

PHLEBOTOMUS FLAVISCUTELLATUS, TRANSMISOR NATURAL DE LEISHMANIA MEXICANA

Francisco BIAGI F. (1), Ana María de B. de BIAGI (2) y Fernando BELTRÁN H. (3)

RESUMEN

En 10 días, se capturaron e identificaron en vivo 4,616 hembras de flebotomos. Se procesaron 3,462 ejemplares para buscar infección por *Leishmania mexicana* y se pusieron a picar 1,276 ejemplares en voluntarios humanos para intentar la transmisión por picadura. *Phlebotomus cruciatus* y *P. shannoni*, a pesar de ser muy abundantes, ofrecieron resultados negativos, ilustrando que las observaciones de infección en condiciones experimentales encuentran limitaciones ecológicas, que hacen a estas especies no tener un papel en la transmisión natural de la infección. *Phlebotomus flaviscutellatus* mostró infección natural por *Leishmania mexicana* en el 6% y realizó la transmisión por picadura en un voluntario, lo que señala que, además de ser fisiológicamente susceptible a *Leishmania mexicana*, se encuentra en condiciones ecológicas adecuadas para realizar la transmisión en la naturaleza.

INTRODUCCIÓN

En 1912 SEIDELIN¹¹ registró por primera vez la presencia de la leishmaniasis cutánea, llamada úlcera de los chicleros, en la península de Yucatán. En 1953, considerando que las especies del género *Leishmania* se diferencian fundamentalmente en base a los cuadros anatomoclínicos originados en su huésped, y considerando que la úlcera de los chicleros se diferencia de la leishmaniasis mucocutánea porque, la primera no presenta invasión hematogena de las mucosas, aún en pacientes con muchos años de sufrir lesiones cutáneas, y se diferencia del botón de oriente porque las lesiones localizadas en la oreja excepcionalmente curan en forma espontánea, BIAGI³, propuso el nombre de *Leishmania tropica mexicana* para el agente etiológico de la úlcera de los chicleros. GARNHAM⁹, revisando la taxonomía del género, propuso elevar a la categoría de especie a *Leishmania mexicana* BIAGI, 1953. Finalmente, ADLER¹ mostró diferencias in-

munológicas entre *Leishmania mexicana* y otras especies cercanas.

En relación a los transmisores, LARA NEGRÓN transcribió la conseja popular de que la úlcera de los chicleros era transmitida por moscas hipobóscidas parásitas de gallináceas silvestres. Sin embargo, esta hipótesis nunca fué comprobada y por consideraciones ecológicas, así como de especificidad alimenticia, es difícil aceptar esta posibilidad.

En 1952 BIAGI & BIAGI iniciaron estudios sobre los flebotomos de los focos endémicos de esta leishmaniasis, definiendo las principales especies antropófilas, su abundancia mensual y su actividad horaria^{4, 5, 6}.

En 1958, el grupo de GARNHAM inició trabajos sobre este tema, señalando las especies de flebotomos encontradas en Honduras Británica y realizando investigaciones tendientes a conocer la transmisión de esta leishmaniasis.

Trabajo realizado con el Donativo AI-210-04 de los National Institutes of Health (1-2-3) Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México

El grupo de investigadores ingleses, trabajando en Honduras Británica logró demostrar que, en condiciones experimentales, haciendo picar los flebotomos sobre hamsters inoculados con *L. mexicana*, las siguientes especies eran capaces de adquirir la infección: *P. cruciatus*, *P. paraensis*, *P. pamamensis*, *P. shannoni*, *P. geniculatus*, *P. flaviscutellatus*, *P. ovallesi*, *P. ylephiletor* y *P. bispinosus*¹¹. A partir de flebotomos infectados en condiciones experimentales, lograron hacer la transmisión por picadura al hombre, mediante *P. paraensis* y *P. cruciatus*.

En 1962, COELHO & FALCÃO⁸ lograron infectar en condiciones experimentales con *L. mexicana* a *P. longipalpis* y *P. renei* y posteriormente transmitirla por picadura al hamster.

Las observaciones antes anotadas señalan que *L. mexicana* puede establecerse en condiciones experimentales, en once especies de flebotomos y que cuatro de éstas especies infectadas en condiciones experimentales, pueden hacer la transmisión por picadura. Sin embargo, estas especies podrían no tener ningún papel en la transmisión natural de *L. mexicana* si ellas no pican habitualmente a los reservorios. Las barreras ecológicas son factores determinantes en la transmisión de parásitos.

