

INFECÇÃO NATURAL POR FLAGELADOS DA FAMÍLIA TRIPANOSOMATIDAE EM *Lutzomyia umbratilis* E ESPÉCIES DO SUBGÊNERO *Psathyromyia* (DIPTERA: PSYCHODIDAE). 1. ESTUDO MORFOLÓGICO E BIOQUÍMICO.

Sandra Lorenzoni⁽¹⁾; Rui Freitas⁽²⁾; M^a Ivonei Albuquerque⁽³⁾; Maricleide F. Naiff⁽²⁾ & Antonia M^a R. Franco⁽²⁾
⁽¹⁾Bolsista CNPq/INPA; ⁽²⁾Pesquisador INPA/CPCS; ⁽³⁾Bolsista Apoio Técnico CNPq.

Os parasitos do gênero *Leishmania* Ross, 1903 são protozoários da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae agente etiológico da leishmaniose. São microorganismos flagelados, apresentando dois estágios evolutivos principais em diferentes hospedeiros invertebrados e vertebrados. Caracteriza-se este por apresentarem duas formas durante seu ciclo evolutivo, a forma promastigota, (com flagelo livre) que se desenvolve no tubo digestivo do inseto vetor (flebotomíneo), em meio de cultura e a forma amastigota (com flagelo rudimentar intracelular), que parasita o Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM) do animal infectado, multiplicando-se no interior dos macrófagos. As leishmânias se multiplicam por divisão binária e a diversidade biológica encontrada no gênero (Lainson & Shaw, 1987; Grimaldi *et al.*, 1989) decorre de mutações e ou trocas genéticas entre os organismos (Cupolillo *et al.*, 1997). A leishmaniose é endêmica em quatro continentes, ocorrendo em regiões tropicais e subtropicais. No Novo Mundo, o ciclo de transmissão de *Leishmania* é primariamente zoonótico, envolvendo vários mamíferos silvestres incluindo os edentata e vetores flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae). Os flebotomíneos são pequenos insetos sendo as fêmeas hematófagas, conhecidas por diversos nomes, tais como, mosquito palha, birigüi e cangalhinha. Na Amazônia é popularmente chamado de “tatuquira”. Existem nas Américas, mais de 400 espécies de flebotomíneos, onde a maioria encontra-se no Brasil (Young & Duncan, 1994). Tanto no Brasil como na Guiana Francesa, o vetor em potencial da transmissão de leishmaniose é a *Lutzomyia umbratilis*, que se encontra distribuídas em todas as regiões, apresentando-se em altas densidades durante as coletas de campo e com registro de infecção por tripanosomatídeos e outros patógenos. Neste estudo propomos: (i) estudar a infecção natural por tripanosomatídeos em *Lu. umbratilis* e espécies do subgênero *Psathyromyia* nas áreas periféricas de Manaus, AM; (ii) avaliar o grau e a taxa de infecção nos flebotomos coletados por espécies de parasitos; (iii) caracterizar as cepas isoladas através de análises biológicas e bioquímicas e (iv) verificar se existe correlação entre fatores, tais como, abundância de espécies, a sazonalidade, a frequência, o percentual de infecção e as alterações ambientais ao longo do período de estudo. As coletas foram

