

Estudo de dois anos com animais reservatórios em área de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana humana em bairro de urbanização antiga na cidade de Manaus-AM, Brasil

Jorge Augusto de Oliveira GUERRA^{1,3}, Marcilene Gomes PAES¹, Leíla Ines A.R. COELHO^{1,2,4}, Marcus Luiz Barroso BARROS^{1,2}, Nelson Ferreira FÉ¹, Maria das Graças Vale BARBOSA^{1,3}, Marcus Vinícius de Farias GUERRA^{1,2,3}

RESUMO

Os autores descrevem o resultado de dois anos de investigação de um foco de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), ocorrida em área urbanizada em um conjunto habitacional na cidade da Manaus-AM. Chama atenção o fato de que este não é o padrão de ocorrência de surtos da doença na região, e sim interrupção da transmissão após urbanização. Foram investigados os animais considerados reservatórios em potencial para a leishmaniose em domicílios humanos e em áreas de floresta adjacentes. Foram testados anticorpos contra *Leishmania* spp em amostras de sangue de cães e detectada reatividade pela reação de imunofluorescência indireta em oito (20,51 %) dos examinados. Entre os animais silvestres examinados a espécie *Didelphis marsupialis* foi predominante, com 20 exemplares capturados, sendo encontrados homoflagelados em três destes e lesões suspeitas de leishmaniose cutânea em dois. Acredita-se que um assentamento populacional desordenado ocorrido nas adjacências tenha causado o deslocamento das populações de vetores e reservatórios naturais em direção às casas do conjunto Hiléia propiciando o surto.

PALAVRAS-CHAVE

Reservatórios mamíferos, Leishmaniose Tegumentar, RIFI, Manaus.

Two year study of reservoir animals in an old urban area with cutaneous Leishmaniasis occurrence in the city of Manaus-AM, Brazil

ABSTRACT

This is the result of a two year follow-up of a Cutaneous Leishmaniasis (CL) foci in the Hileia urban neighborhood in Manaus. It is important to point out that this is not the usual pattern of Leishmaniasis occurrence in this area. The authors investigated the animal potential reservoir in households and in the surrounding forest area. Samples were tested for leishmaniasis antibodies by RIFI. Eight (20.51%) of the examined domestic dogs showed reactivity. In captured wild animals, the *Didelphis marsupialis* was predominant in twenty specimens, three with homoflagelated in the blood and two with suspicious cutaneous lesions. We believe that the disordered population growth in the nearby area pushed the population of vectors and natural reservoir toward the homes in the Heleia neighborhood creating conditions for this outbreak.

KEY-WORDS

Reservoir, Cutaneous Leishmaniasis, Manaus, Brazil.

¹ Fundação de Medicina Tropical de Medicina Tropical do Amazonas - FMTAM. Gerência de Leishmaniose. Avenida Pedro Teixeira, 25 - D. Pedro I. CEP 69040-000, Manaus – AM. Fax: (092) 238-3762. e-mail: jorge@fmt.am.gov.br

² Universidade Federal do Amazonas - UFAM

³ Universidade do Estado do Amazonas - UEA

⁴ Fundação Oswaldo Cruz. Centro de pesquisa Leonidas e Maria Deane

INTRODUÇÃO

Em Manaus, no período de janeiro de 1985 a outubro de 1997, a ocorrência de casos de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) alcançou 56% do total ocorrido no estado do Amazonas. Nos últimos treze anos, a Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMTAM) tem registrado em média de 1.000 casos anuais de LTA (Guerra *et al.* 1998). A doença ocorre principalmente na forma de Leishmaniose Cutânea (LC) (Romero *et al.* 2001), em surtos epidêmicos nos assentamentos populacionais recentes, próximos à floresta ou expostos diretamente em ambientes de mata primária (Guerra *et al.* 2003), passando posteriormente a apresentar-se como endemia de casos esporádicos (Barros *et al.* 1982; Paes, 1991).

Os mamíferos silvestres reconhecidos principalmente como reservatórios de LTA na região de Manaus são: *Choloepus didactylus*; *Tamandua tetradactyla*; *Proechimys* sp. e *Didelphis marsupialis*, sendo este último um dos hospedeiros mais importantes, pois tem o hábito de transitar no peridomicílio humano, estabelecendo um elo entre os ciclos de transmissão silvestre e peridomiciliar (Arias & Naiff, 1981; Lainson, 1983; Lainson *et al.* 1984; Guerra *et al.* 2006).

