

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

### III — Ciclo vital de *L. mexicana* em *L. longipalpis* e *L. renei*

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

#### RESUMO

Exemplares de *L. longipalpis* e *L. renei* mostraram-se altamente suscetíveis à infecção por uma amostra de *L. mexicana*, isolada em Honduras Britânica. As infecções, em ambas as espécies, foram caracteristicamente intensas, com grande número de leptomonas localizadas nos segmentos anteriores do tubo digestivo do inseto, atingindo o proventrículo, a faringe, a cavidade bucal e a probóscida. Em vários exemplares, sobretudo após o 4.º dia, além das localizações citadas, observou-se a infecção do intestino posterior e da ampola retal. São apresentados dados sobre a frequência das várias formas de leptomonas observadas no curso da infecção no inseto.

#### INTRODUÇÃO

STRANGWAYS-DIXON & LAINSON<sup>6</sup>, em trabalho realizado em Honduras Britânica, assinalaram a infecção experimental de nove espécies locais de flebótomos por uma amostra de *L. mexicana*, por eles isolada no próprio foco endêmico. O desenvolvimento do flagelado foi idêntico em tôdas as espécies estudadas e se caracterizou pela proliferação intensa de leptomonas, com nítida progressão para os segmentos anteriores do tubo digestivo do inseto. Trabalhando com uma amostra de *L. mexicana* isolada naquele país, COELHO<sup>2</sup> assinalou a infecção experimental de duas espécies brasileiras de flebótomos, *L. longipalpis* e *L. renei*. COELHO & FALCÃO<sup>3</sup>, posteriormente, obtiveram a transmissão experimental do flagelado para hamsters, ainda utilizando as mesmas espécies de *Lutzomyia*.

No presente trabalho são apresentados os resultados das várias infecções experimentais por *L. mexicana*, observadas naquelas espécies.

#### MATERIAL E METODOS

*Leishmania* — A amostra de *L. mexicana* utilizada (n.º 5), foi enviada pelo Prof. Saul Adler, de Israel. Havia sido isolada pelo Prof. P. C. C. Garnham, da London School, de um caso humano de leishmaniose cutânea, em Honduras Britânica. Recebida em 7/4/1961, vem sendo mantida em culturas (meios N.N.N. e de ADLER) e em hamsters e camundongos, por meio de inoculações bimensais.

*Flebótomos* — Foram utilizados exemplares de *L. longipalpis* e *L. renei*, de popula-

COELHO, M. de V.; FALCÃO, A. R. & FALCÃO, A. L. — Desenvolvimento de espécies do gênero *Leishmania* em espécies brasileiras de flebótomos do gênero *Lutzomyia* França, 1924. III — Ciclo vital de *L. mexicana* em *L. longipalpis* e *L. renei*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9: 299-303, 1967.

ção natural, coletados no Município de Lagoa Santa, Minas Gerais. O material e as técnicas usadas na captura, transporte, alimentação, manutenção e exame dos flebótomos foram descritos no primeiro trabalho desta série (COELHO & col.<sup>4</sup>).

TABELA I  
Evolução de *L. mexicana*, amostra nº 5, em *L. longipalpis*

Dias após repasto infetante	Exemplares examinados	Infetados		Resultados
		Nº	%	
2 — 3	29	9	31,0	Infecção intensa do estômago em sete exemplares. Em 2 destes, com 3 dias, infecção da cárdia anterior. Os dois restantes apresentaram apenas algumas dezenas de leptomonas, localizadas no estômago.
4 — 5	22	10	45,5	Em 4 exemplares, a infecção, embora intensa, se restringiu ao estômago. Nos 6 restantes, além da infecção do estômago, notava-se intenso parasitismo da cárdia, do proventrículo, e, em dois exemplares, da faringe.
6 — 14	17	9	52,9	Em todos os exemplares observou-se infecção intensa do proventrículo, da cárdia e do estômago. Em 2 foram observadas leptomonas na cavidade bucal e na probóscida. O intestino posterior apresentava numerosas leptomonas em dois exemplares.

TABELA II  
Evolução de *L. mexicana*, amostra nº 5, em *L. renei*

Dias após repasto infetante	Exemplares examinados	Infetados		Resultados
		Nº	%	
2 — 3	69	42	60,9	Em todos os exemplares foram observadas numerosas leptomonas no estômago e no sangue em digestão; o intestino posterior apresentava-se infetado em um único exemplar.
4 — 5	47	19	40,4	Em 15 exemplares a infecção se restringiu à cárdia e ao estômago. Dêstes 15, 3 apresentavam ainda infecção do intestino posterior, até a ampola retal. Os 4 exemplares restantes apresentavam infecção intensa da cárdia anterior, do proventrículo e do estômago. Em 3 exemplares, infecção da faringe e da probóscida. Um exemplar, com 4 dias, apresentava infecção do divertículo esofágico.
6 — 8	5	3	60,0	A infecção atingia todo o tubo digestivo, da faringe à ampola retal, em todos os exemplares. Em dois, algumas leptomonas se localizavam na probóscida.

