

## LEISHMANIOSE CUTÂNEA NA AMAZÔNIA: ISOLAMENTO DE *Leishmania (Viannia) lainsoni* DO ROEDOR *Agouti paca* (RODENTIA: DASYPROCTIDAE), NO ESTADO DO PARÁ, BRASIL

Fernando T. SILVEIRA, Ralph LAINSON, Jeffrey J. SHAW, Roseli R. BRAGA, Edna E. A. ISHIKAWA & Adelson A. A. SOUZA

### RESUMO

Fez-se o registro, pela primeira vez, do isolamento de *Leishmania (V.) lainsoni* de um mamífero silvestre, o roedor *Agouti paca* (Rodentia: Dasyproctidae), no Estado do Pará, Brasil. As amostras do parasita foram isoladas da pele, aparentemente íntegra, de 3 espécimes desse roedor, capturados no município de Tucuruí (ilha de Tocantins), em área que seria inundada pela formação do lago da hidrelétrica construída naquele município. Nenhum isolamento foi obtido de vísceras de qualquer dos animais. A identificação das amostras de *L. (V.) lainsoni* baseou-se na morfologia de amastigotas e promastigotas, no comportamento da infecção em "hamsters", na análise bioquímica de isoenzimas e, ainda, através de testes com anticorpos monoclonais. A natureza inaparente da infecção nos animais faz supor que o mamífero em questão possa representar um hospedeiro definitivo do parasita na região Amazônica.

**UNITERMOS:** Leishmaniose cutânea; *Leishmania (Viannia) lainsoni*; Roedor *Agouti paca*; Reservatório silvestre.

### INTRODUÇÃO

Na região Amazônica brasileira, a leishmaniose cutânea humana assume, sem dúvida, um caráter exclusivo de zoonose primária de mamíferos silvestres. Neste sentido, estudos epidemiológicos sobre a doença tem demonstrado que uma grande variedade de animais, dentre os quais, algumas espécies de roedores, de marsupiais e desdentados, são os principais reservatórios primários das espécies de *Leishmania (L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) amazonensis*) até então envolvidas com a doença na referida região (LAINSON<sup>2, 3</sup>; LAINSON & SHAW<sup>4</sup> e SHAW & LAINSON<sup>6</sup>). Mais recente-

mente, após a identificação de um outro parasita associado à infecção cutânea no homem, a *Leishmania (Viannia) lainsoni* (SILVEIRA et al<sup>8</sup>), tivemos a oportunidade de examinar quase uma centena de mamíferos silvestres, capturados no município de Tucuruí, Estado do Pará, em área que estava destinada à formação do lago da hidrelétrica de Tucuruí. Dentre os animais capturados, foram examinados 13 espécimes do roedor *Agouti paca* (Rodentia: Dasyproctidae), cujos resultados da pesquisa de *Leishmania* nesses animais constituem o motivo do presente relato.

Endereço para correspondência: Dr. Fernando T. Silveira. Instituto Evandro Chagas, Seção de Parasitologia (F.N.S.). Av. Almirante Barroso, 492. Caixa Postal 1128. CEP 66050 Belém, Pará, Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material que deu origem a este artigo consistiu em 13 espécimes do roedor *Agouti paca* (Rodentia: Dasyproctidae), capturados, entre outros animais, no município de Tucuruí, Estado do Pará (4°49' Sul; 49°49' Oeste), em área — Ilha de Tocantins — que seria inundada, mais tarde, pela formação do lago da hidrelétrica construída naquele município. O resultado da pesquisa de *Leishmania* nos outros animais será motivo de publicação futura.

Para realização da pesquisa de *Leishmania*, os animais eram sacrificados com doses letais do anestésico "Sagatal" (May & Baker, London), e após necropsiá-los, eram tomadas amostras de pele (focinho, orelhas e pés) e de órgãos internos (baço e fígado); parte desse material foi usada na preparação de esfregaços corados pelo método de Giemsa e, outra, após trituração em solução salina (pH 7.2), para inoculação intradérmica nas patas posteriores de "hamsters".

