

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DOS HEMOPARASITAS
DE *Didelphis marsupialis* L., 1758 E *D. albiventris*
Lund, 1841, NO BRASIL: *Babesia ernestoi* sp. n.
(Piroplasmorida: Babesiidae)

TESE

Apresentada à Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro para obtendo do grau
de *Magister Scientiae*

Aprovada em 29/11/1976

W. O. Neitz
Wilhelm Otto Daniel Martin Neitz
Hugo Edison Barboza de Rezende
Carlos Luiz Massard

NICOLAU MAUÉS DA SERRA FREIRE

NOVEMBRO 1976

AGRADECIMENTOS

Aos Professores: Wilhelm Otto Daniel Martin Neitz, Hugo Edison Barboza de Rezende e Carlos Luiz Massard, orientadores da presente Tese, pelo contínuo auxílio no desenvolvimento do trabalho.

Nossos especiais agradecimentos aos Professores Rubens Pinto de Mello e Delir Corrêa Gomes pelo incansável apoio na redação da Tese.

A nossa gratidão ao Reitor da Universidade Federal do Pará e ao Diretor da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, pelas facilidades concedidas aos nossos estudos no Curso de Pós-Graduação.

Nossos penhorados agradecimentos ao Professor Adriano Lúcio Peracchi pela determinação das espécies de mamíferos trabalhadas durante a Tese.

O muito obrigado a todos que nos ajudaram na captura e manutenção dos animais em cativeiro.

À ERNESTO PARÁ-ASSÚ DA SERRA FREIRE, meu pai,
a quem faço homenagem póstuma com esta espécie de parasi-
ta, pelos ensinamentos que norteiam minha vida.

BIOGRAFIA

Nicolau Maués da Serra Freire, filho de Ernesto Pará-Assú da Serra Freire e Oneide Maués da Serra Freire, nasceu em Belém, Estado do Pará, em 13 de dezembro de 1947. Recebeu educação primária no Colégio Suíço Brasileiro, em Belém-Pará; cursou o secundário, até o segundo ano, no colégio Nossa Senhora de Nazareth, dos Irmãos Maristas, em Belém-Pará; durante os dois últimos anos do curso secundário e todo o curso científico, foi aluno do Colégio Estadual Magalhães Barata, na capital do Estado do Pará. Em 1967, ingressou na Escola Nacional de Veterinária e diplomou-se em 1970, obtendo a terceira colocação entre oitenta e sete concluintes, Durante todo o curso de graduação foi bolsista da Superintendência do Desenvolvimento da Amazônia - SUDAM, tendo sido, no mesmo período, monitor da disciplina, de Zoologia Médica e Parasitologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Aprovado em concurso público, foi nomeado Médico Veterinário do departamento de Infra-Estrutura Econômica da

SUDAM, no período de 1971 a 1973.

Foi desdesignado Diretor do Hospital Veterinário da Sociedade Paraense de Proteção aos animais durante 1972 e 1973.

Ingressou como Auxiliar de Ensino na Universidade Federal do Pará, em agosto do 1972, e na Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, em junho de 1973, dedicando-se às atividades de magistério.

De 1972 até a presente data, vem desenvolvendo projetos de pesquisa em Parasitologia, já tendo publicado alguns trabalhos.

À minha mãe

CONTEÚDO

I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	4
III. MATERIAL E MÉTODOS	11
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSSÃO	26
VI. CONCLUSÕES	41
VII. RESUMO	43
VIII. SUMMARY	45
IX. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	47
X. APÊNDICE	50

I - INTRODUÇÃO

Em sequência aos achados de Pestana (1910) e de Carini & Maciel (1914), sobre a ocorrência de babesiose no Brasil, os estudos sobre estes hematozoários tem sido cada vez mais constantes. Observações sobre infecções naturais por *Babesia* (Patton, 1895), em diferentes espécies de animais, foram se acumulando, enfatizando a necessidade crescente de se conhecer melhor as babesioses no Brasil.

Após Regendanz & Kikuth (1928) deocreverem *Nuttallia brasiliensis*, parasita do sangue de quica (*Metachirus quica*), procedentes da região de Petrópolis, Estado do Rio de Janeiro, os marsupiais despontaram com novo interesse para os pesquisadores. Assim é que Garcia (1934), na Colombia, e Deane & Deane (1961), na amazônia brasileira, referiram as ocorrências de *N. brasiliensis*, respectivamente em *Didelphis paraguayensis* e *D. marsupialis*. Garcia (1934) teve

êxito na transmissão experimental do Piroplasmorida à outras espécies de hospedeiros: *D. marsupialis* e *Metachirus nudicaudatus*.

Experimentos sobre transmissão de agentes etiológicos das babesioses começaram então, a integrar quase todas as pesquisas no assunto.

Assim, Dennig (1967) na Alemanha, tentou a transmissão de *Babesia herpailuri*, parasita de *Felis yagouaroundi* Desmarest, para *Canis familiaris* L., 1758, *Felis catus* L., 1758 e *Vulpes vulpes* (L., 1758), com sucesso. Holbrook & Frerichs (1970), nos Estados Unidos da América do Norte, não obtiveram êxito na transmissão experimental de *Babesia mephitis*, parasita de *Mephitis mephitis*, para *C. familiaris*, *Bos taurus* L., 1758, *Equus caballus* L., 1758 e animais de laboratório. Massard, Massard, Lopes Serra Freire (1970), no Brasil, demonstraram o parasitismo natural de *Cerdocyon thous* (L., 1766) por *B. canis* (Piana & Galli-Vale-rio, 1895), e coseguram a transmissão experimental deste hematozoário para *C. familiares*.

Como se pode depreender, há sempre uma preocupação em se conhecer as possíveis correlações existentes entre as babesioses de animais silvestres e domésticos.

Sabemos que marsupiais do gênero *Didelphis* L.,

1758 (gambá, mucura, cassaco, sariguê, timbú, saruê etc) são de hábitos peridomiciliaris e tem larga distribuição geográfica, incluindo a América do Sul, América Central, sul e centro dos Estados Unidos da América do Norte.

No Brasil, *D. marsupialis* e a espécie do gênero que predomina na ocupação de florestas e capoeiras, em grande parte do território nacional, englobando a Amazônia, região Central, Oeste, Leste e o norte da região Sul. *D. albiventris* tem distribuição um pouco mais restrita dada a sua preferência pelas regiões de campo.

Tendo observado a presença de *Babesia* spp. no sangue circulante de gambás (*D. marsupialis*), procuramos verificar a viabilidade e a patogenicidade deste parasita, nesta espécie e em outros animais silvestres, domésticos e de laboratório, na tentativa de determinação da espécie do hematozoário. Deste modo foi identificado um Babesiidae com características próprias, o qual parasitava *D. marsupialis* procedentes de diferentes regiões do Brasil. Este protozoário que consideramos ser uma nova espécie de Piroplasmorida Babesiidae, propomos o nome específico de *Babesia ernestoi*, em memória de Ernesto Pará-Assú da Serra Freire.

II - REVISÃO DA LITERATURA

Pestana (1910), classificou como *Piroplasma vitalii*, o agente etiológico da piroplasmose canina no Brasil, em *C. familiaris*, descrevendo também, o quadro sintomático apresentado pelos animais.

Carini & Maciel (1914), observaram alguns casos espontâneos de babesiose canina no Brasil; comentaram sobre a infecção experimental, evolução, etiologia, sintomatologia, patologia e tratamento. Concluíram que a doença ocorria durante todo o ano, com alta frequência no verão e atacava principalmente os cães de caça, jovens, de raça, manifestando-se na maioria dos casos após uma caçada.

D'Utra e Silva & Arantes (1916), no decorrer de estudos histológicos, encontraram hepatozoon parasitando somente eritrócitos no sangue de um *D. albiventris*, entre cinquenta exemplares examinados, todos provenientes do muni-

cípio de Merity, Estado do Rio de Janeiro. Foram localizados cistos, em diferentes fases evolutivas, no tecido glandular do pâncreas. Resultaram negativas as tentativas de infecção experimental pela inoculação intraperitoneal de sangue e macerado de órgãos do animal infectado, em cobaias (*Cavia porcellus* (L., 1758)), coelhos (*Oryctolagus cuniculus* L., 1758), gambás (*D. albiventris*) e ratos (*Rattus rattus* (L., 1758)). A este parasita denominaram *Haemogregarina didelphidis* (= *Hepatozoon didelphidis* D'Utra e Silva & Arantes 1916), tendo sido esta a primeira citação em marsupiais.

Regendanz & Kikuth (1928), reencontraram *H. didelphidis*, em *D. didelphis aurita* no Estado do Rio de Janeiro, porém em material originário do município de Petrópolis. No mesmo levantamento, os autores identificaram uma nova espécie de Hepatozoon em marsupial, *H. metachiri* (Regendanz & Kikulth, 1928), parasitando *M. quica* e obtiveram sucesso na transmissão experimental, tanto por via oral com conteúdo do intestino de carrapatos que parasitavam *D. albiventris* com hepatozoon, como por inoculação sub-cutânea do sangue de quica infectada. Também neste trabalho fizeram citação da ocorrência de *Haemogregarina ratti* (= *Hepatozoon muris* Balfour, 1905) em ratos selvagens (*R. rattus*) da região de Petrópolis, Rio de Janeiro.

Ainda Regendanz & Kikuth (1928), encontraram em esfregaços de sangue de *M. quica*, capturadas em Petrópolis, outro hematozoário, ao qual denominaram *Nuttallia brasiliensis*. Em condições naturais não se evidenciaram sintomas mórbidos mas, pela esplenectomia, os autores conseguiram exacerbar a virulência de parasita. Entretanto, não reproduziram a doença pela inoculação do sangue de *M. quica* infectada, em *D. albiventris* e *C. familiaris*.

Garcia (1934) descreveu um parasita endoeritrocítico semelhante a *Nuttallia equi* (Laveran, 1901), no sangue de *D. paraquayensis*, na Colombia. O hematozoário foi estudado através de esfregaços sanguíneos, corados pelo eosinato de azul de metileno, o qual apresentava grande polimorfismo e ausência de pigmentos. O desenvolvimento do parasita nos eritrócitos, mostrou formas ameboides, anelares e em "cruz de malta". Variações morfológicas semelhantes foram obtidas com infecção experimental em *D. marsupialis* e *M. nudicaudatus*. As inoculações em *E. caballus*, *B. taurus*, *C. porcellus* e camundongos (*Mus musculus* L., 1758) revelaram resultados negativos.

