

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

TÍTULO

**Ecología de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) y su
relación con la transmisión de Leishmaniasis en zonas
urbanas y rurales de la región del Chaco húmedo, Chaco,
Argentina.**

por

Lic. en Cs. Biológicas: Enrique Alejandro Szelag

Director: Oscar Daniel Salmón

Lugar de Trabajo

Instituto Nacional de Medicina Tropical

Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación en Endemo-Epidemias

Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Córdoba, Argentina

2015

COMISIÓN ASESORA

Dr. Oscar Daniel Salomón, Instituto Nacional de Medicina Tropical (InMET)

Dra. María Carla Cecere, Lab. Eco-Epidemiología, Depto. EGE, FCEN-UBA.

Dr. Walter Ricardo Almirón, Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba (IIByT-CONICET).

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

DEDICATORIA

“Con todo mi amor y respeto, para las personas que dieron todo en la vida para que pudiera lograr mis objetivos. Por motivarme, por apoyarme, por sufrir conmigo en los momentos difíciles, por darme la mano cuando tropezaba en el camino. Mis mejores maestros, mis modelos a seguir. A ustedes mi corazón y mi eterna gratitud, esta tesis se las dedico a ustedes:”

A Mamá, Laura Saucedo y Papá, Enrique Szelag

“Por haberme acompañado todos estos años, por darme tu paciencia, tu amor, tus mejores momentos. Por haber sacrificado tu tiempo para que yo pueda cumplir con el mío. Por haber soportado tantos días y noches lejos, por haber entendido mi ausencia; Por haber estado siempre presente en las alegrías y en las tristezas. Por haberme tranquilizado con un abrazo, por haber llorado conmigo. A mi mejor amiga, a mi compañera del alma, a mi refugio en las tormentas.

A mi amor, Anabella

“A quienes siempre estuvieron para darme su ayuda cuando fue necesario, sin preguntar cómo ni dónde. Por haberme hecho reír cuando estaba cansado y triste, a mi familia:”

A mi hermano, Darío y a José Luis.

“A mis compañeros, mentores y amigos. Este es el fruto de su esfuerzo, su dedicación y apoyo incondicional. Por haber sacrificado su tiempo, por haber sufrido conmigo. Esta tesis es de ustedes y para ustedes.

A Juan Rosa, Matías Parras, Gabriela Quintana y Daniel Salomón

AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Walter Almirón y a la Dra. Carla Cecere, miembros de la comisión asesora, por haberme guiado y acompañado a lo largo de cada una de las etapas de realización de ésta tesis.
- Al Dr. Andrés Visintin por guiarme y asistirme durante la última etapa de esta tesis.
- Al CENDIE-ANLIS- Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación y en Endemo Epidemias, Ministerio de Salud de la Nación.
- Al INMeT: Instituto Nacional de Medicina Tropical, Ministerio de Salud de la Nación. : Dra. María Gabriela Quintana, Dr. Oscar Daniel Salomón.
- Al IMR: Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste. : Md. Juan Ramón Rosa, Lic. Matías Ariel Parras.
- A la Dirección de epidemiología, Ministerio de Salud Pública de la provincia del Chaco.
- A la Unidad de Epidemiología, Hospital Dr. Julio C. Perrando, Ministerio de Salud Pública de la Provincia del Chaco, Argentina: Dra. Mariela Fabiani.
- A la Estación meteorológica, INTA – Colonia Benítez.
- A la Estación meteorológica, departamento de Hidraulica, Universidad Nacional del Nordeste.
- Al Dispensario Dermatológico “Juan Mauel Gimenez”, Ministerio de Salud de la provincia del Chaco.
- Al Dr. Arnaldo Mangeaud y David Elias de la Universidad Nacional de Córdoba

LISTADO DE PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

- Incipient colonisation of *Lutzomyia longipalpis* in the city of Resistencia, province of Chaco, Argentina (2010-2012). Enrique Alejandro Szelag, Matías Ariel Parras, Mariela Fabiani, Juan Ramón Rosa, Oscar Daniel Salomón. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2014, vol.109, n.4 , pp. 488-491, June 2014 . ISSN 0074-0276.

ÍNDICE

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	1
ABREVIATURAS.....	5
RESUMEN.....	6
SUMMARY.....	7
<u>CAPITULO I – INTRODUCCIÓN GENERAL</u>	8
1.1 INTRODUCCION.....	9
1.1.1 Leishmaniasis Tegumentaria en Argentina.....	20
1.1.2 Leishmaniasis Visceral en Argentina.....	21
1.2 HIPÓTESIS.....	25
1.2.1 Hipótesis general.....	25
1.2.2 Hipótesis específicas.....	25
1.3 OBJETIVOS.....	26
1.3.1 Objetivo general.....	26
1.3.2 Objetivos específicos.....	26
<u>CAPITULO II – METODOLOGÍA GENERAL</u>	27
2.1 DESCRIPCIÓN DE ÁREA DE ESTUDIO.....	28
2.2 METODOLOGÍA DE COLECTA E IDENTIFICACIÓN DE PHLEBOTOMINAE.....	31

<u>CAPITULO III – DISTRIBUCIÓN Y ABUNDANCIA DE</u>	
<u>PHLEBOTOMINAE EN LOCALIDADES DE LA</u>	
<u>BIOREGIÓN CHAQUEÑA ORIENTAL.....</u>	33
3.1 INTRODUCCIÓN.....	34
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
3.2.1 Área de estudio.....	36
3.2.2 Captura de Phlebotominae.....	37
3.2.3 Registros de factores meteorológicos	37
3.2.4 Determinación de Infección Natural.....	38
3.2.5 Procesamiento e identificación de Phlebotominae.....	38
3.2.6 Análisis de Resultados.....	39
3.3 RESULTADOS.....	42
3.4 DISCUSIÓN.....	52
<u>CAPITULO IV – ECOLOGÍA DE PHLEBOTOMIAE EN</u>	
<u>AMBIENTES PERIURBANOS-RURALES.....</u>	59
4.1 INTRODUCCIÓN.....	60
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	62
4.2.1 Área de Estudio.....	62
4.2.2 Área Monte Alto.....	62
4.2.3 Área Margarita Belén.....	63
4.2.4 Captura de Phlebotominae en áreas periurbanas-rurales.....	64
4.2.5 Procesamiento y determinación de especies de Phlebotominae.....	64
4.2.6 Obtención de Registros Meteorológicos.....	65
4.2.7 Análisis de los resultados.....	65
4.3 RESULTADOS.....	70

4.4 DISCUSIÓN	88
---------------------	----

CAPÍTULO V – FAUNA FLEBOTOMÍNICA EN AMBIENTES URBANOS

Y DISPERSIÓN DE *L. LONGIPALPIS*

EN LA PROVINCIA DEL CHACO..... 96

5.1 INTRODUCCIÓN.....	97
-----------------------	----

5.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	98
-------------------------------	----

5.2.1 Área de Estudio.....	98
----------------------------	----

5.2.2 Captura de Phlebotominae en Ambientes Urbanos.....	99
--	----

5.3 RESULTADOS.....	103
---------------------	-----

5.4 DISCUSIÓN.....	107
--------------------	-----

CAPÍTULO VI – CONCLUSIONES GENERALES..... 111

6.1 CONCLUSIONES GENERALES.....	112
---------------------------------	-----

6.2 RECOMENDACIONES.....	121
--------------------------	-----

6.3 LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN.....	123
--	-----

<u>BIBLIOGRAFÍA.....</u>	124
---------------------------------	-----

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	Pág.
Fig. 1: Estados del ciclo Biológico de Phlebotominae.	11
Fig. 2: Phlebotominae adulto.	12
Fig. 3: Ciclo de <i>Leishmania</i> sp.	16
Fig. 4: Distribución geográfica de Leishmaniasis Visceral en el mundo.	17
Fig. 5: Distribución geográfica de Leishmaniasis Mucocutánea en América.	17
Fig.6: Distribución de especies de <i>Leishmania</i> en las Américas, 2009.	19
Fig. 7: Imágenes satelitales, marcando los puntos de estudio en la provincia del Chaco, Argentina.	40
Fig. 8: Imágenes de los sitios de muestreo, representando los diferentes ecotopos.	41
Fig. 9: Abundancia mensual del total capturado en la región Chaqueña para A) <i>Migonemyia migonei</i> B) <i>Nyssomyia neivai</i> C) complejo <i>cortelezzii</i> y variación de temperatura media mensual, humedad relativa media mensual y precipitaciones mensuales acumuladas. Chaco, Argentina. Período octubre 2010- septiembre 2012.	47
Fig. 10: Abundancia mensual del total capturado en la región Chaqueña, para A) <i>Migonemyia migonei</i> B) <i>Nyssomyia neivai</i> C) complejo <i>cortelezzii</i> . Se marca con línea interrumpida, el promedio de captura para los dos años de muestreo; y con línea de puntos desvío estándar. Período octubre 2010- septiembre 2012; Chaco, Argentina.	48
Fig. 11: Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según localidades y ecotopos, en el período octubre 2010 a septiembre 2012. Chaco, Argentina	49
Fig. 12: Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según localidades, ecotopos y años de muestreo. Chaco, Argentina.	49
Fig. 13: Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según localidades, ecotopos y años; coloreado por ecotopo	50

Fig. 14: Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según localidades, ecotopos y años; coloreado por Año 1: octubre 2010- septiembre 2011, y año 2: octubre 2011- septiembre 2012. Chaco, Argentina.	50
Fig. 15: Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según localidades, ecotopos y años; coloreado según localidad. Período octubre 2010 a septiembre 2012. Chaco, Argentina.	51
Fig. 16: Imagen satelital mostrando la ubicación de las áreas y sitios de estudio. Chaco, Argentina; enero-diciembre 2013.	68
Fig. 17: Imágenes satelitales de los distintos sitios de Estudio, mostrando en cada uno la posición de intradomicilio (INT), peridomicilio (PER), extradomicilio (EXT).	69
Fig. 18: Abundancia total de Phlebotominae por sitio de captura, durante el período enero – diciembre 2013, Chaco, Argentina	78
Fig. 19: Perfiles de diversidad para los resultados obtenidos en el periodo enero – diciembre 2013, en los sitios de captura en Margarita Belén (A) y Monte Alto (B). Chaco	79
Fig. 20: Perfiles de diversidad para los resultados obtenidos en el periodo enero – diciembre 2013, en los distintos ecotopos estudiados. Chaco, Argentina	80
Fig. 21: Clasificación de las especies de Phlebotominae capturados durante el período enero – diciembre 2013, en función de la abundancia por ecotopos: intradomicilio, extradomicilio o peridomicilio; de las localidades de Monte Alto y Margarita Belén. Chaco, Argentina	81
Fig. 22: Clasificación de ecotopos: intradomicilio, peridomicilio y extradomicilio, de las localidades Monte Alto y Margarita Belén; en función de abundancia por especie de Phlebotominae capturados durante el período enero-diciembre 2013; Chaco, Argentina.	82
Fig. 23: Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según Sitios de muestreo dentro de las localidades; en el período enero, diciembre 2013. Chaco, Argentina.	83
Fig. 24: Distribución estacional de abundancia total de Phlebotominae capturados en la región de estudio, durante el período enero – diciembre 2013, Chaco, Argentina	84
Fig. 25: Promedio de abundancia mensual de <i>Ny. neivai</i> (A) y <i>Mg. migonei</i> (B) capturados en el período enero- diciembre 2013 y asociación con variables climáticas promedio mensual. Chaco, Argentina.	85

Fig. 26: Promedio de abundancia mensual de <i>Ny. neivai</i> (A, B) y <i>Mg. migonei</i> (C, D) capturados en el período enero - diciembre 2013 y asociación con variables meteorológicas promedio mensual en la región de Monte Alto (A, C) y Margarita Belén (B, D). Chaco, Argentina	86
Fig. 27: Promedio de abundancia mensual de los sitios de muestreo, por ecotopo, en cada área de estudio, de <i>Ny. neivai</i> (A- B) y <i>Mg. migonei</i> (C-D) en Monte Alto (A-C) y Margarita Belén (B-D) durante el período enero - diciembre 2013, Chaco, Argentina	87
Fig. 28: Mapa mostrando la ubicación de los puntos de muestreo urbano, en la provincia del Chaco, durante los años 2010 a 2012. Chaco, Argentina.	101
Fig. 29: Imágenes los sitios muestreos urbano, ejemplificando los ambientes seleccionados para los muestreos realizados durante los años 2010 a 2012. Chaco, Argentina.	102
Fig. 30: Imágenes satelitales mostrando los resultados de las trampas instaladas en los ambientes urbanos, durante los años 2010 a 2012. Chaco, Argentina.	105
Fig. 31: Imagen satelital mostrando los resultados de las trampas instaladas en la ciudad de Resistencia, durante los años 2010 a 2012. Chaco, Argentina	106

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA Nº	TÍTULO	Pág.
TABLA I	Especies de Phlebotominae por provincias argentinas, publicadas hasta 2013	15
TABLA II	Distribución de abundancia de especies, e índices de diversidad y equidad, por sitio de captura y ecotopo. Período octubre 2010– septiembre 2012. Chaco Argentina	45
TABLA III	Variación estacional de la abundancia de Phlebotominae, octubre 2010- septiembre 2012, Chaco, Argentina.	46
TABLA IV	Índice de correlación de Spearman para la abundancia de Phlebotominae según especie, y variables meteorológica promedio mensual obtenida de estaciones meteorológicas(A), y registros puntuales durante las capturas obtenidas con termo higrómetro digital (B)	46
TABLA V	Número de insectos (Phlebotominae) disecados, por sitio de estudio y especie. Octubre 2010- septiembre 2012, Chaco, Argentina.	46
TABLA VI	Distribución de abundancia y razón de sexos en Monte Alto y Margarita Belén, Chaco, Argentina, durante el período enero-diciembre 2013.	75
TABLA VII	Distribución de abundancia por especie y sitios de captura en Monte Alto y Margarita Belén, Chaco, Argentina e índices de riqueza específica, diversidad de Shannon-Wiener y equitatividad de Pielou durante el período enero, diciembre 2013.	76
TABLA VIII	Distribución de abundancia total por especie y ecotopo en Monte Alto y Margarita Belén, Chaco, Argentina e índices de riqueza específica, diversidad de Shannon-Wiener y equitatividad de Pielou durante el período enero-diciembre 2013.	77
TABLA IX	Resultados del índice de correlación de Spearman para la abundancia promedio de Phlebotominae capturados y registros meteorológicos del mismo mes (LAG=0) y del mes anterior a la captura (LAG = -1). Período, enero – diciembre 2013. Chaco, Argentina.	78
TABLA X	Abundancia de especies de Phlebotominae (hembras / machos) capturados por localidad, en zonas urbanas de la Provincia de Chaco, Argentina. Período noviembre de 2010 a mayo de 2012	104

ABREVIATURAS

- °C: Grados Centígrados.
- **CDC**: Center of Disease Control
- **CB**: Área de Estudio, localidad de Colonia Benítez
- **EXT**: Extradomicilio
- **Fig.**: Figura
- **H'**: Índice de diversidad de Shannon – Wiener
- **HR**: Humedad Relativa ambiente
- **INT**: Intradomicilio
- **J'**: Índice de equitatividad de Pielou
- **Km**: Kilómetros.
- **LC**: Leishmaniasis Cutánea.
- **LO**: Longitud Oeste
- **LS**: Latitud Sur
- **LT**: Leishmaniasis Tegumentaria
- **LV**: Leishmaniasis Visceral.
- **MA**: Área de Estudio, localidad de Monte Alto
- **MB**: Área de Estudio, localidad de Margarita Belén
- **MC**: Leishmaniasis Mucocutánea.
- **mm**: milímetros
- **mts**: metros
- **PER**: Peridomicilio
- **Phl /Tr**: Phlebotominae capturados por trampa
- **PNL**: Programa Nacional de Leishmaniasis.
- **rs**: Índice de correlación de Spearman
- **S**: Riqueza específica
- **SINAVE** : Sistema nacional de Vigilancia Epidemiológica
- **WHO**: World Health Organisation.
- χ^2 : Chi-cuadrado

RESUMEN

La Leishmaniasis es producida por un protozoario del genero *Leishmania* y transmitida por un insecto de la Sub-familia Phlebotominae. Es considerada endémica en provincias del norte de Argentina. Este trabajo tiene por objeto identificar la variación espacio-temporal de la abundancia y diversidad de Phlebotominae y su relación a la transmisión de la enfermedad en la región Chaqueña Oriental. Se desarrollaron capturas con trampas de luz, en ambientes con distinto grado de modificación antrópica, comparando distintas escalas de análisis espacial. Se registraron 12 especies de Phlebotominae, siendo *Nyssomyia neivai* la especie predominante en los ambientes estudiados; se observó que las especies pueden mostrar variación en su abundancia y distribución en todas las escalas a lo largo del año. Se determinó que los ambientes urbanos presentan la menor abundancia y riqueza específica; los ambientes rurales con mayor modificación antrópica presentan mayor abundancia de vectores y menor diversidad. La correlación con factores meteorológicos mostró que la temperatura podría ser un factor crítico limitante de la abundancia de poblaciones. En conclusión, la presencia de especies incriminadas en la transmisión de la Leishmaniasis en ambientes próximos al domicilio y su aumento de abundancia durante meses cálidos y templados, significaría un factor de riesgo para la transmisión de Leishmaniasis en la región.

SUMMARY

The Leishmaniasis is caused by a protozoan of the genus *Leishmania*, and transmitted by an insect of the Phlebotominae Sub-family. Is considered endemic in the northern provinces of Argentina. The aim of this study is to identify the variation in space and time of the abundance and diversity of Phlebotominae fauna, and its relationship to disease transmission in the Oriental Chaco region. Therefore captures were took place, with CDC light traps, installed in environments with different degrees of anthropogenic changes. Twelve species of Phlebotominae were recorded, being *Nyssomyia neivai*, the predominant species in the studied environments. It was observed that the species can show variation in their abundance and distribution at different scales throughout the year. It also was determined that urban environments have the lowest Phlebotominae abundance and species richness. Rural environments with higher human modification have greater vectors abundance and lower diversity. The correlation with meteorological variables showed that the temperature might be a critical factor limiting population abundance. In conclusion, the presence of species incriminated in the transmission of Leishmaniasis in environments close to dwellings, and its abundance increase during warm and temperate months, would represent a risk factor for Leishmaniasis transmission in the study region.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 INTRODUCCIÓN

Los flebótomos son dípteros nematóceros de la Familia Psychodidae, Subfamilia Phlebotominae. Son insectos cuyas hembras son hematófagos y su picadura es el medio de transmisión de parásitos Tripanosomatídeos, bacterias y virus que pueden afectar al hombre y los animales, como la Leishmaniasis, Bartonelosis, Arbovirosis (WHO, 2010).

