA TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE DOS *ORYZOMYS*

a — *Ausência de contágio direto.* Em épocas diversas, 5 orizomis infectados foram acasalados, em gaiolas separadas, com outros tantos normais, criados no laboratório. As gaiolas foram sempre cuidadosamente limpas, vigiando-se, sobretudo, a presença de insetos. Os períodos de observação variaram de 4 a 8 meses, sem que tenha sido constatada a infecção dos orizomis normais.

b — *Leptomonas em triturados de flebótomos.* Após o exame de vários lotes de flebótomos, em cortes e esfregaços, em um dêstes últimos, foram vistas formas típicas de leptomonas. Por outro lado, diversas inoculações de triturado de flebótomos em salina, no focinho de hamsters, foram negativas.

c — *Flebótomos do Utinga.* Periódicamente, foram feitas capturas nas matas do Utinga para estudo dos flebótomos da área. No Quadro II estão relacionadas as espécies capturadas em 1963 (outubro) e 1964 (agosto, setembro e outubro).

De 1.068 flebótomos classificados, compreendendo 15 espécies diferentes, 68,6% eram das espécies *antunezi* e *damascenoi*. Exemplares da espécie *brachypygus*, não relacionados no Quadro II foram encontrados em tocas de animais em outra oportunidade. (Quadro II).

Em 1965, foram feitas capturas mensais sistemáticas, de maio a dezembro, com uma média de 18 capturas por mês. Os flebótomos foram apanhados em vários pontos ecológicos, mas principalmente em buracos

QUADRO II

Espécies de flebotomos capturados na área do Utinga (Belém, Est. do Pará) em 1963 e 1964

TABLE II

Phlebotomus species captured in Utinga forest (Municipality of Belem, State of Pará) in 1963 and 1964

ESPÉCIES	1963	1964	Totais
<i>antunezi</i>	460	110	570
<i>damascenoi</i>	74	89	163
<i>vilhelai</i>	80	0	80
<i>dendrophylus</i>	13	30	43
<i>ubiquitalis</i>	0	41	41
<i>carvalhoi</i>	0	41	41
<i>gomezi</i>	0	37	37
<i>tuberculatus</i>	14	19	33
<i>suis</i>	22	0	22
<i>trinidadensis</i>	0	25	25
<i>shannoni</i>	5	1	6
<i>furcatus</i>	1	2	3
<i>scaffi</i>	1	1	2
<i>abonnenci</i>	0	2	2
TOTAIS.....	670	398	1.068

de árvores, com o emprêgo de aparelho elétrico. Quase um milhar de exemplares foram usados, em lotes, para pesquisa de leptomonas em esfregaços e cortes para inoculações em hamsters. Para classificação, foram contados 4.736 exemplares, sendo as espécies mais frequentes: *rorotaensis* (38,1%), *antunezi* (21,7%) e *damascenoi* (16,2%). No Quadro III estão relacionadas as 10 espécies de prevalência acima de 30 exemplares: (Quadro III).

QUADRO III

Espécies de flebotomos capturados na área do Utinga (mais de 30 exemplares) de maio a dezembro de 1965

TABLE III

Phlebotomus species captured in Utinga forest from May to December 1965 (more than 30 specimens)

ESPÉCIES	Mai.	Jun.	Jul.	Agô.	Set.	Out.	Nov.	Dez.	Totais
<i>rorotaensis</i>	54	140	114	67	230	658	221	320	1 804
<i>antunezi</i>	126	161	48	24	93	219	103	253	1 027
<i>damascenoi</i>	46	90	57	79	188	183	70	53	766
<i>tuberculatus</i>	194	80	43	84	10	27	3	8	369
<i>dendrophylus</i>	52	22	12	18	20	70	41	38	273
<i>carvalhoi</i>	0	1	8	96	31	1	23	4	164
<i>suis</i>	10	17	20	8	10	22	24	20	131
<i>furcatus</i>	0	29	0	0	4	8	0	0	41
<i>shannoni</i>	4	3	3	1	4	14	2	5	36
<i>longispinus</i>	0	0	0	0	0	0	0	32	32
<i>sp. n. (?)</i>	0	0	4	25	4	1	4	2	40
<i>fêmeas</i>	0	4	0	2	4	3	2	4	19
TOTAIS.....	486	547	309	404	598	1 206	493	739	4 702

Comparando-se êste Quadro III com o anterior, vemos que a espécie *rorotaensis*, que não ocorrera nas capturas de 1963 e 1964, surgiu em maio de 1965, mantendo-se como a espécie mais prevalente e representando 38% de todos os flebótomos classificados.