Sobre a patogenicidade em animais infectados experimentalmente, o autor observou que com cinco a seis dias após a inoculação, apareceram as primeiras formas intra-

eritrocíticas que alcançaram índice de 1% de glóbulos parasitados. Com 16 a 22 dias de infectados 20 a 30% dos eritrócitos apresentaram as formas ameboides, anelares e em "cruz de malta"; quando não morriam os animais assim parasitados, estes índices que corresponderam ao estado agudo da infecção, persistiram por duas ou três semanas e foco regressaram, proporcionalmente ao grau de imunização que ia se estabelecendo. O autor também sugeriu que o provável vetor desta parasitose fosse *Ixodes loricatus* Neumann, 1899, por ser esta a espécie de carrapato a mais comum nestes marsupiais.

Reichenow (1953), classificou o hematozoário estudado por Garcia (1934) em marsupial, como sendo do gênero *Theileria* Bettencourt, Franca & Borges, 1907, apesar de não encontrar esquizontes no sangue ou em órgãos internos do hospedeiro. Os parasitas apresentaram morfologia piriforme e anelar, com 1 a 1,5 u de diâmetro, tendo ocorrido até oito formas em um mesmo eritrócito.

Neitz (1957), em sua revisão sobre theileriose, gonderiose e cytauxzoonose, citou *N. brasiliensis* Recendanz & Kikuth, 1928, como parasita intraeritrocítico de marsupial.

Deane & Deane (1961) examinaram quinze *D. marsupialis* capturados no município de Irituia, Estado do

Pará e, em dois destes animais observaram a ocorrência de hematozoário. Em um desses gambás (*D. marsupialis*), o grau de parasitismo era bastante intenso, e no outro, era muito baixo o número de parasitas. O estudo foi realizado com esfregaços e gotas espessas de sangue, esfregaços de fígado e baço, todos corados pelo método de Giemsa; os protozoários, tanto nos esfregaços de sangue como nos das vísceras, foram localizados somente no interior de eritrócitos. Os parasitas apresentavam citoplasma azul claro e núcleo vermelho rubi, com variado polimorfismo, incluindo formas elipsoides, arredondadas ovais e irregulares. Modificações morfológicas do núcleo e vacúolos citoplasmático puderam ser verificadas. Não foram observadas formas em "cruz de malta", mas pelo aspecto morfológico, ausência de formas esquizogônica e de pigmento, os autores concluíram que seria provável tratar-se de *N. brasiliensis*.

Dennig (1967), na Alemanha, citou uma nova espécie de *Babesia*, parasita natural de *F. yagouaroundi*, na América do Sul. A este hematozoário denominou *Babesia herpailuri* e infectou experimentalmente *C. familiaris*, *F. catus* e *V. vulpes*.

Holbrook & Frerichs (1970), assinalaram o parasitismo de treze cangambás (*M. mephitis*), por um *Babesideo* de

ciclo evolutivo semelhante a *Babesia caballi* (Nuttall, 1910). Todos os animais foram capturados nos parques do Laboratório de Parasitologia de Beltsville, em Maryland-Estados Unidos da América do Norte. Os autores o descreveram como uma nova espécie, pois não conseguiram, através de inoculações, a transmissão para *M. musculus*, *R. rattus*, *C. porcellus*, *Mesocricetus auratus* Waterhouse, 1840, *C. familiaris*, *B. taurus* e *E. caballus*. O hematozoário, que possuía formas características com pequenas variações de tamanho, apresentava o ciclo evolutivo parecido ao de *L. caballi*. A este novo Piroplasmorida denominaram *Babesia mephitis*.

Levine (1971), a respeito de *N. brasiliensis* Regendanz & Kikuth, 1928, referiu como *Theileria brasiliensis* (Regendanz & Kikuth, 1928) Reichenow, 1953, sem considerar a inexistência de formas de multiplicação (esquizontes) nos linfócitos.

Lopes, Massard, Faccini & Cunha (1973) caracterizaram morfológicamente as diversas fases evolutivas de *N. brasiliensis* encontradas nos eritrócitos de *P. opossum* quica, não tendo observado a presença de esquizontes nos glóbulos brancos. Teceram comentários sobre os parasitas descritos por Garcia (1934) e Deane & Deane (1961), e sugeriram que fossem classificados como *N. brasiliensis*, por possuí-

tem características semelhantes as descritas por Regendanz & Kikuth (1928) para hematozoários que parasitavam *M. quica* procedentes do município de Petrópolis. Paralelamente, relataram a distribuição destes hematozoários em marsupiais na América do Sul.

Massard, Massard, Lopes & Serra Freire (1976), relataram a presença de *B. canis* parasitando *C. thous*. A *Babesia* spp. apresentava variada morfologia, entre as quais as formas: circulares, ovais, ameboides, piriformes com um ou dois pares em cada eritrócito, e formas livres. Evidenciaram fases intermitentes de parasitemia, com intervalos de até oito dias, e demonstraram sua transmissão experimental à *C. familiaris*.

III - MATERIAL E MÉTODOS

1. Material

1.1. Local

Os estudos foram realizados nos Laboratórios de Parasitologia do departamento de Biologia Animal, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, km 47 da antiga rodovia Rio-S. Paulo, distrito de Seropédica, município de Itaguaí Estado do Rio de Janeiro - Brasil.

1.2. Animais

Foram utilizados trinta e oito mamíferos durante o trabalho:

1.2.1. Dezoito gambás: sendo dezesseis da espécie *D. marsupialis* (dez fêmeas e seis machos) jovens e adultos; dois da espécie *D. albiventris*, ambos machos e jovens.

Um dos casais da espécie *D. marsupialis* procedeu da capital do Estado do Pará; duas outras fêmeas da mesma espécie provieram de Caraguatatuba, Estado de S. Paulo. As outras doze gambás foram capturadas no Estado do Rio de Janeiro; destas, duas fêmeas de *D. marsupialis*, foram apreendidas na cidade de Niterói. Um outro casal de *D. marsupialis* e os dois *D. albiventris* foram capturados no bairro de Jacarepaguá. As últimas oito componentes do grupo, procederam do próprio "campus" da UFRRJ, entre as quais, três eram fêmeas jovens, Na Tabela I estão relacionados cada exemplar das gambás com suas respectivas referências individuais.

1.2.2. Três quicas (*P. opossum quica*), fêmeas adultas, aprisionadas nas proximidades da UFRRJ.

1.2.3. Dois casais de gatos (*F. catus*), jovens, mestiços criados em condições de laboratório na UFRRJ, após serem desmamados.

1.2.4. Três cães (*C. familiaris*) jovens, sem raça definida, sendo duas fêmeas e um macho, criados em laboratório depois de desmamados.

1.2.5. Cinco casais de camundongo (*M. musculus*), criados no biotério do curso de Pós-Graduação em Parasitolo-

gia da UFRRJ.

1.3. Cativeiro

1.3.1. Marsupiais: foram mantidos em cativeiro com o uso de gaiolas teladas individuais, agrupadas em blocos isolados de quatro gaiolas, afastadas do solo por 80 cm. Cada compartimento individual apresentava 100x25x50 cm, totalmente telado com tela de arame de 1 cm² de malha, e com dispositivo que possibilitava o escurecimento interno, além de impedir contato direto entre os animais de compartimentos contíguos; as portas se abriam no teto.

1.3.2. *C. familiaris* e *F. catus*: permaneceram em gaiolas individuais de 80x80x60 cm, totalmente teladas com 9cm² de malha e com portas laterais.

1.3.3. *M. masculus*: ficaram cativos em caixas de polipropileno com tampa gradeada em metal, medindo 35x20x12 cm.

1.4. Alimentação

1.4.1. *D. marsupialis* e *D. albiventris*: foi oferecido como média diária de alimentos, uma banana d'água (*Musa* spp.), dois ovos de galinha, 50g de carne e água fresca a vontade.

1.4.2. *P. opossum quica*: a média por dia de alimen-

tos a disposição, consistiu de uma banana d'água e um ovo de galinha. Água fresca a vontade.

1.4.3. *C. familiaris* e *F. catus*: recebiam diariamente, em média, respectivamente 250 e 100g de uma mistura de arroz (*Oryza sativa*) e carne cozidos, com ração balanceada; água fresca a vontade. Foram previamente tratados com antihelmínticos e acaricidas.

1.4.4. *M. musculus*: dispuseram sempre de farta quantidade de ração balanceada e água fresca.

2. Métodos

2.1. Pesquisa do parasitismo em condições naturais

Todos os marsupiais que eram capturados e incorporados ao experimento, passaram a ser acompanhados a cada dia com tomada de temperatura retal e preparo de esfregaços de sangue, pela manhã. *C. familiaris*, *F. catus* e *M. musculus* foram submetidos a semelhante controle, porém após serem inoculados.

Para os esfregaços de sangue dos animais, furava-se, com agulhas hipodérmicas, a extremidade da cauda, obtendo-se dali a quantidade necessária de sangue. Os esfregaços eram secos ao ar, identificados com número do animal e data, e fixados em álcool metílico

puro. Eram anotados também, dados relativos aos aspectos sintomáticos, de comportamento e possíveis anormalidades ocorridas.

Os esfregaços foram corados pelo método de Giemsa, utilizando-se Giemsa Merck, Darmstadt, e examinados ao microscópio com ocular de 10x e objetiva de 100x. Os animais positivos foram submetidos a um estudo mais acurado e, algumas vezes, usados como doadores de material infectado para testes de transmissão experimental.

2.2. Transmissão experimental em *D. marsupialis* supostamente negativos

D. marsupialis, considerados negativos pelo exame microscópico, foram estudados através de: sub-inoculações de seu sangue em gambás da mesma espécie, cativas e negativas a mais de 5 meses; pelo "stress" provocado pela Dexametasona e pela esplenectomia.

As coletas de sangue para sub-inoculações, foram realizadas por punção intracardiaca com seringas descartáveis de 2 ml, contendo 0,2 ml de solução de citrato de sódio a 4%. Os animais receptores foram sempre inoculados por via intraperitoneal, nas doses de 1 ml para *C. familiaris*, *F. catus*, *D. marsupialis* e

P. opossum quica e de 0,5 ml para *M. musculus*.

O baço de *D. marsupialis* esplenectomizados era macerado, diluído em soro fisiológico e inoculados nos animais receptores na mesma dose e via utilizada para as inoculação de sangue infectado.

2.3. Pesquisa de formas tissulares

Quando as gambás (*D. marsupialis*) morriam no decorrer do experimento, eram necropsiadas e pesquisa das formas do parasita, em esfregaços de sangue e aposição de adrenal, aorta, baço, cerebelo, cérebro, coração, fígado, gônadas, medula óssea, pulmão e rim. Pesquisa de formas tissulares também foi feita em baço quando retirados, cirúrgicamente, para causar "stress" nos hospedeiros.