Era pues, indispensable realizar una evaluación de los posibles transmisores en condiciones naturales. Para esto era necesario reunir los siguientes elementos: 1) disponer de un sitio concreto en el cual se estuviera haciendo la transmisión en forma activa en los últimos años; 2) coleccionar gran cantidad de flebotomos antropófilos, dado que éstos serían los capacitados para hacer la transmisión al hombre; 3) realizar en forma inmediata la identificación hasta especie, de los flebotomos vivos; 4) procesar inmediatamente los flebotomos para determinar si estaban infectados con leptomonas; 5) disponer de medios para identificar dichos leptomonas como *L. mexicana* y 6) realizar ensayos de transmisión a voluntarios humanos con los ejemplares coleccionados en la naturaleza, ya identificados.

La realización de los seis puntos mencionados requería, trabajar en forma intensiva en la propia área endémica y desarrollar un procedimiento que permitiera la identi-

ficación rápida y en vivo de los flebotomos, dado que el procedimiento tradicional para identificar flebotomos es laborioso, lento y no permite la realización de experimentos biológicos posteriores, sino que éstos se tienen que realizar antes de conocer la identidad del flebotomo, con las consecuentes limitaciones en la programación del trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS

1) *Lugar de trabajo* — En los últimos tres años, a raíz de un Curso para Graduados sobre Enfermedades Parasitarias, programamos viajes para trabajo de campo a la zona endémica de leishmaniasis cutánea y así encontramos una área bien delimitada de "selva tropical siempre verde", a 2 Kms. al sur de Carrillo Puerto, Quintana Roo, en la cual, en cada época de lluvia se producía la infección de personas que vivían en dicha población. Esto puso en evidencia que en dicho lugar se mantenía la infección en reservorios e incluso se hacía la transmisión al hombre. Así, el presente estudio se pudo realizar del 3 al 12 de Diciembre de 1965, instalando un laboratorio provisional en el Centro de Salud de Carrillo Puerto.

2) *Colecta de flebotomos antropófilos* — La colecta masiva de flebotomos se hizo por los Autores y 9 estudiantes del Curso para Graduados sobre Enfermedades Parasitarias, con la ayuda de 12 a 18 personas contratadas para el efecto en la localidad. De acuerdo con nuestros conocimientos sobre actividad horaria, se trabajó diariamente de 16,30 a 22,0 horas, en la selva, capturando mediante el succionador de Castro los flebotomos que venían a picar a los colectores. Los ejemplares capturados se depositaban inmediatamente en frascos enyesados con tapa de tul de nylon (Fig. 2). Hacia las 20,0 horas, una de las camionetas iniciaba el transporte de los flebotomos capturados hacia el laboratorio instalado en el Centro de Salud, para iniciar su clasificación inmediatamente.

3) *Identificación de Phlebotomus en vivo* — Aprovechando el material de flebotomos capturados en años anteriores, se elaboró una clave para identificar mediante caracteres externos las hembras de flebotomo-



Fig. 1 — "Platina fría" sobre la cual se trabajó con el microscopio estereoscópico para la identificación de *Phlebotomus* vivos

mos antropófilos de la zona endémica de leishmaniasis cutánea en Yucatán. Para ello se pudieron aprovechar la longitud de los segmentos palpales y la pigmentación del mesonoto, escutelo, pleuras y coxas⁷.

Así mismo se construyó una "platina fría" consistente en una unidad de refrigeración comercial cuyo serpentín refrigerante quedó sellado dentro de una plancha de acero inoxidable (Fig. 1). La platina mantenía temperaturas de 0 a -5°C , de manera que los flebotomos puestos sobre ella permanecían inmóviles, lo que permitía su observación detallada y clasificación, con un microscopio estereoscópico tipo Zoom que ofrecía aumentos, hasta de $120\times$.

Al arribar los flebotomos recién capturados, eran inmovilizados por frío en un refrigerador portátil; se pasaban a cajas de Petri las que, colocadas sobre la platina fría, mantenían a los flebotomos vivos e inmóviles; clasificados individualmente, se pasaban a recipientes diferentes según la especie. Una buena coordinación del perso-

nal, permitía que el enfriamiento de cada flebotomo fuera por un lapso no mayor de media hora y se llegó a realizar la clasificación a un ritmo de 200 ejemplares por hora. Una noche, de las 20 horas a las 6 am., se clasificaron y procesaron 800 flebotomos.

