

Entomología y control de vectores

LEISMANIASIS

Diversidad de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) en el área de influencia de la Hidroeléctrica Sogamoso, Santander

Gabriel Jaime Parra-Henao, Erika Patricia Alarcón, Daniel Delgado, Laura Bastidas
Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES, Medellín, Colombia

Introducción. Entre los vectores de importancia médica, se encuentra el género *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae), relevante en salud pública por ser causante de la leishmaniasis.

El objetivo del estudio fue determinar la diversidad de *Lutzomyia* en el área de influencia de la Hidroeléctrica Sogamoso, Santander.

Materiales y métodos. El estudio se realizó entre noviembre de 2009 y agosto de 2010. Se hicieron seis visitas bimestrales para recolectar *Lutzomyia*, en el intradomicilio, peridomicilio y extradomicilio de viviendas ubicadas en la zona de influencia del embalse (municipios de Betulia, Girón, Los Santos, San Vicente de Chucurí, Lebrija y Zapatoca, Santander). Para la recolección de vectores se utilizaron trampas CDC (18:00 a 6:00 horas), Shannon (18:00 a 22:00 horas) y papel impregnado con aceite de ricino. El material recolectado fue llevado al laboratorio de entomología del Instituto Colombiano de Medicina Tropical, para identificarlo con claves taxonómicas.

Resultados. Se obtuvieron 3.892 ejemplares de *Lutzomyia* en los seis municipios, correspondientes a 32 especies. Entre las especies recolectadas se hallaron *Lu. panamensis* y *Lu. gomezi*, vectores de leishmaniasis cutánea, y *Lu. longipalpis*, vector de leishmaniasis visceral. *Lutzomyia longipalpis* fue hallada en gran abundancia y representó más de 70 % del total de ejemplares recolectados. El 82,6 % de *Lutzomyia* fue obtenida en el peridomicilio. La especie *Lu. longipalpis* fue encontrada principalmente en el peridomicilio; *Lu. panamensis* y *Lu. gomezi* se encontraron en el intradomicilio, peridomicilio y extradomicilio.

Conclusiones. Existe una gran diversidad de *Lutzomyia* en la zona de estudio. *Lu. longipalpis* es la especie más abundante, hallada en zonas con mayor altitud sobre el nivel del mar. La gran abundancia de *Lu. longipalpis* indica que en la

zona existe riesgo de transmisión de leishmaniasis visceral. En las veredas con menor altitud, es mayor el riesgo de transmisión de leishmaniasis cutánea.

• • •

Infección natural de *Lutzomyia micropyga* con tripanosomatídeos en el Caribe colombiano

Margaret Paternina-Gómez, Alveiro Pérez-Doria, Luis E. Paternina, Daniel Velbel-Vergara, Lily Martínez-Abad, Eduar E. Bejarano

Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

Introducción. En la búsqueda de infección natural de flebotomíneos con tripanosomatídeos, la diversidad y abundancia de las especies de *Lutzomyia* varían de manera importante según el tipo de muestreo utilizado. Los métodos comúnmente empleados, como trampa Shannon y CDC, podrían desestimar la presencia e importancia epidemiológica de especies flebotomíneas que no son atraídas por la luz, hecho que motivó la realización de este trabajo.

Metodología. Los insectos se recolectaron mediante búsqueda activa con aspiradores bucales y eléctricos en el área urbana del municipio de Ovejas y en la zona rural del municipio de Sincelejo, Colombia. Los flebotomíneos se mantuvieron vivos en jaulas de cría; posteriormente, se sacrificaron por inmersión en una solución de detergente y se disecaron en PBS. Los intestinos extraídos se observaron bajo un microscopio a 400X en busca de parásitos tripanosomatídeos y se determinó la especie del insecto.

Resultados. Se capturaron 161 especímenes del género *Lutzomyia* en Ovejas; la especie más abundante fue *Lutzomyia micropyga* (40 %), seguida por *Lu. evansi* (16 %) y *Lu. cayennensis* (12,5 %). En Sincelejo, se capturaron 48 individuos, *Lu. micropyga* también fue la especie más abundante (45 %). En los dos sitios de estudio se encontraron individuos de *Lu. micropyga* infectados con tripanosomatídeos, ubicados en el recto y la ampolla rectal del insecto. La tasa de infección en Ovejas fue de 5,7 % y en Sincelejo de 13,6 %, las más altas registradas en territorio nacional.