2.4. Aspectos morfológicos

Na realização dos desenhos e observações morfológicas, foi utilizado microscópio Wild M20, munido de câmara clara e lente "Zoom". As medidas foram tomadas em microscópio com auxílio de ocular micrométrica.

2.5. Esplenectomia

Foi realizada com anestesia geral utilizando-se cloro-3 (dimetilamino-3'propil)-fenotiazina (Amplictil, Rhodia) na dose de 5 mg/kg de peso vivo e uma so-

lução a 2% de cloridrato de 2-(2,6-dimetilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3-tiazina (Rompum, Bayer) na dose de 0,1 ml/kg de peso vivo, por via intramuscular, a qual mantinha o animal anestesiado por 40 a 60 minutos.

Cada caso, a incisão foi latero-lateral, posterior ao último arco costal, flanco esquerdo; os vasos sanguíneos foram ligados, para evitar hemorragia, com fio de catigute simples nº 00. Na sutura do peritônio, foi utilizado fio de catigute simples nº 0, e na epiderme, fio de algodão nº 30.

Diariamente era feito curativo no local da incisão, apenas com água oxigenada a 10 volumes e tintura de iodo. Os pontos foram retirados no décimo dia após a cirurgia.

2.6. Injeções de Dexametasona

Para o "stress" com preparado de cortisona, utilizou-se injeções intramusculares de Dexametasona.2.1. fosfato (Decadron, MSD) na dose de 1,0 mg/gambá/dia durante dez dias, alternando-se as aplicações nos membros posteriores dos animais.

2.7. Pesquisa de prováveis vetores

Todos *D. marsupialis* e *D. albiventris* que foram capturados e transferidos para o cativeiro, nos quinze

primeiros dias eram submetidos a meticulosa inspeção para encontro de carrapatos. Ninhos de gambás foram também coletados e submetidos a exame em funil de Berlese na tentativa de serem observados possíveis vetores de *Babesia* spp.

Finalmente, todos os animais que deveriam ser utilizados nos trabalhos experimentais, foram submetidos a um período prévio de quinze dias de repouso no cativeiro, sendo observados a temperatura e a parasitemia. Da mesma forma, *D. marsupialis* e *D. albiventris* inoculados com material infectante ou submetidos a "stress", foram acompanhados até três meses após o início dos trabalhos experimentais.

IV - RESULTADOS

1. Pesquisa do parasita em condições naturais

Na pesquisa do parasita em portadores de infecção natural, feita desde o primeiro dia de cativo, 38,9% das gambás (*D. marsupialis* e *D. albiventris*) apresentaram-se microscopicamente positivas a presença do hematozoário (Tabela I).

Em todos os casos de *D. marsupialis* naturalmente parasitados, a parasitemia era extremamente baixa, tendo sido observado intervalo de até dez dias sem a presença da *Babesia* spp. no sangue circulante. As vezes, variações da temperatura retal dos hospedeiros, correspondiam aos picos do parasita no sangue, tal como é evidenciado no Gráfico I. Foi utilizado como padrão para estabelecer a media de temperatura normal nas duas espécies de marsupial, a media das temperatu-

ras daqueles microscópicamente negativos.

Outros sinais clínicos observados não foram atribuídos ao parasitismo. Assim, o *D. marsupialis* fêmea (Nº 5), originária do Estado do Pará, que morreu dois dias após a captura e transferência para o cativeiro, com visíveis sintomas de claustrofobia, caracterizada inicialmente por excitação profunda, seguida de depressão, acompanhada de anorexia e polaquiúria, à necrópsia apresentou apenas leve infestação por nematoides.

2. Pesquisa em portadores supostamente negativos

A segunda etapa do trabalho foi determinar as gambás portadoras de *Babesia* spp., dentre aquelas que inicialmente foram negativas. Para isto, recorreu-se a injeções intramusculares de Dexametasona. Uma parasitemia um pouco mais elevada que a observada em animais naturalmente infectados pode ser constatada. Da mesma maneira, as alterações de temperatura do hospedeiro foram discretamente maiores, a partir do sexto dia do início das injeções, correspondendo ao aparecimento do parasita no sangue.

No Gráfico II são representadas as variações de temperatura de *D. marsupialis*, em "stress" com Dexamet-

tasona, assinalando-se o início da parasitemia comprovada e os piques de mais alta concentração de *Babesia* spp. no sangue.

O "stress" motivado pela esplenectomia, revelou-se como o melhor método de se provocar significativo aumento da parasitemia.

No Gráfico III são apresentadas as curvas piréticas dos animais esplenectomizados, identificando-se os correspondentes piques de máximo parasitismo dos eritrócitos.

A inoculação de sangue de um *D. marsupialis* (N° 6), supostamente negativo, em outro (N° 16), mantido a mais de cinco meses em cativeiro sem evidenciar hemoparasitas, causou infecção no receptor, com moderada parasitemia.

3. Transmissão experimental

3.1. Inoculação de sangue infectado

Sangue de animais naturalmente parasitados, foi inoculado em dois *D. marsupialis* (N° 10 e 18), dois *P. opossum quica*, dois *F. catus*, dois *C. familiaris* e seis *M. musculus*, tendo ocorrido desenvolvimento de babesias somente em *D. marsupialis*, Em uma destas (N° 10), caso de maior severidade observado, registrou-se

o exito letal do animal no décimo quarto dia de inoculado. Neste hospedeiro, a parasitemia se iniciou no oitavo dia após a inoculação, elevando-se em crise até a morte do animal. Febre, apatia, anorexia e urina muito concentrada foram os principais sintomas clínicos observados.

Pela necrópsia constatou-se a presença da *Babesia* spp. no parênquima do baço, fígado, cérebro, lúmen da aorta e adrenal.

3.2. Inoculação de suspensão de baço infectado

O baço de um *D. marsupialis* (Nº 7), que por muito tempo mostrou formas do parasita no sangue circulante, foi examinado através de impressões do órgão, constatando-se a presença do parasita intraeritrocítico. Macerado deste órgão foi inoculado em dois *D. albiventris*, dois *F. catus*, um *C. familiaris* e quatro *M. musculus* so se registrando a presença do hematozoário nos eritrócitos das gambás, após o décimo dia da inoculação.

No Gráfico IV são apresentadas as curvas de temperatura dos hospedeiros inoculados com material infectado, assinalando-se o início da parasitemia e o

pique de mais alta concentração de babesias no sangue circulante.

4. Pesquisa de formas tissulares

Das necrópsias de todos os *D. marsupialis*, que morreram no decorrer do experimento, foram preparados esfregaços de sangue e por aposição dos principais órgãos.

No Gráfico V destaca-se a frequência da ocorrência de *B. ernestoi* sp. n., por órgão e no sangue, das gambás necropsiadas.

5. Caracterização morfológica

Foi encontrada na quase totalidade de esfregaços positivos, somente em eritrócitos. Em raras ocasiões foi possível constatar a presença do parasita livre no plasma ou invadindo eritrócitos.

Uma grande variedade de formas foram observadas, sendo que em rodas, o núcleo ficou corado, pelo método de Giemsa, em vermelho e o citoplasma em azul claro. Este parasita foi incluído no grupo das babesias de grandes dimensões, face as características morfológicas apresentadas durante o seu desenvolvimento nos eritrócitos.

Com o objetivo de uma melhor descrição, agrupamos

os estágios de desenvolvimento, de acordo com o aspecto do parasita, conforme é apresentado na Prancha I, com as seguintes formas:

- a. Anaplasmoide: constituída por um núcleo redondo e pequena quantidade de citoplasma (fig. 1).
- b. Em vírgula: com pequeno núcleo arredondado em uma das extremidades, e infundíbulo na extremidade oposta ao núcleo (fig. 2).
- c. Em anel: pequenos vanéis com núcleo bem destacado. O diâmetro maior desta forma variou entre 2,3 μ e 3,0 μ (fig. 3).
- d. Ovóide: com maior desenvolvimento, são mais facilmente visíveis. Núcleo geralmente deslocado para a extremidade maior; citoplasma vacuolado, com aproximadamente 3,1 a 3,8 μ de diâmetro maior (figs. 4 e 5).
- e. De transição: apresentam morfologia variável entre a forma ovóide e a ameboide (figs. 6 a 9).
- f. Ameboide: o núcleo esta deslocado para a periferia e o citoplasma vacuolado, apresenta projeções irregulares; ocupa nitidamente mais da metade do diâmetro do glóbulo parasitado (figs. 10 a 14).
- g. Piriforme: muito raras, grandes, de núcleo central,

medindo de 5,6 a 6,4 μ , tendo sido observado um só parasito em cada eritrócito (fig. 15) Algumas vezes, estas formas foram encontradas livres no plasma (fig. 16), ou invadindo glóbulos vermelhos (fig. 17 e 18).

6. Pesquisa de prováveis vetores

Tanto a inspeção da pele das gambás como as pesquisas nos ninhos destes marsupiais, não apresentaram resultados positivos para a presença de carrapatos.

V - DISCUSSÃO

1. Pesquisa do parasitismo em condições naturais

Como é demonstrando na Tabela I, sete animais da espécie *D. marsupialis*, apresentaram-se com babesiose em condições naturais, correspondendo a 38,9% do total das gambás capturadas. É válido salientar que nenhum dos animais apreendidos ainda jovens (27,8% da população), foi positivo.

No Gráfico I é evidenciada a discreta elevação da temperatura fetal das gambás (quarto dia), atribuída ao cativo, em relação à média das temperaturas destes animais, quando considerados negativos em condições naturais. O aumento da temperatura foi muito mais acentuado nos hospedeiros com babesia no sangue circulante. Nestes, o pique máximo de termia (terceiro dia), sempre antecedeu a elevação térmica provoca-

da pelo cativeiro, Na maioria dos casos, houve coincidência entre os piques de temperatura retal e parasitemia natural em cada hospedeiro.

Pela constância observada, ficou evidenciado que a transferência para cativeiro funcionou como fator de "stress", suficiente para alterar a temperatura dos animais, parasitados ou não, e axacerbar a parasitemia natural.

A "causa mortis" do *D. marsupialis* n° 14, registrada no décimo quinto dia de cativeiro, pode ser associada à do *D. marsupialis* n° 5, que resistiu somente dois dias. Tal associação, baseia-se no fato de que ambas foram transportadas em gaiolas de ripas de madeira, por via aérea no trecho Belém-Rio de Janeiro, e por via terrestre até o local do experimento, perfazendo um total de aproximadamente seis horas de viagem contínua. Transferidas para suas respectivas gaiolas, revelaram grande excitação, posteriormente substituída por uma profunda depressão até o exito letal. Sintomas como, anorexia, apatia e polaquíúria foram interpretados como consequentes ao violento "stress" a que foram submetidas.