Los Phlebotominae son insectos holometábolos (de metamorfosis completa), es decir que evolucionan por cuatro estados biológicos: huevo, larvas con cuatro estadios detritívoros, pupa y adultos con dimorfismo sexual (**Fig. 1**). El ciclo biológico se desarrolla en diferentes hábitats terrestres describiéndose áreas de criaderos naturales en distintos tipos de ambientes silvestres, e incluso en torno a la vivienda humana en el extradomicilio y peridomicilio (Forattini, 1973). En ensayos experimentales se observó que las óptimas condiciones de temperatura y humedad relativa ambiente serían de 24 a 26°C, y de 80% a 90%, respectivamente, aunque esto puede variar según la especie. En esas mismas condiciones el ciclo de vida del artrópodo se desarrollaría en un promedio de 60 días (Brazil & Brazil, 2003).

Los adultos miden en promedio 4mm de longitud, y a pesar de su pequeño tamaño, son relativamente fáciles de reconocer por su cuerpo totalmente recubierto de setas (que se asemejan a pelos) y las alas erectas adoptan la forma de una letra “V” (**Fig. 2**), recibiendo diferentes nombres populares según las regiones geográficas. En Argentina, en la mayoría de las regiones no tienen nombre propio, salvo el genérico de “mosquita”. En otras, en cambio, se las reconocen como “torito”, “plumilla”, y por influencia de la cultura guaraní, como “carachai”, “mbarigüi”, aunque deberían diferenciarse de simúlidos (Fam.: Simuliidae) y ceratopogónidos (Fam.: Ceratopogonidae) cuyos ciclos de vida son diferentes de los flebótomos. (Salomón, 2005).

Ambos sexos se diferencian morfológicamente por la probóscide, más larga en las hembras y con una serie de estructuras adaptadas para picar y chupar. Los últimos segmentos abdominales en los machos se modifican para constituir la genitalia o terminalia, que son apéndices bien desarrollados y ornamentados (de valor taxonómico). En las hembras los últimos segmentos abdominales son discretos y se disponen de manera telescópica confiriéndoles una genitalita de aspecto redondeado (**Fig. 1-2**). Su dimorfismo

sexual no solo se manifiesta en las diferencias morfológicas, sino también por el comportamiento alimentario que se expresa en la hematofagia, exclusiva de las hembras (Brazil & Brazil, 2003).

Tanto hembras como machos necesitan de carbohidratos como fuente de energía para la actividad de vuelo, apareamiento y ovipostura (en las hembras), además de garantizar la supervivencia. En la naturaleza las principales fuentes de carbohidratos son usualmente las provenientes de la savia de plantas y de excreciones azucaradas de áfidos u otros homópteros. Los azúcares no solo son importantes para los flebótomos, sino que también revisten de importancia en el desarrollo e infectividad de los parásitos de *Leishmania*, los cuales parecerían multiplicarse con mayor facilidad en el tracto digestivo de los flebótomos en presencia de azúcares. A su vez, se observó que los azúcares cumplen un importante rol como bacteriostático, regulando la flora intestinal del insecto (Brazil & Brazil, 2003).

Como en otros dípteros hematófagos, en los Phlebotominae la ingesta de sangre es necesaria para el desarrollo del ciclo ovárico siendo el número de huevos producidos directamente proporcional a la cantidad de sangre ingerida (Ready, 1979). Aun así, el fenómeno de autogenia, se observó en algunas especies como *Phlebotomus papatasi*, *Lutzomyia gomesi* y *Lutzomyia cruciata* (Forattini, 1973).

El repasto sanguíneo, puede ocurrir 24 hs después de la eclosión del adulto; sin embargo, algunos estudios llevados a cabo en condiciones experimentales, observaron que la mayoría de las hembras se alimentan después de las 48 hs. Esto podría estar asociado al periodo de endurecimiento de las glándulas salivales y de las piezas bucales (Brazil & Brazil, 2003).

El tiempo de succión para el repasto sanguíneo en flebótomos que se alimentan de vertebrados de sangre caliente es variable, entre 1 a 5 minutos, mientras que los flebótomos que se alimentan de animales de sangre fría, puede ser más lento; su vez, la cantidad de sangre ingerida, varía individualmente y según la especie, siendo de manera general, proporcional al peso del insecto (Chaniotis, 1967). Los huevos son delgados de 300 a 500 micras de longitud por 70 a 150 micras de ancho según las especies, de color blanco al principio para tomar finalmente el color marrón oscuro o negro característico como resultado de la oxidación del corion. El exocorion, presenta elevaciones y depresiones, lo

que les confiere aspecto característico en diferentes especies, sin que se pueda hasta el momento, inferir importancia taxonómica. (Forattini 1973; Brazil & Brazil, 2003).

Según observaciones experimentales, las hembras pueden depositar los huevos individualmente sobre el sustrato orgánico o en grupos de 40 a 70 huevos, según la especie. Éstos son adheridos al sustrato gracias a una sustancia producida por las glándulas accesorias rica en ácidos grasos, que recubre a los huevos y es responsable de la impermeabilización al agua e incluso puede actuar como feromona de oviposición (Brazil & Brazil, 2003).

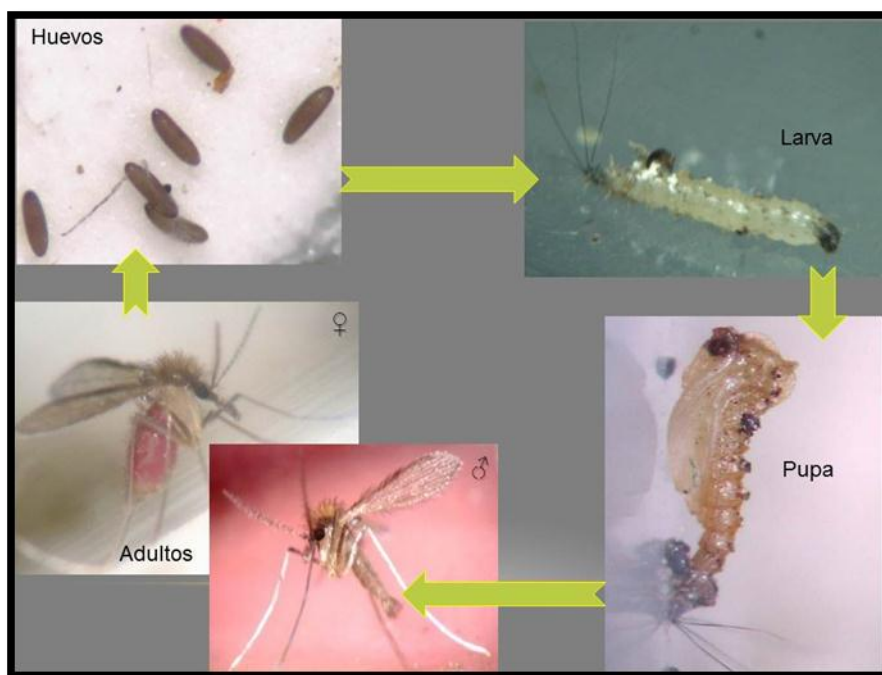


Fig. 1: Estados del ciclo biológico de Phlebotominae. Fuente: Imágenes propias, colonia experimental de Phlebotominae, Instituto de Medicina Regional (IMR), Universidad Nacional del Nordeste (UNNE).

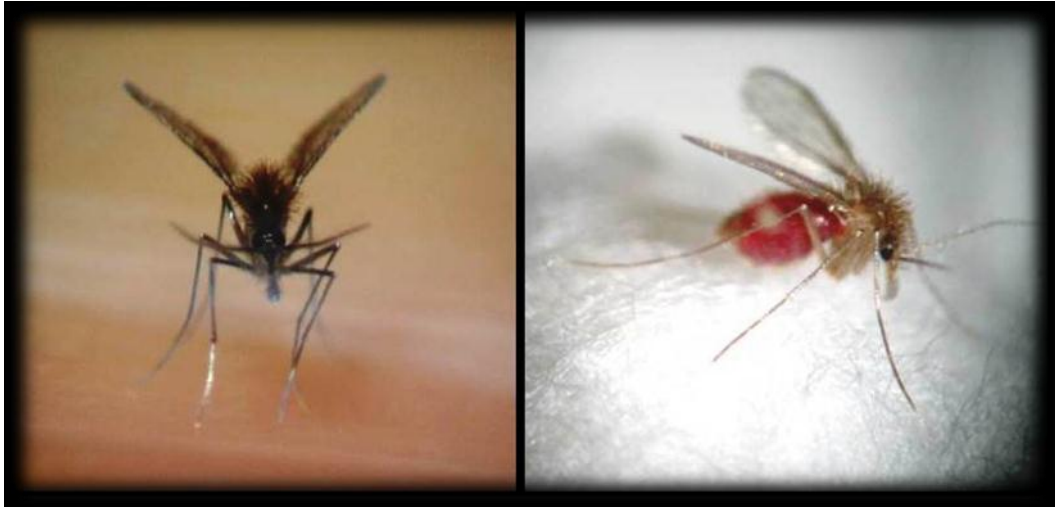


Fig. 2: Phlebotominae adulto. Izquierda: macho; Derecha: hembra post-ingesta sanguínea
(*Imágenes propias, colonia experimental de Phlebotominae, IMR- UNNE*)

Las formas larvales son pequeñas, blancas y de aspecto vermiforme, su cuerpo está constituido por una cabeza y 12 segmentos posteriores, de los cuales tres corresponden al tórax y nueve al abdomen. Posterior a la eclosión, las larvas se alimentan de los restos de corion de los huevos, de los cuerpos de los adultos muertos y de otras sustancias orgánicas disponibles (Brazil & Brazil, 2003).

La pupa, es de color blancuzco - amarillento, oscureciéndose progresivamente a medida que se aproxima la eclosión del adulto. Está compuesta por 13 segmentos: los cuatro primeros, más o menos fusionados forman el cefalotórax; los nueve restantes, bien individualizados, constituyen el abdomen. Los segmentos abdominales son bastante uniformes, con excepción del octavo y noveno, que son modificados y recubiertos por la exuvia del cuarto estadio larval. Las pupas son inmóviles, fijadas al sustrato a través de la exuvia larval, solamente realizan movimientos de flexión y extensión del cuerpo (Brazil & Brazil, 2003).

Los estadios larvarios de los flebotomos, necesitan un sustrato húmedo con material orgánico en descomposición, como pueden ser el humus y las hojas caídas que cubren la superficie del suelo forestal. No obstante, los ambientes domésticos, se ven invadidos cuando el humano modifica el hábitat natural de estos dípteros, convirtiéndose en lugares para el reposo, la alimentación sanguínea y la oviposición. (Salomón, 1999; Rangel &

Lainson, 2003). En estas situaciones, los flebotomos pueden desarrollarse en ambientes sinantrópicos donde las condiciones sean las apropiadas, como en los ambientes del domicilio (paredes y suelo de barro o material orgánico en permanente humedad), y en el peridomicilio (corrales de vacas, caballos, y ovinos en general, en porquerizas, y sitios de reposo de aves de corral y caniles) (Forattini, 1973; Brazil & Brazil, 2003).

Barreto (1943), de acuerdo a su hábitat, clasificó a las especies de flebotominos en tres categorías: silvestres, peridomésticas y domiciliarias. Las primeras son las que viven en las selvas o en regiones no forestales y por ende solo accidentalmente son halladas asociadas al hombre o a animales domésticos y semi-domésticos. Las especies peridomésticas, son aquellas que viven afuera de las habitaciones de humanos y animales domésticos, solamente procurándolos en busca de repasto sanguíneo. Las domiciliarias, son las que viven asociadas al hombre y a los animales domésticos, en el interior de las habitaciones o próximas a ellas.

Los tipos de refugio utilizados por los flebotominos adultos, varían de acuerdo al microhábitat, estación del año, humedad relativa del aire y a la especie. Debido a su revestimiento delgado, buscan resguardarse en lugares que le permitan protegerse de los cambios bruscos del ambiente y de la desecación. Estos sitios, presentan un buen tenor de humedad, materia orgánica en descomposición, poca o ninguna luminosidad y poco movimiento de aire (Marins de Aguiar & Muniz de Medeiros, 2003).

Trabajos realizados en la selva de Venezuela, para determinar los factores microclimáticos que serían importantes en los refugios de flebotominos, concluyeron que, éstos mantienen una mayor temperatura y humedad del aire con respecto al ambiente exterior durante la estación seca, e incluso durante la estación lluviosa. A su vez, se observó que mientras los cambios de temperatura se dan de forma gradual, el aumento de la humedad relativa se da de forma brusca. De esta manera, mientras que la temperatura se mantiene estable todo el año, la humedad relativa sufre acentuadas alteraciones, lo que provocaría la aparición de los flebotominos. La supervivencia de los estados inmaduros en estos biotopos durante la estación seca, provoca que durante las primeras lluvias ocurra un aumento de la humedad y en consecuencia la emergencia del adulto (Scorza et al., 1968a-b).

Los troncos de árboles y madrigueras de animales silvestres representan los refugios más buscados por los flebotominos silvestres. Sin embargo, las especies que invaden las casas para obtener el repasto sanguíneo, pueden refugiarse ocasionalmente en las paredes internas del domicilio por un cierto período, pero dejan estos lugares para completar la digestión en sus refugios, que pueden encontrarse en los corrales de animales domésticos, áreas próximas al domicilio (áreas cultivadas), o incluso, en bosques residuales próximos a las casas (Marins de Aguiar & Muniz de Medeiros, 2003).

Los criaderos naturales son extremadamente difíciles de ser encontrados. Para los flebotominos neotropicales, los datos son escasos e incluso en los lugares considerados como criaderos, el número de formas inmaduras es bastante bajo (Brazil & Brazil, 2003).

En la Argentina, las observaciones publicadas por Parras et al. (2012) constituyen hasta el presente el único antecedente orientado a identificar los probables criaderos naturales de flebotomos en el país. Ese estudio desarrollado en la provincia del Chaco, identificó dos sitios como probables criaderos naturales: en la base de bromelias, en el área selvática (Localidad de Pampa del Indio – Chaco Seco) y el sitio de reposo de canes, en el peridomicilio de una vivienda de la región de Chaco húmedo.

En el mundo son conocidas aproximadamente 800 especies de flebotominos, de las cuales el 60% se encuentran en la región Neotropical (Marins de Aguiar & Muniz de Medeiros, 2003).

Ampliamente distribuidos en América, los flebotominos son registrados desde el norte de México hasta el centro de Argentina. Se conocen aproximadamente 500 especies de Phlebotominae en América, de las cuales se considera que al menos 40 participan en la transmisión de la leishmaniasis (Young & Dunkan, 1994).

En Argentina se registraron hasta la fecha 30 especies de Phlebotominae, distribuidas en 14 provincias (**TABLA I**), de las cuales, *Lutzomyia longipalpis*, *Nyssomyia neivai*, *Ny. whitmani*, complejo *cortelezzii* (*Evandromyia cortelezzii* – *Ev. sallesi*) y *Micropygomyia quinquefer* fueron halladas naturalmente infectadas con parásitos del género *Leishmania* en el país (Córdoba Lanús et al., 2006; Salomón et al., 2009b; Acardi et al., 2010; Rosa et al., 2012).

TABLA I: Especies de Phlebotominae por provincias argentinas, publicadas hasta 2013 (Salomón et al., 2006b, 2010b, 2011a-b; Quintana et al., 2012; Fernández et al., 2012; Gómez Bravo et al., 2013) *Referencias históricas, previas a 1950.

nº	Especies	Buenos Aires	Catamarca	Chaco	Córdoba	Corrientes	Entre Ríos	Formosa	Jujuy	Misiones	Río Negro	Salta	Santiago del Estero	Santa Fe	Tucumán
1	<i>Brumptomyia avellari</i>			X		X				X					
2	<i>Brumptomyia brumpti</i>			X						X					
3	<i>Brumptomyia guimaraesi</i>					X		X	X	X		X			
4	<i>Brumptomyia pintoii</i>									X			X		X
5	<i>Evandromyia evandroi</i>									X					
6	<i>Evandromyia cortelezzi</i>	X*		X		X		X	X	X		X	X	X	X
7	<i>Evandromyia sallesi</i>			X		X									
8	<i>Lutzomyia longipalpis</i>			X		X	X	X		X		X			
9	<i>Martinsmyia alphabetica</i>									X					
10	<i>Micropygomyia oswaldoi</i>									X					
11	<i>Micropygomyia peresi</i>			X											
12	<i>Micropygomyia quinquefer</i>			X						X		X			
13	<i>Migonemyia migonei</i>		X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X
14	<i>Nysomyia neivai</i>		X	X		X	X	X	X	X		X	X	X	X
15	<i>Nysomyia withmani</i>					X				X					X
16	<i>Oligodontomyia</i> sp.										X				
17	<i>Pintomyia bianchigalatiae</i>									X					
18	<i>Pintomyia damascenoi</i>									X					
19	<i>Pintomyia fischeri</i>					X				X					
20	<i>Pintomyia misionensis</i>					X				X					
21	<i>Pintomyia monticola</i>					X				X					
22	<i>Pintomyia pessoai</i>			X		X				X					
23	<i>Pintomyia torresi</i>			X											
24	<i>Psathyromyia lanei</i>									X					
25	<i>Psathyromyia pascalei</i>									X					
26	<i>Psathyromyia punctigeniculata</i>									X	X				
27	<i>Psathyromyia shannoni</i>			X					X			X			X
28	<i>Sciopemyia sordellii</i>			X*						X					
29	<i>Expapillata firmatoi</i>									X					
30	<i>Trichophoromyia auraensis</i>									X*					

Las leishmaniasis son enfermedades zoonóticas parasitarias, producidas por parásitos tripanosomatídeos intracelulares obligados, del género *Leishmania* y transmitidos por la picadura de las hembras de los Phlebotominae (**Fig. 3**). Sus tres manifestaciones clínicas: Visceral (LV), Cutánea (LC) y Mucocutánea (MC), siendo las dos últimas denominadas en conjunto como Leishmaniasis Tegumentaria (LT), son producidas por especies distintas de *Leishmania*, pudiendo algunas especies causar más de una manifestación clínica (Pimenta et al., 2003).

Mundialmente distribuida, estas enfermedades son endémicas en 98 países o territorios, con más de 350 millones de personas en riesgo, comprendidos en las áreas de climas tropicales y sub-tropicales (**Fig. 4-5**), constituyendo un serio problema para la salud pública en muchos de los países con transmisión activa (WHO, 2010).

