

# Impacto de *Leishmania amazonensis* e Sangue de Ave no potencial Biológico e fertilidade de *Lutzomyia migonei* e *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae)

Elsa Nieves<sup>✉</sup>, Jose Luis Oliveros & Maritza Rondon

1. Universidad de Los Andes, e-mail: [nevelsa@ula.ve](mailto:nevelsa@ula.ve) (Autor para correspondência<sup>✉</sup>), [nevelsa@ula.ve](mailto:nevelsa@ula.ve) e [rmaritza@ula.ve](mailto:rmaritza@ula.ve).

*EntomoBrasilis* 4 (4): 20-25 (2011)

**Resumen.** En los flebótomos (Diptera: Psychodidae), la ingesta sanguínea es responsable de la inducción de varios procesos fisiológicos y es determinante en la transmisión de *Leishmania* Ross. El presente trabajo estudia la sangre de ave, de mamífero y mezclada con *Leishmania amazonensis* Lainson & Shaw sobre el potencial biológico de *Lutzomyia migonei* França y *Lutzomyia ovallesi* Ortiz. Se utilizaron hembras de ambas especies alimentadas artificialmente con sangre de hámster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse) y de pollo (*Gallus gallus* Linnaeus), mezclada con *L. amazonensis*. Los grupos controles fueron hembras alimentadas sólo con sangre. Se determinó el grado de ingurgitación sanguínea, el tiempo de digestión sanguínea, el modelo de diuresis, el tiempo de oviposición, la sobrevivencia a la ovipostura y la fecundidad. *L. migonei* alimentadas con ambos tipos de sangre presentó mayor fecundidad que las hembras de *L. ovallesi*, la mayor fecundidad se registró con sangre de pollo. La presencia de *Leishmania* en la sangre de pollo o hámster disminuyó significativamente la masa sanguínea ingerida y redujo la sobrevivencia a la ovipostura en las hembras de *L. migonei* alimentadas con sangre de pollo y no con sangre de hámster. Sin embargo, no afectó la masa sanguínea ingerida, ni la sobrevivencia a la ovipostura de *L. ovallesi*. Mientras que la infección con *L. amazonensis* aumentó la cantidad de huevos retenidos y disminuyó el número de huevos puestos por *L. migonei* y por *L. ovallesi* en especial con sangre de pollo. Además, disminuyó el tiempo de digestión sanguínea en ambas especies alimentadas con sangre de pollo, pero no con la sangre de hámster. Aunque la sangre de pollo fue menos efectiva que la sangre de hámster sobre el potencial biológico de *L. migonei* y *L. ovallesi*, no se descarta a la sangre de pollo como una fuente sanguínea importante en el mantenimiento de las poblaciones de ambas especies en el peridomicilio.

**Palabras claves:** Competencia vectorial; digestión sanguínea; diuresis; Flebotominos; ingesta sanguínea; *Leishmania*

## Impacto de *Leishmania amazonensis* e Sangue de Ave no potencial Biológico e fertilidade de *Lutzomyia migonei* e *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae)

**Resumo.** Nos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) o hábito pela hematofagia é responsável pela indução de vários processos fisiológicos também na transmissão de *Leishmania* Ross. O presente estudo compara o sangue de ave, de mamífero e com infecção por *Leishmania amazonensis* Lainson & Shaw sobre o potencial biológico de *Lutzomyia migonei* (França) e de *Lutzomyia ovallesi* Ortiz. Foram utilizadas fêmeas das duas espécies alimentadas artificialmente com sangue de hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse) e frango (*Gallus gallus* Linnaeus), infectados com *L. amazonensis*. Os grupos controle foram alimentados somente com sangue, sem parasitas. Foram determinados o grau de repasto sanguíneo, o tempo de digestão, o padrão de diurese, o tempo de oviposição, a sobrevivência a oviposição e a fecundidade. A espécie *L. migonei* quando alimentada com sangue de hamster e frango apresentaram maior fecundidade do que as fêmeas de *L. ovallesi*, a maior fecundidade foi com sangue de frango. A presença de *Leishmania* no sangue de frango ou sangue de hamster diminuiu significativamente o seu consumo, o que resultou na diminuição da sobrevivência das fêmeas após a oviposição em *L. migonei* alimentados com sangue de frango e não com sangue de hamsters. Entretanto, não afetou a quantidade de sangue e a sobrevivência de oviposição de *L. ovallesi*. A infecção com *L. amazonensis* causou um aumento no número de ovos retidos e diminuiu o número de ovos postos por *L. migonei* e *L. ovallesi*, especialmente com sangue de frango e também reduz o tempo de digestão do sangue em ambas as espécies com sangue de frango, mas não com sangue de hamster. Embora o sangue de frango foi menos eficaz do que o sangue de hamster sobre o potencial biológico de *L. migonei* e *L. ovallesi*, não exclui o sangue de frango como uma fonte de sangue para a manutenção das populações de ambas as espécies nas casas.

**Palavras-chave:** Competência vetorial de flebotomíneos; digestão do sangue; diurese; *Leishmania*; repasto sanguíneo

En los flebótomos (Diptera: Psychodidae), la ingesta sanguínea es responsable de la inducción de varios procesos fisiológicos que culminan con el desarrollo de los huevos. Durante la alimentación sanguínea los flebótomos se infectan con *Leishmania* Ross (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) y posteriormente, son capaces de transmitirla al realizar otra ingesta sanguínea en un nuevo hospedador vertebrado (READY 1979; YOUNG & ARIAS 1991; SCHLEIN 1993; BATES 2008). Diferentes estrategias alimentarias han sido desarrolladas por los flebótomos, que se ven reflejadas en las preferencias alimentarias y en los patrones de digestión sanguínea de cada especie, que determinan su potencial biológico (SCHLEIN *et al.* 1983; SCHLEIN & WARBURG 1985; SCHLEIN & ROMANO 1986; YOUNG & ARIAS 1991).