Face a concentração de babesias no sangue circu-

lante ser pequena, mesmo nos piques máximos de parasitemia (acima de 5% dos eritrócitos infectados), julgamos que a ocorrência da intermitência da parasitemia (nove a doze dias), advém de períodos regulares de multiplicação do hematozoário, concorrendo para reduzir a níveis inferiores ao que foi estabelecido como parasitemia fraca (em torno de 0,5% de eritrócitos infectados), tornando extremamente difícil a comprovação microscópica do parasitismo.

Um caso particular ocorreu com a *D. marsupialis* n° 7, que apresentou irregularidade nestes intervalos de parasitemia devido ao fato de ter sido o hospedeiro mais trabalhado, com sucessivos fatores de "stress" possivelmente afetando o próprio ciclo do hemoparasita.

A *D. marsupialis* n° 8, que ao ser capturada estava com cria, tendo sido negativa à presença de *Babesia* spp. em condições naturais, foi acompanhada em cativeiro e, durante todo o período, não mostrou-se parasitada, tendo criado em boas condições os filhotes até que estes abandonassem definitivamente o marsúpio adquirindo condições de vida independente dos cuidados maternos.

2. Pesquisa em portadores supostamente negativos

2.1. Através injeções de Dexametasona

Para este teste foram selecionados quatro *D. marsupialis*, dois jovens e dois adultos, sendo que um adulto (Nº 7), já comprovadamente parasitado por babesias, embora estivesse em fase microscopicamente negativa, serviu como testemunha para testar a ação do medicamento injetado.

Pelo Gráfico II é possível notar que tanto animais jovens como adultos, responderam ao "stress" provocado pela Dexametasona, traduzido pela elevação da temperatura.

O animal testemunha apresentou o aumento térmico mais pronunciado, já evidenciado após a primeira dose do medicamento; em torno do sexto dia, reapareceram as formas intraeritrocíticas do parasita, alcançando alta parasitemia no décimo dia.

O outro gambá adulto (Nº 2) revelou babesias no interior dos glóbulos vermelhos, entre o sexto e sétimo dia de injeções de Dexametasona, e o pique de parasitemia foi registrado no décimo dia. A morte ocorreu no vigésimo dia após o início das injeções. Contudo, o aumento da temperatura só ocorreu a partir do ter-

ceifo dia de tentativa de "stress".

Comparando as curvas de temperatura dos dois gambás jovens (N° 17 e 18), verifica-se uma correspondência no início da resposta térmica ao "stress", no declínio lento desta pirexia, no equilíbrio das temperaturas após a última dose injetada e no não aparecimento do hemoparasita.

Desta forma, demonstrou-se que hospedeiros clínica e microscopicamente negativos, podem estar infectados com *Babesia* spp.

2.2. Através da esplenectomia

Para este teste, três *D. marsupialis*, dois adultos e um jovem, foram utilizados, sendo que um adulto (N° 7) serviu como testemunha, por estar comprovadamente parasitado, embora estivesse em fase microscopicamente negativa.

Analisando-se o Gráfico III, verifica-se que a simples intervenção cirúrgica, já atuou como um fator de "stress", elevando a temperatura, em todos os animais. Assim, nestes três marsupiais, o aumento térmico foi registrado a partir do primeiro dia após a cirurgia.

O animal testemunha, após um ligeiro período de

lise na elevação da temperatura, aumentou a febre, em crise no quarto dia; este registro coincidiu com o reaparecimento das formas intraeritrocíticas do protozoário. No quinto dia ocorreu a mais alta parasitemia e a partir deste pique, a temperatura foi declinando ao mesmo tempo em que os parasitas no sangue foram desaparecendo lentamente.

A temperatura no quinto dia após a esplenectomia ($38,3^{\circ}\text{C}$), correspondeu ao maior pique febril observado dentre todos os marsupicis utilizados no experimento. Da mesma forma, o grau de parasitos nos glóbulos vermelhos, que ocorreu no quinto dia de esplenectomizados (aproximadamente 10% dos eritrócitos parasitados), foi também o maior índice observado em toda pesquisa.

O único jovem dos três animais esplenectomizados (N° 15), depois da curva de febre nos primeiros dias, voltou a dar um discreto aumento térmico em torno do décimo dia após o ato cirúrgico que foi atribuído ser consequente a retirada dos pontos da sutura.

Com uma severidade um pouco menor, a curva de temperatura do outro adulto (N° 6), foi semelhante ao do testemunha, inclusive com coincidência do número

de dias para o aparecimento das primeiras formas do hematozoário nos eletrócitos. A maior concentração do hemoparasita no sangue, em comparação com o testemunha ocorreu com um dia de atraso, Embora este animal esteja dentro do período de noventa dias de observações, pode-se notar que há uma tendência de comportamento semelhante ao gambá testemunha.

2.3. Através da inoculação de sangue de animais supostamente negativos

Neste teste, somente um *D. marsupialis* foi utilizado como doador (N ° 6). O sangue colhido deste animal, com anticoagulante, foi imediatamente injetado no receptor (N° 16) por via intraperitoneal.

As formas intraeritrocíticas foram evidenciadas a partir do décimo dia da inoculação do sangue, não tendo sido observado alta parasitemia durante o experimento. Entretanto, apenas por uma semana, apresentou moderada parasitemia.

A gambá doador, supostamente negativa, demonstrou estar infectada. Tendo sido esplenectomizada, revelou alta parasitemia, comprovando a presença de babesias neste hospedeiro.

Na fig. 19 é demonstrada a distribuição geográfi-

ca de *B. ernestoi* sp. n. em *D. marsupialis*, baseada na procedência dos animais utilizados no trabalho.

3. Transmissão experimental

3.1. Pela inoculação de sangue infectado

A inoculação de sangue infectado em *P. opossum quica*, *F. catus*, *C. familiaris*, *M. musculus* e em *D. marsupialis* revelou o desenvolvimento do hemoparasita apenas nas gambás.

Uma destas gambás (N° 18) era jovem e havia sido tratada com Dexametasona sem evidenciar o parasita nos eritrócitos. Quando infectada experimentalmente, não apresentou severa reação febril. As formas intra-eritrocíticas do parasita ocorreram no décimo dia após infecção e o pique máximo de parasitemia foi registrado dois dias depois, neste caso, foi benigna, cíclica e com intervalos parasitêmicos de dez a doze dias.

Neste teste, o outro hospedeiro era adulto (N° 10) e reagiu com um aumento súbito da temperatura a partir do terceiro dia. N° oitavo dia após a infecção experimental, puderam ser constatadas as formas intraglobulares do protozoário; no décimo primeiro dia verificou-se uma parasitemia alta, que persistiu até o

décimo quarto dia, quando ocorreu a morte do animal.

3.2. Pela inoculação de suspensão de baço infectado

A inoculação de suspensão de baço comprovadamente positivo para *B. ernestoi* sp. n., em dois *D. albiventris*, dois *F. catus*, um *C. familiaris* e quatro *M. musculus* resultou positiva apenas para as gambás.

Ambos os receptores que se infectaram, eram jovens e revelaram um aumento de temperatura rápido até o segundo dia após a inoculação. Em seguida houve um declínio, também rápido, desta pirexia, voltando a dar um pique febril menos intenso, no nono dia da inoculação.

O primeiro pique térmico foi atribuído à presença do material estranho na cavidade abdominal dos hospedeiros, que possivelmente provocou uma peritonite, aguda, não mortal.

A segunda elevação de temperatura, acreditou-se ser resultado da patogenicidade do parasita, salientando-se que formas intraeritrocíticas foram observadas a partir do décimo dia da inoculação da suspensão.

O comportamento similar destes hospedeiros experimentalmente infectados, inclusive no que tange ao não desenvolvimento de alta concentração das babesias

no sangue circulante, apresentou diferença apenas na intermitência da parasitemia. Em um destes animais (N° 12) o intervalo durou nove dias, enquanto no outro (N° 13) foi de doze dias; esta diferença foi relacionada com o fatos individual de resistência.

4. Pesquisa de formas tissulares

No Gráfico V observa-se que das dez *D. marsupialis* necropsiadas, o sangue e o baço apresentaram os maiores índices de positividade nos eritrócitos, com 90% e 40% respectivamente. No coração, testículo e ovário, não se verificou a presença do protozoário nos eritrócitos, nos diversos esfregaços examinados. Deve se ainda ressaltar que a parasitemia foi regra geral baixa nos esfregaços de sangue periférico.

nenhum dos hospedeiros necropsiados foi observado formas de esquizontes no sangue ou em órgãos internos, o que permitiu excluir o parasita do gênero *Theileria*.

Baseados nas dimensões deste hemoparasita, na ausência das formas em "cruz de malta" nos eritrócitos e pelo não desenvolvimento do parasita em *P. opossum quica*, pode-se diferencia-lo de *N. brasiliensis*, descrita por Regendanz & Kikuth (1928), e também estuda-

da por Garcia (1934), que o descreveu em *D. albiventris*, por Deane & Deane (1961) em *D. marsupialis* no Pará, e por Lopes, Massard, Faccini & Cunha em *P. opossum quica*.

5. Aspectos biológicos

Assim como Holbrook & Frerichs (1970), trabalhando com *B. mephitis* parasita de *M. mephitis* não conseguiram reproduzir a infecção em animais de laboratório e domésticos, no presente trabalho a transmissão experimental de *B. ernestoi* sp. n. só foi conseguida entre indivíduos do mesmo gênero.

Garcia (1934) no Brasil, ao transmitir experimentalmente *N. brasiliensis* de *D. albiventris* para *M. nudicaudatus* e *D. marsupialis*, obteve as primeiras formas intraglobulares do parasita com 5 a 6 dias, e a alta parasitemia (20 a 30% dos eritrócitos infectados entre 16 e 22 dias. Com *B. ernestoi* sp. n., em infecções experimentais, o aparecimento de formas intraglobulares ocorreu em torno do décimo dia e o pique parasitêmico foi registrado próximo ao décimo segundo dia; em nenhum caso a infecção chegou a 30% dos eritrócitos parasitados.

Tendo resultado negativas as subinoculações com

sangue de *D. marsupialis* parasitado com *B. ernestoi* em *F. catus*, *C. familiaris*, *P. opossum quica* e *M. musculus*, pode-se ao, editar ter este parasita especificidade aos marsupiais do gênero *Didelphis*.

Como ficou demonstrado por Massard, Massard, Lopes & serra Freire (1976), *B. canis* que parasitava *C. thous*, foi transmitida experimentalmente, por injeções de sangue infectado, à *C. familiares*.