Se estimó una incidencia de 2 millones de nuevos casos humanos anuales, 0,5 millones de Leishmaniasis Visceral y 1,5 millones de Leishmaniasis Cutánea. Se estima también, que la LV produce 50 000 muertes anuales, posicionando a la Leishmaniasis en novena posición, en un análisis global de enfermedades infecciosas (WHO, 2010).

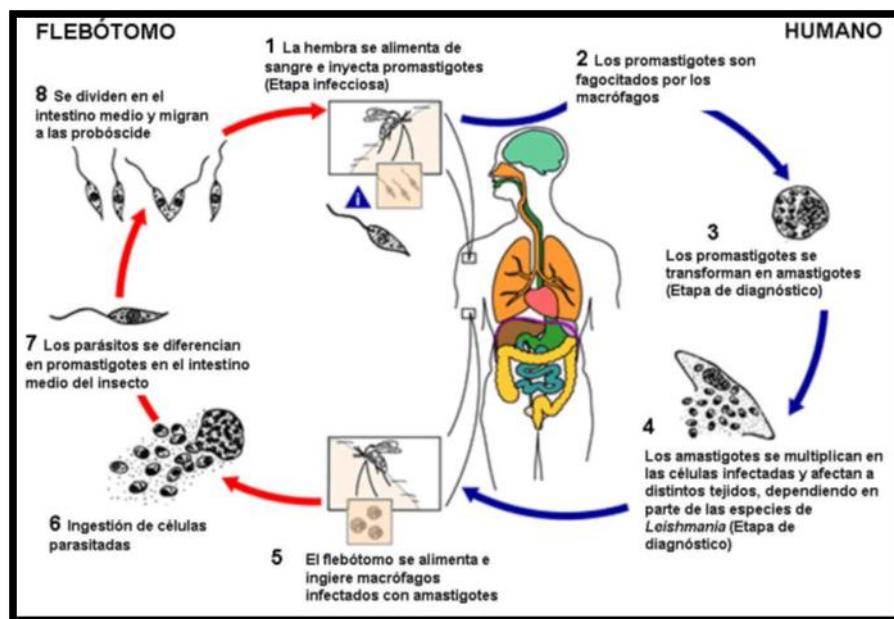


Fig. 3: Ciclo de *Leishmania* sp. : Fuente: modificado de [http:// www.dpd.cdc.gov/dpdx](http://www.dpd.cdc.gov/dpdx), por Quintana M.G.

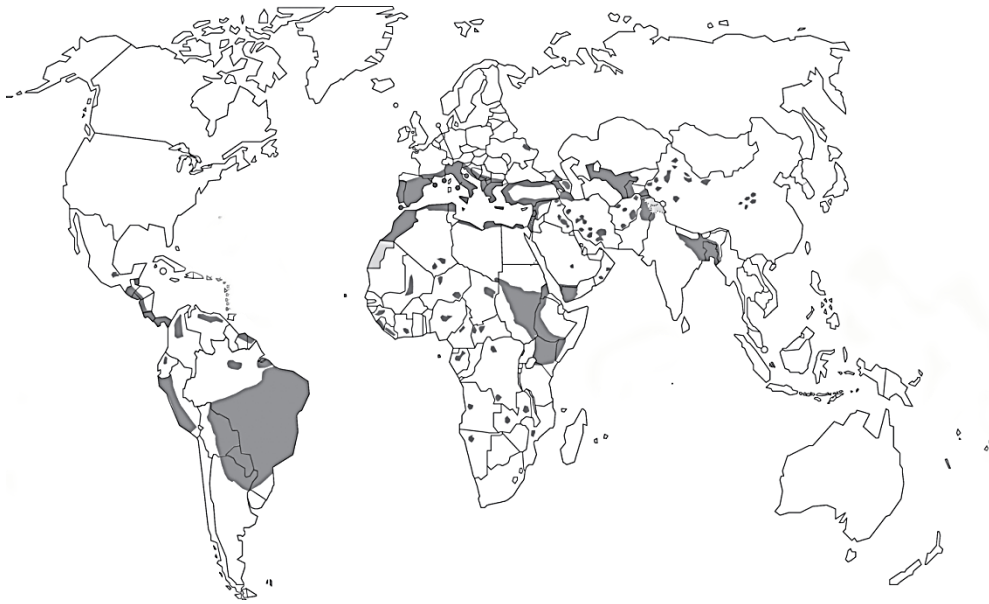


Fig. 4: Distribución geográfica de Leishmaniasis Visceral en el mundo. Fuente: modificado a partir de WHO (2010)



Fig. 5: Distribución geográfica de Leishmaniasis Mucocutánea en América. Fuente: modificado a partir de WHO (2010)

Tanto la LT como la LV, son enfermedades que producen un alto costo social ya que los pacientes que no reciben tratamiento adecuado pueden tener lesiones mutilantes que afectan su vida social y su capacidad productiva, e incluso en el caso de la LV provocar la muerte del paciente si no es tratada a tiempo (PAHO, 2007).

En la LT, a nivel comunitario, el impacto de la enfermedad se relaciona con el riesgo asociado al trabajo formal de subsistencia y los planes de desarrollo. Por último sólo en costos directos, la droga para la quimioterapia, durante el brote 1997-1998 de LT, significó una erogación para el sistema de salud nacional de más de 100 000 U\$S (Quintana, 2010).

Hasta el presente se identificaron 22 especies patógenas de *Leishmania*, de las cuales 15 fueron registradas en América (**Fig. 6**). En Argentina se caracterizaron cinco especies de *Leishmania* a partir de casos humanos: *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*, *Le. (Leishmania) amazonensis*, *Le. (V.) guyanensis* y *Le. (V.) panamensis* asociados a leishmaniasis tegumentaria; y *Le. (L.) infantum* (syn. *Leishmania chagasi*) asociado a la leishmaniasis visceral (Salomón et al., 2008c; Locatelli et al., 2014).

En Argentina, el reservorio de *Le. braziliensis* aún no fue identificado debido a que ninguno de los animales hallados naturalmente infectados con el parásito (caballos, gatos, cánidos y primates) cumplieron con todos los criterios biológicos. Estos animales demostraron su susceptibilidad a la infección parasitaria con diversas manifestaciones clínicas, de ahí su incriminación como probables reservorios. El perro, en cambio, aunque altamente susceptible a la infección por *Le. braziliensis* parecería no ser un reservorio para la transmisión a los seres humanos debido a la baja oferta de parásitos al vector, siendo sujeto de discusión sin resultados concluyentes en la actualidad (Quintana et al., 2012). Caso contrario ocurre con *Le. infantum*, donde se considera al perro como principal reservorio en ambientes peri-domésticos urbanos en América (WHO, 2010).

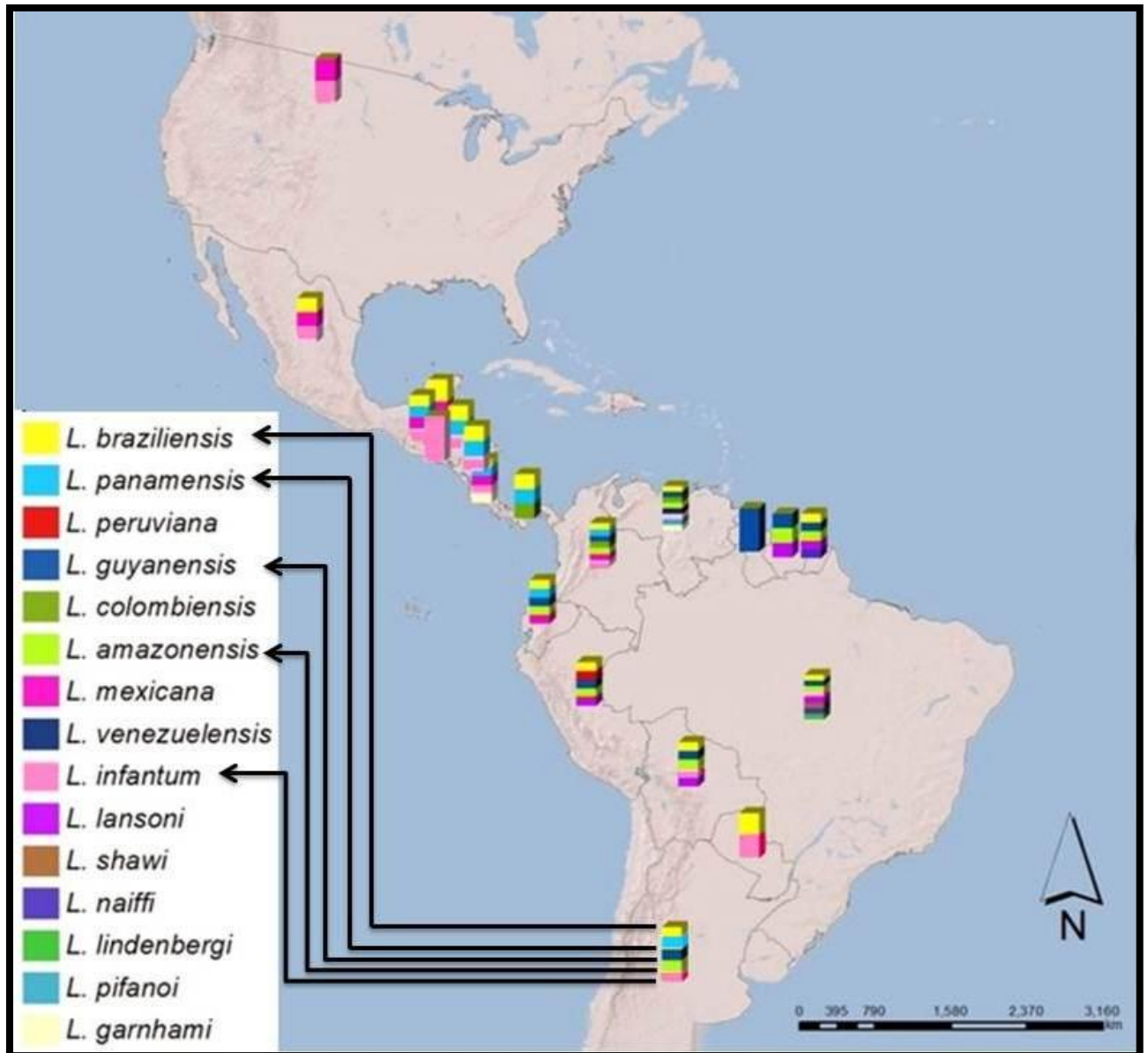


Fig.6: Distribución de especies de *Leishmania* en las Américas, 2009. Con actualización de especies registradas para Argentina, 2014.

Fuente: Modificado a partir de OPS-WHO 2011; <http://www.paho.org/>

1.1.1 Leishmaniasis Tegumentaria en Argentina

Los primeros casos autóctonos de LT registrados en la Argentina datan de 1916 (Salomón et al., 2008c). Hasta la década de 1980, la transmisión tuvo características endémicas en nueve provincias del norte argentino, con 40 a 90 casos/año; desde entonces se presentan brotes epidémicos de hasta 1400 casos/año cada vez más frecuentes, intensos y dispersos (Salomón et al., 2008c). A partir del año 2000, nuevos registros de vectores potenciales se notificaron en Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos, ampliando el área de transmisión vectorial a los 28° S a partir de la frontera norte, comprendiendo las zonas biogeográficas de Yungas, Chaco y selva Paranaense (Salomón et al., 2008a-c).

El primer brote epidémico de LT se registró en 1984 y nuevamente en 1987 en la localidad de Pichanal, provincia de Salta, asociados a la población periurbana y rural (Sosa Estani & Salomón, 2002). A partir de dicho episodio se registraron otros brotes en las provincias de Jujuy, Tucumán, Catamarca, Santiago del Estero, Chaco, Formosa, Corrientes y Misiones (Salomón, 2002; Salomón et al., 2002a-b, 2006a-b-c).

Casi una década después, en octubre de 1997 nuevamente en la provincia de Salta, se notificó otro brote de LT con 273 casos confirmados, incrementándose a 921 casos humanos al año siguiente. Casi al mismo tiempo, Misiones registró 205 casos humanos de LT en 1998 (Salomón et al., 2002b).

En el año 2002 los brotes epidémicos afectaron la cuenca del río Bermejo en Tarija (Bolivia), Orán (Salta), Lomitas (Formosa) y Puerto Tirol (Chaco); afectando posteriormente a la provincia de Jujuy, Tucumán y Corrientes, notificándose un total de 850 casos acumulados (SINAVE). De esta manera en las últimas tres décadas, la LT evidenció en Argentina una tendencia al incremento de brotes epidémicos y focales (Salomón, 2002).

En la región Chaqueña se observó que los casos de LT estaban dispersos, tanto temporal como geográficamente. Los brotes reportados fueron asociados a la deforestación durante la "guerra del Chaco" de 1934 (González & Oliveira y Silva, 1939; González & Queirolo Arce, 1955).

Durante los últimos 15 años se incrementaron los informes de brotes periurbanos y la incidencia de LT han aumentado. Se hipotetizó que los patrones de dispersión endémica o

concentración epidémica de la transmisión de LC, está asociado con variaciones en la diversidad y abundancia de Phlebotominae en los diferentes paisajes (Salomón et al., 2008c). Los estudios asociados a la abundancia y diversidad de Phlebotominae en la región Chaqueña realizados desde entonces, hipotetizaron sobre dos nuevos patrones de distribución: 1) *Migonemyia migonei* como especie predominante con escasos o nulos registros de *Nyssomyia neivai* en la región del Chaco Seco. 2) *Ny. neivai* como especie prevalente y altamente abundante con *Mg. migonei* escaso en la región del Chaco Húmedo (Salomón et al., 2005, 2008a).

Estas observaciones podrían servir como indicadores de riesgo epidémico considerando que *Ny. neivai* está asociado a brotes epidémicos en ambientes altamente modificados. Comparativamente con *Mg. migonei*, éste es un vector más bien zoofílico, altamente atraído por caballos, y en Argentina podría estar involucrado como nexo entre los ciclos de transmisión zoonótico y antropozoonótico (Salomon et al., 2008c).

1.1.2 Leishmaniasis Visceral en Argentina

Hasta 1980, solo se registraron en Argentina 14 casos de LV, restringidos a escenarios rurales de la región biogeográfica de Chaco. Estos casos se presentaron intercalados en áreas endémicas de LT provocado por *Leishmania (V.) braziliensis* (Salomón et al., 2001). Sin embargo *Lu. longipalpis* fue encontrado por primera vez en los años 1951 y más tarde en el año 2000 en Candelaria y Corpus, respectivamente, en la provincia de Misiones y sin presentarse registros de casos de LV (Duret, 1952; Salomón et al., 2001). Teniendo en cuenta la falta de diagnósticos parasitológicos específicos y la ausencia del principal vector en América (*Lu. longipalpis*), dos hipótesis fueron sugeridas para esos escenarios: a) Los casos de LV registrados en la región Chaqueña, pudieron deberse a visceralizaciones de *Le. braziliensis*; y b) *Le. infantum* permanece en focos enzoóticos en los que el contacto humano es inusual (Salomón et al., 2008b). Posteriormente, en 2005, *Le. amazonensis* y *Le. guyanensis* fueron aislados en pacientes con LT en Argentina. *Leishmania amazonensis* puede diseminarse a partir de úlceras cutáneas y producir visceralizaciones atípicas (Locatelli et al., 2014).

A partir del año 2000 el riesgo de transmisión cambió en Argentina, debido a que en la ciudad fronteriza de Asunción (Paraguay), se reportaron 126 casos humanos de LV por *Le.*

infantum entre los años 2000 y 2006; además de canes infectados y la presencia del vector *Lu. longipalpis*, en localidades fronterizas a las provincias de Formosa y Misiones (Salomón et al., 2008b). Desde entonces las acciones de vigilancia epidemiológica se intensificaron en el país, en las zonas fronterizas, confirmándose en 2004 la presencia de *Lu. longipalpis*, en la ciudad de Clorinda (Salomón & Orelano, 2005).

No fue hasta el año 2006 que en la ciudad de Posadas, Misiones se registró el primer caso humano autóctono de LV en Argentina, provocado por *Le. infantum*. Concomitantemente fueron confirmados casos de LV canina y una amplia distribución de *Lu. longipalpis* en áreas urbanas de la ciudad, ampliando la distribución geográfica del vector (Salomón et al., 2008b; Gould et al., 2013).

Entre los años 2007 y 2012, cinco casos humanos de LV fueron reportados en la ciudad de La Banda, provincia de Santiago del Estero, conjunto a casos confirmados de LV canina. Los estudios de vigilancia entomológicas llevados a cabo a partir de dichas denuncias, confirmaron la ausencia del vector *Lu. longipalpis* en la provincia. Sin embargo, dichos estudios determinaron la presencia y abundancia de *Mg. migonei*, considerado vector putativo de *Le. infantum* en la región Chaqueña. A partir de esos registros, se hipotetizó que los casos de LV pudieron deberse a una transmisión enzoótica, con contacto humano ocasional, transmitida por *Mg. migonei* (Salomón et al., 2010a).

En el Año 2008 se confirma la dispersión de *Lu. longipalpis* hacia el centro y sur del país, al ser registrado en ambiente peri-domiciliario y urbano de diferentes localidades sobre los ríos Paraná y Uruguay de la provincia de Corrientes (Salomón et al., 2009a). La confirmación de casos humanos y reservorios caninos en esa provincia, sumada a los registros del vector, marca la posibilidad de transmisión vectorial activa en la misma.

Trabajos subsiguientes demostraron la presencia de *Lu. longipalpis*, en Chajarí (Entre Ríos), Puerto Iguazú (Misiones), Alvear, La Cruz, Curuzú Cuatiá, Bella Vista, Monte Caseros y Santo Tomé (Corrientes) (Salomón et al., 2009a, 2011a).

La presencia de *Lu. longipalpis* en Chajarí (Entre Ríos), localidad próxima a la frontera con Corrientes, y su captura en Salto (Uruguay) frente a Concordia (Entre Ríos), indican que la dispersión del vector de LV en enero del 2009 en Monte Caseros (Corrientes), continúa hacia el sur (Salomón et al., 2011a; Gould et al. 2013).

El riesgo de colonización de *Lu. longipalpis* en la provincia del Chaco, fue advertido en 2009 al registrarse el vector en la ciudad de Corrientes capital (Salomón et al. 2009a). En abril de 2010 durante muestreos transversales realizados por el Programa Nacional de Leishmaniasis, se confirma la presencia con baja abundancia del vector *Lu. longipalpis* en la ciudad de Resistencia y en la localidad de Puerto Antequeras. Este registro, modifica la situación de riesgo de la provincia, la cual es considerada por el PNL a partir de este dato como área vulnerable. Es considerada área vulnerable, debido a que no se registran casos humanos o caninos autóctonos, pero existe la presencia confirmada del vector primario, y a su vez es un área contigua a localidades con casos humanos y caninos de LV autóctonos, como la ciudad de Corrientes. (Salomón, 2008; Salomón et al., 2011b).

