

DESENVOLVIMENTO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *LEISHMANIA* EM ESPÉCIES BRASILEIRAS DE FLEBÓTOMOS DO GÊNERO *LUTZOMYIA* FRANÇA, 1924

II — Ciclo vital de *L. tropica* em *L. longipalpis* e *L. renei*

Marcello de Vasconcellos COELHO, Alberto Rocha FALCÃO e Alda Lima FALCÃO

RESUMO

Exemplares de duas espécies brasileiras de flebótomos — *L. longipalpis* e *L. renei* — induzidos a sugar lesões de hamsters infetados por duas amostras de *L. tropica*, oriundas de Israel, demonstraram ser suscetíveis ao protozoário, infectando-se em cerca de 80% dos casos.

As infecções por *L. tropica*, tanto em *L. longipalpis* quanto em *L. renei*, se restringiram ao estômago e ao intestino posterior do inseto, embora a multiplicação dos flagelados se mantivesse após a digestão do sangue, indicando certo grau de adaptação hospedeiro-parasita. Chama-se a atenção para a possibilidade de introdução de *L. tropica* no continente, em consequência da comprovação da existência de transmissores potenciais do parasita.

INTRODUÇÃO

Em trabalho anterior (COELHO⁷) foi assinalada a infecção experimental de *Lutzomyia longipalpis* e *L. renei* por *L. tropica*. O estudo do desenvolvimento de leishmânias nas várias espécies de flebótomos assume grande importância, como base para os estudos epidemiológicos, sobretudo considerando-se a necessidade de maior número de informações sobre a especificidade e sobre vários outros aspectos do equilíbrio hospedeiro-parasita entre o flagelado e o inseto transmissor. Tais estudos, que devem abranger espécies de distintas regiões zoogeográficas, possibilitarão o reconhecimento de vetores potenciais das leishmanioses e de suas relações com as diferentes espécies do gênero *Leishmania*.

No presente trabalho são apresentados os resultados de observações realizadas em *L. longipalpis* e *L. renei*, quando experimental-

mente infetados por duas amostras de *L. tropica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Leishmania — Foram utilizadas duas amostras de *L. tropica*, ambas isoladas em Israel, e gentilmente cedidas pelo Prof. SAUL ADLER — amostras n.º 11 e n.º 13, respectivamente nomeadas no Departamento de Parasitologia da Universidade Hebraica de Jerusalém, como "*L. tropica* Ein Geddi 2" e "*L. tropica* Zamira Salah". Foram recebidas em nosso laboratório em 24/10/1961 e 22/4/1962.

Flebótomos — Foram utilizados apenas exemplares de *L. longipalpis* (LUTZ & NEIVA, 1912) e de *L. renei* (MARTINS & col., 1957), coletados na gruta da Lapinha, Município de Lagoa Santa, Minas Gerais.

As diversas técnicas, bem como o material utilizado na captura, infecção e exame dos flebótomos foram descritos no primeiro trabalho desta série (COELHO & col.⁸).

RESULTADOS

A) Características do desenvolvimento

Observações mais detalhadas foram realizadas com a amostra n.º 11, cujos resultados estão sumariados nas Tabelas I e II. As

infecções por *L. tropica* em *L. longipalpis* apresentavam características particulares, especialmente o fato de ficarem restritas ao estômago (onde o sangue em digestão tinha aspecto pastoso), e, em alguns exemplares ao intestino posterior (Tabela III). As leptomonas, embora quase sempre numerosas, eram observadas a partir do 2.º dia e se localizavam livres na luz do tubo digestivo, onde permaneciam disseminadas pelo alimento em digestão, sem se ligar ao epitélio.