Periódicamente, de los lotes clasificados por éste procedimiento rápido, se tomaron muestras al azar para comprobar la veracidad de la clasificación por los procedimientos tradicionales.

El desarrollo de éste procedimiento fué fundamental para la planeación diaria de las colectas y del trabajo experimental subsiguiente, y constituye un avance importante en los procedimientos para el estudio de la transmisión de las leishmaniasis.



Fig. 2 — Frasco enyesado

4) *Infección por leptomonas* — Inicialmente se tomaron lotes de 25 a 60 ejemplares vivos de una especie de flebotomo, se lavaron en solución isotónica con antibióticos, se les cortaron las alas y patas, se volvieron a lavar con antibióticos, y se tritu-

raron en mortero en aproximadamente 1 ml de solución isotónica. Una gota de ésta suspensión se observó en microscopio con iluminación de contraste de fases, para buscar leptomonas y el resto se empleó para sembrar en 2 tubos de cultivo con medio N.N.N. y para inocular hamsters, llevados desde la ciudad de México y que nunca estuvieron expuestos a la transmisión natural. Después de la experiencia de los primeros días, se hicieron lotes de 80 a 135 ejemplares y se procesaron sin eliminar las patas y alas, pero dejando sedimentar brevemente la suspensión.

Desde luego que también se hizo disección de ejemplares individuales, para determinar el índice de infección por especie. Los flebotomos clasificados y vivos, se depositaban en cajas de Petri con solución isotónica con antibióticos; de ahí se tomaban individualmente en portaobjetos, se quitaban patas y alas, se pasaban a otro portaobjetos con una gota de solución salina, se separaba y trituraba la cabeza, se extraía el resto del tubo digestivo por la extremidad posterior y finalmente se trituraba la estructura del torax y el abdomen. La búsqueda de leptomonas se hacía en microscopio con contraste de fases. En los casos positivos, se levantaba cuidadosamente el cubreobjetos y el material se usaba para inoculación de tubos de cultivo, hamsters o de voluntarios humanos.

Todo el material empleado había sido esterilizado previamente y se trabajaba frente a la flama de mecheros de gas, evitando en lo posible la adición de contaminaciones bacterianas.

5) *Identificación de leptomonas* — Debido a que los flebotomos pueden tener en su tubo digestivo leptomonas pertenecientes a géneros o especies diferentes de *Leishmania mexicana*, era indispensable demostrar la identidad de estos parásitos, por las lesiones que se desarrollan en hamsters y en voluntarios humanos. Por este motivo, nos vimos obligados a aceptar la colaboración de diversos compañeros.

6) *Transmisión mediante picadura* — Una vez demostrada la presencia de leptomonas en flebotomos, era indispensable ver si éstos podrían transmitir el parásito a través de su picadura, puesto que ello no ocurre

necesariamente y además es un elemento fundamental para determinar la capacidad de un insecto como transmisor.

Una vez clasificados los flebotomos, se depositaban en frascos enyesados de modo que a temperatura ambiente, a los pocos minutos recuperaban su actividad; a continuación fueron puestos a picar sobre voluntarios humanos a través de la cubierta de tul de nylon de los frascos enyesados, lo cual se realizaba en un período de 15 a 60 minutos. A continuación, los flebotomos eran procesados en lotes o mediante disección individual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A) *Flebotomos manejados* — En 10 sesiones vespertinas de captura, se colectaron un total de 4,614 hembras de *Phlebotomus*, todas las cuales pudieron ser clasificadas en forma inmediata; 4,603 correspondieron a las 4 especies dominantes en la localidad: *P. flaviscutellatus*, (*P. apicalis*), *P. cruciatus*, *P. shannoni* y *P. panamensis*. El proceso para la búsqueda de leptomonas se realizó en 3,462 ejemplares: 3,051 ejemplares triturados en lotes y 411 disecados en forma individual; de ellos, 1,276 fueron puestos a picar en voluntarios humanos.

La identificación hecha por características externas fue verificada mediante el proceso tradicional en 1,152 ejemplares, o sea, el 25% de los capturados. Esto permite dar crédito a la identificación rápida sobre la cual se basó el procedimiento experimental para demostrar la infección y la capacidad de transmisión.

