CULTIVO DE FLEBOTOMÍNEOS EM LABORATÓRIO: REMOÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE OVOS E EFEITOS DA MATURAÇÃO DO ALIMENTO NA ELIMINAÇÃO DE HIFAS FÚNGICAS PARA MAIOR SUCESSO NA EMERGÊNCIA

Magda Freitas Fernandes (magdamattosfer@gmail.com)

Kleiton Maciel Dos Santos (kleitomaciel@gmail.com)

Antônio Carlos Ferrari Junior (acferrarijunior@gmail.com)

Josué Raizer (jraizer@gmail.com)

Wedson Desidério (desi48@gmail.com)

Eunice Aparecida Bianchi Galati (egalati@usp.br)

Estudos de competência vetorial para Leishmania spp. demandam grande quantidade de fêmeas de flebotomíneos obtidas de cultivo em laboratório. Entretanto, o cultivo de seus imaturos apresenta desafios, devido a danos e traumas aos ovos e à mortalidade elevada na fase larval inicial associada às hifas fúngicas, que se aderem às suas cerdas caudais, impedindo-as de forragear adequadamente. Fêmeas de flebotomíneos põem seus ovos isoladamente ou em pequenos conjuntos sobre o substrato úmido, onde permanecem aderidos por substância secretada pelas glândulas acessórias. Os ovos apresentam pouca resistência à dessecação para o desenvolvimento embrionário adequado, e quando manipulados no fim do período de incubação, não há eclosão de larvas. Este trabalho teve o intuito de relatar procedimentos laboratoriais visando melhorar a eficiência do cultivo de Phlebotominae e

aumentar a taxa de emergência. Espécimes selvagens de flebotomíneos foram coletados em fragmentos florestais e cavernas no estado de Mato Grosso do Sul, para obtenção de progênies de Nyssomyia whitmani, Evandromyia corumbaensis e Lutzomyia almerioi. Para postura dos ovos, utilizamos tubos de polietileno tendo como substrato de fundo uma camada de gesso pedra creme para umidade do microambiente e em sua tampa plástica foi feito um furo em seu meio coberto com tela de náilon fixa. Em cima desta abertura, foram adicionados pequenos cubos de maçã para serem utilizados como fonte de carboidrato para as fêmeas. A oviposição ocorreu na parede do tubo e na camada de gesso úmido do fundo do frasco. Em média, 30 ovos/tubo foram extraídos nos dois primeiros dias após a oviposição. Inicialmente, usamos pipeta de vidro e água como meio de transferência dos ovos, que demandou cerca de cinco minutos/tubo e houve perdas elevadas na eclosão. Para reduzir danos aos ovos, testamos duas técnicas alternativas: 1- usamos pincel fino apenas para desgrudar os ovos do substrato; então pegávamos o tubo e com sua abertura dirigida para o interior da placa de cultivo eram dadas pequenas batidas com a base de uma pinça na superfície externa de seu fundo para que os ovos caíssem; esse procedimento demorou cerca de um minuto. 2- com um pincel fino e umedecido os ovos foram removidos e transferidos para o substrato da placa, que demorou aproximadamente três minutos. Na técnica 1 os ovos caíam por acaso em qualquer superfície da placa de cultivo, já na 2, foi possível adicionar os ovos em apenas um quadrante e o alimento, nos outros três quadrantes da placa. A redução da mortalidade em L1 foi solucionada pela adição de alimento maturado por um período de 30 dias antes da inclusão dos ovos. A adoção de procedimentos alternativos e mais eficientes permitiu reduzir o tempo de remoção e transferência de ovos, resultando em elevada taxa de ovos férteis, e a eliminação de hifas fúngicas aumentou a disponibilidade de fêmeas, e foram fundamentais para demonstrar a competência vetorial de Ny. whitmani, Ev. corumbaensis e Lu. almerioi para Leishmania (Leishmania) amazonensis.

Agradecimentos: FUNDECT, CAPES, UFGD.

Palavras-chave: flebotomíneos; oviposição; proliferação de fungos.