La cantidad y composición del alimento sanguíneo es el principal factor que afecta la producción de huevos en los

flebótomos (CHANOTIS 1967; READY, 1979; SCHLEIN & WARBURG 1985). El alimento sanguíneo con grandes contenidos calóricos producen mayor energía potencial para la producción de huevos, sobrevivencia a la oviposición y capacidad de vuelo del insecto, aumentando el potencial biológico de los flebótomos de una determinada población, con un consecuente incremento de la infección y transmisión de *Leishmania* (MAGNARELLI & MODI 1988; BENITO *et al.* 1994; HANAFI *et al.* 1999; NOGUERA *et al.* 2006a).

El alimento sanguíneo varía en el tamaño y la densidad de los eritrocitos en la sangre de los distintos vertebrados. La ingesta de un determinado tipo de sangre depende de la capacidad del flebótomos a concentrar los eritrocitos (VAUGHAN *et al.* 1991; VAUGHAN & AZAD 1993).

Por otro lado, la actividad proteolítica en el intestino,

también depende del alimento sanguíneo y el parásito *Leishmania* tiene que ser compatible con todos estos procesos digestivos (SCHLEIN et al. 1983; DABA et al. 1997; BATES 2008).

El papel de la sangre de gallina para *Lutzomyia migonei* (França) ha sido estudiado, reportándose desarrollo de metacíclicos durante la infección con dos especies de *Leishmania* (NIEVES & PIMENTA 2000). *L. migonei* además, soporta la infección con *Leishmania* cuando se alimenta con sangre de varios hospedadores, humano, caballo, vaca, rata, *Didelphis* (NIEVES & PIMENTA 2002).

Por otro lado, la segunda realimentación de *L. migonei* infectada con *Leishmania amazonensis* Lainson & Shaw y *Leishmania braziliensis* Vianna, tiene un efecto repotenciador en el desarrollo del parásito (NIEVES 2000).

En un estudio con *L. ovallesi* alimentadas con diferentes tipos de sangre, humano, caballo, perro, vaca, chivo, cochino y gallina, se reportó que la fecundidad dependía del tipo de sangre, considerándose como la mejor, la sangre de gallina (NOGUERA et al. 2006b).

Aunque las gallinas tienen varias características fisiológicas que las protegen de la infección con *Leishmania*, como la temperatura, alto contenido de DNA, bajo nivel de proteínas plasmáticas, alto metabolismo de ácido úrico y no pueden actuar como reservorio de *Leishmania* (SCHLEIN et al. 1983; CHAPMAN 1998; ALEXANDER et al. 2002); el gallinero es considerado como un lugar de descanso o cría de flebotomos y pueden ser importantes en el mantenimiento de las poblaciones vectoras y atraer reservorios mamíferos a los alrededores (GOMES et al. 1978; BRAZIL et al. 1989). La proximidad del gallinero a la vivienda podría favorecer también el contacto entre vectores, reservorios y humanos susceptibles (ALEXANDER et al. 2002).

En la sangre de ave, los eritrocitos son relativamente frágiles y fácilmente rotos, y los trombocitos, que son análogos a las plaquetas en los mamíferos, son menos eficientes en reducir la pérdida de sangre (LEWIS 1996). Todo esto facilitaría la alimentación de los flebotomos sobre aves como ha sido observado en triatomíneos (GUARNERI et al. 2000). La gallina puede soportar una población de *Lutzomyia longipalpis* Luiz & Neiva y la sangre de gallina permite el desarrollo normal de *Leishmania mexicana* Biagi, sugiriendo que esta ave juega un papel importante en la epidemiología de la *Leishmaniasis* (SANT'ANNA et al. 2010). Para dilucidar el papel que juega la sangre de gallina sobre el potencial biológico de los flebotomos y su efecto en la infección con *Leishmania*, se requiere de mayores estudios de campo y de laboratorio.

Por otro lado, se ha demostrado el efecto de *Leishmania* sobre los flebotomos, tales como daño en la válvula esofágica, daño celular en el intestino, modulación en las enzimas digestivas, formación del gel intestinal y cambios en el comportamiento alimentario (ADLER 1964; LEHANE 1991; SCHLEIN et al. 1992; DILLON & LANE 1993; EL SAWAF et al. 1994; NIEVES et al. 2004; NIEVES et al. 2007; ROGERS et al. 2008). A pesar de que *Leishmania* no atraviesa el intestino en los flebotomos, podría en conjunto con todos los anteriores efectos del parásito, afectar también indirectamente la fecundidad de los flebotomos y su potencial biológico, sin embargo, es necesario realizar más estudios para clarificar estos aspectos importantes en la interacción *Leishmania*-vector.