realizadas na Reserva Florestal Adolpho Ducke – AM 10, Manaus/Itacoatiara (“área do pau-rosa”), onde diversas espécies de flebotomíneos foram obtidas utilizando-se armadilhas luminosas do tipo CDC e coleta manual por sucção na base das árvores; as espécies foram identificadas utilizando-se a chave de Young & Duncan (1994). De um total de 1408 flebótomos coletados, cerca de 9,37% (132/1408) foram dissecados, sendo que quando detectada a presença de infecção por flagelados os mesmos eram semeados em meio de cultura NNN (Novy & MacNeal, 1904; Nicolle, 1908), para isolamento do parasito. Foi realizado um total de sete campanhas de campo durante o período de outubro de 2000 a maio de 2001, sendo que quatro com armadilhas luminosas do tipo CDC, em três alturas diferentes (5, 10 e 15 metros), permanecendo em média por 16 horas (de 16:30 a 8:30h) e sete em base de árvore. Trinta e cinco espécies, entre machos e fêmeas foram coletadas (Tabela 1), sendo a *Lu. umbratilis* (Ward & Frahia, 1977) a mais abundante, com cerca de 60% (847/1408). Entretanto, quando se compara isoladamente o percentual de flebótomos capturados com armadilhas luminosas verifica-se que a espécie mais coletada foi a *Lu. anduzei* com cerca de 31,8 % (205/645) em contraste com a *Lu. umbratilis* (28,7%, 180/645). Das 132 fêmeas dissecadas, apenas seis encontravam-se positivas para infecção natural por flagelados (tabela 2), encontrando-se um valor relativamente baixo quanto ao índice de infecção (4,5%) por tripanosomatídeos. No entanto, resultado bastante interessante deu-se com o encontro de infecção natural em um exemplar de *Lu. ruii* Arias & Young (1982), espécie que não possui hábitos antropofílicos, capturada a 15 metros de altura. Até o momento, ainda não havia sido descrito na literatura infecção por *Leishmania* sp. nesta espécie de flebotomíneo. Verificou-se infecção maciça com parasitos colonizando praticamente todo o tubo digestivo, com exceção dos tubos de Malpighi. Hamsters inoculados apresentaram edema e produção de nódulo no local de inoculação do parasito isolado. A coleta de *Lu. ruii* a 15 metros de altura no mês de março coincide com a distribuição sazonal observada por Arias & Young (1982) nesta mesma região. A infecção natural em *Lu. umbratilis* e *Lu. dendrophyla* observada resultou na colonização por flagelados nas regiões anterior e posterior do estômago, com característica suprapilária. Entretanto, um exemplar de *Lu. umbratilis* apresentou parasitos no piloro e tubos de Malpighi caracterizando uma infecção peripilária, por leishmânia do subgênero *Viannia*. A caracterização bioquímica das amostras isoladas através da análise de isoenzimas encontra-se em andamento. A capacidade vetorial de alguns vetores de *Leishmania* depende da habilidade do parasito se desenvolver no aparelho digestivo (estômago e intestino) mas também da colonização por formas promastigotas infectantes na região anterior após completa digestão do repasto infectante, além disto o flebótomo tem que poder localizar, picar e transmitir os

parasitos para um novo hospedeiro ou reservatório. A infecção natural observada nos flebotomos dissecados neste estudo demonstrou a colonização do parasito com características peripilária e suprapilária em três espécies de flebotomos diferentes contendo sangue em adiantado estado de decomposição. Parasitos foram observados em infecção maciça também na região anterior do aparelho digestivo da espécie *Lu. ruii*, flebotomo no qual se desconhecia infecção natural por leishmânia. O desenvolvimento de estudos como este em muito auxiliam na compreensão de ciclos de transmissão e do envolvimento de espécies como vetores de diversas endemias na região amazônica.

Tabela 1. Lista de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) coletados em armadilhas luminosas do tipo CDC e base de árvore na área da reserva Florestal Adolpho Ducke no período de 10/2000 a 05/2001.