A transmissão da doença na região é atribuída aos flebotomos *Lutzomyia umbratilis* e *Lutzomyia anduzei*, considerados respectivamente vetores principal e secundário da *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis*, o parasito prevalente na etiologia da LTA/LC, no município de Manaus (Arias & Freitas, 1977; Paes, 1991).

O comportamento da doença no Bairro Planalto, onde se situa o conjunto Hiléia, assumia, nos últimos anos, comportamento de endemia com ocorrência de casos esporádicos pela proximidade das casas com a mata (Figura 1). Porém, em 1997, após 15 anos de implantação do conjunto, a ocorrência de 22 novos casos procedentes de determinadas ruas despertou interesse dos pesquisadores da FMTAM. Entre os casos observados, 64% residiam na rua 23, que se limita com a mata em toda sua extensão (Paes *et al.*, 1998).

Para se compreender a epidemiologia e a ocorrência desse novo surto, resolveu-se estudar os mecanismos envolvidos na reintrodução da transmissão da leishmaniose no conjunto Hiléia, Manaus (AM), assim como estimar a soroprevalência da infecção canina e o papel do cão como reservatório da LTA no bairro do Hiléia. Verificar a presença, na área, de mamíferos considerados reservatórios peri-domiciliares e silvestres de LTA, detectar a infecção por *Leishmania* e correlacionar os achados do inquérito sorológico com os animais e a ocorrência dos casos humanos e das espécies de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* transmissoras de Leishmaniose na área estudada.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi estudada a ocorrência da LTA no Conjunto Hiléia, situado em um bairro de implantação antiga na zona Noroeste de Manaus,

que faz limite com as matas do Aeroporto Internacional Eduardo Gomes (AIEG) (Figuras 1 e 2).

Foram proferidas inicialmente palestras educativas sobre Leishmaniose, visando esclarecer a comunidade a respeito dos objetivos do trabalho, assim como e orientar a adoção de medidas preventivas.

Para a avaliação dos cães foram selecionadas 25% das casas do conjunto e feitas entrevistas com os proprietários, exame desses animais quanto à presença de lesões cutâneas e coleta de amostra de sangue da orelha, em papel de filtro (eluato), para inquérito sorológico, feito pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para a pesquisa de IgG, foi realizada segundo a descrição do *kit* de RIFI para diagnóstico da leishmaniose canina (Biomanguinhos-Rio de Janeiro/FIOCRUZ/MS/BR). Foram consideradas como amostras positivas, aquelas que apresentaram fluorescência em diluições iguais ou maiores que 1/20. Quando constatadas lesões sugestivas de LTA, foram feitas biópsias em área de alopecia, pelagem ou úlceras, para exame direto, cultura e inoculações em *hamster* (*Mesocricetus auratus*), objetivando o diagnóstico e o isolamento de cepas de *Leishmania*.

No inquérito dos animais silvestres foram utilizadas 26 armadilhas para captura de animais de pequeno, médio e grande

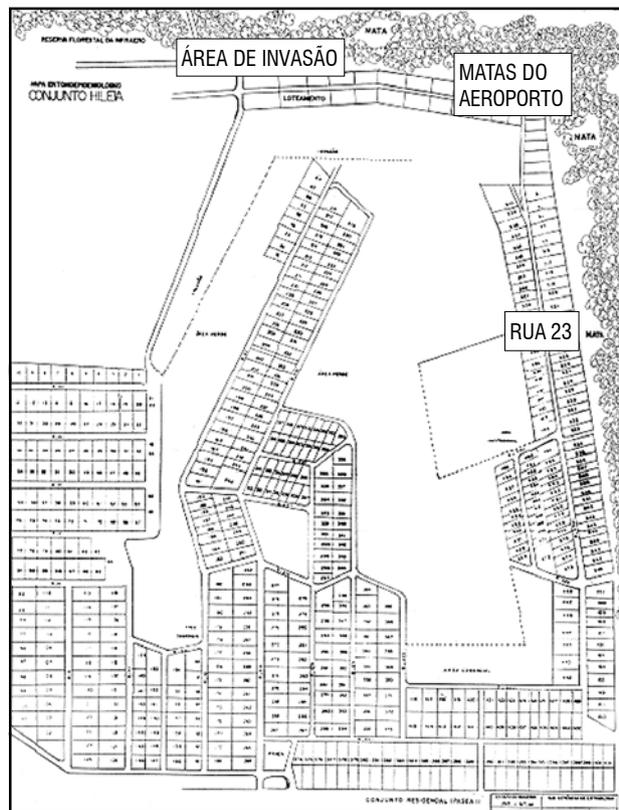


Figura 1 – Leishmaniose Tegumentar Americana em área urbanizada em Manaus, AM. Mapa da área estudada.