Conclusión. Se registra por primera vez la infección natural de *Lu. micropyga* con flagelados

en dos poblaciones de la costa Caribe colombiana. Se cree que la alta tasa de infección encontrada está relacionada con el tipo de muestreo usado. Este hallazgo motiva a profundizar en el papel que podría desempeñar esta especie de *Lutzomyia* en el ciclo enzoótico y silvestre de estos parásitos.

• • •

Densidad de *Lutzomyia longipalpis* en un biotopo doméstico urbano de Corrientes, Argentina

Mirta L. Miérez, María Josefa F. Rea, Edgardo Borda, Luis A. Mosqueda

Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales, Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina

Introducción. *Lutzomyia longipalpis*, principal vector de la leishmaniasis visceral americana, fue detectada por primera vez en el año 2009 por el Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales, en el área urbana de la ciudad de Corrientes.

El objetivo de este estudio fue investigar la densidad de la población de *Lu. longipalpis* en el peridomicilio de un ambiente urbano de la ciudad de Corrientes, en la provincia del mismo nombre, en el nordeste de la Argentina.

Materiales y métodos. Esta región es de clima subtropical húmedo, sin estación seca y con un promedio anual de temperatura de 21,6 °C, humedad relativa de 70 % y precipitaciones anuales de 1.585 mm.

Las capturas se realizaron de abril a diciembre de 2010, utilizando cuatro trampas luminosas CDC a 80 cm del suelo en dos hábitats (dos en un gallinero y dos en una conejera y palomar), durante tres noches consecutivas, entre las 18:30 y 07:30 horas.

Las variables climáticas se registraron con un termohigrógrafo y un pluviómetro. Los insectos fueron preservados en alcohol al 70%, para su taxonomía.

Resultados. Se capturaron 2.780 flebotomos (2.251 machos y 529 hembras). El total de flebotomos capturados fue mayor en el hábitat de las palomas y conejos que en el gallinero, 71 % y 29 %, respectivamente.

El mayor número de flebotomos se recolectó en abril (771), seguido de octubre (526), noviembre (493), diciembre (455) y mayo (367).

Lutzomyia longipalpis no se capturó en julio, pero en junio se recolectaron 61 especímenes, con temperatura de 12 °C y humedad relativa de 86 %. La relación macho-hembra fue de 4:1 y 5,8:1 en

el hábitat de las palomas y conejos y gallinero, respectivamente.

Conclusiones. El predominio de esta especie y la presencia de animales como fuente de alimentación sanguínea en un ambiente antrópico, es un factor relevante en la transmisión de la leishmaniasis visceral americana.

• • •

Vigilancia entomológica de especies del género *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) en el municipio de Piojó, departamento del Atlántico, Colombia

Paula Pareja-Loaiza¹, Sergio Goenaga-Olaya², Elkin Nieto², Guy Mejía², Óscar Montes², Ronald Maestre-Serrano^{2,3}

¹ Laboratorio de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Grupo de Investigación en Enfermedades Tropicales y Biomédicas del Atlántico, Secretaría de Salud del Atlántico, Barranquilla, Colombia

³ Grupo de Investigación Cultura, Salud y Calidad, Universidad Simón Bolívar, Barranquilla, Colombia

Introducción. La leishmaniasis es una enfermedad de interés en salud pública para Colombia. Se consideró no endémica para el departamento del Atlántico hasta el año 2009, cuando se registró el primer caso autóctono de esta enfermedad en el corregimiento de Santa Cruz, del municipio de Luruaco. A partir de este primer caso autóctono, se fortaleció el sistema de vigilancia entomológica para leishmaniasis en esta área del país, con el fin de diseñar mapas vectoriales de riesgo que permitan implementar acciones de prevención y control.

El objetivo del presente trabajo consistió en realizar una vigilancia entomológica para especies del género *Lutzomyia* en el municipio de Piojó del departamento del Atlántico, Colombia.

Metodología. Se hizo un estudio descriptivo enmarcado en el sistema de vigilancia entomológica para especies del género *Lutzomyia* en el municipio de Piojó, durante el mes de junio de 2011. Se emplearon trampas de luz de tipo CDC instaladas en áreas periurbanas y rurales del municipio, entre las 18:00 y 6:00 horas. Los ejemplares recolectados se sacrificaron con vapores de cloroformo y, posteriormente, se separaron y conservaron en alcohol al 70 %.