Das espécies *infraspinosus*, *intermedius*, *scaffi*, *aragaoi* e *ubiquitalis*, foram classificados 9, 10, 10, 14 e 15 exemplares, respectivamente; e das espécies seguintes foram classificados apenas 1 ou 2 exemplares: *coutinhoi*, *haityi*, *lutzianus*, *pilosus*, *pinotii*, *triacanthus*, *trispinosus*, *villetai* e *williamsi*.

XI — COMENTÁRIOS E TENTATIVA DE INTERPRETAÇÃO DA LEISHMANIOSE DOS ORYZOMYS

Nas áreas de calasar e LT no Velho Mundo e, mais recentemente, também no Novo Mundo, o cão doméstico foi geralmente apontado como um reservatório natural de leishmanias. Mas, a ocorrência das leishmanioses em áreas desérticas, impunha a conclusão da existência de reservatórios silvestres, *primários*, dessas doenças.

A busca aos reservatórios primários de "Leishmania", foi um dos mais perseguidos objetivos das primeiras décadas do século, sendo particularmente importante a pesquisa dos depositários do calasar na Índia, pelos ingleses.

No Brasil, quando das altas prevalências de LT em S. Paulo, nas grandes derrubadas das zonas pioneiras, BRUMPT & PEDROSO (1913) chamavam a doença de "Leishmaniose florestal" e apontaram 2 cotias (*Dasyprocta*) encontradas com lesões suspeitas, como possíveis depositários.

Em 1941, LATISHEV & KRIUKOVA, no Turquestão, descobriram serem os gerbilíneos (*Rhombomys opimus*) os depositários da *L. tropica*, o que foi confirmado por outros autores russos (Shekanov & Suvorova, 1960). A leishmaniose é uma zoonose daqueles roedores. Intensificaram-se, então, as pesquisas nas áreas de LT, em toda parte, visando os roedores³

HERTIG & al. (1957-58-59), no Panamá, verificaram pela hemocultura positividade para leishmanias em alguns "ratos de espinho". (*Proechimys semispinosus panamensis* e *Haplomys gymnurus*). Com as leishmanias isoladas obtiveram lesão experimental em voluntário. FORATTINI (1960), S. Paulo, também pela hemocultura, encontrou positivos para leishmanias: um "rato taquara" (*Kannabateomys amblyonyx*), uma paca (*Cuniculus paca paca*) e uma cotia (*D. azarae*). A paca e o rato apresentavam lesões ulcerosas. Na Honduras Britânica, LAINSON & STRANGWAYS-DIXON (1962-63-64), encontraram infecção natural por

³ Nas áreas de calasar serão apontadas os canídeos como depositários da *L. donovani*. Na Rússia, a rapôsa (*Vulpes vulpes*), o chacal (*Canis aureus*) e o lobo (*C. lupus*) (Pietrichtcheva, 1963). No Brasil, independentemente dessas verificações dos autores russos, DEANE & DEANE (1954) encontraram também uma rapôsa (*Lycalopex vetulus*) naturalmente infectada por *Leishmanias* em zona de calasar, no Ceará.

“Leishmania” em ratos silvestres (*Ototylomys phyllotis*, *Nyctomys sumichrasti* e *Heteromys desmarestianus*).

Pela inoculação das culturas obtiveram lesões experimentais em voluntários. Nessa mesma área de estudo da Honduras Britânica, DISNEY (1964) encontrou *O. phyllotis* e *H. desmaretianus* com infecção natural, sendo que a última espécie tinha lesão infiltrada na orelha, rica em leishmanias. Foi observado também o comprometimento visceral, tendo sido encontrados os parasitos no baço, fígado e pulmões. Em 1964-66, foram publicadas as “notas” relativas ao encontro de *Oryzomys goeldii* como depositários de LT.⁴

FORATTINI (1960), concluiu pela provável existência de 2 ciclos de *Leishmania*: um de raças primitivas adaptadas aos animais silvestres, atacando o homem e o cão, na mata; e outro de raças adaptadas aos animais domésticos, principalmente o cão, os quais passam a figurar como depositários para a transmissão ao homem.

As condições da infecção leishmaniótica dos *Oryzomys* nas matas do Utinga — infecção que também deve ocorrer em outros pontos da região amazônica — caracterizam-na como uma zoonose. Possivelmente, outros roedores (como *Proechimys*, por exemplo), tomam parte nesse ciclo silvestre da leishmaniose.