Sucesso semelhante foi obtido na transmissão experimental de *B. herpailuri*, parasita do eritrócito de *F. yagouaroundi*, para *C. familiaris* e *F. catus* por Denning (1967) na Alemanha. *B. ernestoi* no entanto, não se desenvolveu intraeritrociticamente no sangue de alguns animais silvestres, domesticos ou de laboratório. Este fato permite acreditar no menor poder de adaptação deste parasita e sua maior especificidade à marsupiais do gênero *Didelphis*.

A pequena concentração de formas intraeritrocíticas no sangue circulante dos hospedeiros e o baixo percentual de mortalidade (11,1%) causada pela *Babesia* em todo o plantel estudado, apontam uma baixa virulência desta espécie.

A análise geral da tabela I mostra que nenhuma

das *D. marsupialis* e *D. albiventris* capturadas jovens estava naturalmente infectada por *B. ernestoi* sp. n. Nos testes em que foram submetidas a "stress" por Dexametasona, ou pela esplenectomia, não se observou o parasitismo e, quando infectadas experimentalmente, o quadro clínico-patológico não foi severo.

O fato de apenas animais adultos revelarem-se positivos (53,8%), com severidade nas infecções provocadas pelo "stress" com Dexametasona ou com a retirada do baço, inclusive com 15,1% de mortandade, deixa supor tuna atividade imunológica do timo nos animais jovens. Tal suposição se reforça ainda mais, pelo fato de se encontrar formas intraeritrocíticas de *B. ernestoi* nos diversos órgãos e sangue dos hospedeiros adultos, inclusive nos que não sofreram "stress", que foram necropsiados, conforme é evidenciado no Gráfico V.

Nesta linha de raciocínio, acredita-se que *B. ernestoi* é patogênica para adultos de *D. marsupialis* e *D. albiventris*. Animais recuperados desta babesiose, mantiveram um certo grau de imunidade contra novas infecções, mas recaídas ocorreram quando os hospedeiros foram submetidos a "stress".

6. Caracterização de *B. ernestoi* sp. n.

Pelos resultados apresentados e, de conformidade com os aspectos biológicos já discutidos, caracterizou-se este hemoparasita como sendo uma nova espécie de *Babesia*, a qual propôs-se o nome de *B. ernestoi*.

Os caracteres mais marcantes são:

- a. as dimensões apresentadas, possibilitando a sua inclusão no grupo das grandes babesias. Na literatura não foi encontrado citações sobre a ocorrência de grandes babesias parasitando *D. marsupialis* e *D. albiventris*.
- b. a especificidade do parasita ao gênero *Didelphis*, demonstrada nas tentativas de transmissão experimental.
- c. parasitemia baixa, sempre inferior a 20% dos eritrócitos infectados, nos esfregaços sanguíneos examinados.
- d. as formas apresentadas durante o desenvolvimento do parasita foram observadas em um mesmo hospedeiro durante dias sucessivos. Salienta-se a pouca frequência de formas piriformes, observadas sempre isoladas nos eritrócitos ou livres no plasma.

7. Diagnose diferencial

B. ernestoi sp. n., incluída no grupo das grandes babesias por ser maior que o raio do eritrócito e não formar "cruz de malta", diferencia-se de *B. canis* por não formar "rosácea"; de *B. herpailuri* por não desenvolver em *C. familiaris* e *F. catus*; de *B. rodhaini* por não desenvolver em *M. musculus*, e de *B. caballi*, *B. bigemina* (Smith & Kilborne, 1893), *B. motasi* Wenyon, 1926 e *B. trautmanni* (Knuth & Du Toit, 1918) pela baixa concentração de formas piriformes, tendo observado apenas um corpo em cada eritrócito, baixa parasitemia e especificidade por marsupiais do gênero *Didelphis*.

VI - CONCLUSÕES

Com base nos resultados discutidos à luz da literatura sobre hemoparasitas de marsupiais e de outros animais silvestres, pode-se concluir que:

1. *Babesia ernestoi* é uma espécie nova de Piroplasmorida: Babesiidae, patogênica para *D. marsupialis* e *D. albiventris*.
2. *B. ernestoi* pertence ao grupo das grandes babesias, é de parasitemia baixa e intermitente, e com poucas formas piriformes.
3. É um hemoparasita que pode causar a morte dos hospedeiros mas, quando se recuperam, desenvolvem imunidade contra novas infecções.
4. Hospedeiros jovens são mais resistentes à reinfecções, mesmo quando submetidos a "stress" ou infectados experimentalmente.

- 5- Hospedeiros adultos são mais susceptíveis à reinfecções, especialmente se submetidos a "stress" ou infectados experimentalmente, podendo levar à morte.
6. O cativo, a intervenção cirúrgica da esplenectomia e o transporte dos animais em gaiolas abertas, por longos trajetos, são fatores de maior ou menor "stress".
7. A esplenectomia é o melhor método de exacerbação da patogenicidade de *B. ernestoi* em *D. marsupialis* e *D. albiventris*.
8. É possível a transmissão da babesia através de injeções de sangue ou suspensão de baço, infectados, entre hospedeiros do mesmo gênero.
9. O parasita pode ser observado intraeritrociticamente em diversos órgãos, principalmente baço, medula óssea e fígado.
10. *B. ernestoi* é encontrada em condições naturais, em marsupiais nos Estados do Pará, Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil.
11. São necessários estudos adicionais para o conhecimento das formas de reprodução e vetor de *B. ernestoi*.

VII - RESUMO

Em *Didelphis marsupialis* e *D. albiventris* procedentes dos Estados do Pará, Rio de Janeiro e de São Paulo, mantidas em cativeiro, com gaiolas teladas, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Observou-se a presença de um hematozoário Babesiidae.

O parasita, encontrado em esfregaços sanguíneos impressão de órgãos, os corados pelo método de Giemsa, foi estudado morfológica e biologicamente. A transmissão experimental foi conseguida somente entre indivíduos do mesmo gênero e exacerbada sua virulência através do "stress" dos hospedeiros, com dexametas ou pela esplenectomia. Foram verificados os índices de parasitemia e sua presença intra-eritrocítica em diversos órgãos internos dos animais necropsiados: concluiu-se tratar de uma nova espécie de Piroplasmorisa: Babesiidae, incluída no grupo das grandes babesias,

patogênica somente para *D. marsupialis* e *D. albiventris*, para a qual foi proposto o nome *Babesia ernestoi*, em memória de Ernesto Pará-Assú da Serra Freire.

VIII - SUMMARY

In *Didelphis marsupialis* and *D. albiventris* from the States of Pará, Rio de Janeiro and São Paulo - Brasil, which had been reared in captivity at the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, harboured a natural infection of a hematozoan Babesiidae.

The parasite, seen in blood films and impression smears of organs, stained with Giemsa, was studied morphologically and biologically by experimental transmission, to only animals the same genus. Additional observations were conducted on several wild-caught marsupials, some which were treated with Dexametasona (a cortisone preparation) while other, were splenectomized. Parasitic relapses followed as evidenced by the appearance of intraerythrocytic parasites. The infection could also readily be demonstrated in the brain and visceral organs of these animals at autopsy.

The organism was also found in blood and tissue smears prepared from entire untreated animals.

Since the scrutiny of the literature failed to reveal the presence of a similar parasite in member of the order Marsupialis, it is considered that this a new *Babesia* spp. for which the name *Babesia ernestoi* is proposed in memorian to Ernesto Pará-Assú da Serra Freire.

IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CABRERA, A., 1958. Catalogo de los mamíferos de America del sur. *Rev. Mus. Argent. Cienc. nat., Cienc. Zool.*, 4 (1): XVI+307.
- CARINI, A. & MACIEL, J., 1914. Sobre a molestia dos cães chamada nambiuvu, e o seu parasita (*Rangelia vitalii*). *An. Paul. Med. Cir.*, 3(2):1-7.
- DEANE, L. M. & DEANE, M. P. 1961. Sobre dois hemocitozoários encontrados em mamíferos silvestres da Região Amazônica. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 3(3):107-110.
- DENNIG, H. K., 1967. Untersuchungen zu einer neuen Babesi-enart der Feliden. Kongressbericht über die III. *Tagung der Deuntchen Tropen Med. Gesellschaft e U.* Hamburg, 79-85.
- D'UTRA E SILVA, O. & ARANTES, J. B., 1916. Sobre uma hemo-

- gregarima do gambá. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 8:61-63.
- EWER, R. F., 1973. *The carnivores*. XV+494 pp. Weidenfeld & Nicolson, London.
- GARCIA, M. R., 1934. Un piroplasma del tipo "*Nuttallia equi*" parasito de "*Didelphis paraquayensis*" en Colombia. *Rev. Med. Vet. Bogotá*, 14(89):70-79.
- HOLBROOK, A. A. & FRERICHS, W. M., 1970. *Babesia mephitis* sp. n. (Protozoan: Piroplasmida), a hematozoan parasite of the striped skunk, *Mephitis mephitis*. *J. Parasit.*, 56(5):930-931.
- LEVINE. N. D., 1971. Taxonomy of the Piroplasms. *Trans. Amer. Micros. Soc.*, 90 (1): 2-23.
- LOPES, C. W. G., MASSARD, C. L., FACCINI, J.L. & CUNHA, D. W., 1973. *Nuttallia brasiliensis* Regendanz & Kikuth, 1928: Morfologia das formas eritrocitárias em *Philander opossum quica* Temminck (Piroplasmorida: Babesiidae). *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de Janeiro*, 3(2):79-82.
- MASSARD, C. de A. MASSARD, C. L., LOPES, C. W. G. & SER-RA FREIRE, N. M. da, 1976. Ocorrência de *Babesia canis* (Piana & Galli-Valerio, 1895) (Piroplasmorida: Babesiidae) em *Cercopithecus Thous* (L. 1758) no Brasil e sua trans-

- missão experimental para o cão domestico (*Canis familiaris* L.). *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de Janeiro*, No prelo.
- NEITZ, W. O., 1957. Theileriosis, Gonderiosis and Cytauxzoonoses. A review. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 27(3):412-430.
- PESTANA. B. R., 1910. O nambyuvu. *Rev. Med. S. Paulo*, (22):423.
- REGENDANZ, P. & KIKUTH, W., 1928. Sur les hémogregarines du "gamba" (*Haemogregarina didelphidis*), de la "quica" (*Haemogregarina metachiri* n. sp.) et sur l'*Haemogregarina ratti*. *C. R. Soc. Biol.*, 98:1565-1567.
- REGENDANZ P. & KIKUTH W. 1928. Sur un parasite du sang des "quica" (*Metachirus quica*) *Muttallia brasiliensis* n. sp. et influence de la rate sur les infections latentes du sang. *C. R. Soc. Biol.*, 98:1567-1569.
- REICHENOW, E., 1953. *Lehrbuch der Protozoenkunde*. III + 1213 pp. Gustav Fisher, Jena.