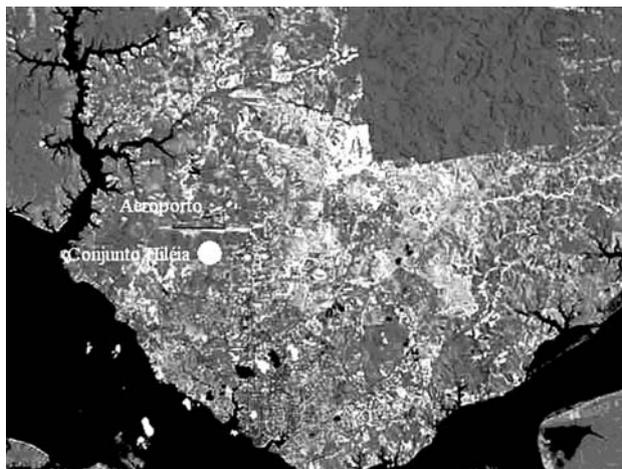


Figura 2 - Imagem Ladsat de Manaus, em destaque o Conjunto Hiléia local da área de estudo

porte, colocadas na mata da INFRAERO, a cerca de 500 m em relação às habitações humanas. Alguns exemplares dos animais capturados foram sacrificados para exame histológico de vísceras e pele, e nos demais, foi retirado sangue venoso para realização de exames sorológicos, exames direto e a fresco. Fragmentos de vísceras foram macerados em solução salina inoculados em *hamsters* e semeados em meio bifásico NNN (Novy, MacNeal e Nicolle)/Schneider's Insect Medium (SIGMA) contendo 10% de soro fetal bovino. O material foi incubado a 28°C, sendo realizados exames semanais a partir do quinto dia, durante seis semanas. Todos os animais capturados e não sacrificados foram marcados com uma argola de cobre em sua pata posterior e devolvidos a seu habitat natural.

Em estudos desenvolvidos paralelamente, foram realizados inquéritos entomológico e humano para avaliar a situação global da LTA na área.

RESULTADOS

Para o inquérito canino foram examinados 74 cães: 35 machos e 39 fêmeas. Entre esses, quinze apresentavam lesões; dois (2,7%) apresentavam lesões não sugestivas de LTA e treze com lesões traumáticas. Foi realizada sorologia (RIFI) de 39 cães (52,7%), sendo oito (20,51%) reativas (figura 3).

Em relação aos animais silvestres, foram capturados 20 *Didelphis marsupialis* (mucura), um roedor *Dasyprocta agouti* (cutia) e três lacertídeos *Tupinambis nigropunctatus* (jacuraru) (Tabela 1). Em relação aos marsupiais, foram capturados onze machos e nove fêmeas, dos quais sete (35%) apresentavam lesões cutâneas, sendo duas sugestivas de LTA, porém, o exame direto destas lesões não foi constatado *Leishmania*. Foram sacrificados sete marsupiais (35%) e realizados exames direto, histopatológico e cultura de pele, músculo esquelético, coração, fígado, baço, linfonodo, glândula anal, intestino, rim e cérebro. Na análise

histológica não se encontrou parasito em nenhuma das peças. Além desses exames, nos hamsters foram realizadas inoculações intradérmicas (patas) e intraperitoneais com macerado de vísceras e sangue, sendo os resultados negativos para pesquisa de *Leishmania*. Nos marsupiais não sacrificados foram também realizados, de material coletado de lesões e sangue venoso, pesquisa direta de *Leishmania*, cultura e inoculação em hamsters. No sangue venoso de dois animais foi observada a presença de hemoflagelados no exame direto e a fresco que, entretanto, não desenvolveram em cultura (Tabela 2). Em um outro animal, observou-se crescimento, em cultura, de hemoflagelados que aguardam caracterização. Do único roedor capturado (cutia), o qual não apresentava lesões sugestivas de LTA, não foi possível coletar material para exames, pois este não sobreviveu em cativeiro.

