

TRANSMISSÃO EXPERIMENTAL DE *LEISHMANIA BRAZILIENSIS*

I — Transmissão pela inoculação de triturados de *Phlebotomus longipalpis* experimentalmente infectados

Marcello de Vasconcellos COELHO⁽¹⁾ e Alberto Rocha FALCÃO

RESUMO

Comprovou-se a transmissão experimental em hamster sírio, *Cricetus auratus*, de uma amostra de *L. braziliensis*, isolada de um caso de leishmaniose nodular difusa. A transmissão, obtida em dois animais, foi realizada pela inoculação de triturados de 5 *P. longipalpis*, infectados em laboratório ao sugarem lesões de hamsters parasitados e que apresentavam milhares de leptômonas, no cárdia e estômago, 4 a 9 dias após o repasto infectante.

INTRODUÇÃO

A transmissão de *L. braziliensis* por flebótomos, embora sugerida por argumentos epidemiológicos e pelo encontro de formas em leptômonas no tubo digestivo desses dípteros, em focos endêmicos da doença, necessita de comprovação experimental definitiva.

Os trabalhos de ARAGÃO^{2 e 3} vieram demonstrar que leptômonas encontradas em *P. intermedius* que haviam sugado doente de leishmaniose tegumentar americana, em foco endêmico da moléstia, eram capazes de provocar lesão, quando inoculadas no cão doméstico. A reprodução desses resultados, no entanto, não foi até agora assinalada.

O presente trabalho é o primeiro de uma série que estamos realizando, tendo em vista o esclarecimento desse importante problema.

MATERIAL E MÉTODOS

Flebótomos — Foram utilizados *P. longipalpis* capturados no Município de Lagoa

Santa, Estado de Minas Gerais, com isca humana, em foco exaustivamente estudado e onde, até o presente, não foram encontrados exemplares naturalmente infectados.

Amostra de *L. braziliensis* — Foi utilizada uma amostra de *L. braziliensis* isolada na Bahia, pelo Dr. Wilson Mayrink, de um caso de leishmaniose nodular difusa, e mantida no Laboratório de Leishmanioses do INERU, em Belo Horizonte, em culturas e em hamster.

Hamsters — Os *Cricetus auratus* utilizados como fonte de infecção para os flebótomos foram infectados por via intra-esplênica ou subcutânea, tendo-se utilizado inicialmente a inoculação de culturas e posteriormente a subinoculação. Desta forma, há aproximadamente um ano, têm sido mantidos animais infectados com essa amostra de *L. braziliensis* nesse laboratório. Os hamsters apresentam lesão tumoral não ulcerada, na bôlsa escrotal, com extraordinária riqueza de leishmânias.

Infecção dos flebótomos — Os flebótomos, capturados no campo, eram colocados em pe-

(1) Do Instituto Nacional de Endemias Rurais, Centro de Pesquisas de Belo Horizonte. Bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

pequenas caixas de papelão e sugavam as lesões do hamster através de uma das paredes da caixa, revestida de nylon. Uma vez alimentados, eram transferidos para pequenas gaiolas de nylon, com armação de metal e fundo de gesso umedecido. Eram alimentados com passas fervidas e mantidos em temperatura de 26°C e umidade relativa superior a 80%. Diariamente eram observados, sendo os mortos dissecados, determinada a espécie e verificada a presença de leptômonas.

Inoculação em hamsters — Foram inoculados 8 hamsters com triturados em solução salina de *P. longipalpis* e apresentando milhares de leptômonas no cárdia e estômago. Os 5 flebotomos utilizados haviam sobrevivido 5 a 9 dias após o repasto infectante. A inoculação foi realizada sempre no tecido subcutâneo da bolsa escrotal. Os hamsters eram então observados semanalmente, até

que apresentaram lesão perceptível ao tato, na qual foi feita biopsia, esfregaço por aposição e coloração pelo May-Grünwald-Giemsa.

RESULTADOS

Dos 8 hamsters inoculados, 4 morreram nos 5 primeiros dias, provavelmente de infecção intercorrente. Dos quatro restantes, dois apresentaram no local da inoculação, transcorridos 106 a 109 dias, discreto nódulo subcutâneo, apenas perceptível ao tato, havendo em um deles depilação ao nível da lesão. Feita a biopsia, com esfregaço por aposição, foram encontradas numerosas leishmânias, em ambos os casos. As lesões evoluíram com o aparecimento de novos nódulos subcutâneos contíguos, provocando considerável aumento da bolsa escrotal, sendo que, dois meses após o aparecimento da lesão inicial, toda a região se achava comprometida



Fig. 1 — Lesão tumoral não ulcerada na bolsa escrotal de hamster, 5 meses após inoculação de triturado de *P. longipalpis* infectado por *L. braziliensis*.