Espécies de flebotomíneos	M	F	T
<i>Lu.(N) umbratilis</i>	488	359	847
<i>Lu.(P) corossoniensis</i>		2	2
<i>Lu.(L) spathotrichia</i>	1	1	2
<i>Lu.(T) ruii</i>	30	10	40
<i>Lu.(N) anduzei</i>	110	101	211
<i>Lu.(P) geniculata</i>	1	20	21
<i>Lu.(P) hirsuta</i>	13	8	21
<i>Lu.(N) olmeca nociva</i>	2	8	10
<i>Lu.(N) flaviscutellata</i>	2	1	3
<i>Lu.(GpO) rorotaensis</i>	31	24	55
<i>Lu.(Psa) dendrophyla</i>	18	6	24
<i>Lu.(Psa) scaffi</i>	13	6	19
<i>Lu.(Psa) shannoni</i>	23	6	29
<i>Lu.(P) davisii</i>	23	18	41
<i>Lu.(N) antunesi</i>		1	1
<i>Lu.(P) paraensis</i>	2	5	7
<i>Lu.(Tpy) trichopyga</i>	2		2
<i>Lu.(Psa) abonnenci</i>	3		3
<i>Lu.(P) squamiventris</i>	3	1	4
<i>Lu.(E) monstrosa</i>	3	9	12
<i>Lu.(Psa) lutziana</i>	1		1
<i>Lu.(Evandromyia) sp.*</i>		3	3
<i>Lu.(P) ayrozai</i>	2	7	9
<i>Lu.(P) claustei</i>	1	4	5
<i>Lu.(Pres) trispinosa</i>	3	1	4
<i>Lu.(GpM) sericea</i>	2	1	3
<i>Lu.(Evandromyia) sp.*</i>	3	1	4
<i>Lu.(T) eurypyga</i>	3		3
<i>Lu.(V) tuberculata</i>		7	7
<i>Lu.(V) furcata</i>		1	1
<i>Lu.(GpA) aragaoi</i>	1	1	2
<i>Lu.(GpP) pilosa</i>	1	2	3
<i>Lu.(Psa) punctigeniculata</i>	2		2
<i>Lu.(GpM) walkeri</i>		1	1
TOTAL	791	617	1408

(*) Novas espécies a serem descritas por Freitas & Barrett).

M: macho; F: fêmea; T: total.

Tabela 2. Flebotomíneos dissecados para busca de infecção natural por tripanosomatídeos.

ESPÉCIES	Nº DISSECADAS	INFECTADAS	DISTRIBUIÇÃO DOS FLAGELADOS							%#
			TM	I	EP	EA	P	DIV	PB	
<i>Lu.(N) umbratilis</i>	122	04	X	X	X	X	X			
<i>Lu.(Psa) dendrophyla</i>	01	01			X	X				
<i>Lu.(T) ruii*</i>	01	01		X	X	X	X	X	X	
<i>Lu(N) anduzei</i>	01	0								
<i>Lu.(Psa) scaffi</i>	04	0								
<i>Lu (GpO) rorotaensis</i>	02	0								
<i>Lu.(N) antunesi</i>	01	0								
Total dissecadas	132	06								4,5

* A espécie *Lu.(T) ruii* foi capturada com armadilha CDC a 15 metros de altura; as outras fêmeas foram coletadas em base de árvore. TM: tubo de Malpighi; I: íleo; EP: estômago posterior; EA: estômago anterior; P: piloro; DIV: divertículo; PB: peças bucais. # percentual de fêmeas infectadas.

Arias, J. R & Young, D.G. 1982. Sand flies of the Central Amazon of Brazil. *Lutzomyia (Trichophoromyia) ruii* n. sp. (Diptera: Psychodidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 42 (1): 249-253.

Cupolillo, E.; Momen, H. & Grimaldi, G. Jr. 1997. Genetic Diversity among *Leishmania (Viannia)* parasites. *Annals Tropical Medicine and Parasitology*, 91(6): 617-626.

Grimaldi, G. Jr; Tesh, R. B. & McMahon-Pratt, 1989. A review of the geographic distribution of New World *Leishmania* species characterized by serodeme analysis using monoclonal antibodies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 36: 270-278.

Lainson, R & Shaw, J.J. 1987. Evolution, Classification and geographical distribution. In: Peters W.; Killick-Kendrick R (Eds). *The Leishmaniasis in Biology and Epidemiology*. Vol I. London Acad Press, p. 1-120.

Nicolle, G. L 1908. Culture du parasite du Bouton d'Orient. *C. R. Academic Science.*, 146: 842-843.

Novy, F.G & MacNeal, W.J 1904. On the cultivation of *Trypanosome brucei*. *Journal of Infection Diseases*, 1: 1-30.

Ross, R 1903. Further notes on Leishman's bodies. *British Medical Journal*. 11: 1401.

Ward, R. D & Frahia, H 1977. *Lutzomyia umbratilis*, a new species of sandfly from Brazil (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*. 14: 313-317.

Young, D.G & Duncan, M 1994. *Guide to identification and geographic distribution of Lutzomyia sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae)*. Gainesville: Associated Publishers, 600p.