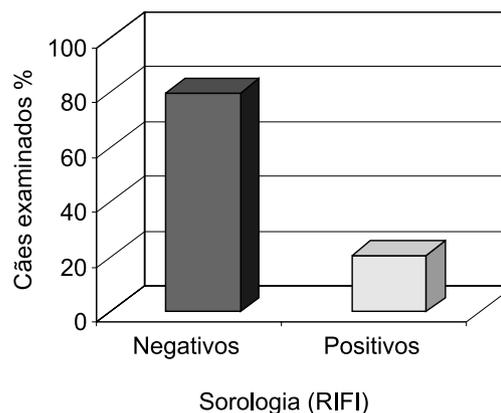


Figura 3 – Leishmaniose Tegumentar Americana em área urbanizada em Manaus, AM. Avaliação de 39 cães. Resultado da sorologia (RIFI).

Tabela 1 - Leishmaniose Tegumentar Americana em área urbanizada em Manaus. Avaliação dos reservatórios silvestres. Número de animais capturados e examinados

Animais capturados	Nº. de animais capturados	Nº. de animais examinados	Nº. de animais sacrificados
Marsupiais	20	20	07
Roedor	01	-	-
Lacertídeos	02	-	-
TOTAL	23	20	07

Tabela 2 - Leishmaniose Tegumentar Americana em área urbanizada em Manaus. Exames laboratoriais realizados para estudo dos animais silvestres.

Exames realizados	Número de animais examinados	Exame direto positivo para hemoflagelados
Exame parasitológico direto	20	02
Exame histopatológico	05	-
Inoculação hamster	08	-
Cultura em meio NNN	10	01

DISCUSSÃO

Nos últimos anos diversos surtos de LTA têm sido registrados em Manaus. Guerra *et al.* (2001) registram 22 novos focos da doença de 1991 a 2000. As observações realizadas demonstram que, da mesma forma que neste estudo, as atividades de manejo florestal ou a manutenção de populações humanas em contato com áreas de mata primária propicia a ocorrência e manutenção de casos (Barret & Senra, 1989; Andrade, 1998; Paes, 1991; Barros *et al.*, 1998; Talhari *et al.* 1988), como parece ter ocorrido no conjunto do Hiléia.

Na região Amazônica, diversos estudos envolvendo isolamento e caracterizações de cepas de *Leishmania* têm sido conduzidas (Grimaldi *et al.*, 1989; Lainson, 1983; Lainson *et al.*, 1994). Entretanto, nos lugares em que a LTA é causada pela *L. (V.) guyanensis*, reservatórios silvestres como o *Didelphis marsupialis* têm causado maior preocupação, uma vez que a adaptação em ambientes alterados os põe em circulação entre o meio florestal, onde se infectam, e o ambiente humano, onde é fonte de infecção a flebótomos (Andrade *et al.*, 1998).

Arias & Naiff (1981) e Arias *et al.* (1981) encontraram *D. marsupialis* infectados naturalmente por *L. (V.) guyanensis* em áreas periféricas de Manaus. No presente estudo, *D. marsupialis* foi o animal mais freqüente na área, demonstrando resultados compatíveis com o trabalho realizado por Andrade (1998) em um bairro da periferia de Manaus. Contudo, aguarda-se caracterização dos flagelados isolados de um desses animais por ocasião deste estudo.

Alterações epidemiológicas levaram animais domésticos, como cães, a assumirem um papel importante na cadeia de transmissão da LTA em algumas áreas (Araújo Filho 1978; Campbell-Lendrum *et al.*, 2001), chama atenção o fato de que reintrodução de transmissão não é o padrão de ocorrência de surtos da doença na região. Andrade (1998) observou, com muita freqüência, animais como gambás em foco semelhante em Manaus, onde também encontraram cães em ambiente peridomiciliar com sorologia positiva (RIFI) para leishmaniose, entretanto, naquele local, as pessoas e os cães adentravam uma reserva florestal. Guerra *et al.* (2002) realizaram inquérito sorológico canino, em áreas de transmissão e não transmissão humana de LTA em Manaus, os resultados obtidos a partir de soro obtido direto de punção venosa foram indicativos de infecção canina em áreas de transmissão humana de LTA.