TABELA 1 : OCORRÊNCIA NATURAL E PROVOCADA, DOS CASOS DE *B. ernstoi*, em *D. marsupialis* e *D. albiventris* NO BRASIL.

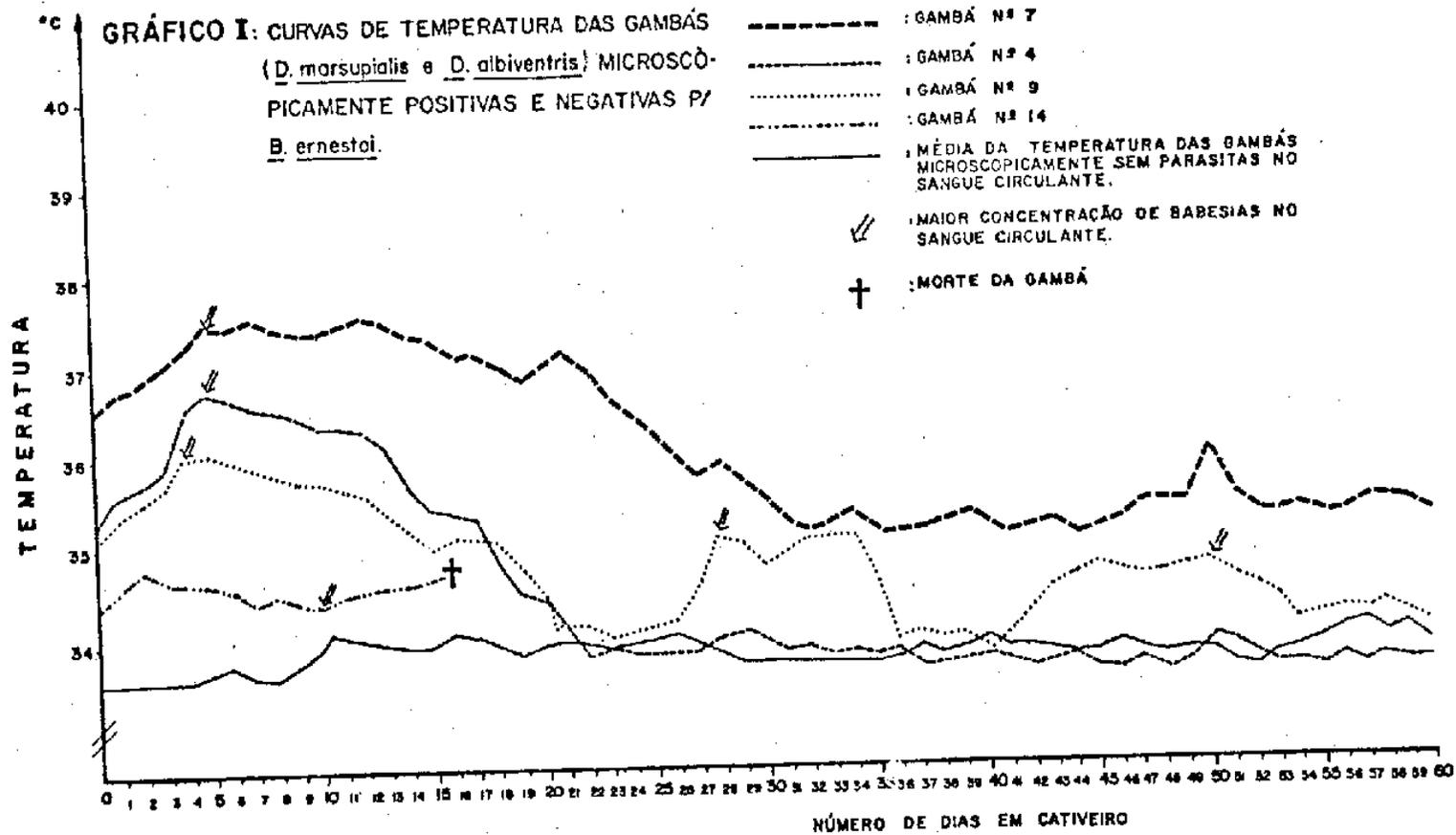
Nº Hosp.	HOSPEDEIRO Espécie	SEXO	PROCEDÊNCIA	Idade no serem intra-útero no criatório	Permanência em criatório (meses)	Infecção natural	Fator de "stress" e material infectante	Parasitemia provocada	Intensidade microscópica (níveis)	Duração da parasitemia e observações.
1	<i>D. marsupialis</i>	F	Caraguatubá-SP	ADULTA	7	+	0	0	8 a 9	+ por 2 meses
2	"	M	Jacarepagua-RJ	"	13	-	Dexametasona	+	"	+ por 14 dias
3	"	F	Caraguatubá-SP	"	7	+	0	0	7 a 9	+ por 2 meses
4	"	M	Itaguaí-RJ	"	14	+	0	0	8 a 10	+ por 4 meses
5	"	F	Belém-PA	"	2(dias)	-	"	"	"	"
6	"	M	Itaguaí-RJ	"	5	-	esplenectomia	+++	-	continua + a 1 mes
7	"	F	Itaguaí-RJ	"	5	+	Dexametasona, esplenectomia	+++	irregular	continua + a 5 meses em observação durante a prenhez, não encontrado a babesia
8	"	F	Itaguaí-RJ	"	3	-	-	-	-	continua + a 3 meses
9	"	F	Niterói-RJ	"	3	+	0	0	-	continua + a 3 meses
10	"	F	Niterói-RJ	"	3	-	sangue infectado	⊕	"	+ por 6 dias
11	"	M	Itaguaí-RJ	"	2	+	0	0	-	+ por 1 mes
12	<i>D. albiventris</i>	M	Jacarepagua-RJ	JOVEM	2	-	macerado de baço	++	9	+ continua positiva a 20 dias
13	"	M	Jacarepagua-RJ	"	2	-	macerado de baço	++	12	+ continua positiva a 20 dias
14	<i>D. marsupialis</i>	M	Belém-PA	ADULTA	15(dias)	+	"	"	"	+ por 15 dias
15	"	F	Itaguaí-RJ	JOVEM	8	-	esplenectomia	-	-	-
16	"	M	Itaguaí-RJ	ADULTA	8	-	sangue de gambá supostamente neg.	+	-	-
17	"	F	Itaguaí-RJ	JOVEM	9	-	Dexametasona	-	-	-
18	"	F	Jacarepagua-RJ	"	9	-	Dexametasona sangue infectado	+	10-12	+ por 3 meses

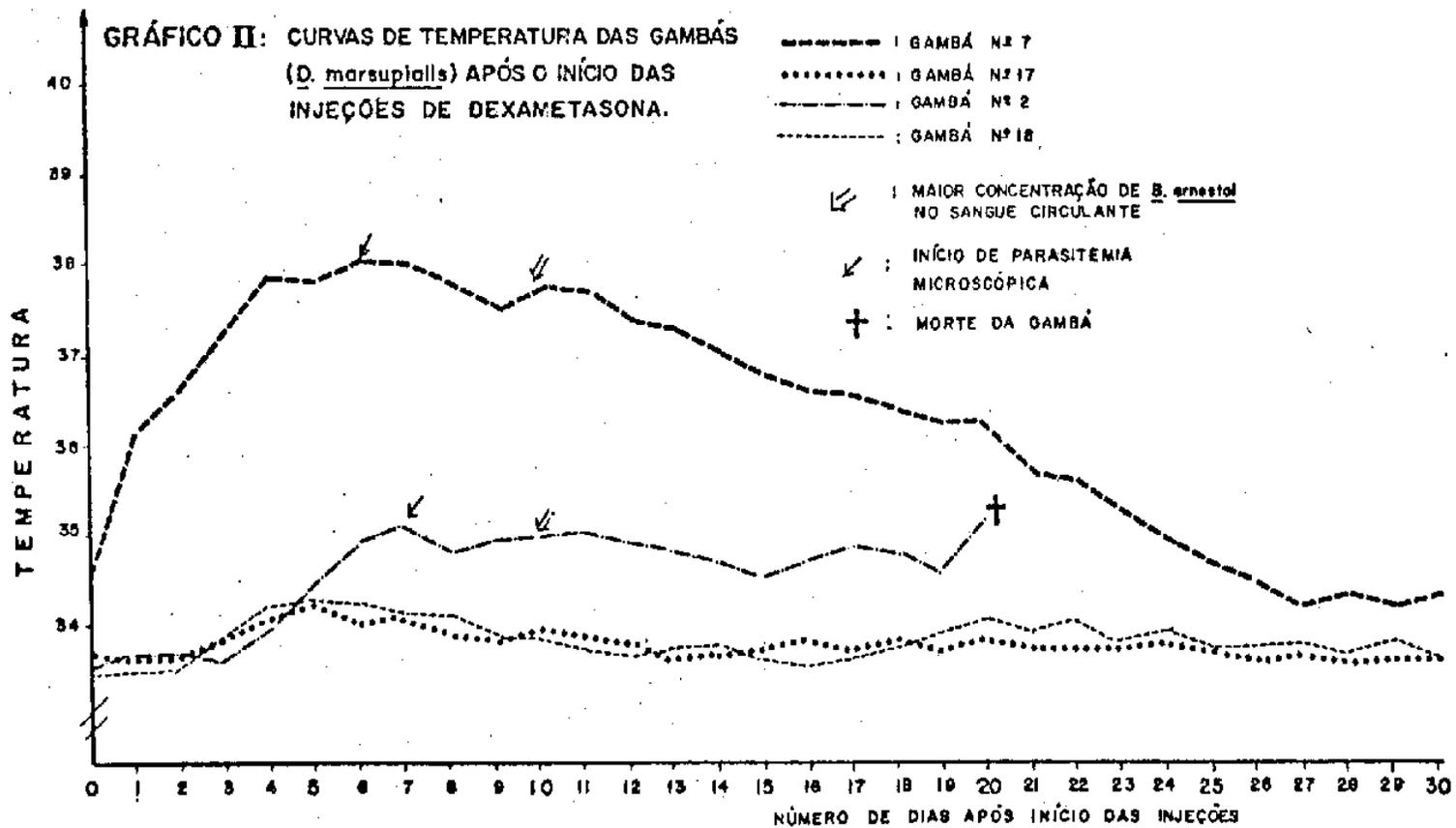
LEGENDA: + Parasitemia + baixa
 ++ moderada
 +++ alta
 ⊕ Resultado negativo
 ⊖ morte por babesiose
 0 item não realizado
 - Dado não coletado, conseqüente a morte do hospedeiro