De esta manera, se destaca que desde la emergencia de la LT como enfermedad epidémica a partir de 1984, se avanzó en el conocimiento de la distribución y dinámica de los vectores, mediante el análisis de series de tiempo y correlación múltiple con variables climáticas, especialmente en relación a los focos epidémicos y metapoblacionales peridomésticos (Salomón et al., 2002b; Salomón et al., 2004).

La urbanización desordenada y la deforestación han sido propuestas como los factores antrópicos principales de la re-emergencia de esta enfermedad en el mundo (Lainson, 1989; Mott et al., 1990; Walsh et al., 1993; Dedet, 1999; Ashford, 2007). Precisamente, los cambios ambientales modulan la incidencia de enfermedades transmitidas por vectores postulándose como una actividad que puede tener un fuerte impacto sobre el desarrollo de estrategias de control (Walsh et al., 1993; Beck et al., 2000; Heymann & Rodier, 2001;). Este enfoque cobra especial importancia en enfermedades como la LT donde la distribución y abundancia de los vectores es el mejor indicador en tiempo y espacio de la transmisión dado que en los análisis a partir de casos humanos los errores introducidos por la incidencia sintomática y la ambigüedad de los datos obtenidos por anamnesis (período de incubación intrínseca, transmisión microfocal ocasional, etc.), no permiten obtener conclusiones útiles en la escala operacional del control (Peterson, 2006). Estas observaciones, resaltan la importancia del desarrollo de estudios ecoepidemiológicos sobre la fauna de Phlebotominae en la región Chaqueña, teniendo en cuenta el riesgo que representa la intensa deforestación a la que está sometida la provincia del Chaco, debido a la expansión de la frontera agrícola ganadera (Monte Negro et al. 2005).

A su vez, el conocimiento de la distribución y de las condiciones climáticas que afectan la dispersión y colonización de *Lu. longipalpis* en grandes centros urbanos de Argentina, brindaría un conocimiento más preciso al momento de pronosticar riesgo de transmisión activa de LV en las provincias argentinas. Asimismo se transformaría en una importante herramienta a escala focal en posibles brotes o casos aislados de LV que pudieran darse en provincias del norte.

Por este motivo, avanzar sobre los objetivos planteados a continuación, contribuirá a proponer y/o evaluar, mediante investigación operacional, estrategias de prevención y control en diferentes escenarios de transmisión, de LT y LV en la región. A su vez esto permitirá complementar las investigaciones operativas en vectores y reservorios potenciales realizadas usualmente en el marco del Programa Nacional de Leishmaniasis, que podrán ser utilizados como insumos para el desarrollo y validación de modelos de predicción evaluando de esta manera el impacto que tienen las modificaciones ambientales en la salud de la población y aportar herramientas para mitigarlos.

1.2 HIPÓTESIS

1.2.1 Hipótesis general

La región Chaqueña Húmeda, presenta una diferenciación espacio-temporal en el riesgo de transmisión de LC y LV, debido a la composición específica y abundancia de la fauna de Phlebotominae, asociada a diferentes grados de intervención antrópica en la macroescala (localidades), mesoescala (sitios de muestreo) y en la microescala (domicilio-peridomicilio-extradomicilio).

1.2.2 Hipótesis específicas

- *Nyssomyia neivai*, vector primario de *Leishmania braziliensis* (LC) en Argentina, es la especie predominante en ambientes rurales con alto grado de intervención antrópica.
- La temperatura y humedad relativa es un modulador de la abundancia de las poblaciones de Phlebotominae, disminuyendo el riesgo de transmisión en los meses fríos y secos (considerando la abundancia de vectores como factor de riesgo)
- La diversidad específica y abundancia de Phlebotominae es mayor en ambientes rurales que en ambientes urbanos.
- *Lutzomyia longipalpis*, vector primario de *Leishmania infantum* (LV) en Argentina, es la especie predominante en ambientes urbanos.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

Caracterizar la dinámica y distribución de potenciales vectores de leishmaniasis cutánea y visceral, y su relación con el riesgo de transmisión en ambientes con distinto grado de modificación antrópica, en una zona de la región de Chaco húmedo.

1.3.2 Objetivos específicos

- ❖ Identificar sitios con mayor presencia de vectores potenciales de LV y LC, en localidades con distinta intervención antrópica (macroescala espacial).
- ❖ Detectar la infección natural de Phlebotominae, mediante disección y observación del aparato digestivo del insecto.
- ❖ Caracterizar la distribución de abundancia de Phlebotominae en el tiempo y espacio, en sitios con diferente intervención antrópica, rurales y periurbanos (mesoescala espacial); en las localidades identificadas con mayor abundancia de vectores potenciales de LV y LC.
- ❖ Caracterizar la variación temporal de abundancia de Phlebotominae, en los distintos ecotopos estudiados: domicilio, peridomicilio y extradomicilio (microescala espacial); en las localidades identificadas con mayor abundancia de vectores potenciales de LV y LC.
- ❖ Identificar condiciones climáticas críticas limitantes de la abundancia de poblaciones de Phlebotominae.
- ❖ Describir la diversidad específica y abundancia de Phlebotominae en ambientes urbanos y rurales, de la provincia del Chaco.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA GENERAL

2.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La provincia del Chaco, ubicada al noreste de Argentina, se sitúa entre los 24° y 28° latitud Sur y entre 58°30' y 63°20' longitud Oeste con una superficie de 99 633 km². Forma parte del área Chaco-pampeana conformando la llanura chaqueña. Es un área de extensa planicie carente de accidentes orográficos excepto por pequeños accidentes topográficos representados por cauces muertos de ríos antiguos denominados madrejones (Dudiuk & Rosegarten, 1979).

La altura máxima sobre el nivel del mar es de 250 mts en la localidad de Taco Pozo, en el extremo Oeste, disminuyendo hacia el Este hasta 51 mts en la ciudad de Resistencia (departamento San Fernando) capital provincial y 47 mts en la localidad de Puerto Vilelas. Esto demarca una escasa pendiente media de dirección Oeste-Este de 0,44 mts/km (Dudiuk & Rosegarten, 1979).

La provincia presenta un clima subtropical con estación seca en la región Chaqueño Occidental y sin estación seca en la región Chaqueña Oriental. La temperatura media anual es de 21,5 °C y la pluviometría máxima anual de 1200 mm en la franja litoral Este, Paraná-Paraguay, disminuyendo paulatinamente en dirección oeste hasta 500 mm anuales (Dudiuk & Rosegarten, 1979; Cabrera, 1971).

Este gradiente pluviométrico divide a la provincia en dos regiones netamente diferenciadas: la región Oriental (Chaco Húmedo) y la Occidental (Chaco Seco). La primera región presenta un régimen pluviométrico Atlántico húmedo donde los biomas conforman parques y sabanas, y las precipitaciones son abundantes en el verano y el otoño. La región Occidental, en cambio, presenta un régimen pluviométrico continental seco y semiárido. Esta zona, conocida como “el impenetrable”, se caracteriza por sus bosques xerófilos de maderas duras. La estación húmeda, con frecuentes precipitaciones, se da en el verano y la estación seca, que puede extenderse hasta seis meses en el invierno (Cabrera, 1971).

En la región Chaqueña Oriental, el Bosque constituye la comunidad florística más importante, en la que predominan el Quebracho Colorado Chaqueño (*Schinopsis balansae*), el Quebracho Blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*). A ellos se les suman el Guayacán (*Caesalpinia paraguariensis*), el Algarrobo Negro (*Prosopis nigra*) y el

Algarrobo Blanco (*Prosopis alba*); se trata en general, de un bosque semixerófilo con árboles caducifolios, que se encuentra en las posiciones altas e intermedias del terreno. Otras bioformas comunes en la región Chaqueña Oriental, en zonas altas, son los pastizales de *Elionurus muticus* y *Andropogon lateralis*. En sectores topográficamente un poco más bajos, que en épocas de grandes lluvias se inundan parcialmente, se encuentran las Sabanas de *Prosopis affinis* y Palmares de *Copernicia alba*. En márgenes de ríos o sobre albardones, pueden encontrarse vegetación de Selvas en galerías o Selvas Riparias respectivamente, representado por especies arbóreas como *Enterolobium contortisiliquum*, *Tabebuia heptaphylla* y *Cecropia pachystachya* (Alberto, 2006).

La gran variedad de ambientes del Chaco Húmedo, hace que se presente en la región una notable cantidad y diversidad de fauna silvestre. Seguramente, la cantidad más grande de especies corresponde al grupo de los insectos, entre los cuales las hormigas se destacan por ser la principal biomasa de consumidores primarios en la región. Entre los vertebrados se encuentran más de cincuenta especies de peces, cuarenta de anfibios, cincuenta de reptiles, trescientas cincuenta de aves y setenta de mamíferos (Ginzburg et al. 2005).

Para la determinación de la fauna flebotomínica y su variación espacio temporal, se seleccionaron localidades de la región Chaqueña Oriental. Éstas se seleccionaron con el criterio de representar ambientes rurales y periurbanos con distinto grado de modificación antrópica, y además debían presentar antecedentes de casos humanos de LC. Se escogieron con estos criterios, las localidades de: Colonia Benítez, Margarita Belén (departamento Primero de Mayo) y Monte Alto (zona periurbana de la ciudad de Resistencia, departamento San Fernando). En estas localidades, se seleccionaron distintos sitios de muestreo que serán detallados en cada capítulo, según las diferentes metodologías aplicadas.

En los sitios de muestreo se observaron distintas bioformas vegetales, las cuales podían estar intercaladas en mosaicos de vegetación, y presentar diferente grado de modificación antrópica. Se observaron parches de Bosques de Quebracho Colorado y Urunday; pudiendo encontrarse en algunos sitios, rastros de Selva Riparia asociada a riachos próximos, donde se observaron árboles de gran porte principalmente lauráceas del género *Ocotea*, y algunas leguminosas como *Enterolobium contortisiliquum*, y *Peltophorum dubium*. En el área baja de Monte Alto (Próxima al valle de inundación del río Parará), se observaron Palmares de

Copernicia alba en transición con Bosques bajos de espinillos (*Prosopis* sp.) y aromíto (*Acacia* sp.).

Para la determinación de la fauna de Phlebotominae urbanos y la posible dispersión del vector *Lu. longipalpis*, se llevaron a cabo muestreos en las zonas urbanas de la región Chaqueña Oriental, en los departamentos fronterizos a la provincia de Corrientes: Departamento Primero de Mayo, San Fernando y Bermejo, en los municipios de: Resistencia (27°27'5"S, 58°59'12"O), Margarita Belén (27°19'46"S, 58°57'1"O), Barrio de Pescadores (27°15'33"S, 58°58'17"O) perteneciente al municipio de Colonia Benítez, e Isla del Cerrito (27°17'32"S, 58°59'53"O).

La ciudad de Resistencia, presenta un clima cálido sin estación seca con precipitaciones que rondan los 1300 mm anuales. Se encuentra en el departamento San Fernando que aloja 390 874 habitantes, concentrados en un gran conurbano denominado Gran Resistencia que comprende a las ciudades de Resistencia, Barranqueras, Fontana y Puerto Vilelas. Su cercanía a la ciudad de Corrientes, forma uno de los centros urbanos más grandes del Nordeste Argentino sumando casi 750 000 habitantes distribuidos en más de 220 000 viviendas (Censo, 2010).

El departamento Primero de Mayo, fronterizo a la provincia de Corrientes, aloja a 10 322 habitantes, de los cuales 6472 se encuentran en el Municipio de Margarita Belén, y 3805 en el Municipio de Colonia Benítez; a su vez, este departamento registra un total de 2849 viviendas habitadas.

Isla del Cerrito pertenece al departamento Bermejo, presenta una superficie de 164 km² y aloja a 1835 habitantes (Censo, 2010). Su límite Este, corresponde a la desembocadura del Río Paraguay con el Paraná, frente a la ciudad de Paso de la Patria (Corrientes) y separada de la costa chaqueña por el río Ancho, afluente del Río Paraguay desembocando en el Paraná. Asimismo limita con la localidad Paraguaya de Paso Patria.

2.2 METODOLOGÍA DE COLECTA E IDENTIFICACIÓN DE PHLEBOTOMINAE

Las capturas de Phlebotominae adultos se realizaron mediante trampas de luz tipo mini CDC (Sudia & Chamberlain, 1962), ubicadas a 1,5 m del nivel del suelo. Las trampas permanecieron activas en los sitios de estudio durante 12 hs. (19:00 hs. a 7:00 hs. del día siguiente). Los insectos capturados fueron transportados al laboratorio y fueron sacrificados exponiéndolos a -20 °C por al menos 2 horas. Una vez muertos los insectos se colocaron en cápsulas de Petri para su observación bajo lupa estereoscópica y separación de adultos de Phlebotominae, los cuales fueron conservados en alcohol al 70% por al menos 48 hs. Posteriormente se continuó con las técnicas de clarificación, montaje e identificación.

Se utilizó para la clarificación de los Phlebotominae, la técnica propuesta por Forattini (1973) modificada, sometiendo a los insectos a los siguientes pasos:

- 1º) Hidróxido de Potasio al 10%, 12 hs.
- 2º) Ácido acético glacial al 10%, 20 min.
- 3º) Lavados con agua destilada, 3 repeticiones de 15 minutos.
- 4º) Las hembras fueron separadas y dispuestas en Lacto-Fenol para su conservación hasta el montaje.
- 5º) Los machos continuaron con una deshidratación en diferentes series de graduaciones alcohólicas:
- 6º) Alcohol 70%, 15 min.
- 7º) Alcohol 80%, 15 min.
- 8º) Alcohol 90%, 15 min.
- 9º) Alcohol absoluto, 15 min.
- 10º) Los machos posteriormente fueron colocados en Eugenol para su conservación hasta al montaje

Una vez clarificados, se realizó el montaje en láminas de vidrio para su observación. Las hembras fueron montadas en líquido de Berlesse, separando cabeza, tórax y abdomen, y disponiéndolos de forma vertical al eje mayor del portaobjetos. Los machos fueron montados en bálsamo de Canadá, dispuestos de manera horizontal, separando solo la cabeza del resto del cuerpo.

La determinación de los Phlebotominae se realizó por observación de los insectos en microscopio binocular, mediante claves dicotómicas propuestas por Galati (2003b). Se siguieron las abreviaturas, propuestas por Marcondes (2007).

Para una mejor comprensión de la tesis, se detalla en cada capítulo: el área de estudio, metodología específica, resultados y discusiones parciales, de acuerdo al objetivo de cada uno de ellos. En el Capítulo VI se consignan las discusiones y conclusiones generales del trabajo.

CAPÍTULO III

DISTRIBUCIÓN Y ABUNDANCIA DE PHLEBOTOMINAE EN LOCALIDADES DE LA BIOREGIÓN CHAQUEÑA ORIENTAL

3.1 INTRODUCCIÓN

Como fue aclarado anteriormente, las Leishmaniasis son enfermedades zoonóticas parasitarias producidas por protozoarios del género *Leishmania*, y transmitidas por la picadura de la hembra de un díptero hematófago de la subfamilia Phlebotominae (WHO, 2010).

Según censo de Leishmaniasis llevado a cabo en 1930, no había casos de LC registrados en la provincia del Chaco para ese año (Bernasconi, 1930). Sin embargo, en la año 1934 se registraron casos de LC en la región Chaqueña, asociados a la deforestación producida durante la Guerra del Chaco (González & Oliveira y Silva, 1939; González & Queirolo Arce, 1955). Posteriormente, entre 1984 y 1986, se registra para la Argentina, el primer brote epidémico de la segunda mitad del siglo, con un foco en Pichanal, provincia de Salta (región biogeográfica Chaqueña), donde se identificó como agente etiológico a *Le. (V.) braziliensis* (Salomón et al. 2001b).

En los años subsiguientes, brotes de menor magnitud fueron registrados en la mayoría de las provincias del área endémica. El Servicio Epidemiológico Nacional registró para la provincia del Chaco una media de 11,5 casos/año para el período 1954-1994, y de 31, 41, 15 y 11 casos/año para los años 1995 a 1998, respectivamente. Estos casos se registraron en las localidades de General Vedia, Puerto Bermejo, Las Palmas y Colonia Benítez (todas en la provincia del Chaco) asociados a individuos que vivían próximos a ríos o arroyos (Salomón et al., 2001b). En los años subsiguientes a partir del 2002, se registran brotes en diferentes provincias de la región Chaqueña, marcando una tendencia al incremento de casos de LC relacionados brotes periurbanos, en los que se hipotetizó que los patrones de transmisión, estarían asociados con las variaciones de diversidad y abundancia de las poblaciones de Phlebotominae (Salomón et al., 2008a).

Los primeros estudios de Phlebotominae desarrollados hasta 1960 en la región Chaqueña, identificaron seis especies de flebótomos para la región, *Nyssomyia intermedia* (syn. *Ny. neivai*), *Evandromyia cortelezzi*, *Sciopemyia sordellii*, *Psathyromyia shannoni*, *Brumptomyia brumpti* y *Br. avellari* (Bejarano, 1959; Castro, 1959). No fue hasta los brotes de la década de 1980, que se retomaron los estudios orientados a determinar la fauna de Phlebotominae y su asociación a los focos de LC en la región. A partir de dichos

estudios y hasta la fecha, se ampliaron los registros incluyendo para la región Chaqueña a *Ev. sallesi*, *Lutzomyia longipalpis*, *Micropygomyia peresi*, *Mi. quinquefer*, *Migonemyia migonei*, *Pintomyia pessoai*, *Pi. torresi*; mientras que *Sciopemyia sordellii*, no volvió a registrarse después de 1959 (Salomón et al., 2001b, 2008a, 2011a-b; Rosa et al., 2010). A partir de estos estudios, se observó que los patrones de distribución de las especies de Phlebotominae varían según la región biogeográfica, y que la transmisión de LC estaría asociada a diferentes especies según la región, y por consiguiente, el patrón de transmisión sería distinto según la especie predominante. Se determinó para la región Chaqueña Occidental una mayor abundancia de *Mg. migonei*, con escasos registros de *Ny. neivai*, asociados a casos aislados de LC con un posible ciclo zoonótico; En la región Chaqueña Oriental, en cambio, se observó a *Ny. neivai* como especie predominante y altamente abundante, asociado a un incremento de casos y brotes de LC en un posible ciclo antropozoonótico (Salomón et al., 2008a).

Siendo enfermedades estrechamente ligadas a la distribución de vectores y reservorios, y éstos al medio y al clima; el incremento de transmisión se ha adjudicado a la modificación ambiental y aumento de contacto Humano-Vector-Reservorio, como los producidos por la deforestación, la urbanización desordenada, las migraciones y las obras de infraestructura sin evaluación sanitaria previa (Salomón et al., 2008a).