B) *Hallazgo de Leptomonas* — En la Tabla I se muestra el hallazgo de leptomonas mediante examen microscópico en triturado de lotes de flebotomos. Puede observarse que sólo *P. flaviscutellatus* mostró la infección por leptomonas. En esta tabla también se aprecia la abundancia relativa de las especies, con una gran dominancia de *P. cruciatus*, que nunca mostró la infección natural; por su escasez, *P. panamensis*, no fué procesado en lotes. El dato negativo en *P. cruciatus* y *P. shannoni* señala que estas especies, si bien son susceptibles a la infección por *Leishmania mexi-*

TABLA I

Hallazgo de leptomonas mediante examen microscópico en triturado de lotes de *Phlebotomus*, colectados en los alrededores de Carrillo Puerto, Quintana Roo

Especie	Total de ejemplares	No. de lotes	Lotes positivos
<i>P. flaviscutellatus</i>	273	6	2
<i>P. cruciatus</i>	2,129	22	0
<i>P. shannoni</i>	649	7	0

cana de acuerdo con las observaciones de STRANGWAYS-DIXON & LAINSON¹², al parecer no acostumbran picar a los reservorios naturales de este parásito, y por lo tanto, al menos en la localidad estudiada, no juegan un papel importante en la transmisión.

TABLA II

Hallazgo de leptomonas mediante disección del tubo digestivo en *Phlebotomus* colectados en los alrededores de Carrillo Puerto, Quintana Roo

Especie	No. de ejemplares diseccionados	Con leptomonas
<i>P. flaviscutellatus</i>	119	7
<i>P. cruciatus</i>	142	0
<i>P. shannoni</i>	137	0
<i>P. panamensis</i>	13	0

En la Tabla II se ven los datos relativos al hallazgo de leptomonas mediante disección individual de flebotomos. Se repite la observación negativa para *P. cruciatus* y *P. shannoni*. También fué negativa para *P. panamensis*, aún cuando el corto número de ejemplares disponibles no dá solidez a la observación; sin embargo, la misma escasez de esta especie en esta localidad, permite aceptar que su papel como transmisor sea dudoso. En cambio, 6% de los ejemplares de *P. flaviscutellatus* presentaron leptomonas de *Leishmania mexicana*, siendo éste un índice muy alto, que indica que esta especie se infecta en condiciones naturales picando a los reservorios silvestres; dado que

el hombre es una fuente de infección esporádica, esto permite suponer que *P. flaviscutellatus* transmite la infección entre los reservorios, y como tiene hábitos antropófilos, también puede hacer la transmisión al hombre.

TABLA III

Hallazgo de leptomonas en *P. flaviscutellatus* mediante disección del tubo digestivo

Diciembre 1965	No. de ejemplares diseccionados	Con leptomonas
6	28	3
7	5	0
9	54	2
10	18	1
11	4	0
12	10	1

En la Tabla III se ilustra que la infección de *P. flaviscutellatus* se observó en forma constante, pues se fracasó en la búsqueda de leptomonas en esta especie, sólo cuando el número de ejemplares capturados era muy pequeño. Los parásitos se encontraron en el esófago, el estómago, los tubos de Malpighi y recto.

C) *Identificación de las leptomonas* — Las inoculaciones a hamsters así como a voluntarios humanos, de las leptomonas encontradas en las diversas ocasiones en *P. flaviscutellatus* mediante disección o triturado, produjeron lesiones típicas de leishmaniasis cutánea (Figs. 3, 4 y 5); si recordamos además que el trabajo se realizó en un lugar donde se transmite la úlcera de los chicleros, no hay motivos para dudar de que las leptomonas encontradas corresponden a *Leishmania mexicana*.

D) *Transmisión por picadura* — Después de clasificados y antes de hacer la trituración o disección, 1,276 ejemplares fueron puestos a picar sobre voluntarios humanos. Como se ve en la Tabla IV, solamente *P. flaviscutellatus* realizó la transmisión por picadura al hombre, originando una lesión típica (Fig. 6) en la cual se pudieron demostrar las leishmanias en los cortes histológicos. La transmisión se realizó el día

TABLA IV

Ensayos de transmisión por picadura. Los *Phlebotomus* fueron capturados en la naturaleza, clasificados en vivo, y a continuación puestos a picar sobre voluntarios humanos (1276 ejemplares)

<i>Phlebotomus</i>	No. de ejemplares	Voluntarios	Lesiones desarrolladas
<i>P. flaviscutellatus</i>	2	R. L. A.	NO
	2	A. M. de B.	NO
	104	F. B. F.	Úlcera *
<i>P. cruciatus</i>	121	M. W.	NO
	100	O. V.	NO
	132	R. L. A.	NO
	200	M. G.	NO
	288	F. B. F.	NO
<i>P. shannoni</i>	45	M. W.	NO
	123	R. L. A.	NO
	169	F. B. F.	NO