TABELA I
Evolução de *L. tropica*, amostra n.º 11, em *L. longipalpis*

Dias após repasto infetante	Exemplares examinados	Infetados		RESULTADOS
		Nº	%	
2 — 3	39	31	79,5	Em todos os exemplares observou-se intensa proliferação de leptomonas no conteúdo estomacal, com numerosas figuras em roseta. Sangue parcialmente digerido, com consistência pastosa.
4 — 5	66	30	45,5	Infecção restrita ao estômago e parte posterior da cárdia. Parasitismo pouco intenso, algumas vezes notando-se apenas cerca de uma dezena de leptomonas. Em 2 exemplares, infecção simultânea do intestino posterior e estômago.
6 — 10	35	14	40,0	Infecção intensa da porção posterior da cárdia e do estômago em todos os exemplares com flagelados muito móveis. Em dois, infecção simultânea do intestino posterior. Ausência de flagelados no proventrículo, faringe e cavidade bucal.

TABELA II
Evolução de *L. tropica*, amostra n.º 11, em *L. renei*

Dias após repasto infetante	Exemplares examinados	Infetados		RESULTADOS
		Nº	%	
2 — 3	6	5	83,3	Em todos os exemplares intensa proliferação de leptomonas muito ativas no conteúdo estomacal.
4 — 5	76	61	80,3	Infecção localizada no estômago e parte posterior da cárdia. Parasitismo menos intenso que nos primeiros dias. Em dois, infecção simultânea do intestino posterior.
6 — 8	5	2	40,0	Infecção intensa e simultânea do estômago e do intestino posterior.

Em *L. renei*, os aspectos do desenvolvimento de *L. tropica*, n.º 11, eram muito semelhantes aos descritos em *L. longipalpis*. É de se notar que em dois exemplares observados com 6 e 8 dias, notava-se grande proliferação de leptomonas, sendo a infecção, apesar de intensa, restrita ao estômago e intestino posterior.

Com a amostra n.º 13 de *L. tropica*, foram realizadas apenas 5 observações em *L. longipalpis*, dissecando-se os insetos 6 dias após o repasto infetante. Dêstes, quatro apresentavam grande número de leptomonas muito móveis localizadas apenas no estômago, apesar de finda a digestão do sangue no órgão, encontrando-se apenas restos alimentares no intestino posterior.

B) Morfologia das leptomonas

As leptomonas de *L. tropica*, em desenvolvimento em *L. longipalpis* e *L. renei*, apresentavam-se com grande predominância de formas fusiformes curtas ($\pm 8 \mu$ de comprimento por 3μ de largura), com flagelos aproximadamente do comprimento do corpo (Tabela IV e Fig. 1). As formas em divisão, predominantemente globosas e com flagelo curto, menor que o corpo, eram mais freqüentes nos três primeiros dias de evolução no inseto.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Como pode ser observado nas Tabelas I, II e III, grande proporção de exemplares de *L. longipalpis* e *L. renei* se infetou, após haver sugado hamsters parasitados com duas amostras de *L. tropica*, oriundas de Israel. Os índices de infecção em ambas as espécies foram elevados, comparáveis àqueles obtidos por ADLER & THEODOR^{3, 4, 5} e por ADLER¹, em *Phlebotomus papatasi* e *P. sergenti*, espécies transmissoras de *L. tropica* no Oriente Médio; são ainda semelhantes aos obtidos por PARROT & DONATIEN¹¹, em experiências realizadas na Argélia, ainda com *P. papatasi*. Nas observações citadas o sentido do desenvolvimento da infecção no flebótomo era nitidamente de progressão anterior, com invasão da cárdia, da válvula esofagiana e da cavidade bucal e, em algumas ocasiões,