En este estudio se plantea examinar algunos factores del potencial biológico y fecundidad de dos especies de *Lutzomyia*, como son *L. migonei* y *L. ovallesi* alimentadas con sangre de un mamífero, el hámster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse) y con sangre de ave, el pollo (*Gallus gallus* Linnae) e infectadas con *Leishmania*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material biológico.** Se utilizaron hembras de *L. migonei* y *L. ovallesi* provenientes de colonia de laboratorio, mantenidas usando la técnica descrita por KILLICK-KENDRICK et al. (1977), en incubadora a 25 ±1°C y a 80% ±10 de humedad relativa, en el Laboratorio de Parasitología Experimental (LAPEX) de la

Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Se utilizaron amastigotes de *L. amazonensis* cepa de referencia de la OMS, IFLA/BR/67/PH8, aislados de lesiones podales de hamsters infectados experimentalmente y mantenidos en el LAPEX.

Se utilizó sangre de hámsteres (*M. auratus*) sanos machos, provenientes del Bioterio Central-ULA y sangre de pollo (*G. gallus*) sanos, machos, de procedencia comercial. La sangre se colectó en tubos citratados (0,2 mL de citrato por mL de sangre).

**Alimentación artificial.** A grupos de hembras de *L. ovallesi* y *L. migonei* de 3 días de edad se les suministraron las dietas sanguíneas mediante el uso de un alimentador artificial. Los grupos controles se alimentaron sólo con sangre y los grupos problemas se alimentaron con sangre mezclada con amastigotes de *Leishmania*, inóculos de 2x10<sup>7</sup> amastigotes/mL. Las hembras alimentadas se individualizaron en tubos de vidrios de 2 x 4 mL con tapa de nylon cubiertos internamente con papel de filtro; cada frasco se numeró para su posterior observación y registro. Los tubos se mantuvieron a 25 °C ± 1, 80-95% ± 10 de humedad relativa, con suplemento azucarado al 50% de sacarosa ad limitum, la cual se renovó diariamente. Las hembras se mantuvieron en estas condiciones hasta su observación.

**Determinación cualitativa de la ingesta sanguínea.** Los grados de ingurgitación sanguínea de *L. migonei* y *L. ovallesi*, infectadas y los controles, se estimaron cualitativamente, mediante observación directa bajo el microscopio estereoscópico, inmediatamente después de la alimentación sanguínea. Las hembras se anestesiaron previamente por enfriamiento a 4° C durante 2 minutos y se observaron bajo el microscopio estereoscópico con aumento de 4X. Se establecieron tres niveles de ingurgitación: completa (++++ = 4), media (+++ = 3) y baja (++ = 2), de acuerdo al método descrito por ROJAS & SCORZA (1986). Posteriormente, las hembras se colocaron individualmente en viales para su posterior observación y registro.

**Determinación del tiempo de digestión sanguínea.** Para determinar el tiempo de digestión sanguínea, las hembras de *L. ovallesi* y *L. migonei* de los diferentes grupos infectadas y controles, con distintos grados de ingurgitación, se observaron diariamente bajo el microscopio estereoscópico, anestesiadas previamente a 4°C, registrándose el número de terguitos que iban quedando ocupados por la sangre, considerándose la ausencia de sangre en el abdomen como el término del proceso de digestión sanguínea. Posteriormente, las hembras se colocaron en nuevos viales con su respectiva numeración y con papel de filtro. Los tubos se colocaron en cajas plásticas y se mantuvieron a 25 °C ± 1, 80-95% ± 10 de humedad relativa, con suplemento azucarado al 50% de sacarosa ad limitum, la cual se renovó diariamente. Las hembras se mantuvieron en estas condiciones hasta su nueva observación.

**Tiempo de oviposición.** Para determinar el tiempo de oviposición, a los diferentes grupos de hembras de *L. ovallesi* y *L. migonei* infectadas y controles, con distintos grados de ingurgitación, se les registró la presencia de huevos en los viales, por medio de observaciones diarias en la tela de nylon y papel de filtro del vial. A partir de las 72 horas, el papel de filtro de los viales se humedeció con agua destilada para estimular la oviposición. Se realizaron observaciones diarias post-alimentación. En todos los grupos, luego de la oviposición, las hembras se colocaron en viales nuevos con papel de filtro y se colocaron en cajas plásticas y se mantuvieron a 25 °C ± 1, 80-95% ± 10 de humedad relativa, con suplemento azucarado al 50% de sacarosa ad limitum.

**Huevos puestos.** El número de huevos puestos por hembra se cuantificó diariamente. Posteriormente, las hembras que ovipusieron y sobrevivieron, se colocaron en viales nuevos con el papel de filtro y se colocaron en cajas plásticas y se mantuvieron

a 25 °C ± 1, 80-95% ± 10 de humedad relativa, con suplemento azucarado al 50% de sacarosa ad limitum.

**Huevos retenidos.** Para determinar los huevos retenidos, diariamente las hembras muertas luego de la ovipostura, se diseccionaron inmediatamente bajo el microscopio estereoscópico en solución salina al 0,85% y se registró el número de huevos retenidos por hembra.

**Fecundidad.** Para determinar la fecundidad se contó el total de huevos desarrollados lo cual corresponde al número de huevos puestos más el número de huevos retenidos = fecundidad.

**Sobrevivencia a la ovipostura.** Para determinar la sobrevivencia a la ovipostura se colocaron las hembras, luego de la oviposición, en viales limpios con el papel de filtro humedecido con agua destilada para estimular la ovipostura. Se observaron diariamente hasta la muerte de la hembra, registrándose los días de sobrevivencia.