Como não se encontrou parasitos por qualquer método utilizado e pela possibilidade de reações cruzadas na sorologia canina, não se pôde atribuir aos cães o papel de reservatório. Entretanto, no estudo realizado paralelamente sobre os vetores no bairro do Hiléia, observou-se que a *Lu. umbratilis*, principal transmissor da Leishmaniose em Manaus (Arias & Freitas 1977; 1978; Paes, 1991), prevaleceu sobre as quatro espécies transmissoras mais importantes na região. Dessa forma, convém manter vigilância epidemiológica, principalmente em focos antigos

em que a transmissão se mantém nos ambientes humanos próximos de floresta primária, pela possibilidade de os cães virem a ser um reservatórios da LTA, como tem sido demonstrado em outras áreas do país onde a transmissão é antiga e constante (Desjeux, 2001; Campbell-Lendrum *et al.*, 2001; Madeira *et al.*, 2003).

A captura de mucura ou gambá (*D. marsupialis*) sugere que este animal possa ter participado como um elo importante da transmissão da doença como reservatório secundário de *L. (V.) guyanensis* por apresentar uma boa capacidade de adaptação em ambientes perturbados, vivendo em transição entre a floresta e as residências (Andrade 1998; Guerra *et al.*, 2006). Sua presença era referida com freqüência nos quintais dos moradores locais.

O manejo da mata próxima ao conjunto, determinado pelo processo de invasão populacional em 1997, possivelmente perturbou o ciclo silvestre e contribuiu com o microsurso fazendo com que os animais silvestres saíssem de seu habitat natural em busca de alimentos. Os vetores se adaptaram a essa condição, realizando hematofagia em animais domésticos e no homem, dando origem aos novos casos da doença. Acredita-se que as palestras educativas com orientações à comunidade possam ter contribuído para a interrupção dos casos. Até o momento, não se pôde atribuir aos cães o papel de reservatórios. Entretanto, novos estudos devem ser realizados em áreas semelhantes a fim de se estabelecer conclusões mais definidas, principalmente em relação ao papel dos vetores e reservatórios domésticos em áreas com semelhantes características.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Andrade, S.L. 1998. *Leishmaniose Tegumentar Americana em área de ocupação recente na periferia da cidade de Manaus, Estado do Amazonas, Brasil*. Dissertação de Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ. 206pp.
- Araújo Filho, N.A. 1978. *Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana na Ilha Grande, Rio de Janeiro. Estudos sobre a infecção humana, reservatórios e transmissores*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. 148pp.
- Arias, J.R.; Freitas RA. 1977. On the vectors of cutaneous Leishmaniasis in Central Amazon of Brazil. *Acta Amazonica*, 7: 293-294,
- Arias, J.R.; Freitas, R.A.; 1978. Sobre os vetores da leishmaniose cutanea na Amazônia Central do Brasil. 2: incidência de flagelados em flebótomos selváticos. *Acta Amazonica*, 8(3): 387-196.
- Arias, J.R.; Naif, R.D. 1981. The principal reservoir host of cutaneous leishmaniasis in the urban areas of Manaus, Central Amazon of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 76(3) :279-286.
- Arias, J.R.; Naiff, R.D.; Miles, M.S.; Sousa, A.A. 1981. The opossum (*Didelphis marsupialis*(*Marsupiala Didelphisae*) as a reservoir host of *Leishmania brasiliensis guyanensis* in the Amazon basin of Brazil. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 75: 537-541.