Para su identificación taxonómica, todos los insectos fueron aclarados con hidróxido de potasio (KOH) al 10 % y transferidos a una lámina excavada con fenol líquido para la observación de sus caracteres morfológicos diagnósticos, siguiendo la clave dicotómica de Young y Duncan (1994).

Resultados. Se recolectaron 584 ejemplares del género *Lutzomyia*, de los cuales 39,7 % correspondieron a *Lu. evansi*, seguido de *Lu. panamensis* (36,9 %), *Lu. gomezi* (21,9 %) y *Lu. trinidadensis* (1,3 %).

Conclusiones. Se amplía la distribución de especies del género *Lutzomyia* para el departamento del Atlántico, con un nuevo registro de *Lu. evansi*, *Lu. panamensis*, *Lu. panamensis* y *Lu. trinidadensis* para el municipio de Piojó.



Caracterización de la respuesta inmunitaria innata de *Lutzomyia longipalpis* ante la infección de *Leishmania infantum*

Pilar Angélica Sarmiento-Méndez¹, Clara Beatriz Ocampo-Durán², Carl Lowenberger³

¹ Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D. C., Colombia

² Centro Internacional de Entrenamiento e Investigación Médica, Cali, Colombia

³ Biology Faculty, Simon Fraser University, Vancouver, Canadá

Introducción. La leishmaniasis visceral americana es producida por *Leishmania infantum*, cuyo vector principal es *Lutzomyia longipalpis*. En Colombia, esta enfermedad potencialmente mortal está acrecentando su distribución y prevalencia. La quimioterapia, la protección personal y los insecticidas, no han logrado detener la transmisión. El estudio de las interacciones inmunológicas entre vector y patógeno abre la posibilidad de utilizar la manipulación genética como herramienta para interrumpir el ciclo infeccioso.

Objetivo. Identificar secuencias transcritas de *Lu. longipalpis* asociadas a la respuesta inmunitaria innata ante la infección de *L. infantum*.

Metodología. Mediante bioinformática se identificaron secuencias de *Lu. longipalpis* homólogas a transcritos relacionados con respuestas antimicrobianas en otros insectos vectores: defensina, proteína de reconocimiento de peptidoglucanos *PGRP-LB*, tripsina II y transferrina. Mediante PCR en tiempo real, se cuantificó la transcripción relativa de las secuencias en intestinos medios y carcasas de *Lu. longipalpis* en tres tiempos después del tratamiento: alimentaciones con RPMI, sangre, *Escherichia coli* o *L. infantum*.

Resultados. El mayor incremento de transcripción fue el de defensina en carcasas tras el reto bacteriano (hasta 32 veces); en intestinos medios aumentó tanto ante infección bacteriana como parasitaria (~ cuatro veces). La transcripción de

PGRP-LB sólo fue afectada por el reto bacteriano en carcasas (se incrementó hasta ~ cuatro veces). En intestinos medios, la transcripción de tripsina cambió sólo después del reto bacteriano (cinco veces), mientras que en carcasas se incrementó ante ambos tipos de infección (entre 9,3 y 10,6 veces). La transcripción de transferrina aumentó luego del reto bacteriano hasta 3,8 veces en intestinos medios y hasta 2,7 veces en carcasas.

Conclusiones. Las infecciones orales bacteriana y parasitaria estimulan la respuesta inmunitaria local y sistémica de *Lu. longipalpis*. Dado que la defensina (en intestino medio) y la tripsina II (en carcasas) presentaron el mayor incremento de transcripción ante la infección parasitaria, es necesario el estudio de su actividad proteica para determinar sus potenciales en el control intravectorial de *L. infantum*.



Infecciones e ingestiones sanguíneas en *Lutzomyia longiflora*, el principal vector del brote doméstico de leishmaniasis cutánea en Chaparral, Tolima, 2004-2006

Rafael Góngora, Jaime Marín, Dairo Marín, María C. Carrasquilla, Cristina Ferro, Clara B. Ocampo

Introducción. La identificación y confirmación del vector involucrado en un foco de transmisión de un patógeno, es uno de los principales pasos para el entendimiento de la historia natural de la enfermedad, generando conocimiento básico para el desarrollo de estrategias de control y prevención.