**Determinación de la cinética de diuresis.** La determinación de la cinética de diuresis de los diferentes grupos de hembras de *L. ovallesi* y *L. migonei* infectadas y controles, con diferentes grados de ingurgitación, se realizó por observación diaria hasta los 5 días post alimentación. Las hembras previamente se anestesiaron a 4°C durante 2 minutos y se trasladaron para un nuevo vial con tapa de tela de nylon y con paredes y fondo cubiertos con papel de filtro nuevo. Los papeles de filtro retirados, se observaron bajo el microscopio estereoscópico y se cuantificaron las gotas de heces. Las excretas se clasificaron en cuatro grupos de acuerdo a su color, blancas (con uratos), crema (con glucosa), marrones y negras (restos de hemina) (ROJAS *et al.* 1995). El procedimiento se realizó a las 0, 24, 48, 72, 96 y 120 horas post- alimentación, registrándose el número y color de las excretas.

**Análisis estadístico.** Los resultados se analizaron estadísticamente utilizando el análisis de varianza de una vía (ANOVA). Esta prueba permite determinar si existió variación entre grupos cuando la distribución es normal para dos o más grupos. A posteriori se realizó una prueba de Tukey para N diferentes, la cual permite determinar cuáles grupos son significativamente diferentes y finalmente, se realizó análisis de regresión para medir el tipo de relación entre las variables (WAYNE 2002). Para el análisis estadístico se empleo el programa MiniTab versión 15.

**RESULTADOS**

Se utilizó un total de 1.026 ejemplares de *L. migonei* y 1.017 ejemplares de *L. ovallesi*. Para cada uno de los ensayos se utilizó un N aproximado de 200 individuos.

Las hembras de *L. migonei* ingirieron más masa de sangre de pollo y hámster que *L. ovallesi*. Sin embargo, en las hembras de *L. ovallesi* no se observó un efecto aparente sobre la masa de sangre ingerida por la presencia del parásito. Mientras que en *L. migonei* el parásito si redujo significativamente la masa de sangre ingerida (Figura 1).

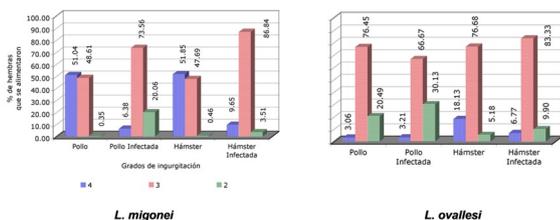


Figura 1. Masa sanguínea ingerida por las hembras de *L. migonei* y *L. ovallesi* alimentadas con sangre de pollo, hámster, pollo infectada y hámster infectada. 4= 6-7 terguitos distendidos, 3= 4-5 terguitos distendidos, 2= 2-3 terguitos distendidos.

Las hembras de *L. migonei* pusieron más huevos que *L. ovallesi*. La infección con *Leishmania* disminuyó de manera similar el número de huevos puestos por *L. migonei* y por *L. ovallesi*, principalmente con sangre de pollo. El análisis estadístico mostró diferencias significativas (Figura 2).

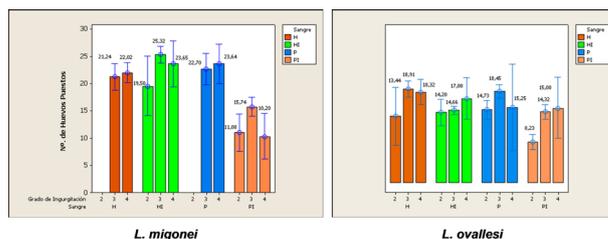


Figura 2. Huevos puestos por las hembras de *L. migonei* y *L. ovallesi* alimentadas con sangre de pollo, hámster, pollo infectada y hámster infectada. 4=6-7 terguitos distendidos, 3= 4-5 terguitos distendidos, 2= 2-3 terguitos distendidos.

La retención de huevos fue mayor para las hembras de *L. migonei* que para las de *L. ovallesi*. El mayor valor de huevos retenidos se presentó para las hembras de *L. migonei* y *L. ovallesi* alimentadas con sangre de pollo (Figura 3).

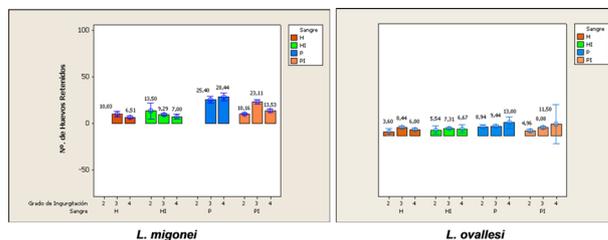


Figura 3. Huevos retenidos por las hembras de *L. migonei* y *L. ovallesi* alimentadas con sangre de pollo, hámster, pollo infectada y hámster infectada. 4= 6-7 terguitos distendidos, 3= 4-5 terguitos distendidos, 2= 2-3 terguitos distendidos.

*L. migonei* alimentadas con sangre de pollo infectada y hámster infectada y los respectivos controles, presentaron mayor fecundidad que para los grupos de las hembras alimentadas de *L. ovallesi*. El mayor valor de fecundidad lo presentaron las hembras de *L. migonei* alimentadas con sangre de pollo (Figura 4).

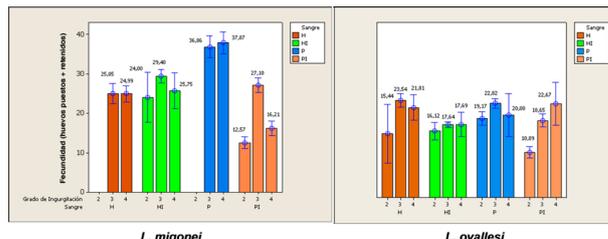


Figura 4. Fecundidad de las hembras de *L. migonei* y *L. ovallesi* alimentadas con sangre de pollo, hámster, pollo infectada y hámster infectada. 4= 6-7 terguitos distendidos, 3= 4-5 terguitos distendidos, 2= 2-3 terguitos distendidos.

