

EL "STATUS" TAXONÓMICO DE *LEISHMANIA GARNHAMI*, INDICADO POR SU PATRÓN DE DESARROLLO EN EL VECTOR

N. AÑEZ, ELSA NIEVES & J.V. SCORZA

Bajo condiciones experimentales, se establece el patrón de desarrollo primario de Leishmania garnhami en su vector Lutzomyia townsendi, siguiendo disecciones diarias entre el 1ro y 12mo día post-infección. Se demuestra que L. garnhami puede lograr el establecimiento inicial de la infección en cualquiera de las regiones del intestino y en los túbulos de Malpighi del insecto vector. Un comportamiento similar fue observado en ejemplares de Lu. longipalpis.

Se demuestra que la distribución de L. garnhami en el tubo digestivo del vector, difiere marcadamente de la observada en especies de los complejos L. mexicana y L. braziliensis.

Se discute la susceptibilidad de Lu. townsendi a las infecciones por L. mexicana, L. braziliensis y L. garnhami.

Se concluye que L. garnhami, a juzgar por su comportamiento en el vector, debe considerarse distinta a las especies del complejo L. mexicana y que su patrón de desarrollo difiere del de las especies de la Sección Suprasyllaria, ya que invaden el triángulo pilórico, y del de la Peripylaria por su invasión a los túbulos de Malpighi.

El patrón de desarrollo de las especies de leishmanias neotropicales, ha sido descrito atendiendo al establecimiento inicial de estos parásitos en el tubo digestivo de sus vectores. Observaciones sobre el comportamiento de un gran número de aislados de *Leishmania* en flebotominos, han sido posibles gracias al establecimiento exitoso de colonias cerradas de estos insectos en los últimos años (Hertig & McConnell, 1963; Killick-Kendrick, Leaney & Ready, 1973). Johnson & Hertig (1970), observaron diferencias en el desarrollo de *Leishmania braziliensis* y *L. mexicana* en los flebotominos-vectores, sugiriendo que este hecho podría ser usado como un carácter taxonómico confiable para la separación de especies del género *Leishmania*.

Posteriormente, Lainson & Shaw (1979) consideran que la rigidez de los patrones de desarrollo de las leishmanias en sus vectores, es una característica biológica fundamental que podría ser usada como evidencia de peso para la clasificación de estos parásitos, criterio que podría ser más valioso que aquellos utilizados en previas clasificaciones y los cuales atendían fundamentalmente a las características clínicas de la enfermedad.

Está claramente demostrado que en las especies del complejo *L. braziliensis*, incluyendo *L. b. braziliensis*, *L. b. guyanensis* y *L. b. panamensis*, los parásitos sufren un desarrollo muy prolífico en el píloro o triángulo pilórico y en el intestino medio abdominal de sus vectores (Hertig & McConnell, 1963; Johnson, McConnell & Hertig, 1962; Coelho, Falcão & Falcão, 1967; Johnson & Hertig, 1970; Lainson & Shaw, 1968, 1979). Este intenso desarrollo en el intestino posterior, no se observa en los flebotominos infectados con *L. mexicana amazonensis* y *L. m. mexicana*, en las cuales el crecimiento está limitado al intestino medio y anterior del vector (Lainson & Shaw, 1979; Killick-Kendrick, 1979). Basados en este tipo de desarrollo, Lainson & Shaw (1979) propusieron una nueva clasificación de las leishmanias, donde incluyen tres secciones, denominándolas Hypopylaria, Peripylaria y Suprasyllaria (para descripción ver Revisión de Lainson & Shaw, 1979).

Scorza et al. (1979) describieron e identificaron como *Leishmania garnhami*, a un parásito aislado de lesiones cutáneas humanas, basados fundamentalmente en las características morfológicas de los amastigotes. La referida especie está naturalmente asociada a *Lutzomyia townsendi*, principal flebótomo antropofílico encontrado por encima de los 800 m.s.n.m., en las localidades endémicas de la región andina, en el occidente de Venezuela.

Con el propósito de conocer el comportamiento de *L. garnhami* en el vector, hemos venido haciendo observaciones sobre la biología de este parásito en especies flebotominas experimentalmente infectadas y provenientes de una colonia cerrada mantenida en condiciones de laboratorio y en flebótomos capturados en una zona libre de leishmaniasis. Estas observaciones han permitido comparar el patrón de desarrollo de *L. garnhami* en su vector natural *Lu. townsendi* (Scorza & Añez, 1984) y en un hospedador experimental, *Lu. longipalpis*, donde según Killick-Kendrick et al. (1974, 1977), el desarrollo debe ser el mismo que el observado en el vector natural del parásito.