A identificação das amostras de *Leishmania* isoladas do roedor *Agouti paca* baseou-se na morfologia de amastigotas — em esfregaços feitos de pele de hamster corados pelo método de Giemsa — e de promastigotas — em meio de cultura Difco B45 (WALTON et al<sup>9</sup>), no comportamento biológico da infecção em hamster, na caracterização bioquímica através da eletroforese de isoenzimas (MPI, 6PGDH, GPI, G6PD, PEP, ACON, MDH, PGM, ASAT e ALAT), segundo MILES et al<sup>5</sup>, e ainda, através de testes com anticorpos monoclonais específicos para *Leishmania* (*V.*) *braziliensis* (B18), *L. (V.) guyanensis* (B19), *L. (V.) panamensis* (B11), e outros três que reagem contra leishmanias do grupo *braziliensis* (B2, B5 e B12), de acordo com SHAW et al<sup>7</sup>.

## RESULTADOS

No material submetido a exame, não se constatou a presença de formas amastigotas de *Leishmania* em nenhuma das preparações de pele e/ou de víscera dos animais examinados, porém, três meses após as inoculações, foi observado típico desenvolvimento de lesão nodular eritematosa nas patas posteriores de 6 hamsters inoculados com material de pele de 3 dos 13 espé-

cimes do roedor *Agouti paca*. Das lesões observadas nos hamsters, foram feitas preparações coradas pelo Giemsa que, desta feita, revelaram considerável quantidade de amastigotas (fig. 1), alongadas e com cinetoplasto visivelmente volumoso, morfologicamente semelhantes àquelas de *Leishmania* (*V.*) *lainsoni*, descritas por SILVEIRA et al<sup>8</sup> em artigo original. Ao mesmo tempo, a cultura dos tecidos das lesões dos hamsters em meio ágar-sangue (Difco B45), não só assegurou o isolamento definitivo das 3 amostras do parasita, como também, mostrou rápido crescimento de promastigotas grandes, com flagelo estensivamente longo, lembrando, igualmente, as formas promastigotas de *Leishmania* (*V.*) *lainsoni* (fig. 2).

A análise bioquímica feita através da eletroforese de isoenzimas confirmou a impressão prévia da identificação das 3 amostras isoladas, já que todas assumiam perfis enzimáticos iguais entre si e indistinguíveis do perfil enzimático da cepa padrão de *L. (V.) lainsoni* (fig. 3). Por último, os testes com anticorpos monoclonais mostraram que as 3 amostras em análise eram absolutamente distintas das espécies comparadas (*L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (V.) panamensis*), uma vez que não foram observadas reações contra nenhum dos anticorpos monoclonais testados, configurando, pois, resultados idênticos aos das outras cepas de *L. (V.) lainsoni* (de origem humana) identificadas em nosso laboratório (J. J. SHAW, comunicação pessoal).

Nos hamsters inoculados com material de vísceras do roedor, a pesquisa de *Leishmania* resultou completamente negativa.

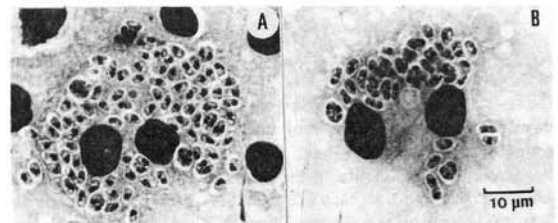


Fig. 1 — Em "A", amastigotas de uma das cepas de *Leishmania* (*V.*) *lainsoni* (MAGO/BR/84/M8617 — Tucuruí, Pará) isoladas da pele do roedor *Agouti paca*. Em "B", amastigotas da cepa padrão de *L. (V.) lainsoni* (MHOM/BR/81/M6426 — Benevides, Pará) isolada de um caso humano de leishmaniose cutânea. Impressões feitas com pele de hamster infectado, fixadas pelo Bouin e coradas pelo Giemsa.