Al realizar el análisis de regresión entre fecundidad y grados de ingurgitación sanguínea, se encontró una correlación positiva entre los resultados de las hembras alimentadas con sangre de pollo, pollo infectada y hámster; mientras que no se encontró correlación entre las hembras alimentadas con sangre de hámster infectada y los grados de ingurgitación.

La infección con *L. amazonensis* disminuyó la sobrevivencia de la ovipostura en las hembras de *L. migonei* alimentadas con sangre de pollo pero no afectó a las hembras alimentadas con sangre de hámster. No obstante, la sobrevivencia de las hembras de *L. ovallesi* no se vió afectada por la presencia del parásito.

Las hembras de *L. ovallesi* presentaron porcentajes de sobrevivencia a la ovipostura mayores que las hembras *L.*

*migonei*. Las diferencias de sobrevivencia observada entre los grupos fueron estadísticamente significativas (Figura 5).

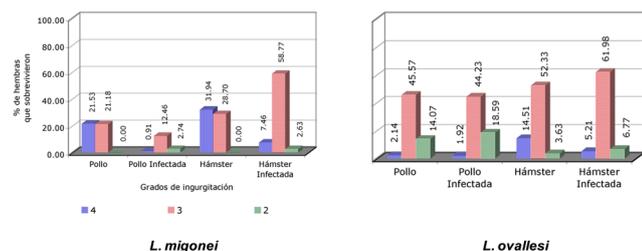


Figura 5. Tiempo de sobrevivencia a la oviposición de las hembras de *L. migonei* y *L. ovallesi* alimentadas con sangre de pollo, hámster, pollo infectada y hámster infectada. 4= 6-7 terguitos distendidos, 3= 4-5 terguitos distendidos, 2= 2-3 terguitos distendidos.

En las hembras de *L. migonei* se observó un efecto más acentuado en la oviposición cuando se alimentaron con sangre de pollo infectada, ocurriendo la oviposición solo al 4to día, mientras que con sangre de hámster infectada se observó un incremento en el porcentaje de oviposición en relación al control, con mayor proporción al 4to día. *L. ovallesi* alimentada con sangre de pollo infectada se comportó como las hembras del grupo control, ovipusieron al 4to y 5to día y las alimentadas con sangre de hámster infectada presentaron retraso en la oviposición, registrándose mayores porcentajes de oviposición al 5to día, en relación a los grupos controles (Figura 6).

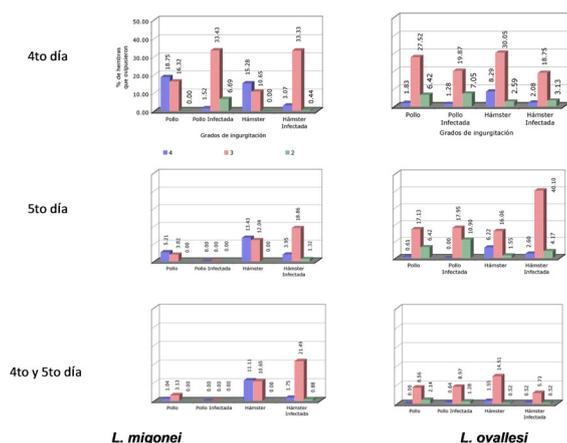


Figura 6. Tiempo de oviposición por las hembras de *L. migonei* y *L. ovallesi* alimentadas con sangre de pollo, hámster, pollo infectada y hámster infectada. 4= 6-7 terguitos distendidos, 3= 4-5 terguitos distendidos, 2= 2-3 terguitos distendidos.

En relación a la cinética de diuresis en *L. migonei* alimentadas con sangre de pollo infectada se observó un adelanto de la excretas marrones a las 24 horas, y con sangre de hámster infectada, un adelanto de la excretas crema a las 24 horas, en relación a los respectivos controles. En *L. ovallesi* alimentada con sangre de pollo infectada se observó un adelanto de las excretas blancas a las 24 horas y se acortó el tiempo de las excretas crema, y con sangre de hámster infectada, se observó un adelanto y disminución de las excretas blancas, crema y marrones.

La cinética de diuresis de *L. ovallesi* alimentadas con sangre de hámster y sangre de hámster infectada excretaron antes que las hembras de *L. migonei*; sin embargo, ambas especies finalizaron en los mismos períodos de tiempo.

El tiempo de digestión sanguínea en *L. migonei* con sangre de pollo infectada fue menor (96 horas) en relación al control (120 horas). Mientras que con sangre de hámster infectada, se registró igual tiempo de digestión sanguínea en relación al control (72 horas). En cuanto a *L. ovallesi* alimentada con sangre de pollo infectada también se observó una disminución del tiempo de digestión (72 horas) en relación al control (96 horas) y con sangre de hámster infectada se observó el mismo tiempo de digestión en relación al control (48 horas).

En *L. ovallesi*, los tiempos de digestión sanguínea fueron más rápido que en *L. migonei* con ambos tipos de sangre. Los análisis mostraron diferencias significativas,  $p < 0.05$ .