En el presente artículo se relata detalladamente un estudio sobre el curso de la infección de *L. garnhami* en el tubo digestivo de *Lu. townsendi* y se compara con el observado en *Lu. longipalpis*. Asimismo, se comparan los patrones de desarrollo de *L. mexicana* y *L. braziliensis* en *Lu. townsendi* experimentalmente infectados.

Estas observaciones fueron llevadas a cabo con la esperanza de arrojar ciertas luces sobre la identidad y afinidades de *L. garnhami*, agente causal de la leishmaniasis tegumentaria de la región andino-venezolana.

MATERIALES Y METODOS

Animales experimentales: *Leishmania garnhami* aislado J.A.P./76, obtenida en 1976 por Scorza et al. de un caso humano en la localidad de Chiguará, Estado Mérida, Venezuela; *Leishmania mexicana* aislada de *Oryzomys capito* por Herrer & Christensen en Panamá, la cual fue gentilmente cedida a nuestro laboratorio por el Dr. Christensen; *Leishmania braziliensis* aislado J.F.T./78, obtenida por Scorza en la ciudad de Trujillo, área endémica de leishmaniasis mucocutánea del Estado Trujillo, Venezuela; *Lutzomyia townsendi*, capturados en la naturaleza con trampa lumínica de Shannon, en una zona no-endémica para leishmaniasis cutánea, en la localidad de Calderas, Estado Trujillo, Venezuela; *Lutzomyia longipalpis*, provenientes de una colonia de laboratorio establecida desde 1972 (Killick-Kendrick et al., 1973); Hamsteres (*Mesocricetus auratus*) machos, presentando lesiones podales hipertróficas con 4-6 semanas de evolución, causadas por inoculaciones de amastigotes de las especies de *Leishmania* antes mencionadas. Los hamsteres infectados fueron mantenidos en un bioterio experimental a 25°C y alimentados con concentrado y agua.

Infección experimental y disección de los flebotomos: un total de 1.353 ejemplares de *Lu. townsendi* y 152 de *Lu. longipalpis* fueron alimentados sobre lesiones podales de hamsteres infectados experimentalmente con *L. garnhami*. Los especímenes ingurgitados fueron separados individualmente en frascos de 4 cm x 2 cm, cubiertos con tul y mantenidos en un incubador a 25°C y 95% de humedad relativa, proporcionándoseles como dieta suplementaria, una solución de sacarosa al 50% en torundas de algodón colocadas sobre la tela que cubría cada frasco.

Similarmente, grupos de 475 y 327 ejemplares de *Lu. townsendi* fueron alimentados sobre lesiones de hamsteres causadas por *L. mexicana* y *L. braziliensis*, respectivamente y mantenidos en la forma descrita anteriormente.

Las disecciones de los flebotomos fueron realizadas diariamente, según el siguiente esquema: *Lu. townsendi* infectados con *L. garnhami*, fueron disecados entre el 1ro al 12mo día; especímenes de *Lu. townsendi* infectados con *L. mexicana* y *L. braziliensis* entre el 4to al 8vo día y ejemplares de *Lu. longipalpis* infectados con *L. garnhami*, fueron disecados entre el 1ro y el 7mo día, después de la ingesta infectante.

En todos los casos, ejemplares tomados al azar y anestesiados previamente con vapores de cloroformo, fueron disecados utilizando un microscopio de disección a 40X para separar el tubo digestivo completo, el cual fue observado en un microscopio compuesto con óptica de contraste de fase a 400X, para detectar la presencia de promastigotes en las distintas regiones del mismo.

Para evitar el paso de los flagelados de una región a otra, no se utilizó cubreobjeto en la observación de las muestras.

RESULTADOS

Curso de la infección de *Leishmania garnhami*, *L. mexicana* y *L. braziliensis* en flebotomos experimentalmente infectados: el estudio comparativo llevado a cabo sobre el comportamiento de *L. garnhami*, *L. mexicana* y *L. braziliensis* en flebotomos experimentalmente infectados, reveló marcadas diferencias entre la proporción de flebotomos que adquirieron la infección con las tres especies de *Leishmania* y entre el establecimiento y desarrollo de los parásitos en las diferentes regiones del tubo digestivo de las especies de flebotominos utilizadas.