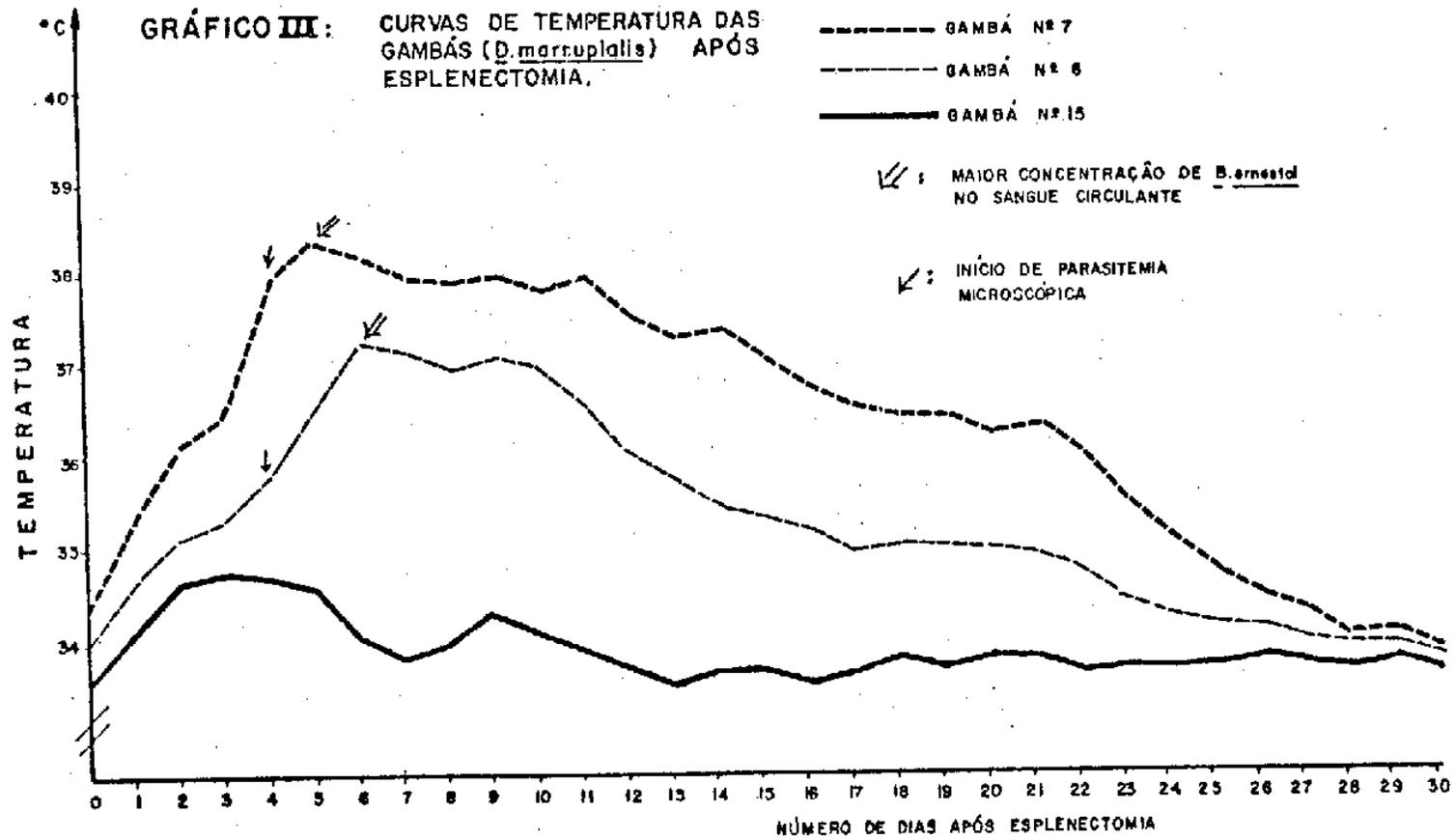
TABELA II: ATUALIZAÇÃO DAS ESPÉCIES DE MARSUPIAIS E CARNÍVOROS CITADOS PELOS DIFERENTES AUTORES RELACIONADOS NA REVISÃO DE LITERATURA*

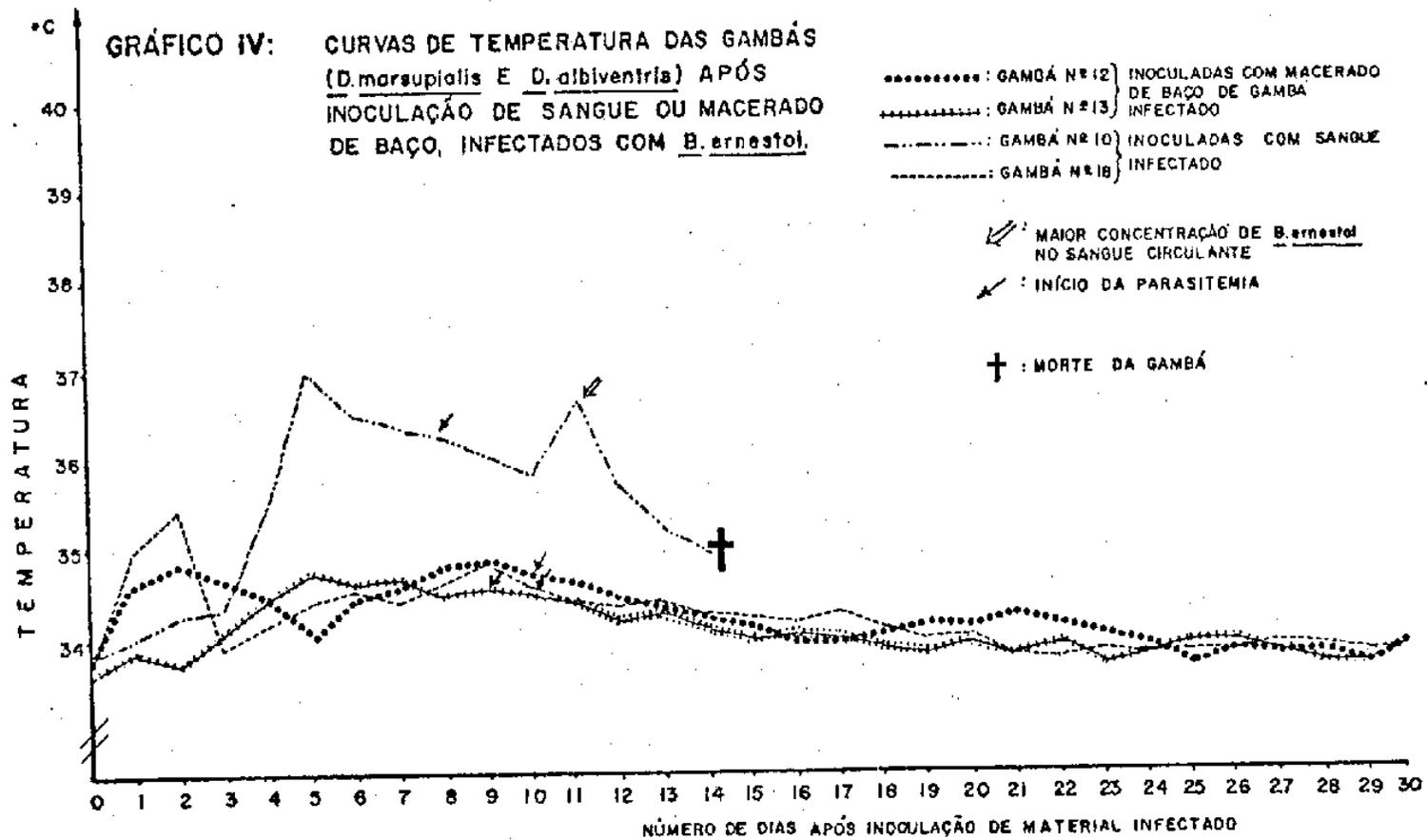
Nº DE ORDEM	NOMENCLATURA CIENTÍFICA CITADA NO TRABALHO	AUTOR E ANO DO TRABALHO	NOMENCLATURA CIENTÍFICA ATUALIZADA	NOME VULGAR
<u>MARSUPIAIS</u>				
01	<u>Didelphis didelphis aurita</u>	Regenzanz & Kitch, 1928	<u>Didelphis marsupialis</u> Linnaeus, 1758	Gambá
02	<u>Melachinus quica</u>	Regenzanz & Kitch, 1928	<u>Phalanger obossum quica</u> (Temminck, 1825)	Quica
03	<u>Melachinus mdicaudatus</u>	García, 1934	<u>Melachinus mdicaudatus</u> (Geoffrey, 1803)	Quica
04	<u>Didelphis paraguayensis</u>	García, 1934	<u>Didelphis albiventris</u> Lund, 1841	Gambá
05	<u>Didelphis marsupialis</u>	Deane & Deane, 1961	<u>Didelphis marsupialis</u> Linnaeus, 1758	Gambá
<u>CARNÍVOROS</u>				
06	<u>Felis yagouaroundi Desmarest</u>	Dennig, 1967	<u>Felis yagouaroundi cyn</u> Fischer, 1814	Gato marisco
07	<u>Mephitis mephitis</u>	Holbrook & Frerichs, 1970	<u>Mephitis mephitis</u> Linnaeus, 1758	Cangambá