La provincia de Chaco se destaca como el área de mayor vulnerabilidad de instalación de LV, debido a la proximidad a la provincia de Corrientes (con registros de transmisión activa de LV y una amplia presencia del vector); y como vía de dispersión hacia el Oeste y Sur del país, siguiendo el patrón de dispersión registrado, desde la provincia de Misiones hacia el centro y Oeste del país (Salomón et al., 2011a,b; Gould et al., 2013). Esto, sumado a la ya conocida LC desde la década de 1950, resalta la importancia de este trabajo. El presente capítulo, tiene como objeto, identificar localidades con mayor presencia de vectores potenciales de LC y LV, a la vez de caracterizar su distribución en tiempo y espacio, y determinar su posible infección natural con flagelados del género *Leishmania*, con el fin de establecer el riesgo de transmisión en ambientes periurbanos y rurales, con distintos grados de modificación antrópica de la provincia del Chaco.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Área de estudio:

Para el muestreo de Phlebotominae, se seleccionaron tres localidades en la región Chaqueña oriental, con el objeto de representar los diferentes grados de modificación antrópica y uso de la tierra, además de ser localidades con antecedentes de casos de LC. El criterio para la selección de sitio, se realizó teniendo en cuenta que el mismo, debía presentar una vivienda habitada con características favorables para el desarrollo de vector (abundante sombra, materia orgánica en descomposición, animales de corral próximos al domicilio y parches de bosque a ≥ 100 mts.). Los sitios seleccionados en las localidades de Monte Alto y Margarita Belén, fueron seleccionados además, por presentar antecedentes de casos de LC (Fuente: Registros del dispensario Dermatológico “Manuel Giménez”, Resistencia., Ministerio de Salud de la Provincia del Chaco.).

Los sitios seleccionados fueron:

1) **Monte Alto** (MA) (27°26,42' S - 58° 54,99' O): Representa una zona periurbana-rural en proceso de urbanización, con registros históricos aislados de LC. Se sitúa entre la ciudad de Resistencia y la ciudad de Corrientes, en el Departamento San Fernando (**Fig. 7**). La vivienda seleccionada corresponde a un terreno dedicado a la plantación de hortalizas, presenta relictos de bosque de Quebracho Colorado y Urunday próximos a la vivienda, en el que se observaron rastros de pisoteo y troncos cortados. Actualmente se presenta un proceso de urbanización en la zona, intercalando los terrenos de producción con propiedades recreativas de fin de semana.

2) **Margarita Belén** (MB) (27°16,36' S - 59° 0,97' O): Situado dentro del Departamento 1° de Mayo (**Fig. 7**), corresponde a un establecimiento ganadero con antecedente humano de LC. Es un terreno con vivienda habitada, dedicada a la cría y comercialización de ganado vacuno, con segmentos desmontados de corrales y parches de bosque de Quebracho Colorado y Urunday. Se observaron signos de modificación antrópica, tales como pastoreo, pisoteo, tala y quema, en mosaico con vegetación de Selva Riparia en los márgenes del riacho Caroli, representado por especies de Lauraceas y Cecropiaceas y Leguminosas.

3) **Colonia Benítez (CB)** (27° 19.28' S – 58° 59.88' O): Sin registros de casos de LT en la vivienda seleccionada, pero con registros de LC para el Departamento y para la Localidad. Está situado en el departamento 1° de Mayo (**Fig. 7**), corresponde a un terreno con vivienda rural familiar sobre Ruta Nacional N° 11. Presenta parches de Bosque de Quebracho Colorado y Urunday, en mosaico con Selva Riparia que se extiende desde los márgenes del Rio Tragadero. Presenta gallinero en el peridomicilio (únicos animales de corral en el terreno). Los parches de bosque están poco modificados (sin signos de pisoteo, pastoreo, tala o quema), mientras que el peridomicilio, está modificado en un radio de aproximadamente 20 mts alrededor de la vivienda, el cual fue desmontado y es mantenido periódicamente para evitar el crecimiento de gramíneas.

3.2.2 Captura de Phlebotominae

En cada una de las tres localidades, se seleccionó una vivienda habitada. En cada vivienda durante el período octubre 2010 a septiembre 2012, se instalaron mensualmente, durante una noche, tres trampas de luz tipo CDC. Las trampas se instalaron en domicilio (interior o galería de la vivienda) (**Fig. 8 A-B**), peridomicilio (corrales o sitios de reposo de animales, próximos a la vivienda) (**Fig. 8 C-D**) y extradomicilio (parches de bosques, a no menos de 100 mts. de la vivienda) (**Fig. 9 E-F**); permaneciendo activas por 12 horas, de 19:00 hs a 7:00 hs del día siguiente.

3.2.3 Registros de factores meteorológicos

Con el fin de correlacionar la abundancia de Phlebotominae capturados, con variables meteorológicas promedio mensuales y puntuales para cada captura, se obtuvieron registros de Humedad Relativa (HR%), Temperatura media (T. med), Temperatura máxima (T. max), Temperatura mínima (T. min) y de precipitaciones acumuladas mensuales (precip.).

Los promedios mensuales de Temperatura y Humedad, como así también las precipitaciones acumuladas mensuales, se obtuvieron a partir de las estaciones meteorológicas más cercanas a los sitios de muestreo: 1) Estación meteorológica –INTA, Colonia Benítez (Área Margarita Belén y Colonia Benítez) (27°19'23"S; 58°57'19"O); 2) Estación Meteorológica-Departamento de Hidráulica, Universidad Nacional del Nordeste (Área Monte Alto) (27°27'48"S; 58°59'4"O). A su vez, se registraron mensualmente en

cada captura (durante el período de actividad de la trampa), datos puntuales de HR%, T. med, T. max y T. min, con termo higrómetro digital (Hygrotherm®); Los termo higrómetros digitales, fueron colocados durante todas las capturas en: 1) peridomicilio de Margarita Belén, para el registro de variables meteorológicas puntuales de MB y CB (localidades distantes entre sí, por aproximadamente 5,5 Km); y 2) peridomicilio de Monte Alto, a 15 km de distancia promedio, de los otros dos sitios.

3.2.4 Determinación de Infección Natural

La determinación de la infección natural por flagelados del género *Leishmania*, se realizó por disección *in vivo* del Phlebotominae basado en las descripciones de Rioux et al.(1986). Los Phlebotominae que llegaron vivos al laboratorio (posterior a la captura), fueron separados de los demás insectos en la trampa, utilizando un capturador de aspiración manual. Las hembras de Phlebotominae que presentaran signos de haber ingerido sangre (abdomen distendido de color marrón oscuro o rojizo) fueron sometidas a la extracción del apartado digestivo por disección en una gota de solución fisiológica. Posteriormente, fueron observadas en microscopio óptico para la observación de flagelados intestinales, que según su ubicación en relación al píloro, permitirá su identificación primaria en los sub-géneros *Viannia* y *Leishmania* agrupándolos en las Secciones: Peripylaria y Suprapylaria (Rangel et al., 1992).

3.2.5 Procesamiento e identificación de Phlebotominae

Una vez separados los Phlebotominae vivos, las bolsas fueron colocadas a -20 °C por al menos dos horas para matar los insectos capturados. Posteriormente los Phlebotominae fueron separados de los demás insectos, mediante lupa estereoscópica, y conservados en alcohol al 70% por al menos 48 hs. La clarificación de los Phlebotominae, se realizó siguiendo la metodología descrita en el Capítulo II.

El montaje en láminas de vidrio se realizó en bálsamo de Canadá para los machos y en líquido de Berlesse para las hembras. La identificación de los Phlebotominae se realizó bajo microscopio óptico siguiendo las claves dicotómicas propuesta por Galati (2003b). Se siguieron las abreviaturas propuestas por Marcondes (2007).

Dada la conocida simpatria de *Ev. cortelezzii* y *Ev. sallesi* en la región (Rosa et al., 2010), y la imposibilidad de diferenciación de hembras de dichas especies mediante caracteres morfológicos, se cita a las mismas como complejo *cortelezzii*.

3.2.6 Análisis de Resultados

Los índices empleados en la medición de la estructura y diversidad de las comunidades de Phlebotominae fueron:

a) Riqueza específica (S): Comprendido como el número de especies registradas para cada unidad de comparación.

b) Índice de Shannon-Wiener (H'): Expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra. Asume que los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la muestra. Adquiere valores entre cero, cuando hay una sola especie, y el logaritmo de S , cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos. Para la comparación de índices de diversidad de Shannon – Wiener, entre ecotopos se utilizó T test (Hutcheson, 1970).

c) Equitatividad de Pielou (J'): Se obtiene utilizando la fórmula: $J' = \frac{H'}{H'_{max}}$, donde H' = índice de diversidad de Shannon y $H'_{max} = \ln(S)$, S = Riqueza específica. Mide la proporción de la diversidad observada con relación a la máxima diversidad esperada. Su valor va de 0 a 1, de forma que 1 corresponde a situaciones donde todas las especies son igualmente abundantes (Magurran, 1988).

La variación de especies por ecotopo fue evaluada mediante la prueba de Chi-cuadrado (χ^2). La dinámica de Phlebotominae se interpretó como la fluctuación estacional de la abundancia de flebótomos, durante los meses del año. La correlación de abundancia de especies dominantes (de interés epidemiológico), con variables meteorológicas mensuales obtenidas de las estaciones meteorológicas (A) y registros puntuales para cada captura (B), fue realizada en base al índice de Spearman. A su vez, el mismo índice fue utilizado para ver la correlación, entre las variaciones de abundancia mensuales de *Ny. neivai* y *Mg. migonei*.

Con el objetivo de observar las variaciones espacio-temporales en la estructura de la comunidad de Phlebotominae, se realizaron análisis de coordenadas principales utilizando distancia Bray Curtis. A partir del resultado de dicha ordenación se observó si el resultado

producido por el análisis correspondía a un efecto espacial a macroescala (localidades), a microescala (ecotopos), a un efecto temporal, o a una combinación de éstos. Las ordenaciones fueron realizadas de 2 formas diferentes y calculadas mediante el software Infostat v. 2014 (Di Rienzo et al., 2014):

Base 1: teniendo en cuenta: intradomicilio, peridomicilio o extradomicilio y en las tres localidades, sin diferenciar entre años de muestreo.

Base 2: teniendo en cuenta: intradomicilio, peridomicilio o extradomicilio y en las tres localidades, diferenciando año 1 (octubre 2010-septiembre 2011) y 2 (octubre 2011-septiembre 2012) de muestreo, por separado.

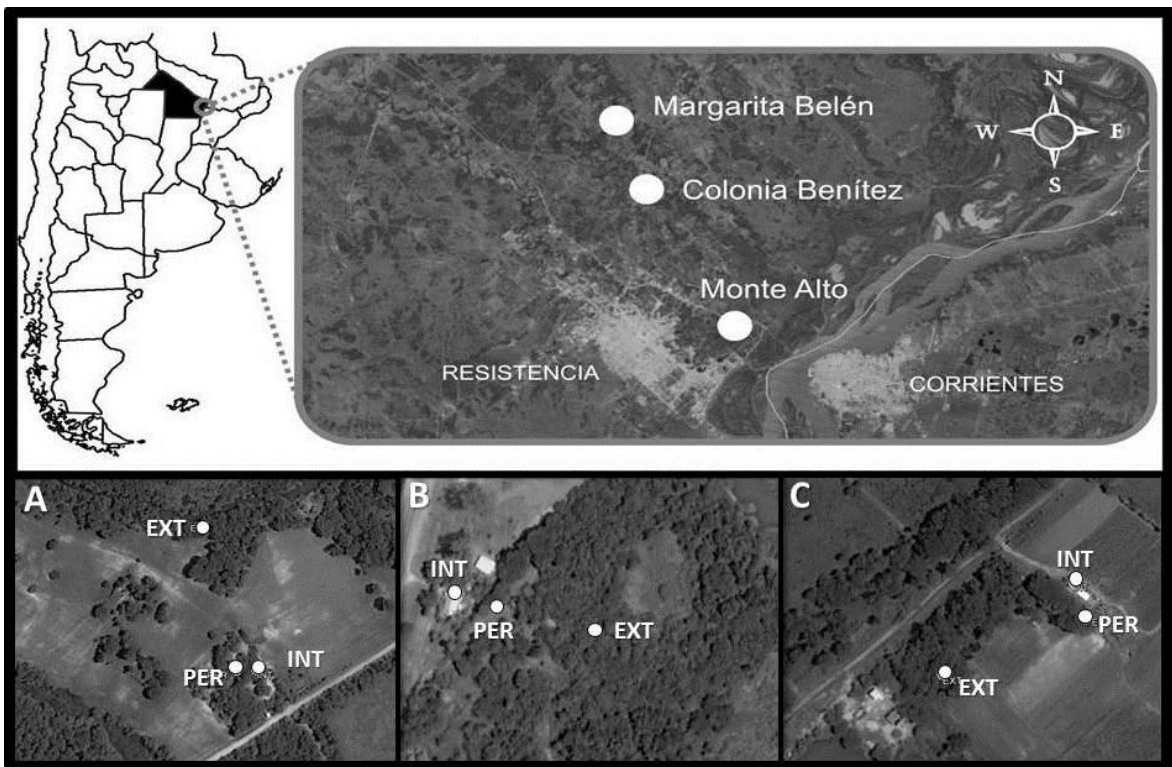


Fig. 7: Imágenes satelitales marcando los puntos de estudio en la provincia del Chaco, Argentina. A) Margarita Belén, B) Colonia Benítez, C) Monte Alto. Imágenes tomadas del *Google Earth*, versión 4.0.2416 (beta) <http://earth.google.es>

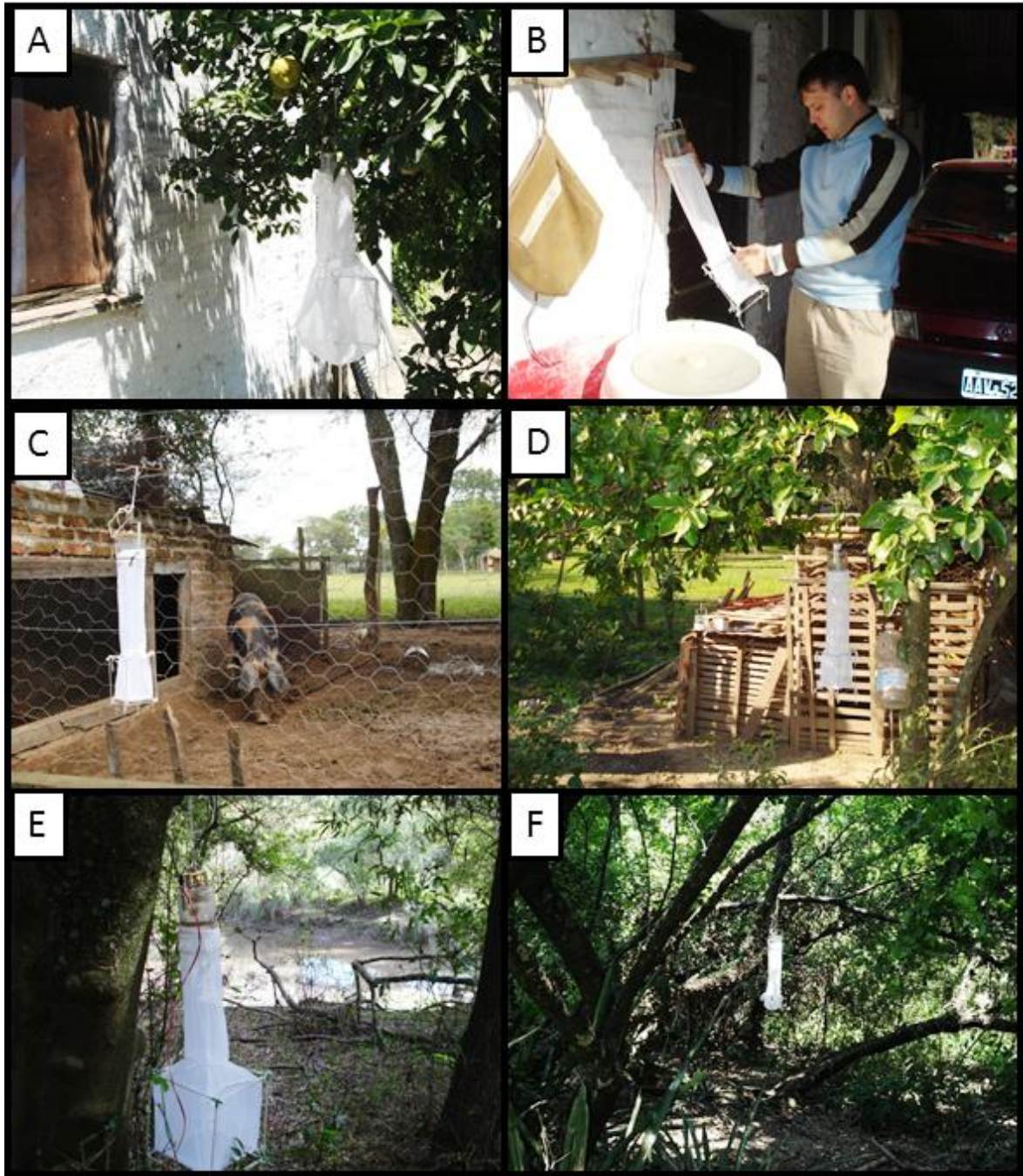


Fig. 8: Imágenes de los sitios de muestreo, representando los diferentes ecotopos.

A) intradomicilio, Monte Alto; B) intradomicilio, Colonia Benítez;

C) peridomicilio, Margarita Belén; D) peridomicilio, Colonia Benítez;

E) extradomicilio, Margarita Belén; F) extradomicilio Monte Alto. Chaco, Argentina.

Octubre 2010 – septiembre 2012

3.3 RESULTADOS

Durante el período de octubre 2010 a septiembre 2012, se capturaron en total 1500 Phlebotominae en los sitios estudiados, de los cuales 60,6% fueron machos y 39,4% hembras. Se registraron las siguientes especies: *Brumptomyia brumpti*, *Brumptomyia avellari*, *Evandromyia cortelezzii*, *Evandromyia sallesi*, *Evandromyia aldafalcaoae*, *Evandromyia corumbaensis*, *Migonemyia migonei*, *Sciopemyia sordellii*, *Nyssomyia neivai*, *Psathyromyia shannoni*. Se destaca que éste es el primer registro de *Evandromyia aldafalcaoae* y *Evandromyia corumbaensis* en el país, y a su vez corresponde al registro más austral de estas especies en el continente.