A continuación se dan los resultados obtenidos con los distintos modelos experimentales:

L. garnhami en *Lu. townsendi*: de un total de 1.353 especímenes de *Lu. townsendi* alimentados sobre lesiones podales de hamsteres, causadas por *L. garnhami*, 709 fueron disecados, resultando positivos 275 (38.7%). Promastigotes de *L. garnhami* fueron detectados a partir del 3er día de observación, en cualquiera de las regiones del tubo digestivo de *Lu. townsendi*, incluyendo el intestino medio torácico (IMT), el intestino medio abdominal (IMA), el triángulo pilórico (T.P.) y los túbulos de Malpighi (T.M.). La mayoría de los flebotomos infectados presentaron flagelados en dos o más regiones, en diferentes combinaciones.

L. garnhami en *Lu. longipalpis*: en este caso se alimentaron 152 ejemplares de *Lu. longipalpis*, diseándose un total de 94, resultando positivos 41 especímenes, es decir, el 43.6%. Al igual que en el caso anterior, *L. garnhami* invadió todas las regiones del tubo digestivo y los túbulos de Malpighi de *Lu. longipalpis*. Similarmente a como ocurrió en *Lu. townsendi* las infecciones detectadas en *Lu. longipalpis* fueron infecciones mixtas.

L. mexicana en *Lu. townsendi*: de los 475 ejemplares de *Lu. townsendi* ingurgitados sobre lesiones causadas por *L. mexicana*, fueron disecados 312, observándose positividad en tan sólo cinco de ellos, lo que

representa el 1.6% de infección. Promastigotes de esta especie de *Leishmania* sólo se detectaron en el IMT y el IMA de *Lu. townsendi*.

L. braziliensis en *Lu. townsendi*: de 327 especímenes alimentados, 248 fueron examinados, resultando positivos 11 (4.4%). En el 90% de los casos la infección se detectó en el píloro y el íleon y sólo tres ejemplares presentaron en el IMA.

Para todos los casos, la diferencia entre el número de flebotomos alimentados y disecados, corresponde a los ejemplares que murieron antes de la disección.

En la Tabla I se muestran los detalles sobre el curso de la infección en flebotomos, de las tres especies de *Leishmania* utilizadas en este estudio. En la misma se indica la proporción de flebotomos que resultaron con infecciones en las distintas regiones del tubo digestivo.

TABLA I

Curso de la infección observado en varias especies de *Leishmania* en el tubo digestivo de flebotominos experimentalmente infectados

Especie de <i>Leishmania</i>	Especie de flebotomino	Número especímenes alimentados	Número especímenes disecados	Número (%) especímenes infectados	No. (%) especímenes con infección en:			
					IMT	IMA	T.P.	T.M.
<i>L. garnhami</i>	<i>Lu. townsendi</i>	1.353	709	275 (38.7)	127 (46)	247 (89.8)	94 (34.1)	54 (19.6)
<i>L. garnhami</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	152	94	41 (43.6)	18 (43.9)	27 (65.8)	28 (68.2)	6 (14.6)
<i>L. mexicana</i>	<i>Lu. townsendi</i>	475	312	5 (1.6)	4 (80)	4 (80)	—	—
<i>L. braziliensis</i>	<i>Lu. townsendi</i>	327	248	11 (4.4)	—	3 (27)	10 (90)*	—

* Incluye infecciones en íleon; no se detectaron parásitos en estas regiones: IMT: Intestino medio torácico; IMA: Intestino medio abdominal; T.P.: Triángulo pilórico; T.M.: Túbulos de Malpighi.

Comportamiento de *L. garnhami* en el tubo digestivo de *Lu. townsendi* a diferentes periodos post-infección: disecciones llevadas a cabo entre el 1ro y el 12mo día en ejemplares de *Lu. townsendi* infectados con el aislado J.A.P./76 de *L. garnhami*, revelaron la distribución del parásito en el intestino medio torácico (IMT), intestino medio abdominal (IMA), triángulo pilórico (T.P.) y túbulos de Malpighi (T.M.) de los flebotomos durante el curso de la infección.