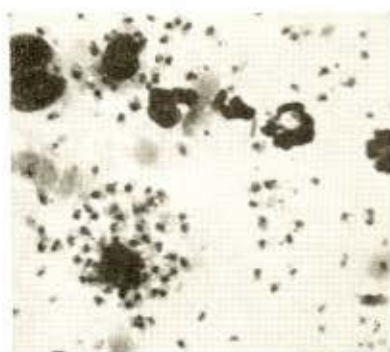


Fig. 2 — Esfregaço da pele, ao nível da lesão do hamster visto na fig. 1. Giemsa (450x).

(Figs. 1 e 2). Exemplares de *P. longipalpis* e *P. renei*, tendo sugado essas lesões, mostraram-se infectados, apresentando numerosas leptômonas no estômago e cárdia (Fig. 3).

Os dois hamsters restantes continuam sob observação, não apresentando qualquer lesão, cinco meses após a inoculação dos triturados de flebotomos.



Fig. 3 — Estreço de cárdia de *P. renei*, apresentando leptômonas de *L. braziliensis*, 5 dias após haver sugado a lesão do hamster apresentado na fig. 1. May-Grünwald-Giemsa (1500×).

COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

A transmissão experimental da leishmaniose tegumentar por meio de triturados de flebotomos, que se haviam infectado em lesões provocadas por *L. braziliensis*, vem confirmar os achados de ARACÃO^{2 e 3}, muito embora permaneça por demonstrar a transmissão ativa por meio da picada desses dípteros.

Utilizamos neste trabalho uma linhagem de *Leishmania braziliensis* caracterizada por determinar no homem lesões nodulares difusas e resistentes ao tratamento antimonial. Para COVIT⁴ seria esta uma espécie distinta, causadora de nova entidade mórbida ("leishmaniose tegumentar difusa"). Porém, em vista da insuficiência de dados epidemiológicos e das dificuldades atuais para a conceituação de espécies dentro do gênero *Leishmania*, consideramos, provisoriamente, todas as formas americanas de leishmaniose tegumentar como devidas a uma única espécie.

Caso se confirme a especificidade do agente da leishmaniose nodular difusa, será este o primeiro dado experimental relativo à sua transmissão.

A possível implicação de *P. longipalpis* na transmissão de *L. braziliensis*, sugerida

inicialmente por PIFANO⁵, quando encontrou exemplares desta espécie naturalmente infectados por leptômonas, em área endêmica de leishmaniose tegumentar na Venezuela, teria no presente achado mais um argumento em favor de sua validade. É bem verdade que, recentemente, na Venezuela, AMARAL & col.⁶ demonstraram a existência de calazar canino e humano, o que possibilita acreditar serem de *L. donovani* as leptômonas encontradas por PIFANO em *P. longipalpis*. Deve-se, no entanto, levar em conta a grande suscetibilidade dessa espécie às infecções por duas amostras de *L. braziliensis*, por nós observadas, e a infectividade das leptômonas evoluindo em *P. longipalpis*, agora assinalada. No entanto, só os achados de campo permitirão confirmar a implicação e a importância desta espécie de flebotomo na transmissão de *L. braziliensis*.

SUMMARY

Experimental transmission of "Leishmania braziliensis". I. Transmission through inoculation of "Phlebotomus longipalpis" triturates.

Specimens of *Phlebotomus longipalpis* were fed on lesions of hamsters (*Cricetus auratus*).

tus) experimentally infected with a strain of *Leishmania braziliensis* isolated from a human case of leishmaniasis tegumentaris diffusa. Four to nine days later, five of the sandflies, harbouring many leptomonads were ground and suspended in saline. The infection of two hamsters was obtained through the inoculation of this material.

REFERÊNCIAS

1. AMARAL, A. D. F.; TORREALBA, J. W.; KOWALENCO, W. & BARRIOS, P. A. — Studies on visceral leishmaniasis in Venezuela. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 3: 91-98, 1961.
2. ARAGÃO, H. B. — Leishmaniose tegumentar e sua transmissão pelos flebotomos. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 20:177-185, 1927.
3. ARAGÃO, H. B. — Transmissão da leishmaniose no Brasil pelo *Phlebotomus intermedium*. Brasil-méd. 36:129-130, 1922.
4. CONVIT, J. — Leishmaniasis tegumentaria difusa, nueva entidad clinico-patologica y parasitaria. Rev. San. & Asist. social 23: 1-28, 1958.
5. PIFANO, F. — Notas sobre entomología medica venezolana. I. Flebotomos transmisores de leishmaniasis tegumentaria en Valle de Yaracury. Bol. Entomol. venezol. 2:99-102, 1943.

Recebido para publicação em 8 março 1962.