A infecção relativamente alta dos *Oryzomys* (entre 5 e 20%), resulta, de um lado, da sua benignidade para os animais (que parece permanecer infectados para toda a vida) e, de outro lado, do tipo da lesão que apresentam, superficial e localizada, tudo favorecendo a infecção dos flebótomos e subsequente difusão da zoonose.

Naturalmente, a limitação da zoonose aos orizomis, e outros roedores afins, decorre da biologia dos flebótomos silvestres adaptados ao seu meio e, assim, integrados na transmissão, e cuja identificação requer estudos mais prolongados.

Quando o homem — um dos animais particularmente sensíveis à doença — penetra na área zoonótica, interfere no ciclo silvestre da leishmaniose adquirindo a doença. Do mesmo modo, o cão doméstico. Provavelmente, a infecção de outros animais silvestres integrados na mesma ecologia, como por exemplo os roedores de grande porte (*Cuniculus*, *Dasyprocta*), também se faz acidentalmente, não representando eles componentes normais do ciclo silvestre.

Esse ciclo silvestre da LT, deve ocorrer em muitas regiões florestais do país, naturalmente com outros cricetídeos reservatórios e outros flebótomos transmissores.

⁴ Provavelmente, em todas as áreas de “botão do Oriente” (*L. tropica*), os reservatórios primários da doença são também roedores silvestres. Com efeito, LARIVIÈRE (1966), no Senegal, encontrou *Arvicanthis* sp. com infecção natural por “Leishmania” em áreas de LT. Se tivesse também pesquisado os parasitos na pele, e não exclusivamente nos órgãos internos, talvez tivesse encontrado maior número de roedores infectados e abundância de parasitos. Aliás, pela foto do animal que ilustra o trabalho de Larivière, a cauda parece apresentar lesões semelhantes às dos *Oryzomys*. *Arvicanthis*, já foram anteriormente encontrados com leishmaniose natural em área de calazar. (HOOGSTRAAL, 1963). Seria interessante verificar a ocorrência de LT nessa área.

Dizimada e afugentada a fauna de roedores silvestres com o desbravamento das zonas desérticas seguido do povoamento, estabelecem-se então os focos leishmanióticos endêmicos, *rurais* (e mais tarde *suburbanos* e até mesmo *urbanos*), com a participação de flebótomos semi-domésticos, e tendo como reservatórios, *secundários*, o cão, e talvez até o próprio homem. Temos, portanto, na LT 2 ciclos epidemiológicos com fundamentos próprios: o *ciclo silvestre* ou *zoonótico* e o *ciclo rural* ou *antroponótico*. Naturalmente, para a implantação deste último, há uma fase de interpenetração, na qual ambos se confundem. É o que deve estar acontecendo em núcleos populacionais, ao longo da estrada Belém-Brasília.

Obviamente, os focos rurais e suburbanos da LT podem ser controlados pela eliminação dos flebótomos, mediante o expurgo domiciliário e peridomiciliário, com os inseticidas de ação residual, como já foi demonstrado em várias partes do mundo, inclusive no Brasil (NERY-GUIMARÃES & BUSTAMANTE, 1955). Mas, atualmente, não há possibilidade de controle da doença em seu estado zoonótico. É uma ameaça permanente aos pioneiros e desbravadores de novas áreas para povoamento ou aos simples visitantes das áreas florestais. O uso de medidas de proteção individual, embora de eficiência discutível, deve ser adotado. Eis porque se impõe o desenvolvimento de técnicas modernas para o preparo de vacinas de bom poder protetor.

SUMMARY

TEGUMENTAR LEISHMANIOSIS — ZOONOSIS OF WILD RODENTS IN AMAZONIA

This paper deals with the studies on the natural infection by *Leishmania* of a wild rodent (*Oryzomys goeldii*) from the Utinga forest (State of Pará, Brasil). On the matter, 5 "notes" were published, the third one presented to the "First International Congress of Parasitology" held in Rome (Sept., 1964).

A wide land of Utinga forest was sub-divided in smaller areas in which were distributed special traps for the capture of rodents for arboviruses studies. These rodents were used for leishmaniasis researches too.