Durante los dos primeros días de observación, los promastigotes fueron detectados únicamente en el IMA. Al tercer día, aparte de la bien establecida infección en el IMA, sólo algunos flebotomos presentaron parásitos en las otras regiones examinadas del intestino, siendo las proporciones observadas de 8.6% para el IMT y el T.P. y de 4.3% para los T.M. Entre el 4to y 7mo día de la infección, se detectó un extraordinario incremento en la proporción de flebotomos infectados en el IMT, T.P. y T.M., observándose que en la región anterior la proporción de especímenes infectados subió del 27.8% en el día 4to hasta 85.7% en el 7mo día. Asimismo, en el T.P. del 16.4% observado al 4to día, incrementó hasta el 57.1% al 7mo día, mientras que la proporción de flebotomos infectados en los T.M. aumentó del 3.7% en el 4to día al 42.8% en el 7mo día post-infección.

Durante el período comprendido entre el 8vo y 11mo día de la infección, la proporción de flebotomos con infecciones en las tres regiones antes mencionadas, fue ligeramente superior a la observada en el período del 4to al 7mo día. Llama la atención la alta proporción de flebotomos con infecciones en el IMT (72.7%) y en los T.M. (54.5%) observados en el 9no día y la proporción de ejemplares con infección en el T.P. (88.8%) al 10mo día.

Es de hacer notar que entre el 1ro y 11mo días la proporción de ejemplares de *Lu. townsendi* con infecciones en el IMA, osciló entre el 83.3% y el 100%.

La Tabla II muestra detalladamente la proporción de flebotomos infectados en las tres regiones intestinales y los túbulos de Malpighi durante los doce días de observación.

Patrón de desarrollo primario de *L. garnhami* en *Lu. townsendi*: como se dijo anteriormente, además de la gran masa de promastigotes observados en el intestino medio abdominal (IMA), *L. garnhami* invadió tanto el intestino medio torácico (IMT) como el triángulo pilórico (T.P.) y los túbulos de Malpighi (T.M.) de *Lu. townsendi*, durante el curso de la infección que siguió a la ingesta infectante.

En los ejemplares infectados, se detectó la presencia de flagelados en el IMT a partir del tercer día, observándose la infección en esta región hasta el 12mo día, fecha en que se realizaron las últimas disecciones. Durante este período de observación, se evidenciaron en el IMT infecciones de magnitud variables que iban desde grandes masas de promastigotes distribuidas a lo largo de todo el intestino anterior, extendiéndose entre el cardias y la región post-faríngea, hasta infecciones moderadas que podían verificarse en cualquier segmento del IMT. De igual forma, la presencia de promastigotes de *L. garnhami* fue detectada de manera constante en el T.P. de *Lu. townsendi*, en el período comprendido desde el 3ro al 11mo día después de la ingesta sanguínea infectante. En la mayoría de los casos, los promastigotes fueron observados adheridos a las estrías quitinosas del píloro, muchos de ellos formando pequeñas rosetas de aproximadamente diez flagelados, con ligeros movimientos laterales.

TABLA II

Distribución de la infección de *Leishmania garnhami* en el tubo digestivo de *Lutzomyia townsendi* a diferentes periodos post-infección

Días post-infec.	No. flebot. disecados	No. (%) flebot. infectados	Número (%) de flebotomos infectados en:			
			IMT	IMA	T.P.	T.M.
1	16	7 (43.7)	—	7 (100)	—	—
2	17	8 (47.1)	—	8 (100)	—	—
3	41	23 (56.1)	2 (8.6)	23 (100)	2 (8.6)	1 (4.3)
4	181	79 (43.6)	22 (27.8)	67 (84.8)	13 (16.4)	3 (3.7)
5	60	12 (20.0)	4 (33.3)	10 (83.3)	8 (66.6)	2 (16.6)
6	23	15 (65.2)	6 (40.0)	14 (93.3)	5 (33.3)	4 (26.6)
7	86	28 (32.5)	24 (85.7)	28 (100)	16 (57.1)	12 (42.8)
8	199	79 (39.6)	54 (68.3)	67 (84.8)	37 (46.8)	23 (29.1)
9	35	11 (31.4)	8 (72.7)	11 (100)	4 (36.3)	6 (54.5)
10	30	9 (30.0)	5 (55.5)	9 (100)	8 (88.8)	2 (22.2)
11	13	2 (15.3)	1 (50.0)	2 (100)	1 (50.0)	1 (50.0)
12	8	2 (25.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	—	—
Total	709	275 (38.7)	127 (46.1)	247 (89.8)	94 (34.18)	54 (19.6)