Las especies predominantes fueron *Mg. migonei* (41,03%) seguido de *Ny. neivai* (38,96%) y complejo *cortelezzii* (9,54%). Esta última representada por hembras de *Ev. cortelezzii* y *Ev. sallesi* (6,47%), machos de *Ev. cortelezzii* (1,47%) y *Ev. sallesi* (1,60%). Se observó una asociación de la abundancia total de *Ny. neivai* y *Mg. migonei* para la región, con una razón *Ny. neivai* / *Mg. migonei*, de 1,1.

La mayor abundancia de Phlebotominae (n=697) y riqueza específica se observó en Margarita Belén (S= 8), que a su vez mostró la menor diversidad ($H' = 1,17$) y equidad ($J' = 0,51$), siendo Colonia Benítez el sitio con mayor diversidad ($H' = 1,61$) y equidad ($J' = 0,73$). (TABLA II).

La distribución por ecotopos mostró diferencias estadísticamente significativas en cada una de las 5 especies estudiadas, mientras que en las especies restantes, no pudo calcularse debido a su baja frecuencia (TABLA II). La mayor abundancia de Phlebotominae se registró en el extradomicilio, seguido del peridomicilio e intradomicilio. No se observan diferencias significativas entre *Ny. neivai* y *Mg. migonei* en su distribución por ecotopos. ($\chi^2 = 1,601$; p = 0,449; Gl = 2).

La variación estacional del total de los Phlebotominae capturados, mostró una mayor abundancia en verano, seguido por primavera, otoño e invierno. Esta distribución, determinada principalmente por la distribución de abundancias de *Ny. neivai* y *Mg. migonei*, no se observó en las otras especies capturadas, a excepción de *Pa. shannoni* que también predominó en verano. El complejo *cortelezzii* y *Sc. sordellii* mostraron una mayor abundancia en otoño y *Br. brumpti* en primavera; mientras que las especies restantes, solo fueron capturadas en una estación determinada (TABLA III).

Al correlacionar las abundancias mensuales de *Ny. neivai* y *Mg. migonei* se observó una fuerte correlación positiva entre ambas ($r_s = 0.92$, $p < 0.0001$). Se observó que tanto *Mg. migonei* como *Ny. neivai*, muestran una mayor abundancia durante primavera con picos en noviembre-diciembre de 2010 y 2011 con promedios de temperatura y humedad relativa de 28,09 °C y 61% respectivamente. A su vez, se determinó que ambas especies podrían presentar picos en verano (febrero 2011 y 2012 para *Ny. neivai*, y febrero 2012 para *Mg. migonei*) con promedios de 22,5 °C y 58% de HR% (**Fig. 9 A-B**).

Si bien *Ny. neivai* muestra un pico evidente, en otoño del primer año (mayo 2011), éste no fue observado en el segundo año. A su vez, se observa que *Mg. migonei* no presenta pico en otoño del primer año, pero se registra una abundancia superior a la media bianual (abril – mayo 2011) (**Fig. 10 A-B**). Estas observaciones coinciden con las altas temperaturas, observándose capturas discontinuas que podrían estar asociadas a altas precipitaciones (**Fig. 9 A-B**).

El complejo *cortelezzii*, mostró una distribución distinta en ambos años. Se observó un pico de abundancia, en verano del primer año (enero 2011) y registros sobre la media bianual en otoño del mismo año (marzo y abril 2011). En el segundo año, en cambio, se observó una situación inversa, con picos de abundancia en otoño (marzo y abril 2012) y abundancia sobre la media bianual en primavera-verano (octubre 2011 – marzo 2012), con captura discontinua en enero 2012, en coincidencia con las precipitaciones como lo observado para *Ny. neivai* y *Mg. migonei* (**Fig. 9 C; Fig. 10 C**).

El índice de correlación de Spearman entre la abundancia mensual de *Mg. migonei*, *Ny. neivai* y comp. *cortelezzii*, con los registros meteorológicos promedio mensuales y puntuales; mostró una mayor correlación con la temperatura. Si bien se observan variaciones entre las correlaciones de la abundancia de Phlebotominae, con el promedio mensual de los registros, y con los registros puntuales de cada captura; se observa que se mantiene la misma tendencia para las tres especies. Se registró una mayor correlación con la temperatura y las precipitaciones, mientras que no se observó correlación ($p > 0.05$) con la humedad relativa (**Tabla IV**).

Se observó que *Ny. neivai* parecería ser mayormente afectada por las temperaturas mínimas promedio mensuales, mientras que la correlación con registros puntuales, muestra una mayor correlación con la temperatura media. Tanto *Mg. migonei* como comp.

cortelezzi mostraron, tanto para los registros promedio mensuales como para los registros puntuales, una mayor correlación con la temperatura media (**Tabla IV**).

El análisis de coordenadas principales que ordena a localidades y ecotopos, del conjunto de muestreos en el período octubre 2010 a septiembre 2012, sin tener en cuenta la diferencia entre años (Base 1), arrojó un resultado de más de un 83% de la variabilidad acumulada entre los dos primeros ejes (**Fig. 11**). A su vez, en este gráfico se observa que la comunidad de Phlebotominae del intradomicilio, sería distinta a las comunidades del peridomicilio y extradomicilio, mientras que no puede visualizarse un patrón diferenciado por localidad.

Por otra parte, el análisis de coordenadas principales que ordena a los sitios separadamente según el año 1 y 2 de muestreo (Base 2), arrojó un resultado de más de un 55% de la variabilidad acumulada entre los dos primeros ejes (**Fig. 12**).

A partir de los resultados se puede observar que la composición de la comunidad, es sensiblemente diferente en el intradomicilio, con respecto a peridomicilio y extradomicilio (**Fig. 13**); mientras que no puede observarse un patrón de agrupamiento considerando el efecto interanual (**Fig. 14**), o entre localidades (**Fig. 15**).

Se realizaron 62 disecciones de Phlebotominae provenientes de los sitios estudiados, identificados como *Ny. neivai*, *Mg. migonei* y complejo *cortelezzii*. No se observaron parásitos intra-intestinales (**TABLA V**).

TABLA II: Distribución de abundancia de especies, índices de diversidad y equidad, por sitio de captura y ecotopo. Período octubre 2010– septiembre 2012. Chaco, Argentina

ESPECIE	Margarita Belén			Colonia Benítez			Monte Alto			Total
	INT	PER	EXT	INT	PER	EXT	INT	PER	EXT	
<i>Mg. migonei</i> *	5	80	215	2	16	38	19	81	159	615
<i>Ny. neivai</i> *	9	118	183	5	29	9	17	33	181	584
<i>comp. cortelezzii</i> * ¹	2	6	27	4	20	24	7	33	20	143
<i>Pa. shannoni</i> *	0	0	36	0	3	1	0	1	0	41
<i>Br. brumpti</i> *	1	0	10	0	0	1	0	0	94	106
<i>Sc. sordellii</i> **	0	1	1	0	1	4	0	0	0	7
<i>Ev. aldafalcaoae</i> **	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Ev. corumbaensis</i> **	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Br. avellari</i> **	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Total	19	206	472	11	70	77	43	148	454	1500
S		8			7			5		
H'		1.17			1.61			1.32		
J'		0.51			0.73			0.68		

Int: Intradomicilio, Per: Peridomicilio, Ext: Extradomicilio, S: Riqueza específica, H': Índice de Shannon- Wiener, J': Índice de equidad de Pielou. ¹Tanto machos de *Ev. cortelezzii* como *Ev. sallesi* se encontraron representados en todos los sitios estudiados por los que se los interpretó para el análisis como *comp.cortelezzii*. * χ^2 con diferencias significativas de abundancia por especie, por ecotopo, $p < 0,05$; ** χ^2 no calculado por baja frecuencia.

TABLA III: Variación estacional de la abundancia de Phlebotominae, octubre 2010-septiembre 2012, Chaco, Argentina.

	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
<i>Mg. migonei</i>	105	361	121	28
<i>Ny. neivai</i>	170	297	100	17
<i>comp. cortelezzii</i>	19	44	74	6
<i>Pa. shannoni</i>	0	33	6	2
<i>Br. brumpti</i>	98	6	1	1
<i>Sc. sordellii</i>	0	2	5	0
<i>Ev. aldafalcaoae</i>	0	1	0	0
<i>Ev. corumbaensis</i>	0	0	1	0
<i>Br. avellari</i>	0	0	2	0
Total	392	744	310	54

Primavera: septiembre, octubre, noviembre; Verano: diciembre, enero, febrero; Otoño: marzo, abril, mayo; Invierno: junio, julio, agosto.

TABLA IV: Índice de correlación de Spearman para la abundancia de Phlebotominae según especie, y variables meteorológica promedio mensual obtenida de estaciones meteorológicas (A), y registros puntuales durante las capturas obtenidas con termo higrómetro digital (B).

Especie	T. med (A)	T. med (B)	T. max (A)	T. max (B)	T. min (A)	T. min (B)	HR % (A)	HR % (B)	Precip
<i>Mg. migonei</i>	0.714	0.687	0.696	0.642	0.704	0.561	-0.330*	-0.115*	0.532
<i>Ny. neivai</i>	0.721	0.697	0.710	0.641	0.750	0.613	-0.339*	-0.061*	0.575
<i>c. cortelezzii</i>	0.605	0.661	0.595	0.548	0.590	0.615	-0.168*	-0.110*	0.463

T. med= Temperatura media; T. max= Temperatura máxima; T. min= Temperatura mínima; HR%= Humedad Relativa media; Precip= Precipitaciones mensuales acumuladas.

* Sin diferencias estadísticamente significativas $p > 0,05$.

TABLA V: Número de insectos (Phlebotominae) disecados, por sitio de estudio y especie. Octubre 2010- septiembre 2012, Chaco, Argentina.

Especie	Margarita Belén	Colonia Benítez	Monte Alto
<i>Mg. migonei</i>	8	2	23
<i>Ny. neivai</i>	0	4	8
<i>comp. cortelezzii</i>	6	3	8
Total	14	9	39

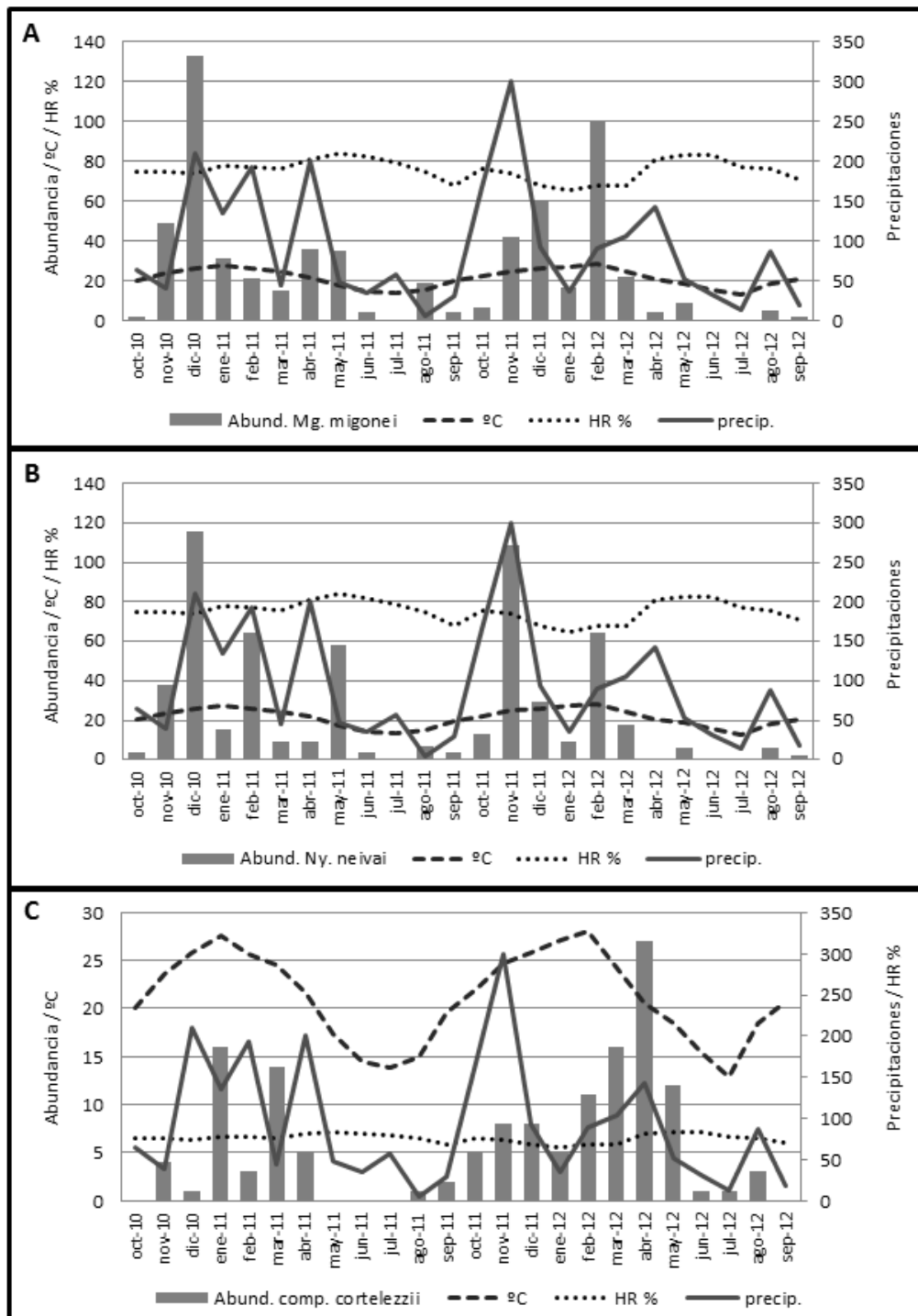


Fig. 9: Abundancia mensual del total capturado en la región Chaqueña para A) *Migonemyia migonei* B) *Nyssomyia neivai* C) complejo *cortelezii*; y variación de temperatura media mensual (°C), humedad relativa media mensual (HR%) y precipitaciones mensuales acumuladas (precip.). Chaco, Argentina. Período octubre 2010-septiembre 2012.

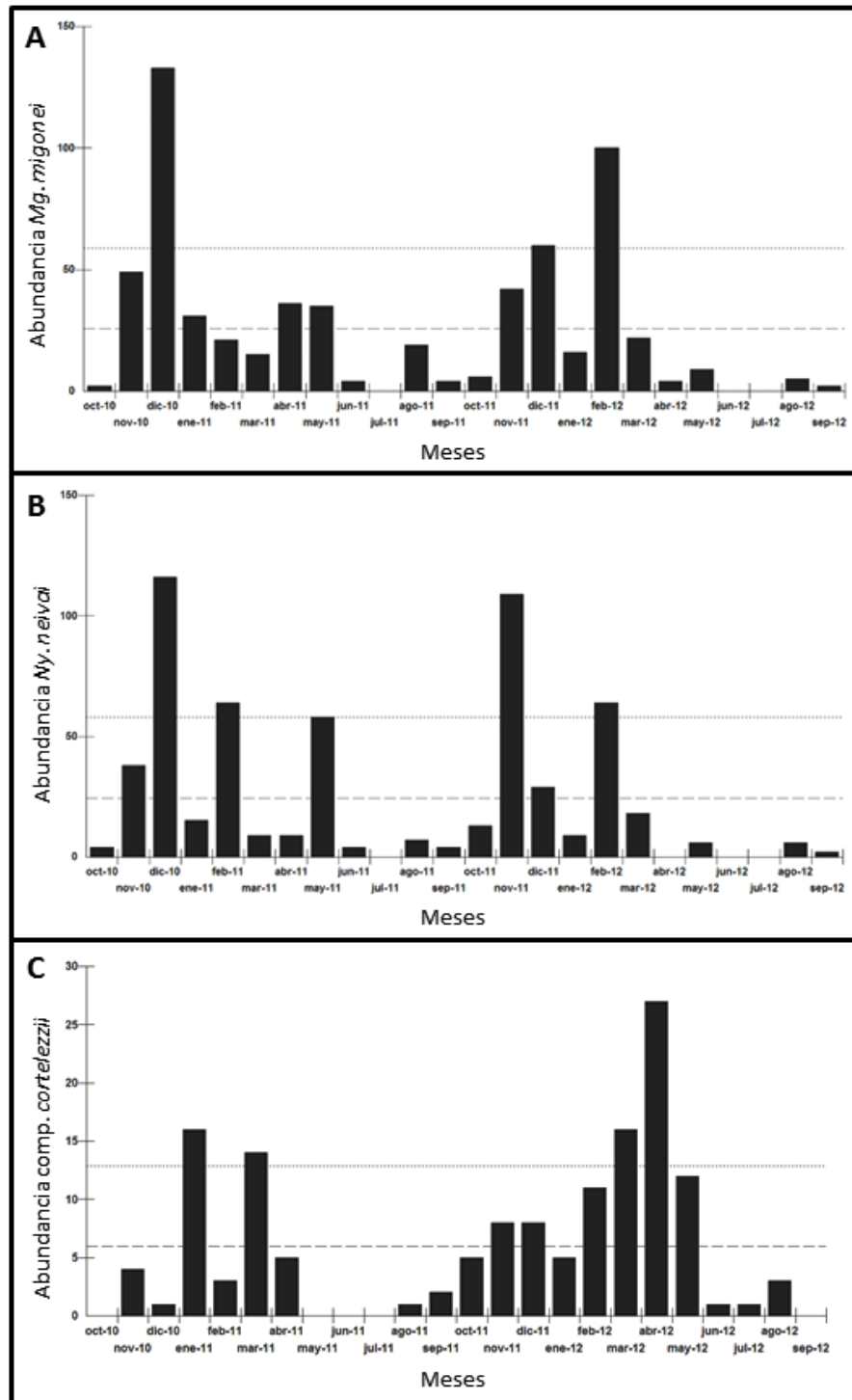


Fig. 10: Abundancia mensual del total capturado en la región Chaqueña, para A) *Mignonemyia migonei* B) *Nyssomyia neivai* C) complejo *cortelezzii*. Se marca con línea interrumpida, el promedio de captura para los dos años de muestreo; y con línea de puntos desvío estándar. Período octubre 2010- septiembre 2012; Chaco, Argentina.