## DISCUSIÓN

Algunos estudios sugieren que el tipo de sangre ingerida por los flebótomos es determinante en los parámetros biológicos (READY 1979; BENITO *et al.* 1994; HANAFI *et al.* 1999). Diferencias en el tamaño y la densidad de los eritrocitos en los distintos tipos de sangre afectan la capacidad de concentración de los eritrocitos y de la hemoglobina por parte del insecto. Una mayor eficiencia en la concentración de eritrocitos en el insecto durante la digestión sanguínea beneficia la disponibilidad de nutrientes e incrementa la fecundidad (VAUGHAN *et al.* 1991). La capacidad de la hembra a concentrar proteínas de la ingesta sanguínea, está asociada con filtraciones, tanto físicas, relacionadas con la armaduras pilóricas, como metabólicas relacionadas con el transporte dentro de los tubos de Malpighi (HOSOI 1954; VAUGHAN *et al.* 1991). Un retraso en la diuresis implica ineficiencia en el mecanismo de concentración y menor cantidad de sangre ingerida por parte de la hembra del insecto (BRIEGEL 1990).

Por otro lado, algunos autores han reportado el efecto del parásito en la reducción de la longevidad y fecundidad de los flebótomos (EL SAWAF *et al.* 1994, ROGERS & BATES 2007). También es conocido que *Leishmania* es capaz de modular la actividad de las enzimas digestivas durante el proceso de digestión en los flebótomos (BOROVSKY & SCHLEIN 1987; DILLON & LANE 1993).

En mosquitos, GRAY & BRADLEY (2006) reportaron que las hembras infectadas excretaron más durante la diuresis, retuvieron menos restos de ingesta y presentaron mayor reducción en la fecundidad. Los autores, atribuyen el fenómeno a diferencias post diuréticas sin masa sanguínea, siendo la tasa metabólica menor durante el proceso de digestión en los infectados.

Las diferencias observadas en los distintos parámetros biológicos estudiados de *L. migonei* y *L. ovallesi*, alimentadas con sangre de hámster o de pollo e infectada con *L. amazonensis* se explican por la particularidad de cada especie a responder al tipo de sangre ingerida y a su vez, a la interacción *Leishmania*-vector. Especificidades de cada especie de insecto, tales como, tamaño, cantidad de sangre ingerida, armadura del cibario y pilórica, requerimientos energéticos para la vitelogénesis, enzimas digestivas, diferencias de los movimientos peristálticos, eficiencia vectorial, entre otras. Las diferencias observadas también pueden deberse a pequeñas variaciones en el tipo de sangre ingerida, en relación a su calidad (contenido de proteína), celulares (tamaño de los eritrocitos, eritrocitos nucleados), contenido enzimas (factores anti-coagulante, factores anti-hemostático), contenido de nutrientes (cantidad de hemoglobina), de aminoácidos (presencia de isoleucina) y además del efecto de *Leishmania*, daño en el intestino, modulación de las enzimas digestivas, formación del gel intestinal, cambios comportamentales (ADLER 1964; CUNNINGHAM 2002; NIEVES *et al.* 2007; ROGERS & BATES 2007; BATES 2008; ROGERS *et al.* 2008).

Como *L. ovallesi* es una especie de menor tamaño que *L. migonei*, requiere una ingesta sanguínea de menor cantidad de sangre para cubrir sus requerimientos energéticos para la vitelogénesis. Se le considera como una especie mejor adaptada desde el punto de vista fisiológico, que puede ser un reflejo de adaptaciones ecológicas de esta especie en la naturaleza, lo cual le permite sobrellevar variaciones en el tipo de ingesta sanguínea y ambientes diferentes, lo que le confiere mayor eficiencia vectorial que *L. migonei*, sin afectar su potencial biológico. Muchos factores contribuyen a la eficiencia vectorial de los insectos, comportamentales, genéticos, fisiológicos, ecológicos, metabólicos, adaptativos y coevolutivos con el parásito, que permiten que los insectos soporten a *Leishmania* y ocurra una eficiente transmisión, lo que implica compatibilidad parásito-vector (VAUGHAN & AZAD 1993). Una digestión más rápida por parte de *L. ovallesi*, favorece a ambos; al insecto, le favorece

una mejor eficacia en la producción de huevos y al parásito, una rápida inducción de los mecanismos de metaciclógenésis que aumentan su posibilidad de sobrevivencia en el insecto (FELDMANN *et al.* 1990). Una rápida degradación de la hemoglobina, genera productos de degradación parcial de la sangre capaces de estimular mecanismos de tipo paracrino y/o prandial (LEHANE *et al.* 1995). A su vez esos mecanismos estimulan un aumento en el desarrollo y postura de huevos y consecuentemente un aumento del potencial biológico del insecto. Por lo tanto, se considera que *L. ovallesi* pudiera tener una mayor eficiencia vectorial en comparación con *L. migonei*.

En conclusión, los resultados muestran aportes importantes sobre la biología y fecundidad de *L. migonei* y *L. ovallesi*. La sangre de pollo y de hámster afectan de manera especie específico los distintos parámetros biológicos de *L. migonei* y *L. ovallesi*. Por otra parte, la infección con *L. amazonensis* afecta los distintos parámetros biológicos de *L. migonei* y *L. ovallesi* dependiendo del tipo de sangre y a las características propias de cada especie de flebotomo. Aunque la sangre de pollo fue menos efectiva que la sangre de hámster sobre el potencial biológico de *L. migonei* y *L. ovallesi*, no se descarta a la sangre de pollo como una fuente sanguínea importante en el mantenimiento de las poblaciones de ambas especies en el peridomicilio.