* Se demostró la presencia de leishmanias en los cortes histológicos de la lesión



Fig. 3 — Lesión de leishmaniasis cutánea producida en hamster mediante la inoculación de leptomonas obtenidas de *Phlebotomus flaviscutellatus*

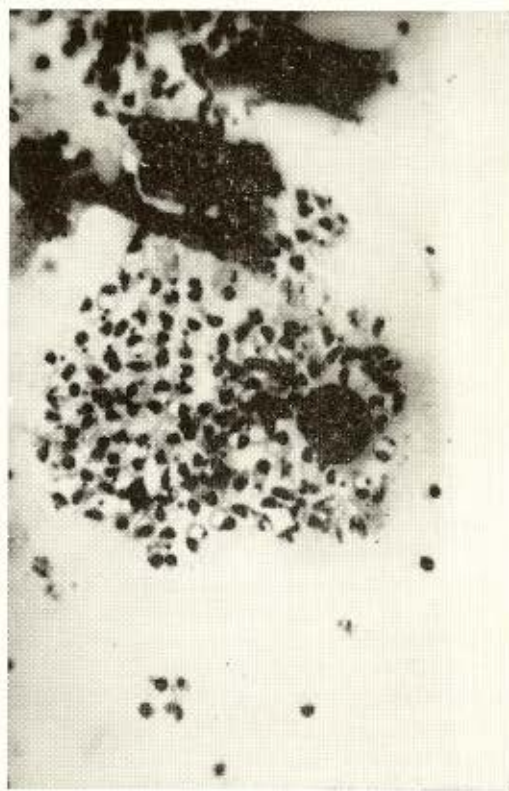


Fig. 4 — Impronta de la lesión ilustrada en la Fig. 3, mostrando gran cantidad de leishmanias



Fig 5 — Leishmaniasis cutánea en voluntario humano inoculado con leptomonas de *P. flaviscutellatus*



Fig. 6 — Leishmaniasis cutánea en un voluntario humano, producida por la picadura de *P. flaviscutellatus*

10 de Diciembre con un lote de 18 *P. flaviscutellatus*, entre los cuales, al hacer la disección, uno mostró la presencia de leptomonas. Cabe anotar que *P. cruciatus* presenta una habilidad para picar, superior a las otras especies en condiciones de laboratorio, y que además, *P. flaviscutellatus* ofreció mayores índices de mortalidad en cautiverio.

E) *Transmisión en la naturaleza* — De las 12 personas del Departamento de Microbiología y Parasitología, que participaron en las colectas y por lo tanto fueron picados por los flebotomos capturados (O. VELASCO y M. GUTIÉRREZ), desarrollaron 4 lesiones leishmaniásicas típicas dentro de las primeras 6 semanas después de la exposición, en las que, también demostramos la presencia de los parásitos. Considerando que esto ocurrió simultáneamente a nuestra observación, de que sólo *P. flaviscutellatus* presen-

taba la infección en la naturaleza, y era capaz de transmitirla por picadura, cabe suponer que en éstos dos casos la transmisión también fueron debidas a éste flebotomo.

CONCLUSIONES

Las observaciones de infección de flebotomos en condiciones experimentales, tienen un valor limitado para definir la importancia de una especie como transmisor, debido a ciertas condiciones ecológicas determinantes.

Las especies poco abundantes en la zona endémica, representan sólo un riesgo potencial puesto que su escasez limita su papel como transmisores; esta limitación podría desaparecer en lugares donde su abundancia fuera mayor.

En la localidad estudiada, *P. cruciatus* y *P. shannoni*, a pesar de ser especies antropófilas muy abundantes, y susceptibles a la

infección por *L. mexicana*, parecen no tener papel de transmisores, pues el número de ejemplares estudiados es amplio y siempre con resultados negativos; probablemente estas especies no se infectan en la naturaleza por no tener preferencia alimenticia hacia las especies de vertebrados que funcionan como reservorios de *L. mexicana*. Esto podría cambiar si alguna especie picada por éste flebotomo, funcionara como reservorio en la naturaleza.

P. flaviscutellatus transmite la infección entre los reservorios, dado que se encuentra infectado en la naturaleza, y además, transmite la infección al hombre, dado que es una especie antropófila. Quizá otras especies no antropófilas pudieran estar involucradas en la transmisión entre los reservorios; esto no fué evaluado en el presente trabajo, pues primariamente nos interesaba conocer la especie involucrada en la transmisión al hombre.