Objetivo. Confirmar los vectores responsables del mayor brote de leishmaniasis cutánea reportado en Colombia, en el municipio de Chaparral-Tolima (2004-2006), por infecciones e ingestiones sanguíneas.

Metodología. Las recolecciones de flebotomos se hicieron con trampas de luz CDC localizadas en el intradomicilio, peridomicilio y bosque, en una de las veredas de Chaparral con mayor incidencia de casos de leishmaniasis. Los especímenes recolectados fueron agrupados por especie, sitio, hábitat y fecha de recolección. Para determinar la prevalencia de infección en los flebotomos, las hembras de las especies más abundantes observadas sin sangre se procesaron en grupos hasta de individuos, para determinar *Leishmania* mediante PCR-Southern blot del kADN. Las hembras recolectadas con sangre se procesaron individualmente para identificar la fuente sanguínea

mediante la secuenciación del gen del citocromo B. Posteriormente, estas hembras con sangre también fueron analizadas para *Leishmania* spp. por kADN. Algunas muestras positivas para *Leishmania* spp. fueron procesadas por la región intergénica del gen 7SLRNA, el cual contiene SNP que pueden diferenciar las especies de *Leishmania*.

Resultados. Las especies más abundantes fueron *Lutzomyia longiflocosa* (83,1 %) y *Lu. columbiana* (7,5 %). Las fuentes sanguíneas identificadas fueron principalmente humanas (85 %). Se observó una alta prevalencia de infección por *L. (Viannia)* en *Lu. longiflocosa* recolectada en el intradomicilio (2,7 %) y en el peridomicilio (2,5 %). Se identificó el parásito *Leishmania (V) guyanensis*.

Conclusiones. Se confirma la transmisión doméstica por infección de *L. longiflocosa* con parásitos de *Leishmania (Viannia)* y por preferencia alimentaria de los humanos en las ingestiones sanguíneas en el período posepidémico en Chaparral.



***Lutzomyia longiflocosa* (Psychodidae, Phlebotominae) infectado naturalmente con *Leishmania* spp. en una región endémica de leishmaniasis tegumentaria americana**

Rocío Cárdenas¹, Reinaldo Gutiérrez², Olga Cabrera³, Erika Santamaría³, Holver Parada², Faustino Mendoza², Carlos Álvarez⁴

¹ Instituto Experimental "JWT" Universidad de los Andes, NURR, Venezuela

² INBIOM, Universidad de Pamplona, Colombia

³ Laboratorio de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Instituto Departamental de Salud Norte de Santander, Cúcuta, Colombia

Introducción. Norte de Santander, ubicado al norte de la cordillera oriental de los Andes, contiene 35 municipios con transmisión activa de leishmaniasis tegumentaria americana. El municipio de Ábrego (bosque húmedo premontano), se ha mantenido en alto y mediano riesgo epidemiológico desde el año 2003 hasta el 2008; en esta localidad también se ha registrado *Lutzomyia longiflocosa* como el flebótomo de mayor abundancia.

Metodología. Se hicieron recolecciones entomológicas utilizando trampas Shannon y CDC en el intradomicilio y extradomicilio de viviendas en las veredas de El Rosario, Los Asientos, El Potrero, Mata de Figue y Anicillos. Se realizaron montajes en láminas de vidrio de la genitalia y cabeza de los flebótomos hembra, para hacer la identificación

taxonómica según clave de Young y Duncan (1994). Con los machos se hicieron montajes del cuerpo completo. Para el diagnóstico de la infección, se aplicó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que amplifica una región conservada del minicírculo del cinetoplasto (kADN) del género *Leishmania* (HM1, HM2 y HM3).

Resultados. Se recolectaron 2.219 ejemplares que correspondieron a tres especies: *Lu. Longiflocosa* (90,64 %), *Lu. liché* y *Lu. dubitans*. Las veredas del Rosario (82,24 %) y Los Asientos (17,21 %) presentaron las mayores abundancias. La trampa Shannon en el extradomicilio fue el método más efectivo (87,38 %). Se analizaron por PCR 864 especímenes de las tres especies organizados en grupos. Se detectó un grupo de *Lu. longiflocosa* positivo para ADN de *Leishmania* sp. (infección, 0,12 %), procedente de la vereda Los Asientos y recolectado en el extradomicilio con trampa Shannon.