La invasión de promastigotes de *L. garnhami* a los T.M. de *Lu. townsendi*, también fue un hecho constante observado entre el 3ro y 11mo día de la infección. A pesar de que el número de promastigotes detectados en los túbulos de Malpighi fue relativamente menor al observado en las regiones del intestino, estos fueron capaces de invadir los túbulos en toda su extensión, detectándose en algunos casos flagelados en la parte más distal de los mismos.

Asumiendo que el establecimiento del patrón de desarrollo primario de las leishmanias neotropicales ocurre entre el 4to y 7mo día después de la ingesta infectante, se hizo la comparación estadística entre el número de flebotomos infectados en el IMT y el T.P. durante ese período. El análisis no reveló diferencias significativas. Similarmente, la comparación porcentual entre el número de flebotomos infectados en las diferentes regiones del tubo digestivo y los túbulos de Malpighi en los períodos del 1ro al 12mo día y entre el 4to y 7mo día post-infección, tampoco reveló diferencias significativas.

La Tabla III, detalla la información sobre la comparación de la infección de *L. garnhami* en *Lu. townsendi* en los períodos antes mencionados.

TABLA III

Porcentaje de infección por *Leishmania garnhami* en las diferentes regiones del tubo digestivo de *Lutzomyia townsendi*

Localización	% de especímenes con infección	
	1º al 12mo día	4to al 7mo día
I.M.T.	46	42
I.M.A.	89	89
T.P.	34	31
T.M.	20	16
No. flebotomos examinados	275	134

DISCUSION

Nicoli (1963) sugirió que la clasificación de las leishmanias tomando como base el rango de hospedadores y la relación parásito-hospedador, era insatisfactoria y artificial y que la misma debería ser remplazada por una clasificación basada en el modo de desarrollo del parásito en sus vectores. Esta sugerencia fue más tarde apoyada por Garnham (1971) quien consideró que el comportamiento de los parásitos en el insecto-vector, ofrecería un método mejorado para clasificar las leishmanias.

Lainson, Ready & Shaw (1979) afirman que las consistentes y notables diferencias observadas en el comportamiento de las diversas especies de *Leishmania* en sus hospedadores invertebrados, deben ser consideradas como de gran significancia taxonómica. Bajo este principio Lainson & Shaw (1979) propusieron una nueva clasificación de las leishmanias, basada en el comportamiento de estos parásitos en el tubo digestivo de sus vectores.

En el presente estudio, el curso de la infección de *L. garnhami* en el tubo digestivo de *Lu. townsendi* y *Lu. longipalpis* experimentalmente infectados, fue establecido siguiendo disecciones desde el 1ro al 12mo día después de la ingesta infectante. El 38.7% de los ejemplares de *Lu. townsendi* y el 43.6% de *Lu.*

longipalpis, desarrollaron la infección en cualquiera de las regiones del intestino (IMT, IMA y T.P.) y en los túbulos de Malpighi. La mayoría de estos flebótomos presentaron infecciones en al menos, dos regiones del intestino después del 3er día. Sin embargo, infecciones únicas involucrando una sola región del tracto digestivo también fueron detectadas, aunque en menor proporción.

Lo anteriormente dicho parece indicar que *L. garnhami* no tiene una área específica del intestino del vector para completar su ciclo de vida y que el parásito puede lograr el establecimiento inicial de la infección, en cualquiera de las tres regiones del intestino y incluso en los túbulos de Malpighi del insecto-vector. Puede, por lo tanto, asumirse de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, que las características de *L. garnhami*, de acuerdo a su localización en flebótomos experimentalmente infectados, no coinciden con las de las especies que conforman la sección Suprpylaria, ya que los parásitos ocupan el triángulo pilórico; ni tampoco con aquellas de la sección Peripyalaria, por cuanto logran invadir los túbulos de Malpighi, región que se encuentra libre de infección de acuerdo a los diseños que ilustran la clasificación propuesta por Lainson & Shaw (1979) para ubicar las leishmanias neotropicales de mamíferos. Si bien esta aseveración debe ser tomada con cautela para el caso del desarrollo de *L. garnhami* en *Lu. longipalpis*, por no ser este el vector natural del parásito, el comportamiento observado en *Lu. townsendi* que según Scorza & Añez (1984) es el vector de *L. garnhami* en las áreas endémicas de los andes venezolanos, corroboran nuestra afirmación.