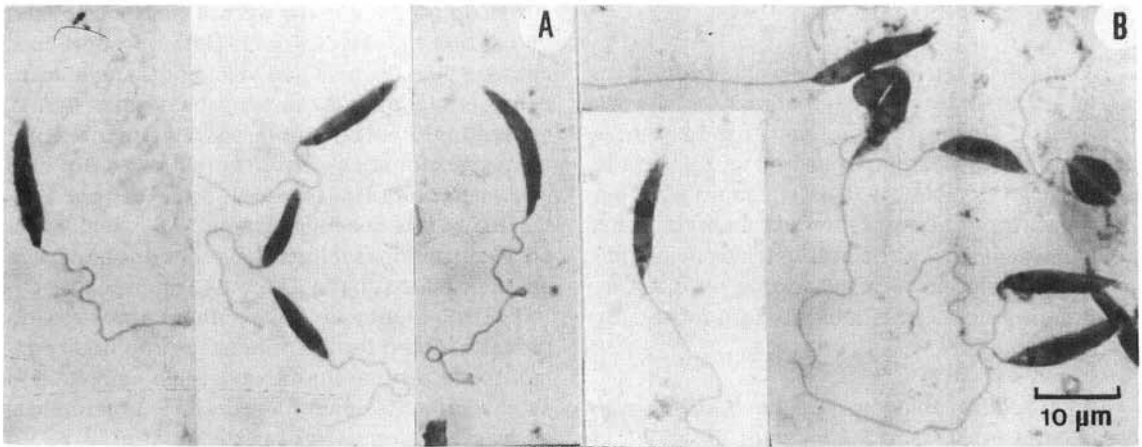


Fig. 2 — Em "A", promastigotas de uma das cepas de *Leishmania (V.) lainsoni* (MAGO/BR/84/M8617 — Tucuruí, Pará) isoladas da pele do roedor *Agouti paca*. Em "B", promastigotas da cepa padrão de *L. (V.) lainsoni* (MHOM/BR/81/M6426 — Benevides, Pará) isolada de um caso humano de leishmaniose cutânea. Impressões feitas com cultura de 4 dias (meio ágar-sangue, Difco B45), fixadas pelo Bouin e coradas pelo Giemsa.