LEISHMANIOTIC LESIONS OF THE ORYZOMYS

As first described by LAINSON & STRANGWAYS-DIXON (1962) in wild rodents from British Honduras (*Ototylomys*, *Nyctomys*, *Heteromys*) the lesions of the tail of *Oryzomys* are very characteristic: whitish, squamous and superficial erosions, especially on the proximal third of the tail. In section, oedema and histiocytes and other mononuclear cells infiltration penetrates deeply provoking myositis foci. Histiocytes filled with leishmaniae appears scattered in large areas. Smears from the tail's lesions stained by Giemsa's method exhibited numerous leish-

maniae. Some parasites are small, fusiformis, navicular shaped, measuring 5 x 2 *micra*, while others are large, round or ovoid with 6 x 4 *micra* in diameter.

CULTURES OF THE PARASITES

Cultures of the parasites were obtained in NNN medium from the tail's lesions. Numerous transfers have been made in this and other artificial culture media. Growth was observed after the 3rd and 4th days. Aflagellate forms were abundant, some with 2 or 3 nuclei, the flagellate forms appearing afterwards. The presence of thin leptomonad forms was remarkable. In these forms the flagella appeared as a continuation of the very slender body of the parasite.

EXPERIMENTAL INFECTIONS

In hamsters and mice great nodules on the nose and nodular metastatic lesions of the paws developed after injection of the cultures of the parasites into the nose. In *Oryzomys* from laboratory breeding similar but smaller nodules were obtained by inoculation into the nose.

Characteristic vaginal lesions, particularly in mice, also developed. All animals injected into the peritoneal cavity were apparently normal up to 100 days after inoculation. But material from liver and spleen suspended in saline and inoculated in culture media was positive.

The nodules obtained by sub-cutaneous injection in of hamsters, mice and *Oryzomys* were histologically constituted by a proliferation of vacuolated histiocytes filled with leishmaniae (*leishmaniotic histiocyte*). Mononuclear cells appears scattered in some areas.

INTRADERMAL REACTIONS

An antigen was prepared with leishmaniae isolated from the *Oryzomys*. It showed a good sensibility and specificity when compared with two other leishmanines from our laboratory. Eighteen patients with tegumentar leishmaniasis have been tested with these 3 leishmanines and the positive results (2+, 3+, 4+) were comparable).

From 40 persons visiting the Utinga forest (agriculturers, woodcutters, hunters) and tested with the leishmanine made from *Oryzomys* strain, 2 showed positive reactions (3+) and 2 doubtful reactions (1+). One of the 2 positive reactions belong to a laboratory aid who had got infected in the region some time before.

CROSS-IMMUNITY WITH TEGUMENTARY LEISHMANIASIS PATIENTS

Two patients of muco-cutaneous form of tegumentary leishmaniasis had been treated some years ago with antimonials and were apparently cured; afterwards they received injections of the *Oryzomys* strain (left

fore-arm) showing nothing but a local lesion during the following 48-120 hours. These lesions were similar to a positive Montenegro's reaction (4+). Nothing more was observed after a one year follow-up. Notwithstanding, a volunteer injected with the same *inoculum* at the same time, showed a papular infiltrated lesion with leishmaniae 41 days after the inoculation, So the *Oryzomys*' strain was related to *Leishmania brasiliensis* Vianna, 1911.

THE PREVALENCE OF ORYZOMYS' LEISHMANIASIS

From August, 1963, to April, 1964, from 121 *Oryzomys* examined, 24 (19.8%) were found positive. From May, 1964 to February, 1966, from 213 examined, only 10 (4.7%) were found infected. So, the prevalence has fallen more than 4 times. The reasons of this fact are probably the following: first, the removal from the focus of 13 infected *Oryzomys* (accidental death, sacrifice for histopathological studies and the beginning of laboratory breeding). Indeed, that represents the elimination of more than a half of the reservoirs met till April, 1964. In a second place, the removal of thousands of *Phlebotomus* from the area by systematic captures. On the other hand, it is possible that some light in 1966, we have found 3 infected *Oryzomys*. On the other hand, the possibility, too, that the above mentioned reasons are not so significative as we intend to understand them, since from December, 1965 to February, 1966, we have found 3 infected *Oryzomys*. On the other hand, the possibility that the action of the above cited reasons has been surpassed, must be considered.

PRELIMINARY STUDIES ON TRANSMISSION

Absence of direct contagion. After 4 to 8 months of observations 5 normal *Oryzomys* mated with infected ones, did not show infection.

Leptomonad forms in Phlebotomus smears. There were seen leptomonads in a pool of several sandflies triturated out into saline suspension and stained with Leishmann. Several similar experiences were negative, as well as experiences by means of injection on the nose of hamsters.