Por otra parte, Killick-Kendrick et al. (1974, 1977) sostienen que el patrón de desarrollo de las especies de *Leishmania* neotropicales en *Lu. longipalpis* experimentalmente infectados, es el mismo que el observado en sus vectores naturales. Como puede observarse nuestros resultados apoyan la afirmación de los autores ingleses y corroboran las observaciones previas de Scorza (1980) y Moreno & Scorza (1981), quienes detectaron consistentemente la invasión de *L. garnhami* en los túbulos de Malpighi, el píloro y al IMT de *Lu. townsendi*.

El hecho de haber disecado diariamente ejemplares de *Lu. townsendi* y haber examinado cuidadosamente las tres regiones del intestino y los túbulos de Malpighi para la detección de parásitos, permitió determinar con bastante precisión la proporción de flebótomos infectados día a día y la distribución de los parásitos en las regiones antes mencionadas, durante el curso de la infección.

Como ocurre en todas las especies del género *Leishmania* durante los dos primeros días de la infección en el vector, las formas de *L. garnhami* estaban restringidas al intestino medio abdominal (estómago), donde los parásitos sufrieron sucesivas transformaciones y divisiones dentro de la ingesta sanguínea, contenida por la membrana peritrófica formada inmediatamente después que la sangre llega al estómago del flebótomo (Gemetchu, 1974). A partir del 3er día, cuando según Gemetchu (1974) la membrana peritrófica comienza a romperse, los promastigotes de *L. garnhami* empezaron a invadir tanto el intestino medio torácico como el intestino posterior y los túbulos de Malpighi de los especímenes de *Lu. townsendi* infectados. La mayor proporción de flebótomos con parásitos en estas regiones fue observada en el período comprendido entre el 4to y el 7mo día post-infección, detectándose en promedio el 42% con infecciones en el IMT, el 89% en el IMA, el 31% en el T.P. y el 16% en los T.M. Al comparar estadísticamente la proporción de flebótomos con invasión de promastigotes de *L. garnhami* en el intestino anterior y el posterior, tanto durante todo el período de observación (1-12 días) como entre el 4to y 7mo días, no se evidenciaron diferencias significativas. Esto indica que *L. garnhami* puede indistintamente invadir cualquier región del tubo digestivo de su vector *Lu. townsendi* y que su patrón de desarrollo primario se define entre el 4to y 7mo días post-infección.

De lo anterior puede afirmarse que la distribución de *L. garnhami* en el tubo digestivo del vector, difiere de la observada en las especies de los complejos *L. mexicana* y *L. braziliensis* y que este comportamiento debería tomarse en consideración para su correcta ubicación taxonómica.

Killick-Kendrick (1979) sugiere que aunque la genética de la susceptibilidad de flebótomos a la infección por leishmanias no ha sido bien estudiada, puede asumirse que existen diferencias genéticamente controladas en la susceptibilidad entre individuos de la misma población de una determinada especie. Esta es la explicación más probable de por qué no todos los individuos de un grupo de flebótomos, que han tomado potencialmente una ingesta infectante, se infectan por igual y en aquellos que adquieren la infección, ésta no se presenta con la misma intensidad.

En el presente estudio, pudo observarse que la proporción de flebótomos que se infectaron después de una ingesta sanguínea infectante sobre lesiones causadas por *L. garnhami*, *L. mexicana* o *L. braziliensis*, fue significativamente diferente. Pudo constatar que los ejemplares de *Lu. townsendi* y *Lu. longipalpis*, alimentados sobre lesiones causadas por *L. garnhami* se infectaron en el orden del 40%, mientras que los especímenes de *Lu. townsendi* que ingirieron amastigotes de *L. mexicana* y *L. braziliensis*, se infectaron en la proporción del 1.6% y del 4.4% respectivamente.