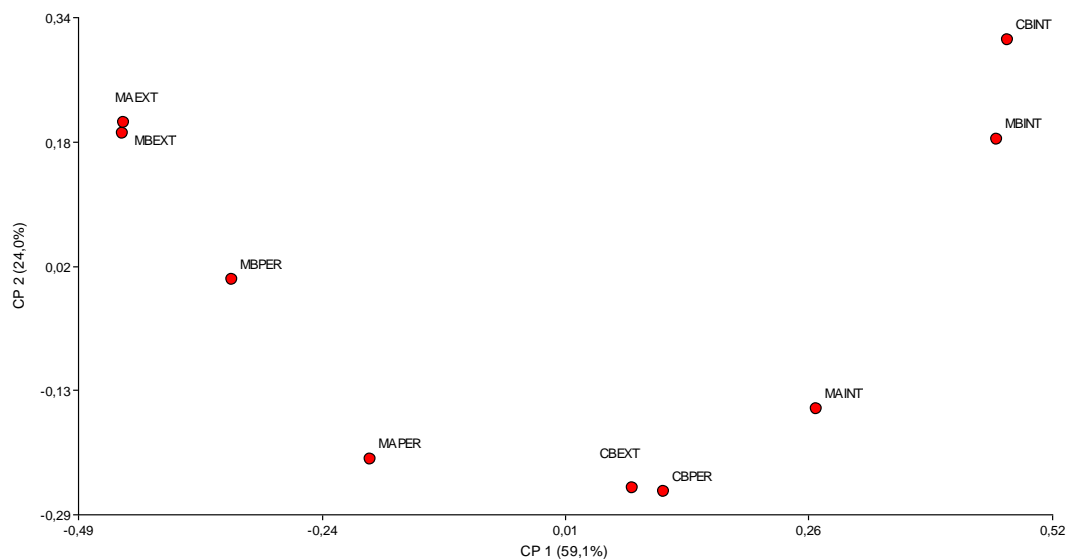


Figura 11. Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según localidades y ecotopos, en el período octubre 2010 a septiembre 2012. Chaco, Argentina.

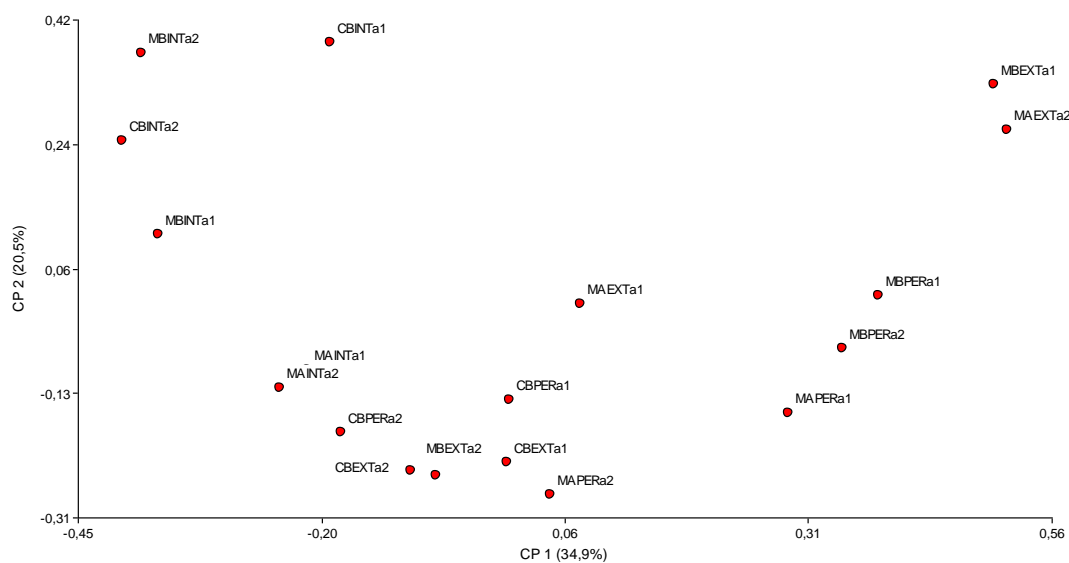


Figura 12. Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según localidades, ecotopos y años de muestreo. Chaco, Argentina.

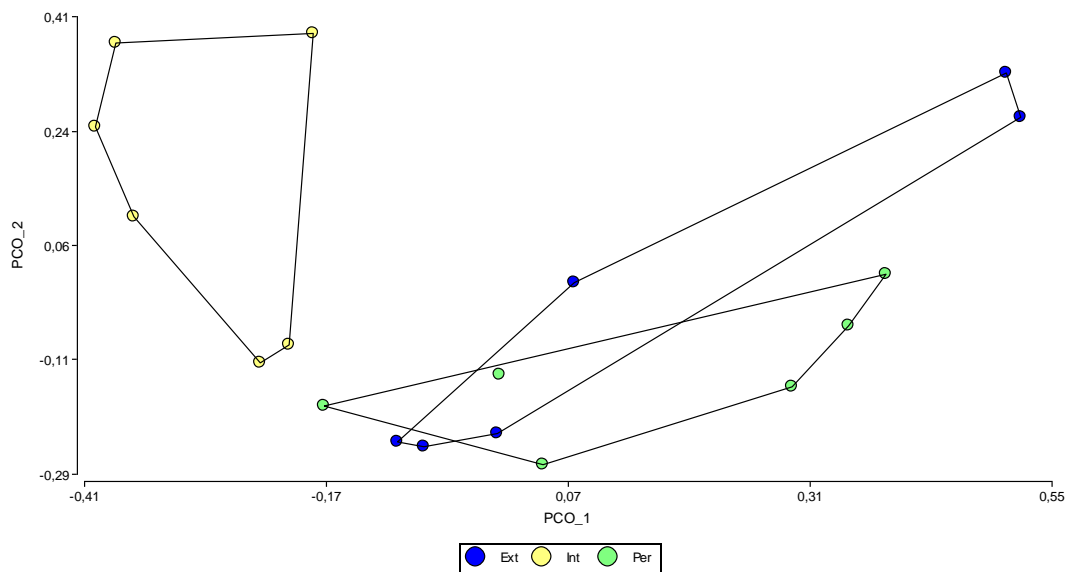


Figura 13. Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según localidades, ecotopos y años; coloreado por ecotopo, ext= extradomicilio, int= intradomicilio, per= peridomicilio, y unidos por líneas. Período: octubre 2010 a septiembre 2012. Chaco, Argentina.

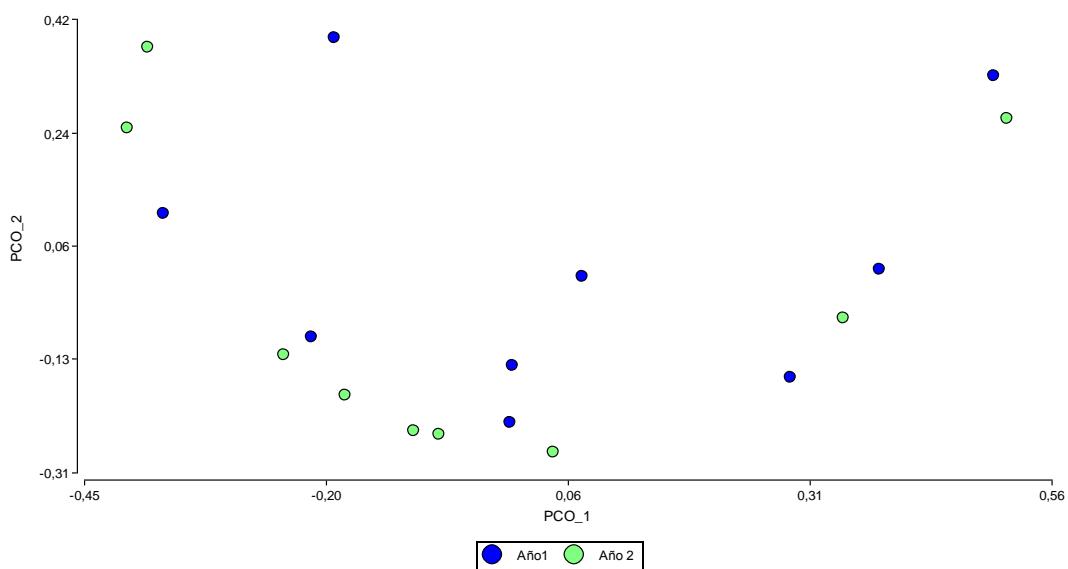


Figura 14. Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según localidades, ecotopos y años; coloreado por Año 1: octubre 2010-septiembre 2011, y año 2: octubre 2011-septiembre 2012. Chaco, Argentina.

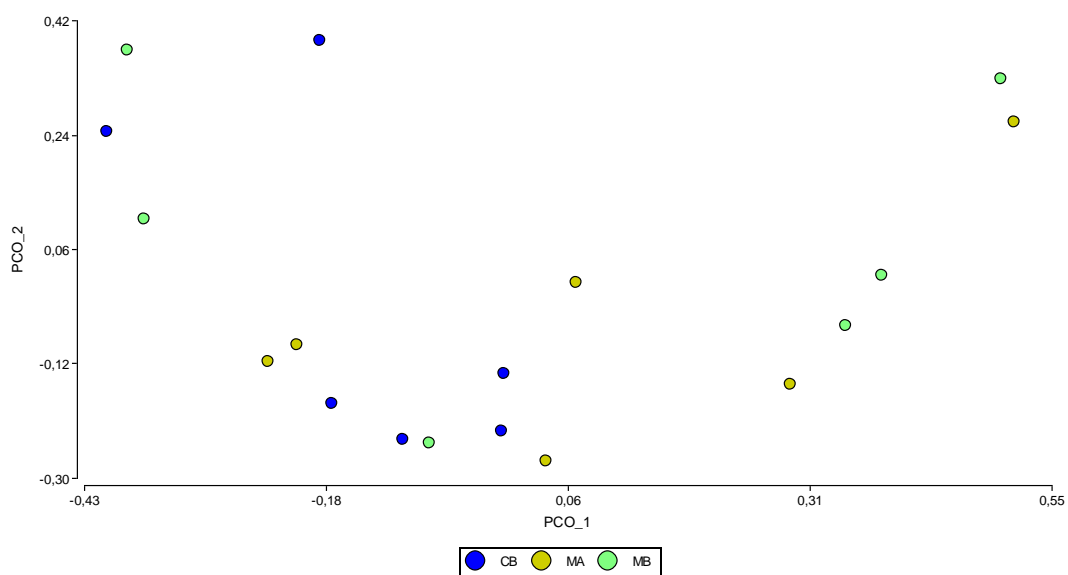


Figura 15. Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según localidades, ecotopos y años; coloreado según localidad: CB= Colonia Benitez, MA= Monte Alto, MB= Margarita Belén. Período octubre 2010 a septiembre 2012. Chaco, Argentina.

3.4 DISCUSIÓN

Se registra por primera vez para la Argentina la presencia de *Evandromyia aldafalcaoae* y *Evandromyia corumbaensis*. Ambas especies anteriormente restringidas al estado de Mato Grosso do Sul, Brasil (Galati 2003b). Actualmente amplían su distribución sur, siendo éste su registro más Austral en el continente. Si bien su baja abundancia en las capturas, sugeriría una improbable participación en la transmisión de la Leishmaniasis, al menos en esta región del país, se desconoce el rol de estas especies en la transmisión de parásitos del género *Leishmania*, incluso en las áreas de Brasil donde fueron registradas anteriormente (Galati 2003b; Dorval et al., 2009; Borges Alves et al., 2012). Aun así, debe destacarse que *Ev. corumbaensis*, junto a *Ev. cortelezzii*, *Ev. sallesi* y *Ev. spelunca*, conforman el llamado complejo *cortelezzii*, en el cual las hembras difícilmente pueden diferenciarse. Los machos, en cambio, son separados por caracteres morfológicos definidos aunque muchas veces difíciles de observar, por lo que frecuentemente llevan a identificaciones erróneas (Carvalho et al., 2011a). En base a estas observaciones, se resalta que el complejo *cortelezzii*, hasta ahora conformado en Argentina por *Ev. cortelezzii* y *Ev. sallesi*; deberá ser analizado en futuros estudios, teniendo en cuenta la incorporación de *Evandromyia corumbaensis* a la fauna Argentina, con el objeto de no cometer errores en la identificación. A su vez, debe destacarse que el complejo *cortelezzii* fue incriminado como probable vector de LC en Argentina debido a su alta abundancia en brotes esporádicos de LC (Romaña et al., 1949), y por haber sido hallado naturalmente infectado con *Le.(V.) braziliensis* en la región Chaqueña occidental; aunque durante esas capturas, solo se identificaron ejemplares de *Ev. cortelezzii* y *Ev. sallesi* (Rosa et al., 2011).

Las especies del género *Brumptomyia*, son consideradas zoofílicas, y se presume que se alimentan principalmente de armadillos; aunque también se registró que algunas especies se alimentan en forma primaria de anfibios y reptiles, y no se reportó que alguna de las especies del género, se alimente del hombre (Young & Duncan, 1994). Hasta el momento, no se ha descrito asociación o participación alguna, con la transmisión de la Leishmaniasis (Forattini, 19973). Tanto *Br. brumpti* como *Br. avellari* ya fueron descriptas en la Argentina, en las provincias de Chaco, Corrientes y Misiones (Salomón et al., 2008c; Rosa et al., 2010).

Psathyromyia shannoni, distribuida desde Estados Unidos hasta la Argentina, es la especie con distribución más amplia en el continente (Young & Duncan, 1994). Fue registrada por primera vez en la provincia del Chaco por Bejarano (1959); actualmente se conoce su distribución en las provincias argentinas de Salta, Jujuy, Tucumán, Misiones, Corrientes y Chaco (Salomón et al., 2008c). Si bien se desconoce su rol como vector de parásitos del género *Leishmania* en la Argentina, esta especie fue hallada naturalmente infectada con *L. mexicana* en México (Sánchez-García et al., 2010), e infectada experimentalmente, con *L. mexicana* (Lawyer et al., 1987), *L. panamensis* (Ferro et al., 1998) y con *L. chagasi* (Endris et al., 1982). A su vez, *Ps. shannoni* es considerado en los Estados Unidos, como un importante vector del virus de la estomatitis vesicular (Comer et al., 1991, 1994).

Sciopemyia sordellii, fue descrita por primera vez por Shannon & Del Ponte (1927) en la provincia del Chaco con la ciudad de Resistencia como localidad tipo. Posteriormente, fue registrada en la provincia durante la década de 1950 (Bejarano, 1959). Desde entonces, no volvieron a realizarse estudios orientados a la captura e identificación de Phlebotominae, hasta la década de 1990. Los trabajos realizados desde entonces, no volvieron a detectar la presencia de *Sc. sordellii* (Salomón et al., 2001b, 2008a; Rosa et al., 2010). Se resalta que éste, sería el primer registro de esta especie para la región Chaqueña desde la década de 1950. Actualmente, se registra la presencia de esta especie en las provincias de Chaco y Misiones (Salomón et al., 2010b). Hasta la fecha, esta especie no fue incriminada en la transmisión de la Leishmaniasis en ninguno de los países en que se conoce su distribución (Young & Duncan, 1994).

Nyssomyia neivai, la especie de mayor distribución en Argentina, fue hallada naturalmente infectada con *Leishmania* sp. en la provincia de Tucumán (Córdoba Lanús et al., 2006) e incriminada como responsable de la transmisión epidémica en ambientes modificados peridomésticos en la Argentina, Brasil y Paraguay (Rangel & Lainson, 2003; Córdoba Lanús et al., 2006). *Migonemyia migonei* considerada como el vector de LT, capaz de mantener la circulación zoonótica del parásito en períodos inter-epidémicos y eventualmente generar casos humanos aislados (Chaves & Añez, 2004; Salomón et al., 2008a-c), es considerada también en Argentina como vector putativo de LV (Salomón et al., 2010a).

En el presente trabajo, se observó una distribución asociada de *Ny. neivai* y *Mg. migonei*; concordante a lo observado anteriormente para la bioregión Chaqueña (Salomón et al., 2008a; Rosa et al., 2010). Salomón et al. (2008a) postularon dos patrones de diversidad para la región Chaqueña: 1) *Mg. migonei* como especie prevalente con o sin presencia de *Ny. neivai*, en la región del Chaco Seco 2) *Ny. neivai* altamente abundante con escaso *Mg. migonei* en la región del Chaco húmedo, pudiendo existir resultados intermedios en zonas húmedas periurbanas modificadas. Los resultados aquí obtenidos sugieren un tercer tipo de distribución relacionada a zonas rurales–periurbanas y asociadas a parches de bosque con alto grado de modificación antrópica, donde la razón *Ny. neivai* / *Mg. migonei* es de 1,1.

Si bien la mayor abundancia relativa y riqueza específica se registró en Margarita Belén, este sitio mostró la menor diversidad, debido a la alta predominancia de *Ny. neivai* y *Mg. migonei* sobre las demás especies, mostrando el más bajo índice de equidad ($J'=0,51$). El predominio de estas dos especies podría estar asociado al grado de modificación del ambiente, lo que explicaría los valores similares en el sitio Monte Alto (con los mismos signos de modificación antrópica del bosque que Margarita Belén), y la mayor diversidad en Colonia Benítez, probablemente por tratarse de un sitio con parches de bosque poco modificados. En la región de Rio do Sul, Brasil, se observó una asociación de estas especies con ambientes altamente modificados, y se hipotetizó a partir de ensayos de infección natural con parásitos de *Leishmania* en los Phlebotominae capturados, que tanto *Ny. neivai* como *Mg. migonei* podrían actuar como vectores en un ciclo de transmisión domiciliaria, tanto en áreas periurbanas, como en aquellas áreas que sufren alteraciones ambientales impuestas por el hombre (Pita-Pereira et al., 2011).

Teniendo en cuenta, la variación total de la abundancia de Phlebotominae en los distintos ecotopos, se observó que los parches de bosque y el peridomicilio mantendrían la mayor abundancia de Phlebotominae. Esta distribución, principalmente determinada por las abundancias de *Ny. neivai* y *Mg. migonei*, difiere con trabajos realizados en Argentina en la región de las Yungas en la Provincia de Tucumán, y en Brasil en los estados de Paraná y Rio de Janeiro. En estas regiones, se observó una mayor abundancia relativa de *Ny. neivai* y *Mg. migonei* en el intradomicilio; probablemente debido a su hábito antropofílico y su mejor adaptación a los ambientes modificados (Córdoba Lanús & Salomón, 2002; Fordellon et al., 2012; Meneses et al., 2002). A su vez, en el estado de Rio de Janeiro,

Brasil, se observó una mayor abundancia de *Ny. intermedia*, especie próxima y considerada por algunos autores como sinónimo de *Ny. neivai* (Young & Duncan, 1994), y de *Mg. migonei* en el intradomicilio y peridomicilio, disminuyendo su abundancia a medida que las trampas eran situadas a mayor distancia del domicilio. A su vez, Meneses et al. (2005), en la misma región del estado de Río de Janeiro, demostró que las poblaciones *Ny. intermedia*, del intradomicilio y peridomicilio, pertenecerían a un mismo pool de genes, mientras que el extradomicilio sería un pool de genes distinto; e incluso observó que al menos 50 individuos por generación, migran de un ecotopo a otro. Estas observaciones, refuerzan la conocida preferencia de estas especies a ambientes altamente modificados, y su posible proceso de domesticación. Los resultados aquí obtenidos, difieren de los trabajos realizados en la provincia de Tucumán y en los estados de Brasil; pero son concordantes con lo observado por Rosa et al. (2010), que registró en la provincia, una mayor abundancia de estas especies en el extradomicilio y peridomicilio, y una muy baja frecuencia en el intradomicilio; sugiriendo que en esta región, las poblaciones de Phlebotominae estarían estrechamente ligados a los parches de bosque y a animales de corral próximos al domicilio, donde probablemente se mantendrían los criaderos naturales y sitios de reposo, mientras que algunas especies como *Mg. migonei* y *Ny. neivai* y comp. *cortelezzii* podrían visitar el domicilio, solo ocasionalmente en busca de repasto sanguíneo.