Conclusiones. En esta región de Colombia, *Lu. longiflocosa* se encuentra infectado naturalmente con *Leishmania* sp. y es el más probable vector de leishmaniasis tegumentaria americana.



Influence of *Leishmania infantum* in *Lutzomyia longipalpis*' intestinal pH

Vânia C. Santos, Cássio A. Nunes, Sydnei M. Silva, Ricardo N. Araujo, Marcos H. Pereira, Nelder F. Gontijo
Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte, Brasil

Introduction. *Leishmania* growth and development are markedly influenced by the pH in *in vitro* cultures and probably the same is truth for the parasite in the midgut of infected sandflies. Recently we measured the pH in non-infected *Lutzomyia longipalpis* after and during blood digestion. In non-infected sandflies, abdominal and thoracic midguts are kept acidic (pH 6.0). After blood ingestion, the pH was promptly alkalized to pH 8.1 in abdominal midgut. The aim of this study was to investigate if the presence of *Leishmania* could interfere in the midgut physiology changing the intestinal environment in order to favor its development.

Methods. The pH of the midgut of infected flebotomines was measured during blood digestion using H⁺-sensitive microelectrodes. The pH indicator dye bromothymol blue was used to measure the intestinal pH six days after the infective blood meal. The activity of trypsin, a digestive enzyme, and the time spent for the insects to complete the blood digestion were also investigated in infected and uninfected females.

Results. According to results, the pH in abdominal midguts remained more alkaline (pH 7.54) in non-infected females than in infected ones (pH 7.01). In infected insects, trypsin production was lowered by the presence of *Leishmania*. We also observed a higher proportion of intestines with digesting blood in infected females than in uninfected ones. After blood digestion, the pH was normally acidified in both infected and uninfected insects.

Conclusion. The set of data showed that the presence of *Leishmania* inside midgut is able to acidify the pH. This precocious pH decreases can explain the delay in blood digestion, because proteases' activity is diminished in more acidic pH. The delay in blood digestion could favor *Leishmania* development because blood proteins and other nutritive molecules would be present in contact with the parasite.

Supported by: FAPEMIG and CNPq.

• • •

Estandarización y evaluación de un protocolo basado en PCR para la detección de ADN del género *Lutzomyia* en sustratos de campo

Xiomara Mosquera, Carolina Torres, Carlos Muskus
Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Introducción. La leishmaniasis es una enfermedad transmitida por especies de insectos vectores, que afecta más de 300 millones de personas en 98 países y para la cual no existe una medida eficaz de control. Una de las medidas es el empleo de repelentes o toldillos para evitar la picadura por el

insecto vector. Sin embargo, ninguna medida de control se ha podido implementar contra los estadios inmaduros de *Lutzomyia* spp., por desconocerse los sitios exactos donde se desarrollan y por la dificultad que se presenta para el aislamiento de los mismos debido a su pequeño tamaño.

Objetivo. Este trabajo pretende identificar, mediante PCR y otras herramientas de análisis molecular, los sitios de cría utilizados por *Lutzomyia* spp. para el desarrollo de sus estadios inmaduros.

Materiales y métodos. Se seleccionaron y se tomaron 56 muestras de sustratos tales como hojarasca, suelo entre raíces de árboles, superficies rocosas, huecos en los árboles y cuevas. La extracción de ADN de las muestras se hizo con tres estuches comerciales y con fenol-cloroformo. El ADN purificado de diferentes estadios de *Lutzomyia* spp. mantenidas en el laboratorio se usó como control positivo de la PCR. La presencia del ADN de *Lutzomyia* spp. en los posibles sitios de cría se determinó por la amplificación de los genes *CO I* (750 pb) y *Cytb* (550 pb), y algunas muestras se secuenciaron.

Resultados. Se amplificó el fragmento de 750 pb del gen *CO I* en 7 de 56 (12,5 %) muestras de ADN obtenidas con el estuche comercial I, en 2 de 6 (33,33 %) muestras evaluadas con el estuche comercial II y en 11 de 38 (28,94 %) muestras procesadas con fenol-cloroformo. Los cromatogramas de las secuencias resultaron de baja calidad, por lo cual no se pudo confirmar la especie.

Conclusión. Los sustratos con PCR positivas podrían considerarse sitios potenciales de cría de los estadios inmaduros del género *Lutzomyia*.

• • •