Phlebotomus from Utinga. Captures of *Phlebotomus* were made periodically. From 1,068 *Phlebotomus*, captured in 1963 and 1964, belonging to 15 species, 68.6% were *P. antunezi* e *P. damascenoi*. In 1965, from May to December systematic monthly captures were made, with a mean of 18 captures by month. From a total of 4,736 specimens classified, belonging to 24 species, 38.1% were *P. rorotaensis*, 21.7% were *P. antunezi* and 16.2% were *P. damascenoi*.

GENERAL CONSIDERATIONS

The *Oryzomys*' infection conditions in Utinga forest shows its zoonotic character. Probably other rodents integrate this *wild cycle* in other areas of Amazonia and in other forest regions of the country. Of

course, according to the infected region different species of Cricetidae reservoirs and Phlebotomus transmitters are integrated in that wild cycle. Man — so sensitive to Leishmaniasis — and the domestic animals, became infected when penetrate in zoonotic area interfering in that wild cycle.

After the forest overthrown to settlement and, consequently, the wild animals escape, the rural leishmaniotic foci were established and later suburban and urban foci too. In these foci, with domiciliary and peridomiciliary Phlebotomus transmitters, the dog and, probably, also man appear as *secondary* reservoirs. So, in the Leishmaniasis epidemiology we have two cycles: the *wild* or *zoonotic* and the *rural* or *anthropotic* or *zooanthropotic*.

The latter can be controlled by domiciliary and peridomiciliary expurgation with residual-acting insecticides. But, obviously, it is impossible to control the zoonotic foci. It is a permanent menace to those who are obliged to visit or work in the forests. Individual protection measures must be employed. The development of better techniques for disposal of efficient vaccines must be promoted.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRUMPT, E., 1949, *Précis de Parasitologie*, 6ème Ed. Paris, Masson.
- BRUMPT, E. & PEDROSO A. M., 1913, *Ann. Paul. Med. Cir.*, 1: 97.
- CHAGAS, E. & coll., 1938, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 33: 89.
- DEANE, L. M. & DEANE, M. P., 1954, *O Hospital*, 45: 419.
- DISNEY, R. H. L., 1964, *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 58: 581.
- FORATTINI, O. P., 1960, *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 2: 195.
- HERTIG, M. & coll., 1957-58-59, *Ann. Rep. Gorgas Mem. Lab.*, 1956. Pp. 9-11, 1957. Pp. 7-11, 1958. Pp. 11-15, 1959.
- HOOGSTRAAL, H., 1963, *Proc. 7th Intern. Cong. Trop. Med. & Mal.* Rio, 2: 315.
- LAINSON, R. & STANGWAYS-DIXON, J., 1962-63-64, *Brit. Med. J.* June 9, e *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 57: 242 e 58: 136.
- LARIVIÈRE, M., 1966, *Bull. Soc. Path. Exot.* 59: 83.
- LATISCHEV, N. & KRIUKOVA, A. P., 1941, *C. R. Acad. Sc., URSS*, 30: 90 in *Trop. Dis. Bull.*, 41: 331 (1944).
- NERY-GUIMARÃES, F., 1951-1965, *O Hospital*, 40: 153, 665 e 919 e 67: 57.
- NERY-GUIMARÃES, F. & BUSTAMANTE, F. M., 1953, *V Intern. Cong. trop. Med. Mal.*, Sept., Istambul, 1953.
- NERY-GUIMARÃES, F. & AZEVEDO, M., 1964, *O Hospital*, 66: 274.
- NERY-GUIMARÃES, F. & AZEVEDO, M. & DAMASCENO, R., 1966, *O Hospital*, 70: 387.
- NERY-GUIMARÃES, F. & COSTA, O., 1964, *O Hospital*, 66: 287.
- NERY-GUIMARÃES, F. 1966, *O Hospital*, 69: 161.
- NERY-GUIMARÃES, F. & AZEVEDO, M., 1964, *First Intern. Cong. Parasitology*. Rome, Sept., 1964. Provisional Programme. (3.^a nota).
- PIETRICHTEVA, P. A., 1963, *Proc. 7th Inter. Congr. Trop. Med. Mal.*, Rio de Janeiro, Sept., 1963, Vol. II, Pp. 325.
- SHEKANOV, M. B. & SUVOROVA, L. G., 1960, *Med. Parasit. Moscou*, 29: 524 in *Trop. Dis. Bull.* 58: 301 (1961).
- STRANGWAYS-DIXON, J. & LAINSON, R., 1962, *Brit. Med. J.* Feb. 3.