- Barret, T.V.; Senra; M.S. 1989. Leishmaniasis in Manaus, Brazil. *Parasitology Today*, 8: 255-257.
- Barros, M.L.B.; Paes, M.G.; Talhari, S. 1982. Leishmaniose mucocutânea na Amazônia. Estudo dos casos diagnosticados em Manaus no período de 1976 a 1980. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 57: 152-54.
- Barros, M.L.B.; Paes, M.G.; Toledo, L.M. 1998. Considerações sobre a produção da Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado do Amazonas. In: *Espaço e Doença: um olhar sobre o Amazonas*. Editora FIOCRUZ, Rio de Janeiro RJ. p. 105-113.
- Brandão Filho, S.; Campbell-Lendrum, D.; Brito, M.E.F.; Shaw, J.J.; Davies, C.R. 1999. Epidemiological surveys confirm an increasing burden of cutaneous leishmaniasis in north-east Brasil. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 93: 488-494.
- Campbell-Lendrum, D.; Dujardin, J.P.; Martinez, E.; Feliciangeli, M.D.; Perez, J.H.; Silans, L.N.M.P.; Desjeux, F. 2001. Domestic and peridomestic transmission of American Cutaneous Leishmaniasis: Changing epidemiological patterns present new control opportunities. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(2): 159-162.
- Desjeux, P. 2001. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 95: 239-243.
- Grimaldi, G. Jr. S.; Tesh, R.B. 1993. Leishmaniasis of the new world: Current concepts and implications for future research. *Clinical and Microbiology Reviews*, 6(3): 230-250.
- Grimaldi, G. Jr.; Tesh, R.B.; McMahon-Pratt, D. 1989. A review of geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 41: 687-725.
- Guerra, J.A.O.; Barros, M.L.B.; Guerra, M.V.F.; Talhari, S.; Paes, M.G. 1998. Leishmaniose Tegumentar no município de Manaus – Aspectos epidemiológicos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 31(supl. 1): 172.
- Guerra, J.A.O.; Onety, A.C.; Santos, S.L.; Santos, F.G.C.; Talhari, S.; Paes, M.G. 2001. Situação da leishmaniose em Manaus na última década. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34(supl. 1): 244.
- Guerra, J.A.O. Coelho, L.I.A.R.C.; Cabral, E.G.; Almeida, M.R.T.; Moura, M.A.; Paes, M.G. 2002. Comparação entre métodos para coleta de amostra de sangue em inquérito sorológico para leishmaniose em cães procedentes de áreas de transmissão e não transmissão humana de leishmaniose tegumentar americana no município de Manaus. *NewsLab*, 55: 72-80.
- Guerra, J.A.O.; Talhari, S.; Paes, M.G.; Garrido, M.; Talhari, J.M. 2003. Aspectos clínicos e diagnósticos da leishmaniose tegumentar americana em militares simultaneamente expostos à infecção na Amazônia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36(5): 587-590.
- Guerra, J. A. O.; Ribeiro, J. A. S.; Coelho, L. I. A. R. C.; Barbosa, M. G. V.; Paes, G. P. 2006. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar na comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública* 22: (11) 2319-27.
- Lainson, R. 1983. The american leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 77: 169-196.
- Lainson, R.; Shaw, J.J.; Silveira, F.T.; Souza, A.A.A.; Braga, R.R.; Ishikawa, E.A.I. 1984. The dermal Leishmaniasis of Brazil with special reference to the eco-epidemiology of the disease in the Amazonian. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 89(3): 435-443.
- Madeira M.F.; Uchôa C.M.A.; Leal, C.A.; Silva, R.M.M.; Duarte R.; Magalhães C.M.; Serra, C.M.B. 2003 *Leishmania (Viannia) braziliensis* em cães naturalmente infectados. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36(5): 551-555.
- Paes, M.G.; Fé, N.F.; Coelho, L.I.A.R.C.; Oliveira, R.S.; Sousa, J.U.; Teixeira, M.R.; Romero, G.; Guerra, J.A.O. 1998. Sobre a ocorrência de leishmaniose tegumentar em rua de implantação antiga na cidade de Manaus (AM). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 31(supl. 1): 75.
- Paes, M.G. 1991. *Estudo de quatro espécies de Lutzomyia França, 1924 (Diptera, Psychodidae) em área endêmica de Leishmaniose Tegumentar Americana na periferia de Manaus*. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Fundação Universidade do Amazonas. Manaus, Amazonas. Páginas????
- Romero, G.A.S.; Guerra, M.V.F.; Paes, M.G.; Macedo, V.O. 2001. Comparison of Cutaneous Leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (V.) guyanensis* in Brazil: Clinical findings and diagnostic approach. *Clinical of Infectious Diseases* 32: 1304-1312.
- Talhari, S.; Arias, J.A.; Cunha, M.G.S.; Naiff, R.B. Naiff, M.F.; Freitas, R.A.; Barrett, T. 1988. Leishmaniose no Estado do Amazonas - Aspectos Epidemiológicos, Clínicos e Terapêuticos. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 63(6): 433-438.
- WHO. 1990. *Control of leishmaniasis*. Technical report series. Geneva, 793pp.

Recebido em 03/10/2003

Aceito em 20/02/2007