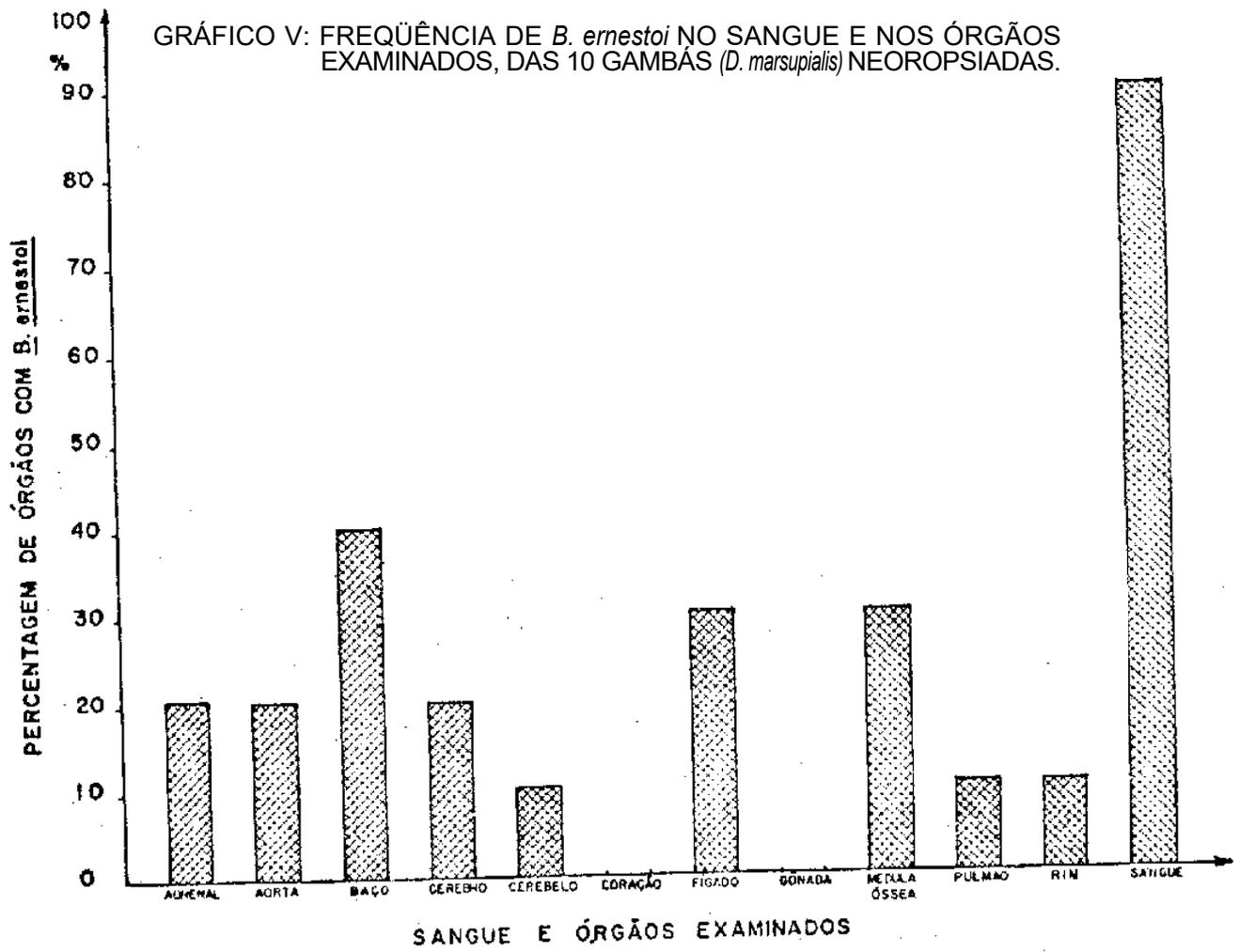
* De acordo com CABRERA (1958) e com EWER (1973)

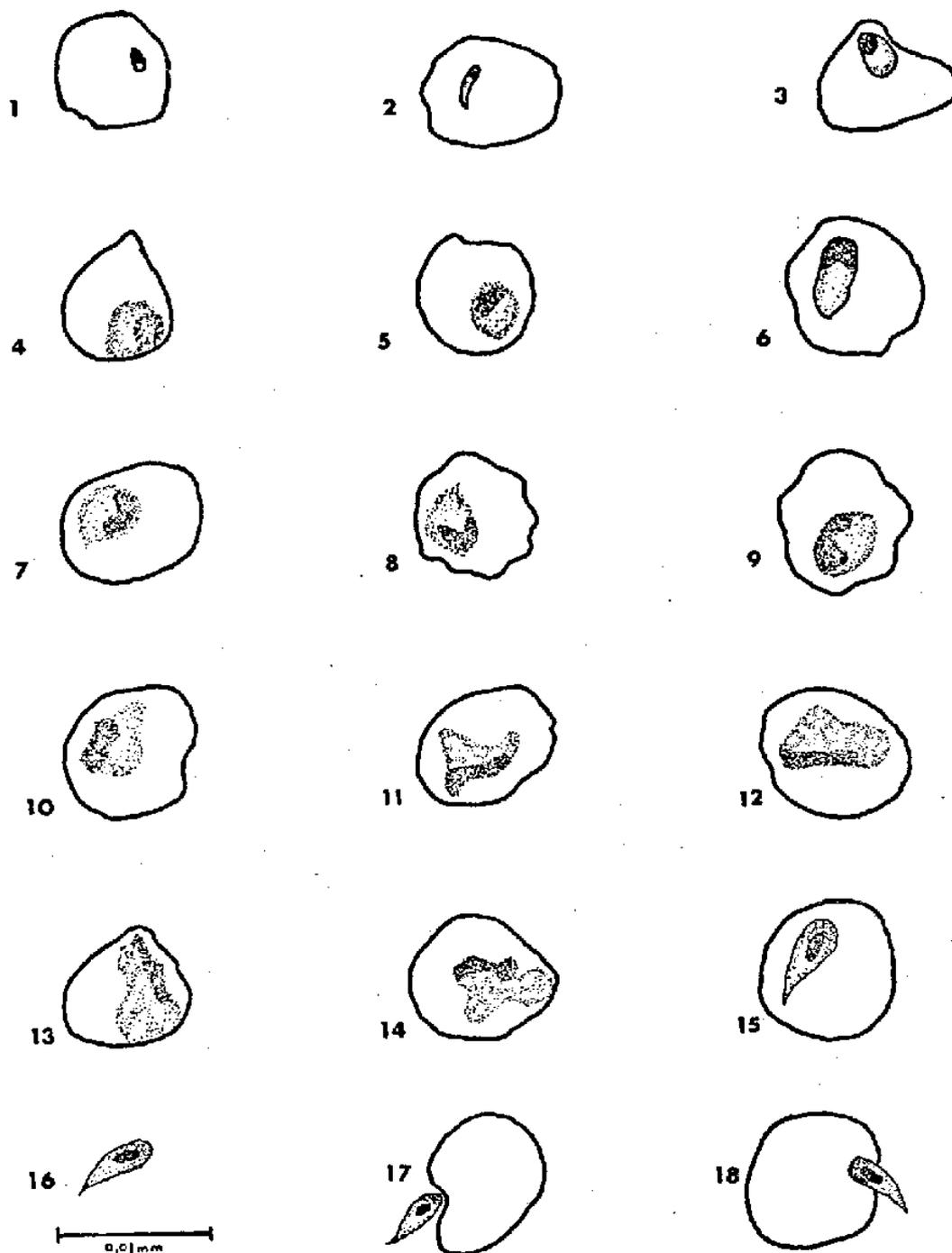












PRANCHA I: Aspectos morfológicos de *B. ernestoi* sp. n.

fig. 1. anaplasmoide; fig. 2. em vírgula; fig. 3. em anel; figs. 6 a 9. transição; figs. 10 a 14. ameboide; fig. 15. piriforme; fig. 16. livre; figs. 17 e 18. em invasão.

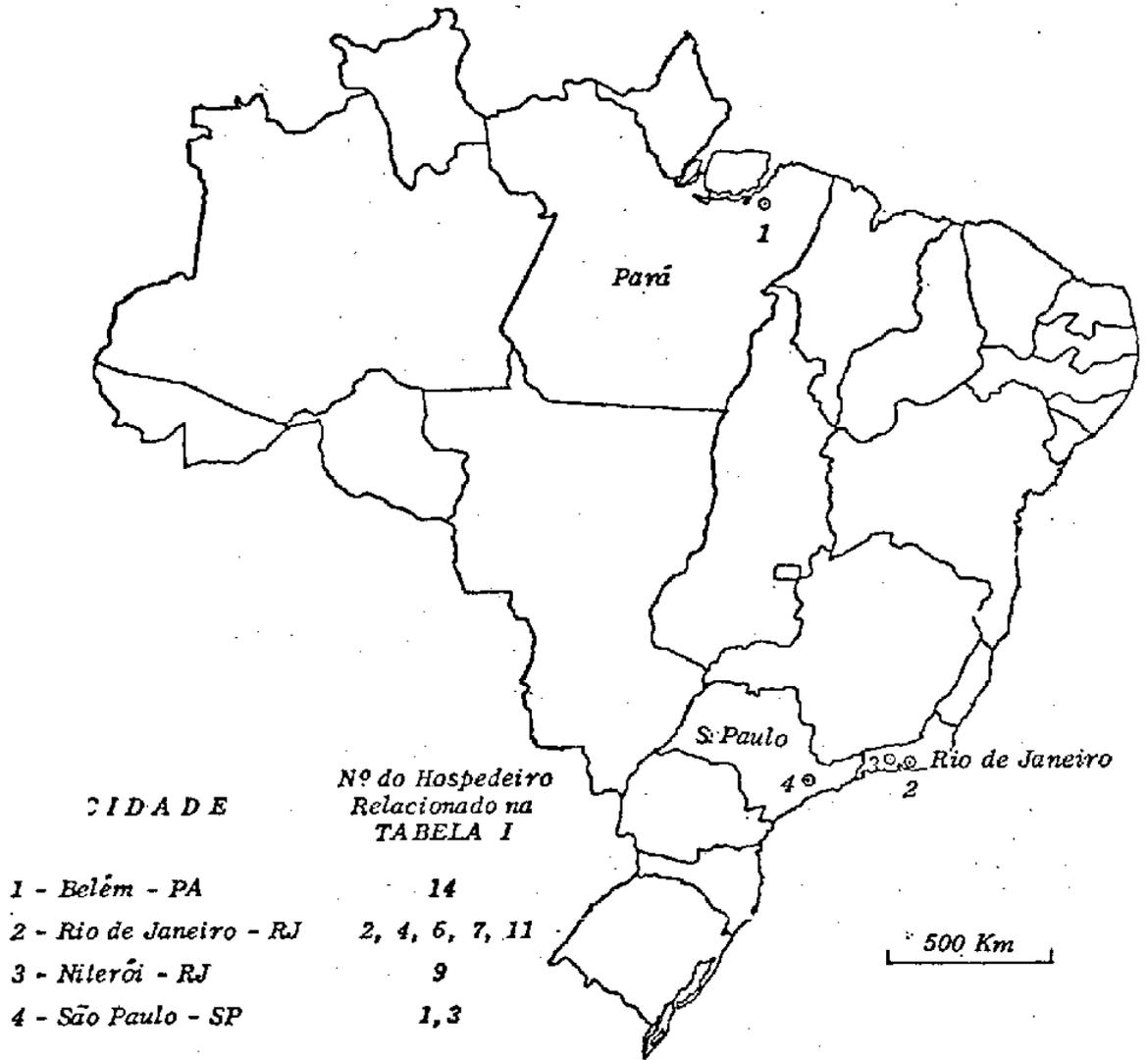


Fig. 19 : Distribuição Geográfica dos Registros de
Babesia ernestoi sp. n., parasita
 de *D. marsupialis* e *D. albiventris*
 no Brasil