### AGRADECIMIENTOS.

Al proyecto CDCHT-ULA (Cod: C-1606-08-03-B) y Proyecto LOCTI (CODIGO- L-C-13-07-03-MRW) por el financiamiento.

### REFERENCIAS

- Adler, S., 1964. *Leishmania*. Advances in Parasitology, 2:35-91.
- Alexander, B, R.L. de Carvalho, H. McCallum & M.H. Pereira, 2002. Role of the Domestic Chicken (*Gallus gallus*) in the Epidemiology of Urban Visceral *Leishmaniasis* in Brazil. Emerging Infectious Diseases Journal, 8:1480-1485.
- Bates, P.A., 2008. *Leishmania* sand fly interaction: progress and challenges. Current Opinion in Microbiology, 11:340-44.
- Benito-De, M.M.I., M.J. Gracia-Salinas, R. Molina-Moreno, M. Ferrer-Dufol & J. Lucientes-Curdi, 1994. Influence of the nature of the ingested blood on the gonotrophic parameters of *Plebotomus perniciosus* under laboratory conditions. Parasite, 1:409-411.
- Borovsky, D. & Y. Schlein, 1987. Tripsin and chymotrypsin-like enzymes of the sandfly *Phlebotomus papatasi* infected with *Leishmania* and their possible role in vector infected with *Leishmania* and their possible role in vector competence. Journal Medical Entomology, 1: 235-242.
- Brazil, R.P., R.G. Brazil, M.C. Gouveia, D.C. De Almeida, S.M.P. De Oliveira & J.A. Menezes, 1989. Epidemiological studies on cutaneous *Leishmaniasis* in the state of Rio de Janeiro, Brazil. Domestic and Peridomestic Sandfly Fauna. In: *Leishmaniasis* the current Status and New Strategies for Control. D. T. Hart ed. Plenum Pub. Corp. New York: p. 159-164.
- Briegel H., 1990. Fecundity, metabolism and body size in *Anopheles* (Diptera: Culicidae) vectors of malaria. Journal Medical Entomology, 27:839-850..
- Chanotiotis, B.N., 1967. The biology of California *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae) under laboratory conditions. Journal Medical Entomology, 4: 221-233.
- Chapman, R.F., 1998. The insects: structure and function. 4th. ed. Cambridge (MA). Camb Univ Press. Netherlands.
- Cunningham, A.C., 2002. Parasitic adaptive mechanisms in infection by *Leishmania*. Experimental Molecular Pathology 72:132-141.
- Daba, S., N.S. Mansour, F.G. Youssef, N.M. Shanbaky, M.G. Shehata & B.M. El Sawaf, 1997. Vector-host-parasite interrelationships in *Leishmaniasis*, III. Impact of blood meal from natural vertebrate host on the survival and the development of *Leishmania infantum* and *L. major* in *Phlebotomus langeroni* (Diptera: Psychodidae). Journal Egypt Society Parasitology, 27: 781-794.
- Dillon, R.J. & R.P. Lane, 1993. Influence of *Leishmania* infection on blood-meal digestion in the sandflies *Phlebotomus papatasi* and *P. langeroni*. Parasitology Research, 99:492-496.
- El Sawaf, B.M., S.A. el Sattar, M.G. Shehata, R.P. Lane & T.A. Morsy, 1994. Reduced longevity and fecundity in *Leishmania* infected sand flies. Am Journal Tropical Medical Hygiene, 51: 767-770.
- Feldmann, A.M., P.F. Billingsley & E. Savelkoul, 1990. Blood meal digestion by strains of *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae) of differing susceptibility to *Plasmodium falciparum*. Parasitology, 101:193-200.
- Gomes, A.C., E.X. Rabello & E.A.B. Galati, 1978. Flebotomíneos encontrados em galinheiros experimentais nos Estados de São Paulo e Minas Gerais (Brasil) e algumas observações ecológicas. Revista Saúde Pública, 12: 403-407.
- Gray, E.M. & T.J. Bradley, 2006. Malarial infection in *Aedes aegypti*: effects on feeding, fecundity and metabolic rate. Parasitology, 132: 169-176.
- Guarneri, A.A., L. Diotaiuti, A.F. Gontijo & M.H. Pereira, 2000. Comparison of feeding behavior of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, y *Triatoma pseudomaculata* in different hosts by electronic monitoring of the cibarial pump. Journal Insect Physiology, 46: 1121-1127.
- Hanafi, H.A., W.W. Kanour, G.M. Beavers & G.E. Tetreault, 1999. Colonization and bionomics of the sandfly *Phlebotomus kazeruni* from Sinai. Egypt Medical Veterinary Entomology, 13: 295-298.
- Hosoi, T., 1954. Egg production in *Culex pipiens pallens* Coquillett. IV. Influence of breeding conditions on wing length, body weight and follicle production. Japanese Journal Medical Science and Biology, 7: 129-134.
- Killick-Kendrick, R., A.J. Leany & P.D. Ready, 1977. The establishment maintenance and productivity of a laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Journal Medical Entomology, 13: 429-440.
- Lehane, M.J., 1991. Biology of bloodsucking insects. Chapman and Hall, London, p. 79-110.
- Lehane, M.J., D. Blakemore, S. Williams & M.R. Moffatt, 1995. Regulation of digestive enzyme levels in insects. Comparative Biochemistry and Physiology, 110: 285-289.
- Lewis, J.H., 1996. Comparative haemostasis in vertebrates. Plenum Press, New York.
- Magnarelli, L.A. & G.B. Modi, 1988. Caloric determinations of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). Journal Medical Entomology, 25: 127-130.
- Nieves, E., D. Dávila-Vera & E. Palacios-Prü, 2004. Daño ultraestructural del intestino medio abdominal de *Lutzomyia ovallesi* (Ortiz) (Diptera: Psychodidae) ocasionado por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Parasitologia Latinoamericana, 59: 115-122.
- Nieves, E., 2000. A biología do desenvolvimento de *Leishmania (Viannia) braziliensis* e de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* no flebotomíneo *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). Tesis de Doctorado en Ciencias. Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Belo Horizonte-Brasil, 148p.
- Nieves, E. & P.F.P. Pimenta, 2000. Development of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in the Sand fly *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). Journal Medical Entomology, 37:134-140.
- Nieves, E. & P.F.P. Pimenta, 2002. Development of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in the Sand fly *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). Journal Medical Entomology, 37: 134-140.
- Nieves, E. & M. Rondon, 2007. Sobrevivencia del parásito *Leishmania* en el insecto vector: interacciones moleculares. Revista Sociedad Venezolana de Microbiología, 27: 66-72.
- Noguera, P., M. Rondón, E. Nieves, 2006a. Caloric content of the sand fly *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae) vector of *Leishmania*. Revista Colombiana de Entomología, 32: 57-60.