COELHO, M. de V.; FALCÃO, A. R. & FALCÃO, A. L. — Desenvolvimento de espécies do gênero *Leishmania* em espécies brasileiras de flebotomos do gênero *Lutzomyia* França, 1924. III — Ciclo vital de *L. mexicana* em *L. longipalpis* e *L. renei*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9: 299-303, 1967.

TABELA III

Percentuais de infecção dos diferentes segmentos do tubo digestivo de *L. longipalpis* infectados por *L. mexicana*, amostra nº 5. Variações no curso da infecção

Dias após repasto infetante	Nº de flebotomos	Localização da infecção (%)			
		Faringe	Cárdia	Estômago	Intestino posterior
2 — 3	9	0,0	12,5	100	0,0
4 — 5	10	20,0	60,0	100	0,0
6 — 14	9	22,2	100,0	100	22,2

TABELA IV

Percentuais de frequência de formas de leptomonas de *L. mexicana*, amostra nº 5, observadas no tubo digestivo de *L. longipalpis*. Variações no curso da infecção. Contagem de 100 formas por exemplar

Dias após repasto infetante	Nº de flebotomos	Formas de leptomonas (%)				
		Divisão	Fusiformes		Globosas	
			Curtas	Longas	Flageladas	Aflageladas
2 — 3	3	5,3	81,0	3,3	10,3	0,0
4 — 5	4	7,2	58,5	0,5	33,5	0,2
6 — 14	7	7,8	70,7	1,0	20,1	0,3

## RESULTADOS

### A) Características do desenvolvimento

As infecções de *L. longipalpis* e *L. renei* se caracterizaram por sua grande intensidade, com desenvolvimento abundante de leptomonas a partir do 2.º dia e durante todo o período de observação, e pelo sentido nitidamente anterior do seu desenvolvimento. Como pode ser observado nas Tabelas I e III, já a partir do 4.º dia, em *L. longipalpis*, em 20% dos exemplares infectados, foram observados flagelados localizados na faringe e, em 15% na probósci-

da. Aspecto semelhante ocorreu em *L. renei* (Tabela II).

### B) Morfologia das leptomonas

As leptomonas de *L. mexicana*, observadas em *L. longipalpis* e *L. renei*, tinham, em sua maioria, a forma fusiforme curta (8-12  $\mu$  de comprimento por 2  $\mu$  de largura), com flagelo aproximadamente do tamanho do corpo. Também frequentes eram as formas globosas, com flagelo curto, enquanto as formas de leptomonas alongadas eram extremamente raras (Fig. 1 e Tabela IV). As formas em divisão, globosas ou fu-

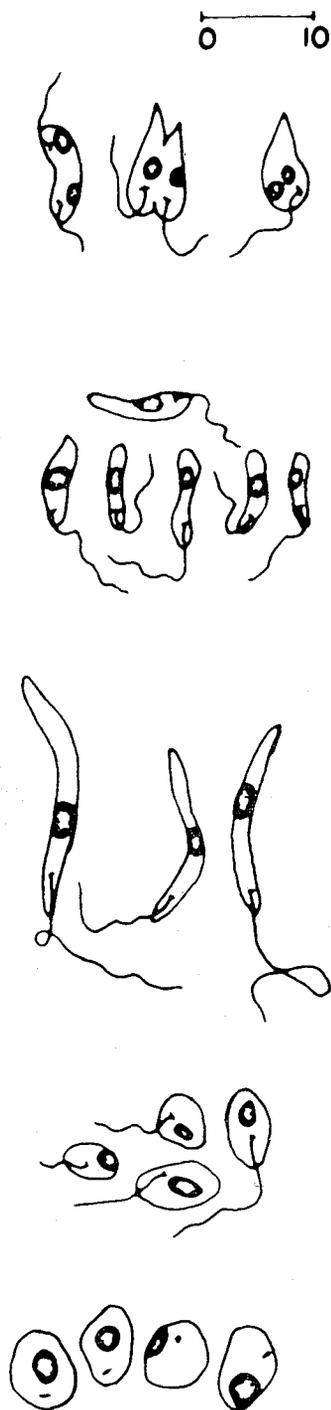


Fig. 1 — Desenho em câmara clara de formas evolutivas de *L. mexicana* em *L. longipalpis*

siformes curtas, mantiveram, durante todo o tempo de observação percentuais de frequência em torno de 7%, em relação ao total de leptomonas observadas.

#### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Em trabalho anterior (COELHO<sup>2</sup>) foi demonstrado que *L. longipalpis* e *L. renei* podem ser infetados por *L. mexicana* e que, em ambas as espécies, as infecções são intensas e de localização anterior. Os resultados obtidos em infecções de *L. longipalpis* e *L. renei* e os de STRANGWAYS-DIXON & LAINSON<sup>5,6</sup> em *L. apicalis*, *L. bispinosa*, *L. cruciata*, *L. geniculata*, *L. ovallesi*, *L. panemensis*, *L. pessoana*, *L. shannoni*, *L. ylephiletrix*, espécies do próprio foco endêmico, em Honduras Britânica, são semelhantes em suas linhas gerais, embora possam ser anotadas pequenas diferenças, cujo significado nos escapa no momento. Nos flebótomos brasileiros, como nas espécies de Honduras Britânica, as infecções tornavam-se patententes 24 a 36 horas após o repasto infetante, eram caracteristicamente intensas e, em grande proporção dos exemplares, atingiam a cárdia anterior e a válvula esofagiana, se estendendo comumente para a faringe, a cavidade bucal e a probóscida. Em nossas observações, contudo, de modo diferente daquelas dos Autores ingleses, em cerca de 22% dos exemplares, sacrificados entre 6 e 14 dias, as leptomonas não só se dirigiam para o intestino anterior e para a probóscida, como se multiplicavam ativamente por toda a extensão do tubo digestivo, da cárdia à ampola retal (Tabelas I, II e III). No que se refere ao comportamento do flagelado no tubo digestivo do inseto, observamos, ainda em contraste com os Autores citados que, especialmente nas localizações anteriores, grande número de leptomonas mantinha-se ligado ao epitélio da cárdia e da válvula esofagiana por meio de seus flagelos; as formas de leptomonas mais frequentemente observadas eram formas fusiiformes curtas, notando-se apenas pequena proporção de formas alongadas (Tabela IV). Por outro lado, a presença de formas em divisão binária, mesmo após a completa digestão do sangue, no estômago, parece indicar um perfeito equilíbrio entre o proto-

zoário e o flebotomo, e vem explicar a riqueza de parasitas, durante todo o curso da infecção. ADLER<sup>1</sup> empresta grande importância ao número inicial de parasitas ingeridos pelos flebotomos, como determinante do curso posterior da infecção. Apesar de termos utilizado hamsters com lesões cutâneas ricas em parasitas, não estamos seguros de que fôsse ingerido grande número de leishmânias pelos flebotomos. Pelo contrário, o exame de esfregaços do conteúdo estomacal de vários exemplares, nas primeiras 6 a 12 horas após o repasto infetante, só em raras ocasiões demonstrou a presença do parasita, embora fôssem frequentemente positivas as culturas do mesmo material. STRANGWAYS-DIXON & LAINSON<sup>6</sup> chegaram à conclusão semelhante em suas experiências com flebotomos de Honduras Britânica. A nosso ver, o inóculo inicial terá maior importância na precocidade do aparecimento de formas flageladas, dependendo a intensidade da infecção sobretudo da proliferação contínua de leptomonas durante os dias subsequentes. O desenvolvimento de *L. donovani* em *L. longipalpis* e *L. renei* parece confirmar essa hipótese. Estes flebotomos, após sugarem a pele aparentemente são do hamster com número reduzido de leishmânias, apresentaram formas flageladas apenas após o 3.º dia, o que não impediu que as infecções apresentassem riqueza de parasitas comparável à observada nas infecções por *L. mexicana* e *L. braziliensis*.

#### SUMMARY

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

Specimens of *L. longipalpis* and *L. renei* have proved highly susceptible to infection with a strain of *L. mexicana* isolated in

British Honduras. The infections in both species were markedly severe, a large number of leptomonads, being observed in the insect's foregut reaching the proventriculus, pharynx, buccal cavity and proboscis. In some specimens, especially after the 4th day, infection had also extended to the hindgut, up to the rectal ampoule. Data on the frequency of various leptomonad forms observed in the course of infection are also presented.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADLER, S. — *Leishmania*. *Advances Parasit.* 2:35-96, 1964.
2. COELHO, M. V. — Suscetibilidade de *Phlebotomus longipalpis* e *P. renei* à infecção por *Leishmania braziliensis*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:101-104, 1962.
3. COELHO, M. V. & FALCÃO, A. R. — Transmissão experimental de *Leishmania braziliensis*. II — Transmissão de amostra mexicana por picada de *Phlebotomus longipalpis* e de *Phlebotomus renei*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:220-224, 1962.
4. 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.
5. STRANGWAYS-DIXON, J. & LAINSON, R. — Dermal leishmaniasis in British Honduras: Transmission of *L. braziliensis* by phlebotomus species. *Brit. Med. J.* 1:297-299, 1962.
6. STRANGWAYS-DIXON, J. & LAINSON, R. — The epidemiology of dermal leishmaniasis in British Honduras (Part III). The transmission of *Leishmania mexicana* to man by *Phlebotomus pessoanus*, with observations on the development of the parasite in different species of phlebotomus. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 60:192-201, 1966.

Recebido para publicação em 2/12/1966.