Es interesante notar que a pesar de la baja proporción de ejemplares de *Lu. townsendi* infectados con *L. mexicana* y *L. braziliensis*, estas especies mantuvieron fijos los patrones de desarrollo normalmente observados en sus vectores naturales. Esto se sustenta en el hecho de que el 80% de los flebótomos que se infectaron con *L. mexicana* invadieron el IMT y que el 90% de los infectados con *L. braziliensis* presentaron flagelados en el T.P. En ningún caso, flagelados de *L. mexicana* fueron detectados en el intestino posterior,

ni promastigotes de *L. braziliensis* se evidenciaron en el intestino anterior. Sin embargo, los flagelados de *L. garnhami* invadieron indistintamente el IMT, el T.P. y los T.M. de los flebótomos infectados, después del 3er día.

Aún cuando pudo constatarse una baja susceptibilidad en *Lu. townsendi* a las infecciones por *L. mexicana* y *L. braziliensis*, probablemente debido a que esta especie de flebótomo pertenece a un grupo distinto al de los vectores naturales de estas especies de *Leishmania*, puede concluirse que el patrón de desarrollo observado en estas especies en el intestino de *Lu. townsendi*, podría obedecer a un carácter genéticamente determinado y el cual debería expresarse en cualquier especie del género *Lutzomyia* donde se logre una infección. Este último argumento es válido para explicar el comportamiento de *L. garnhami* en *Lu. longipalpis*, el cual pertenece a un grupo distinto al de *Lu. townsendi*, comprobado vector de esta *Leishmania* en la región andino-venezolana (Scorza & Añez, 1984).

Otro hecho importante a ser considerado, además de la ya demostrada invasión de *L. garnhami* a las diferentes regiones del intestino y túbulos de Malpighi del insecto-vector, es la capacidad infectiva que tienen los promastigotes de *L. garnhami* obtenidos de cualquiera de las regiones antes mencionadas. A tal efecto, Añez, Nieves & Scorza (1984) demostraron que promastigotes de *L. garnhami* provenientes del IMT, IMA, T.P. y T.M. de *Lu. townsendi* fueron infectivos para hamsteres inoculados experimentalmente, produciendo lesiones típicas en los sitios de inoculación.

Atendiendo a la recomendación de Lainson & Shaw (1979) de considerar la rigidez de los patrones de desarrollo de las leishmanias en sus vectores, como una característica biológica fundamental para la clasificación de estos parásitos, podemos concluir que *L. garnhami*, a juzgar por su comportamiento en el vector, debe considerarse distinta a las especies del complejo *L. mexicana*, donde tentativamente ha sido ubicada por Lainson (1983), ya que su comportamiento difiere del observado en aquellas especies que conforman tanto la sección Suprapylaria como la Peripylaria, propuestas por Lainson & Shaw (1979), apoyando, a su vez, la sugerencia de Scorza (1980) de que *L. garnhami* debe ubicarse taxonómicamente en una sección distinta a las antes mencionadas.

SUMMARY

Under experimental conditions, the developmental pattern of *Leishmania garnhami* in its vector *Lutzomyia townsendi*, was established following daily dissections between the 1st and the 12th day post-infection. *L. garnhami* succeeded in establishing initial infections in any of the gut regions and in the Malpighian tubules of infected sandflies. Similar behaviour was observed in infected *Lu. longipalpis*.

The distribution of *L. garnhami* in the digestive tract of infected flies, is different to that observed in species of the *L. mexicana* and *L. braziliensis* complexes.

The susceptibility of *Lu. townsendi* to infection by *L. mexicana*, *L. braziliensis* and *L. garnhami* is discussed.

It is concluded that *L. garnhami*, according to its behaviour in the vector, must be considered different from the species of the *L. mexicana* complex, and that its developmental pattern differs from that of the Suprapylaria, because it invades the hind triangle and also from the species of the Peripylaria by its invasion of the Malpighian tubules.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Sr. J.C. Márquez y la Sra. Maritza Rondón, la ayuda técnica prestada durante la realización de este trabajo y a la Srta. Irlanda Márquez su trabajo mecanográfico.