- Noguera, P., M. Rondón & E. Nieves, 2006b. Effect of blood source on the survival and fecundity of the sandfly *Lutzomyia ovallesi* Ortiz (Diptera: Psychodidae) vector of *Leishmania*. *Biomédica*, 26: 57-63.
- Ready, P.D., 1979. Factors affecting egg production of laboratory-bred *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Journal Medical Entomology*, 16: 413-423.
- Rogers, M.E., M. Hajmová, M.B. Joshi, J. Sadlova, D.M. Dwyer, P. Volf, Bates P.A., 2008. *Leishmania* chitinase facilitates colonization of sand fly vectors and enhances transmission to mice. *Cellular Microbiology*, 10: 1363-72.
- Rogers, M.E. & P.A. Bates, 2007. *Leishmania* manipulation of sand fly feeding behavior results in enhanced transmission. *PLoS Pathogens*, 3: 818-825.
- Rojas, E. & J.V. Scorza, 1986. Relaciones entre las ingestas sanguíneas incompletas y la realimentación de *Lutzomyia townsendi* (Ortiz, 1960) (Diptera: Phlebotominae). *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 26:31-41.
- Rojas, E., J.V. Scorza & A. Espinoza, 1995. Excreción de promastigotes de *Leishmania pifanoi* por *Lutzomyia youngi* experimentalmente infectada. *Revista Saúde Pública*, 29: 496-502.
- Sant'Anna, M.R.V., A. Nascimento, B. Alexander, E. Dilger, R.R. Cavalcante, H.M. Diaz-Albiter, P.A. Bates & R.J. Dillon, 2010. Chicken blood provides a suitable meal for the sandfly *Lutzomyia longipalpis* and does not inhibit *Leishmania* development in the gut. *Parasites Vectors*, 3: 1-11.
- Schlein, Y. & A. Warburg, 1985. Feeding behavior, midgut distension and ovarian development in *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae). *Journal Insect Physiology*, 31:47-51.
- Schlein, Y. & H. Romano, 1986. *Leishmania* major y *Leishmania donovani*: effects of proteolytic enzymes of *Phlebotomus papatasi*. *Experimental Parasitology*, 62:376-380.
- Schlein, Y., 1993. *Leishmania* and sandflies: Interactions in the life cycle and transmission. *Parasitology Today*, 9: 255-258.
- Schlein, Y., A. Warburg, L.F. Schnur & J. Shlomai, 1983. Vector compatibility of *Phlebotomus papatasi* dependent on differentially induced digestion. *Acta Tropical*, 40:65-70.
- Schlein, Y., R.L. Jacobson & G. Mecer, 1992. *Leishmania* infections damage the feeding mechanism of sandfly vector transmission by bite. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89: 9944-9948.
- Vaughan, J.A. & A.F. Azad, 1993. Patterns of Erythrocyte Digestion by Bloodsucking Insects: Constrains on Vector Competence. *Journal Medical Entomology*, 30:214-216.
- Vaughan, J.A., B.H. Noden & J.C. Beier, 1991. Concentration of Human Erythrocytes by Anopheline Mosquitoes (Diptera: Culicidae) During Feeding. *Journal Medical Entomology*, 28: 780-786.
- Wayne, W.D., 2002. *Bioestadística*. 4ta. ed. Versión autorizada en español de John Wiley & Sons. Limusa S. A. de C. V. México D.F.
- Young, D.G. & J.R. Arias, 1991. *Phlebotomine Sandflies in the Americas*. Pan American Health Organization, Technical Paper N° 33: 1-26.

Recebido em: 30/06/2010

Aceito em: 19/08/2010

\*\*\*\*\*

#### Como citar este artigo:

E. Nieves, J.L. Oliveros & M. Rondon, 2011. Impacto de *Leishmania amazonensis* y la Sangre de Ave en el Potencial Biológico y Fecundidad de *Lutzomyia migonei* y *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae). *EntomoBrasilis*, 4(1): 20-25. [www.periodico.ebras.bio.br/ojs](http://www.periodico.ebras.bio.br/ojs)