Conociendo el importante papel de *P. flaviscutellatus* como transmissor de *L. mexicana*, ahora podrán hacerse estudios más concretos para conocer su ecología y para realizar su control en forma específica.

RESUMO

Phlebotomus flaviscutellatus, transmissor natural da *Leishmania mexicana*

Em 10 dias, capturaram-se e identificaram-se *in vivo* 4.616 fêmeas de flebotomos. Pesquisou-se infecção por *Leishmania mexicana* em 3.462 exemplares e com 1.276 exemplares tentou-se a transmissão experimental por picada, em voluntários humanos.

Phlebotomus cruciatus e *P. shannoni*, apesar de serem muito abundantes, proporcionaram resultados negativos, sugerindo, que as observações de infecção em condições experimentais encontram limitações ecológicas as quais, por sua vez, impedem a participação destas espécies na transmissão natural da infecção.

Phlebotomus flaviscutellatus apresentou-se naturalmente infetado por *Leishmania mexicana* em 6% dos espécimens e os transmitiu, por picada, a um voluntário, evidenciando que, além de ser fisiologicamente suscetível àquela infecção, encontra-se em condi-

ções ecológicas adequadas para realizar a transmissão em a natureza.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Ingeniero Francisco Esquivel, Delegado de Gobierno en Carrillo Puerto, por las facilidades prestadas, al Dr. Gerardo Amaro por habernos permitido instalar el laboratorio provisional en el Centro de Salud a su cargo, al Prof. Salomón Nahamad, Director del Instituto Nacional Indigenista en Peto, Yucatán, por las facilidades prestadas, y a los Drs. M. Gutiérrez, O. Velasco, P. Schantz, E. Berg, R. Lara A., A. Martínez, R. Alvares, M. Wong, y L. Martínez, por su eficaz colaboración en las diversas etapas del trabajo, así como por haberse ofrecido como voluntarios para la picadura de flebotomos e inoculación de leptomonas.

REFERENCIAS

- ADLER, S. — Differentiation of *Leishmania brasiliensis* from *L. mexicana* and *L. tropica*. *Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop.* 23:139-152, 1963.
- BIAGI F., F. — *La leishmaniasis tegumentaria mexicana y algunos datos médico-estadísticos de Escárcega, Camp.* (Tesis). Escuela de Medicina U. A. A. M., México, 1953.
- BIAGI F., F. — Algunos comentarios sobre las leishmaniasis y sus agentes etiológicos. *Leishmania tropica mexicana*, nueva subespecie. *Medicina* (México) 33:401-406, 1953.
- BIAGI F., F. & BIAGI, A. M. de B. de — Algunos flebotomos del área endémica de Leishmaniasis tegumentaria americana del E. de Campeche (México). *Medicina* (México) 33:315-319, 1953.
- BIAGI F., F. & BIAGI, A. M. de B. de — Datos ecológicos de algunos *Flebotomus* mexicanos (Diptera, Psych.). *An. Inst. Biol. Mex.* 24:445-450, 1954.
- BIAGI F., F.; BIAGI, A. M. de B. de & BELTRAN H., F. — Actividad horaria de *Phlebotomus* en la Península de Yucatán. *Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop.* (En prensa).
- BIAGI, A. M. de B. de — Clave para identificación rápida de *Phlebotomus* antropófilos de Yucatán (En prensa).

8. COELHO, M. de V. & FALCÃO, A. R. — Transmissão experimental de *Leishmania brasiliensis*. II — Transmissão de amostra mexicana por picada de *Phlebotomus longipalpis* e *P. renei*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:220-224, 1962.
9. GARNHAM, P. C. C. — Cutaneous leishmaniasis in the New World, with special reference to *Leishmania mexicana*. *Sci. Rep. Inst. Sup. Sanit.* 2:76-82, 1962.
10. LEWIS, D. J. & GARNHAM, P. C. C. — The species of *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae) in British Honduras. *Proc. Roy. Ent. Soc. (London)* (B) 28:79-89, 1959.
11. SEIDELIN, H. — Leishmaniosis and babesiasis in Yucatán. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 6:295-299, 1912.
12. STRANGWAYS-DIXON, J. & LAINSON, R. — Some observations on the transmission of *Leishmania mexicana* by *Phlebotomus* species in British Honduras (Central America) and the development of the parasit in the insect vector. *Ist. Inter. Congr. Parasitol.*, Roma, 1964.

Recebido para publicação em 18/3/1966.