REFERENCIAS

- AÑEZ, N.; NIEVES, E. & SCORZA, J.V., 1984. Infectividad para el hamster de promastigotes de *Leishmania garnhami*. *Rev. Cubana Med. Trop.* (En prensa).
- COELHO, M.V.; FALCÃO, A.R. & FALCÃO, A.L., 1967. Desenvolvimento de espécies do gênero *Leishmania* em espécies Brasileiras de flebótomos do gênero *Lutzomyia* França, 1924. I. Evolução de *L. braziliensis* em flebótomos. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 9 (4) :177-191.
- GARNHAM, P.C.C., 1971. The Genus *Leishmania*. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 44 :477-489.
- GEMETCHU, T., 1974. The morphology and fine structure of the midgut and peritrophic membrane of the adult female, *Phlebotomus longipes* Parrot & Martin (Diptera:Psychodidae). *Ann. Trop. Med. & Parasitol.*, 68 :111-124.
- HERTIG, M. & McCONNELL, E., 1963. Experimental infection of Panamenian *Phlebotomus* sandflies with *Leishmania*. *Exp. Parasitol.*, 14 :92-106.
- JOHNSON, P.T. & HERTIG, M., 1970. Behaviour of *Leishmania* in Panamanian *Phlebotomine* sandflies fed on infected animals. *Exp. Parasitol.*, 27 :281-300.
- JOHNSON, P.T.; McCONNEL, E. & HERTIG, M., 1962. Natural and experimental infections of leptomonad flagellates in Panamanian *Phlebotomus* sandflies. *J. Parasitol.*, 48 (1) :158.
- KILLICK-KENDRICK, R., 1979. Biology of *Leishmania* in phlebotomine sandflies. In: *Biology of the Kinetoplastida*. Vol. 2, eds. W.H.R. Lumsden; D.A. Evans, Academic Press. London. New York.
- KILLICK-KENDRICK, R.; LEANEY, A.J. & READY, P.D., 1973. A laboratory culture of *Lutzomyia longipalpis*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 67 :434.

- KILLICK-KENDRICK, R.; MOLINEUX, D.H. & ASHFORD, R.W., 1974. *Leishmania* in phlebotomid sandflies. I. – Modifications of the flagellum associated with attachment to the mid-gut and oesophageal valve of the sandfly. *Proc. R. Soc. London. B.*, 187 :409-419.
- KILLICK-KENDRICK, R.; MOLINEUX, D.H.; HOMMEL, M.; LEANEY, A.J. & ROBERTSON, E.S., 1977. *Leishmania* in phlebotomid sandflies. V. – The nature and significance of infections of the pylorus and ileum of the sandfly by *Leishmaniae* of the Braziliensis complex. *Proc. R. Soc. London. B.*, 198 :191-199.
- LAINSON, R., 1983. The American Leishmaniasis: Some observations on their ecology and epidemiology. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 77 (5) :569-596.
- LAINSON, R.; READY, P.D. & SHAW, J.J., 1979. *Leishmania* in Phlebotomid sandflies. VII. On the taxonomic status of *Leishmania peruviana*, causative agent of Peruvian "Uta", as indicated by its development in the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Proc. R. Soc. London. B.*, 206 :307-318.
- LAINSON, R. & SHAW, J.J., 1968. Leishmaniasis in Brazil. I. – Observations on enzootic rodent leishmaniasis – incrimination of *Lutzomyia flaviscutellata* as the vector in the lower Amazonian basin. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 62 :385-395.
- LAINSON, R. & SHAW, J.J., 1979. The role of animals in the epidemiology of South American Leishmaniasis. In: *Biology of the Kinetoplastida*. Vol. 2, W.H.R. Lumsden; D.A. Evans, Academic Press. London. New York.
- MORENO, E. & SCORZA, J.V., 1981. Comportamiento *in vivo* y *in vitro* de siete aislados de *Leishmania garnhami* del occidente de Venezuela. *Bol. Direc. Malariol. San. Amb.*, 21 (3-4) :179-191.
- NICOLI, R.M., 1963. Le genre *Leishmania* Ross, 1903. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 56 :408-416.
- SCORZA, J.V., 1980. A parapyarial cycle of *Leishmania* parasites from Venezuela. Scientific Reports. *The Leishmaniac* No. 4 :3-4.
- SCORZA, J.V. & AÑEZ, N., 1984. Transmisión experimental de *Leishmania garnhami* al hamster por la picadura de *Lutzomyia townsendi*. *Rev. Cubana Med. Trop.* (En prensa).
- SCORZA, J.V.; VALERA, M.; SCORZA, C.; CARNEVALI, M.; MORENO, E. & LUGO-HERNANDEZ, A., 1979. A new species of *Leishmania* parasite from the Venezuelan Andes region. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 73 (3) :293-298.