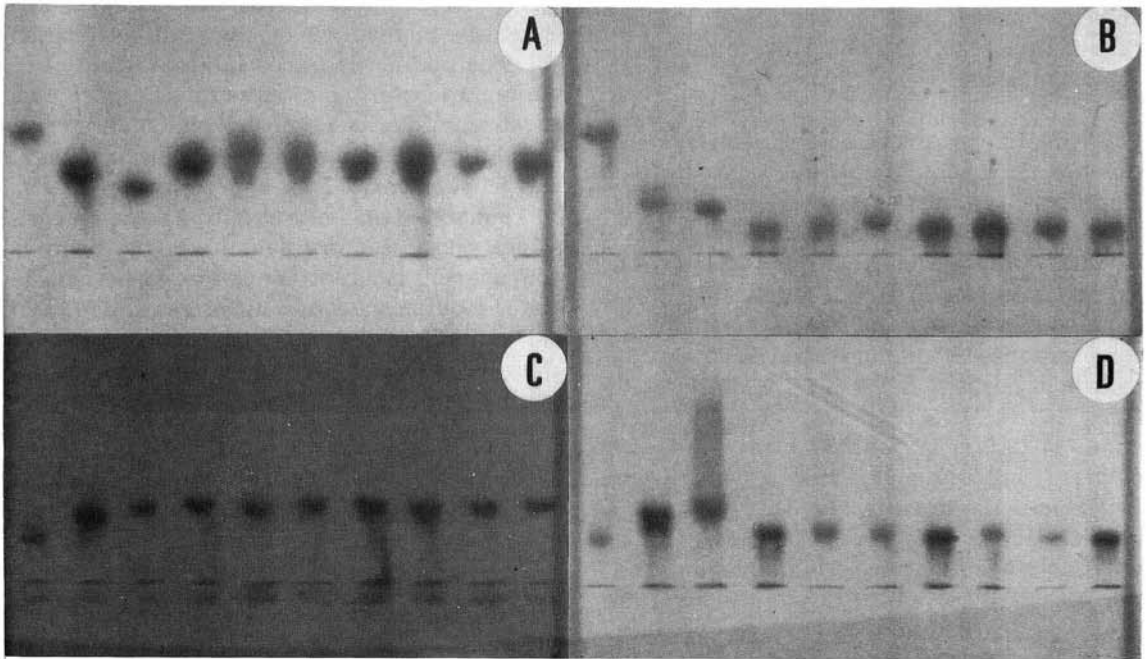


Fig. 3 — Eletroforese de isoenzimas mostrando que os perfis enzimáticos das 3 amostras isoladas do roedor *Agouti paca* são idênticos entre si e indistinguíveis do perfil enzimático da cepa padrão de *Leishmania (V.) lainsoni* (MHOM/BR/81/M6426 — Benevides, Pará). A figura mostra 4 das 10 enzimas estudadas: (A) MPI, (B) 6PGDH, (C) GPI e (D) G6PD. A ordem dos parasitas, da esquerda para direita, é a seguinte: (1) *L. (L.) amazonensis*, (2) *L. (V.) guyanensis*, (3) *L. (V.) braziliensis*, (4 e 10) *L. (V.) lainsoni*, cepas padrão, (5, 6 e 7) *L. (V.) lainsoni*, isolamentos de *Agouti paca*, e (8 e 9) *L. (V.) lainsoni*, isolamentos do flebotômíneo *Lutzomyia ubiquitalis*. Escala: a distância entre os pontos de origem de cada parasita mede aproximadamente 1.0 cm.

## DISCUSSÃO

O único registro relativo à infecção leishmânica natural no roedor *Agouti paca* foi feito

por FORATTINI<sup>1</sup>, no Estado de São Paulo. Entretanto, a verdadeira natureza do organismo isolado nessa ocasião não foi, de fato, totalmente

esclarecida. O autor examinou 18 espécimes desse roedor, capturados no município de Teodoro Sampaio, extremo oeste daquele Estado, em área onde haviam sido diagnosticados alguns casos de leishmaniose cutânea. Dos animais examinados, a hemocultura de apenas um deles forneceu o crescimento de formas flageladas em meio NNN, as quais, embora tenham sido mantidas no meio por um determinado período de tempo, foram incapazes de produzir infecção patente, quando inoculadas por via subcutânea e intraperitoneal em cobaias, hamsters, rato branco e camundongos.

Ao contrário do relato acima, os resultados observados no presente estudo não deixam dúvidas quanto à natureza e à identificação do parasita isolado da pele de *Agouti paca* (fig. 4) no Estado do Pará. As três amostras do parasita em questão, a *Leishmania (Viannia) lainsoni*, são mantidas até hoje no laboratório, através de repiques sucessivos em meio Difco B45 (WALTON et al<sup>9</sup>) e, ainda, em tecido de hamsters, nos quais a infecção se demonstra, claramente, pelo desenvolvimento de lesão nos sítios inoculados, como também, pela presença de amastigotas na pele. Assim sendo, faz-se aqui o registro, pela primeira vez, do isolamento de *Leishmania (V.) lainsoni* de um mamífero silvestre.

Este achado assume, sem dúvida, caráter do maior interesse, não só pela significativa prevalência (23%) de infecção observada entre os animais examinados (3 em 13), como também, por-



Fig. 4 — Um espécime do roedor *Agouti paca* mantido no Instituto Evandro Chagas, para estudo do comportamento da infecção experimental por *L. (V.) lainsoni*.

que as três amostras do parasita foram isoladas da pele, aparentemente íntegra, dos 3 animais infectados, sugerindo, com isto, que o roedor *Agouti paca* pode ser de grande importância na manutenção do parasita na natureza, fato que caracteriza forte evidência do papel desse animal como um provável reservatório primário da *Leishmania (V.) lainsoni* no Estado do Pará. Nessa linha de pensamento, cabe ainda mencionar os achados de ARIAS et al (R. NAIFF, comunicação pessoal), que obtiveram o isolamento de *L. (V.) lainsoni* (identificada no laboratório do Instituto Evandro Chagas) de 4 espécimes desse mamífero, capturados na mesma região de onde procederam os animais que forneceram os resultados relatados neste trabalho.