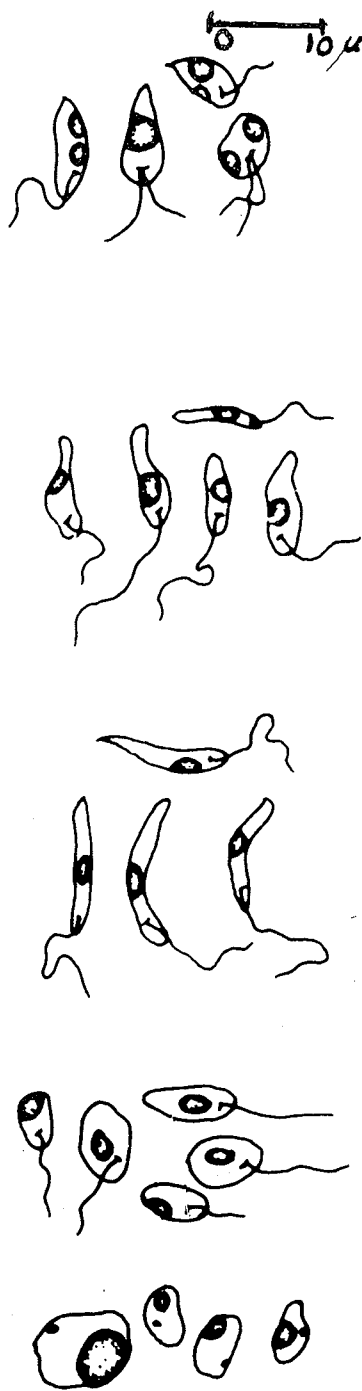


Fig. 1 — Desenho em câmara clara de formas evolutivas de *L. tropica* em *L. longipalpis*

da probóscida. Apenas nas infecções mais intensas e em raros exemplares era observada, paralelamente às localizações citadas, a invasão do intestino posterior. Em nossas observações com *L. longipalpis* e *L. renei*, as leptomonas se localizavam no estômago, mesmo quando numerosas e após vários dias de evolução, invadindo ainda o intestino posterior e a ampola retal (Tabelas I, II e III). As formas em divisão, abundantes nos três primeiros dias, se tornavam menos numerosas nos dias seguintes, após o término da digestão ao nível do estômago e conseqüente reabsorção da membrana peritrófica (Ta-

bela IV). Por outro lado, a persistência de formas em divisão durante todo o período de observação, até 10 dias, ao lado da existência de intensa proliferação de flagelados sugerem certo grau de adaptação de protozoário ao hospedeiro invertebrado. De acôrdo com a opinião de ADLER & THEODOR⁶, tal tipo de desenvolvimento de leishmânias em flebótomos, como o por nós observado em *L. longipalpis* e *L. renei*, infetados por *L. tropica*, seria segura indicação da impossibilidade de transmissão dessa leishmaniose pelas espécies em causa. As recentes observações de JOHNSON & col.¹⁰ e de HERTIG &

TABELA III

Percentuais de infecção dos diferentes segmentos do tubo digestivo de *L. longipalpis* infetados por *L. tropica*, amostra nº 11. Variações no curso da infecção

Dias após repasto infetante	Nº de flebótomos	Localização da infecção (%)			
		Faringe	Porção posterior da cárdia	Estômago	Intestino posterior
2 — 3	31	0,0	0,0	100	0,0
4 — 5	30	0,0	6,3	100	6,4
6 — 10	14	0,0	0,0	100	14,3

TABELA IV

Percentuais de freqüência de formas de *L. tropica*, amostra nº 11, observadas no tubo digestivo de *L. longipalpis*. Variações no curso da infecção. Contagem de 100 formas por exemplar

Dias após repasto infetante	Nº de flebótomos	Formas de leptomonas (%)				
		Divisão	Fusifformes		Globosas	
			Curtas	Longas	Flageladas	Aflageladas
2 — 3	14	15,0	62,3	0,0	20,3	2,4
4 — 5	17	6,8	84,5	2,2	5,8	0,7
6 — 10	3	5,7	79,3	11,3	3,7	3,0