Por último, faz-se oportuno dizer que, com base nas observações acima, é provável a existência de uma enzootia primária nesse mamífero silvestre, amplamente distribuída na região Amazônica, onde os casos de leishmaniose cutânea determinados por *L. (V.) lainsoni* parecem restritos, até o momento, ao norte do Estado do Pará.

## SUMMARY

**Cutaneous leishmaniasis in the Amazon Region: isolation of *Leishmania (Viannia) lainsoni* from the rodent *Agouti paca* (Rodentia: Dasyproctidae) in Pará State, Brazil.**

The isolation of *Leishmania (V.) lainsoni* is recorded for the first time from a wild animal, the rodent *Agouti paca* (Rodentia: Dasyproctidae), from Pará State, north Brazil. Isolates of the parasite were made from apparently normal skin of 3 specimens of this rodent captured on the Island of Tocantins, in the municipality of Tucuruí, an area subsequently flooded in the formation of the lake associated with the Tucuruí hydroelectric dam. No isolations were made from the viscera. Identification of the parasite was in each case based on morphology of the amastigotes and promastigotes, behavior of the organism in hamsters, isoenzymes profiles and the use of monoclonal antibodies. The inapparent nature of the infection leads us to suggest that the "paca", *Agouti paca*, represents a primitive host of *L. (V.) lainsoni* in the Amazon Region.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Srs. Antonio Julio de Oliveira Monteiro, Antonio F. P. Martins, José Paulo N. Cruz, Raimundo da C. Mendonça, Iorlando da R. Barata, José Itamar de Almeida, João Batista P. da Luz e Augusto Francisco do N. Filho, cujo trabalho no campo e no laboratório foi de substancial importância para a realização deste artigo.

Apoio: Fundação Nacional de Saúde, MS, Brasil e Wellcome Trust, Londres.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FORATTINI, O. P. — Sobre os reservatórios naturais da leishmaniose tegumentar americana. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 2: 195-203, 1960.
2. LAINSON, R. — Leishmanial parasites of mammals in relation to human disease. *Symp. zool. Soc. Lond.*, 50: 137-179, 1982.
3. LAINSON, R. — The American leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 77: 589-596, 1983.
4. LAINSON, R. & SHAW, J. J. — The role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. In: LUMSDEN, W. H. R. & EVANS, D. A. ed. — *Biology of the Kinetoplastida*. London, Academic Press, 1979, v. 2, p. 1-116.
5. MILES, M. A.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; PÓVOA, M. & SOUZA, A. A. — Leishmaniasis in Brazil: XV — Biochemical distinction of *Leishmania mexicana amazonensis*, *L. braziliensis guyanensis* and *L. b. braziliensis*, aetiological agents of cutaneous leishmaniasis in the Amazon Basin of Brazil. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 75: 524-529, 1981.
6. SHAW, J. J. & LAINSON, R. — Ecology and epidemiology: new world. In: PETERS, W. & KILLICK-KENDRICK, R. ed. — *The leishmaniasis in biology and medicine*. London, Academic Press, 1987, v. 1, p. 291-363.
7. SHAW, J. J.; LAINSON, R.; RYAN, L.; BRAGA, R. R.; McMAHON-PRATT, D. & DAVID, J. R. — Leishmaniasis in Brazil: XXIII — The identification of *Leishmania braziliensis braziliensis* in wild-caught neotropical sandflies using monoclonal antibodies. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 81: 69-72, 1987.
8. SILVEIRA, F. T.; SHAW, J. J.; BRAGA, R. R. & ISHIKAWA, E. A. — Dermal leishmaniasis in the Amazon Region of Brazil: *Leishmania (Viannia) lainsoni* sp. n., a new parasite from the State of Pará. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 82: 289-292, 1987.
9. WALTON, B. C.; SHAW, J. J. & LAINSON, R. — Observations on the *in vitro* cultivation of *Leishmania braziliensis*. *J. Parasit.*, 63: 1118-1119, 1977.

Recebido para publicação em 11/6/1990.

Aprovado para publicação em 28/6/1990.