McCONNELL⁹, em flebotomos natural e experimentalmente infetados por *L. braziliensis* sp, em focos endêmicos de leishmaniose tegumentar, no Panamá, como bem assinalou ADLER², levantam uma série de interrogações sobre vários conceitos relativos à transmissão das leishmanioses. De fato, torna-se difícil explicar o significado da grande proporção de flebotomos, de várias espécies, encontrados naturalmente infetados em focos de leishmaniose, com infecção restrita ao intestino posterior; da reprodução das mesmas localizações de leptomonas em flebotomos experimentalmente infetados, sobretudo quando as inoculações dessas leptomonas em hamster reproduziram lesões semelhantes às formas cutâneas locais de leishmaniose. Parece-nos que, enquanto não se obtiverem maiores conhecimentos sobre o mecanismo de transmissão das várias formas tegumentares de leishmaniose do Novo Mundo, não devem ser minimizados os resultados de infecção em flebotomos, mesmo naqueles com evolução de sentido posterior. A fácil adaptação de *L. tropica* em duas espécies de flebotomos do gênero *Lutzomyia* indica, sem dúvida, a possibilidade de introdução da leishmaniose oriental no continente, uma vez que fica demonstrada a existência de vectores potenciais do protozoário.

SUMMARY

Behaviour of Leishmania species in Brazilian sandflies (Lutzomyia França, 1924). II — Life-cycle of L. tropica in L. longipalpis and L. renei

Specimens from two Brazilian sandfly species — *L. longipalpis* and *L. renei* — induced to feed on lesions of hamsters infected with two *L. tropica* strains from Israel, proved to be susceptible to the protozoan, infection being achieved in about 80 per cent of the instances.

Infections with *L. tropica*, both in *L. longipalpis* and *L. renei*, were generally restricted to the insect's midgut and hindgut, although the number of flagellates kept on increasing after blood digestion, thus indicating a certain degree of host-parasite adaptation. Attention is drawn to the possibility of

L. tropica being introduced into the continent, since the existence of potential vectors of the parasite has been demonstrated.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADLER, S. — *Leishmania tropica* and sandflies. *Compt. Rend. Congrès Internat. Méd. Trop. Hyg.* (Le Caire) 4:1115-1124, 1932.
2. ADLER, S. — *Leishmania*. *Advances Parasit.* 2:35-96, 1964.
3. ADLER, S. & THEODOR, O. — The experimental transmission of cutaneous leishmaniasis to man from *Phlebotomus papatasi*. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 19:365-371, 1925.
4. ADLER, S. & THEODOR, O. — Further observations on the transmission of cutaneous leishmaniasis to man from *Phlebotomus papatasi*. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 20:175-194, 1926.
5. ADLER, S. & THEODOR, O. — Infection of *Phlebotomus sergenti* with *Leishmania tropica*. *Nature* (London) 122:278, 1928.
6. ADLER, S. & THEODOR, O. — Transmission of disease agents by phlebotomine sandflies. *Ann. Rev. Entom.* 2:203-226, 1957.
7. COELHO, M. V. — Pesquisas recentes sobre a transmissão da leishmaniose tegumentar americana. *Rev. Brasil. Malariol. & Doenças Trop.* 16:13-18, 1964.
8. COELHO, M. V.; FALCÃO, A. R. & FALCÃO, A. L. — Desenvolvimento de espécies do gênero *Leishmania* em espécies brasileiras de flebotomos do gênero *Lutzomyia* França, 1924. I — Evolução de *L. braziliensis* em flebotomos. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:177-191, 1967.
9. HERTIG, M. & McCONNELL, E. — Experimental infection of Panamanian *Phlebotomus* sandflies with *Leishmania*. *Exp. Parasit.* 14:92-106, 1963.
10. JOHNSON, P. T.; McCONNELL, E. & HERTIG, M. — Natural infections of leptomonas flagellates in Panamanian *Phlebotomus* sandflies. *Exp. Parasit.* 14:107-122, 1963.
11. PARROT, L. & DONATIEN, A. — Le parasite du bouton d'orient chez le phlébotome. Infection naturelle et infection expérimentale de *Phlebotomus papatasi* (Scop.). *Arch. Inst. Pasteur Algerie* 5:9-21, 1927.