Los resultados del presente trabajo observaron que la variación mensual y estacional de los Phlebotominae, fueron diferentes a lo registrado en el noroeste del país, en la provincia de Tucumán, donde los picos de abundancia de *Ny. neivai* se observan en primavera y otoño (Córdoba Lanús & Salomón, 2002); A partir de los resultados aquí obtenidos, se observó que durante el período de estudio, *Ny. neivai* y *Mg. migonei*, mostraron una fuerte correlación en su distribución de abundancia mensual. Ambas especies mostraron una distribución de primavera a otoño, con picos de abundancia en verano y primavera, pudiendo presentar capturas discontinuas las que probablemente estarían relacionadas a las bajas temperaturas e intensas precipitaciones. La variación de la distribución mensual de *Ny. neivai* año a año, ya fue observada por otros autores en la provincia de Salta (Salomón et al., 2004), donde se determinó que esta especie puede variar su distribución, registrando tanto distribuciones de tipo bimodal como trimodal. Sin embargo, en la provincia de Salta

se observó que los picos de mayor abundancia estaban relacionados al otoño, a diferencia de los resultados aquí observados donde los picos se relacionan al verano y la primavera. El complejo *cortelezzii*, por su parte, mostró una distribución irregular con variaciones interanuales, asociadas a otoño y verano. Hasta la fecha, éste es el único registro de estacionalidad para este complejo en el continente; por lo cual, futuros estudios podrán determinar comparativamente si esta distribución, con mayor abundancia en otoño y verano, es mantenida en otras provincias y regiones de la misma latitud pudiendo así sugerir un posible riesgo de transmisión asociado a esta especie durante el otoño en ésta región.

Como fue aclarado anteriormente, se observó que las variaciones de abundancia mensuales de *Ny. neivai*, *Mg. migonei* y el complejo *cortelezzii* parecerían ser afectadas por las temperaturas y precipitaciones principalmente. Estas observaciones son reforzadas con los resultados de los índices de correlación de Spearman, donde se observó que las tres especies, muestran una mayor correlación con la temperatura, más relacionada a la temperatura media mensual en *Mg. migonei* y complejo *cortelezzii*, mientras que *Ny. neivai*, parecería ser más afectada por la temperatura mínima mensual. Además, las tres especies mostraron una correlación con las precipitaciones, las cuales si bien mantienen la humedad relativa elevada, pueden afectar a los estadios inmaduros produciendo la lixiviación de los suelos (Salomón et al., 2004). A su vez, se observó que al comparar la abundancia de captura mensual con los registros puntuales, la actividad de los Phlebotominae, asociada a las variables meteorológicas, muestra el mismo patrón que la tendencia mensual; con una mayor correlación con la temperatura media de la captura. Además, se observó que tanto la humedad relativa promedio mensual, como el registro puntual de cada captura, parecerían no afectar a los Phlebotominae, no observándose correlación con esta variable. Trabajos realizados en la provincia de Tucumán observaron que la abundancia de Phlebotominae sería mayormente afectada por las precipitaciones y por consiguiente la humedad relativa del aire (Córdoba Lanús & Salomón, 2002; Salomón 2004, Quintana et al., 2010). Sin embargo, en la provincia de Misiones, Fernández et al. (2012), observaron que la variación de los Phlebotominae, estaría mayormente asociada a las variaciones de temperatura del mismo día de la captura y con las temperaturas de 15 y

30 días anteriores a las capturas, mientras que las precipitaciones tendrían menor efecto, concordante con lo observado en estos resultados.

El análisis de ordenación, mostró que tanto en los muestreos realizados en los años 1 y 2, se observa un patrón claro de diferencias entre las comunidades de Phlebotominae del intradomicilio con respecto a los ecotopos restantes, mientras que no pudo observarse diferencias por efecto localidad, ni temporal. Por ello, según lo observado anteriormente, y considerando la variación de abundancia entre ecotopos, la microescala (ecotopo) sería el efecto más importante que condiciona la comunidad por sobre los efectos interanual y de la macroescala (localidades).

Si bien no se observaron parásitos intestinales en las disecciones realizadas, esto no descarta la circulación de los mismos en los sitios estudiados, ya que podría deberse a la baja sensibilidad del método, al bajo número de insectos obtenidos (que cumplan con las condiciones para realizar la disección), o por tratarse de un periodo inter-epidémico de baja transmisión. En el primer caso, la disección del tracto intestinal, si bien es un método de baja sensibilidad, de hasta el 1% incluso durante brotes epidémicos, es el método complementario para confirmar el estadio del flagelado (paramastigote y/o promastigote) que confirmaría su probable rol como vector competente (Schonian et al., 2003; Manna et al., 2004). En el caso de período epidemiológico, es muy complejo poder determinar el momento que está desarrollándose en un área de estudio sin el respaldo fidedigno de fuentes primarias y/o secundarias de casos y/o de vectores. Por ello, sólo podrían plantearse hipótesis en el aspecto de la ecología y la epidemiología de la leishmaniasis debido a que son consideradas entre las más complejas de todas las enfermedades transmitidas por vectores por la amplia gama de especies de mamíferos y flebótomos involucrados en sus ciclos de transmisión que producen incluso, una variación topogeográfica de focos de la enfermedad (Ashford et al., 1998). En conclusión, la presencia de vectores competentes de LT y LV como *Ny. neivai* y *Mg. migonei* y comp. *cortelezzii* en ambientes próximos al domicilio con registros en el bosque, significaría un factor de riesgo en la región aumentando las probabilidades del contacto humano-vector-reservorio. El aumento en la frecuencia de estas especies en los meses cálidos y con precipitaciones moderadas, deberá ser considerado al momento de proponer medidas de control debiendo enfocar las acciones de prevención durante primavera y verano. Se hace

necesaria la vigilancia entomológica periódica en sitios críticos, para dar alerta temprana sobre cambios en número o composición específica de poblaciones de Phlebotominae.

CAPÍTULO IV

ECOLOGÍA DE PHLEBOTOMINAE EN AMBIENTES PERIURBANOS – RURALES

4.1 INTRODUCCIÓN

Históricamente, las investigaciones sobre fauna de Phlebotominae estuvieron particularmente relacionadas al diagnóstico de algunas enfermedades, o a la identificación de sus vectores en determinadas regiones (Marins de Aguiar & Muniz de Medeiros, 2003).

Si bien se sabe de su presencia en el bosque, los Phlebotominae también son registrados en ambientes rurales y más recientemente en ambientes urbanos (Rangel & Lainson, 2009).

Esto indica que algunas especies, están en proceso de domesticación, y consecuentemente, con mayor adaptación a ambientes alterados por el hombre. Así, algunas de estas especies viven asociadas al hombre o sus animales domésticos (Marins de Aguiar & Muniz de Medeiros, 2003; Feitosa & Castellón, 2004; Nunes et al., 2008; Rangel & Lainson, 2009). A su vez, algunos estudios demostraron que los Phlebotominae en áreas periurbanas se alimentan sobre humanos, aumentando así el riesgo de infección de Leishmaniasis en áreas cercanas a la vivienda (Nery et al., 2004; Salomón et al., 2006c). También, algunos autores han señalado que la deforestación aumenta la incidencia de algunas enfermedades como la Malaria, Schistosomiasis, Arbovirosis, y Leishmaniasis (Maroli et al., 2013; Walsh et al., 1993).

Existen dos factores principales que influyen en la domicialización de estos insectos: las modificaciones del habitat por acción antrópica, y el poder adaptativo de las especies al nuevo ambiente. Estos factores determinar las estructuras de las poblaciones como así también su dinámica, haciendo que algunas especies desaparezcan, y que aquellas que se adaptan a las nuevas circunstancias prevalezcan; permaneciendo principalmente en bosques residuales o áreas cultivadas próximas al domicilio, en zonas rurales o en la periferia de zonas urbanas con características rurales o no (Marins de Aguiar & Muniz de Medeiros, 2003).

Se debe considerar, que en condiciones naturales estos insectos se distribuyen en comunidades estables, equilibrados con las variables de los ecosistemas como un todo. Así, podemos suponer que el surgimiento de muchas epidemias esté ligado a problemas de la ecología humana; causada por la introducción accidental o planeada del hombre en regiones donde sus transmisores todavía son desconocidos (Marins de Aguiar & Muniz de Medeiros, 2003).

En el nordeste Argentino, se identificaron 2 principales vectores de *Le. braziliensis* (agente causal de la Leishmaniasis Tegumentaria), *Nyssomyia neivai* (Salomón et al., 2008c) y *Ny. withmani* (Salomón et al., 2009b). Desde 1985 se reportaron numerosos brotes en diferentes ambientes, desde bosques a ambientes periurbanos, asociados principalmente con *Ny. neivai* (Salomón et al., 2008c). Esta especie también fue incriminada como vector de *Le. braziliensis* en varios focos de transmisión en Brasil y se reportó que presenta comportamiento antropofílico en ambientes peridomiciliarios (Cerino et al., 2009; Sampaio et al., 2009).

En Brasil, se observó que las especies más adaptadas a los ambientes que sufren intensa acción antrópica y rara vez son registrados en los ambientes silvestres son *Ny. intermedia*, considerada sinónimo de *Ny. neivai* por algunos autores (Young & Duncan, 1994), y *Mg. migonei*; siendo la primera considerada con mayor capacidad de domicialización y de mayor adaptación a los ambientes modificados por el hombre. En la región Sur de Brasil, se observó que las capturas de *Ny. neiva* en el bosque, son prácticamente nulas, estando esta especie directamente asociada a la vivienda y animales próximos a ella (Aguiar et al., 1987).

Como ya se mencionara en el capítulo anterior, Salomón et al. (2008a), observaron para la región Chaqueña dos patrones de distribución, y de estructura de las comunidades, asociados a la abundancia y predominancia de *Ny. neivai* y *Mg. migonei*. Los resultados obtenidos en la primera etapa de trabajo (Cap. III), indicarían que existe un tercer tipo de distribución, relacionada a zonas rurales–periurbanas, asociadas a parches de bosque con alto grado de modificación antrópica, donde la razón *Ny. neivai* / *Mg. migonei* es de 1,1. Se concluyó también a partir de los resultados obtenidos en este trabajo (Cap. III) que la presencia de vectores de LT y LV (WHO, 2010) como *Ny. neivai*, *Mg. migonei* y complejo *cortezzi* en ambientes próximos al domicilio con registros en el bosque, significaría un factor de riesgo en la región aumentando las probabilidades del contacto humano-vector-reservorio.

Hasta la fecha, los trabajos realizados en Argentina, fueron relacionados a brotes endémicos o epidémicos de LC y LV, con el objeto de identificar la presencia de probables vectores y su dinámica de distribución espacio temporal, y de asociarlos a la transmisión de la Leishmaniasis en el país. Sin embargo, poco se sabe de la ecología de las

comunidades de Phlebotominae, y de su estructura y composición. En consecuencia, para conocer la distribución de abundancia de vectores en el tiempo y espacio, como así también la estructura y composición de las comunidades de Phlebotomiane en la mesoescala espacial (sitios de muestreo en las localidades) y reforzar lo observado en la microescala espacial (intradomicilio, peridomicilio, extradomicilio), se realizaron capturas mensuales en las localidades en las que se observó mayor abundancia durante la primera etapa de este trabajo (Cap. III), en las localidades de Monte Alto (periurbano-rural) y Margarita Belén (rural).

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS:

4.2.1 Área de estudio

En la región Chaqueña oriental se seleccionaron dos áreas de estudio, Monte Alto (MA) y Margarita Belén (MB), distantes entre sí por aproximadamente 21km (**Fig. 16-A**). Ellas fueron escogidas en base a los resultados obtenidos durante la primera etapa de trabajo, por presentar mayor abundancia de Phlebotominae, alto grado de modificación antrópica y antecedentes de casos humanos de LC (Fuente: Dispensario Dermatológico “Manuel Giménez”, ciudad de Resistencia, Ministerio de Salud, Provincia del Chaco). En cada área, a su vez, fueron seleccionados 3 tres sitios de muestreo, distantes entre sí por aproximadamente 1000 metros (± 200 mts.). Los tres sitios de Monte Alto y los tres sitios de Margarita Belén, para el muestreo de vectores, se eligieron considerando los diferentes usos de la tierra y manejo de animales domésticos (descriptos abajo). Se tuvo en cuenta además, la presencia de viviendas habitadas con características favorables para el desarrollo de vector (abundante sombra, materia orgánica en descomposición, animales de corral próximos al domicilio y parches de bosque a ≥ 100 mts.).

4.2.2 Área Monte Alto

El área de Monte Alto, representa una zona periurbana-rural, situada entre la ciudad de Resistencia y la ciudad de Corrientes, en el departamento San Fernando (**Fig. 16-A**). Se seleccionaron tres sitios de muestreo: El sitio 1 (MA01) ($27^{\circ}16'22''S$; $59^{\circ} 0'58''O$), (**Fig. 16-B; 17-A**): se encuentra en una zona de borde, con mosaicos de vegetación que alternan entre relictos de bosque de *Schinopsis balansae* (Quebracho Colorado), *Astronium*

balansae (Urunday) y palmares de *Copernicia alba*. Presenta un estrato herbáceo poco desarrollado, representado principalmente por Bromeliáceas.

Los sitios 2 (MA02) (27°16'31"S ; 59° 1'43"O) y 3 (MA03) (27°16'48"S ; 59° 1'11"O), (**Fig. 16-B; 17-B-C**): presentan relictos de bosque de Quebracho Colorado y Urunday, con especies arbóreas altas y un estrato herbáceo bien representado. A su vez los sitios MA01 y MA02 corresponden a establecimientos ganaderos, con animales de corral en el peridomicilio como: gallinas (*Gallus gallus*), chivos (*Capra aegagrus hircus*), caballos (*Equus ferus caballus*), cerdos (*Sus scrofa domestica*) y bovinos (*Bos primigenius taurus*); mientras que MA03 es un terreno dedicado a plantación de hortalizas y sin animales de corral.

4.2.3 Área Margarita Belén:

Colonia Amadeo, comprendida dentro del Municipio de Margarita Belén en el Departamento 1° de Mayo, está representada por ambientes rurales de varias hectáreas, poco urbanizados con establecimientos dedicados principalmente a la ganadería (**Fig. 16-A**).

Se seleccionaron 3 sitios de muestre con las siguientes características: El sitio 1 (MB01) (27°26'34"S ; 58°54'13"O), (**Fig. 16-C; 17-D**): corresponde a un establecimiento ganadero, dedicado a la cría y comercialización de ganado vacuno. El peridomicilio presenta corrales de aves, porcinos y ovinos; pudiendo presentarse ocasionalmente bovinos y equinos en los corrales próximos al domicilio.

El Sitio 2 (MB02) (27°26'47"S; 58°55' 0"O), (**Fig. 16-C; 17-E**): corresponde a un terreno dedicado a plantaciones de hortalizas para comercialización, presentando en el peridomicilio aves y porcinos para consumo propio.

El Sitio 3 (MB03) (27°26'25"S; 58°55'0"O), (**Fig. 16C; 17-F**): corresponde a un pequeño terreno familiar de cría de animales para consumo propio, presentando en su peridomicilio, aves, caprinos, equinos y bovinos en forma intermitente.

El sitio MB01 representado mayormente por pastizales, presenta parches de bosque a los márgenes del riacho Caroli, con vegetación de selva en galería en mosaico con bosque de

Quebracho Colorado. Los sitios MB02 y MB03, carecen mayormente de árboles de gran porte representados principalmente por espinillos (*Acacia* sp.), lo que indica que podría tratarse de zonas taladas en las cuales el bosque se encuentra en proceso de recomposición.

4.2.4 Captura de Phlebotominae en áreas periurbanas –rurales

Durante el período enero a diciembre de 2013 se instalaron mensualmente en cada uno de los seis sitios seleccionados y georeferenciados, tres trampas de luz CDC (Center of Disease Control) (Sudia & Chamberlain, 1962), durante dos noches consecutivas. Las trampas se instalaron a 1,5 m del nivel del suelo con permanencia activa de 19:00 a 07:00hs del día siguiente, teniendo como único atractivo la luz incandescente.

Con el objeto de determinar las variaciones de abundancia y diversidad de especies de Phlebotominae en la mesoescala (sitios de muestreo) y microescala (ecotopos) en cada sitio de muestreo); como así también el riesgo de transmisión asociado. Las trampas se instalaron en cada sitio seleccionado, en tres ecotopos: domicilio (interior, galerías o ventanas de la vivienda), peridomicilio (hasta 20 m de la vivienda que incluye zona de animales de corral o reposo de animales domésticos, que representen un cebo animal), extradomicilio (borde de parche de Bosque ≤ 100 m de la vivienda) (**Fig. 17**). En la mañana posterior a la captura, las bolsas fueron transportadas al laboratorio, y sometidas a -20 °C por al menos dos hora para matar los insectos capturados.

4.2.5 Procesamiento y determinación de especies de Phlebotominae

Para el procesamiento y la determinación de especies de Phlebotominae capturados, se aplicaron los procedimientos descritos en el Capítulo II (Metodología General). Una vez muertos los Phlebotominae, fueron separados de otros insectos mediante el empleo de lupa estereoscópica, para ser sometidos posteriormente a los procesos de clarificación y montaje. La identificación, se realizó mediante la clave dicotómica propuesta por Galati (2003b). Se siguieron las abreviaturas propuestas por Marcondes (2007).

Dado que las hembras de *Ev. cortelezzii* y *Ev. sallesi* no pueden diferenciarse por caracteres morfológicos, fueron analizadas e incluidas como complejo *cortelezzii*; mientras

que los machos fueron separados por especie y analizados individualmente, excepto en los casos abajo aclarados.

4.2.6 Obtención de Registros Meteorológicos

Los datos de humedad relativa media mensual (HR%), precipitaciones acumuladas mensuales (precip.), Temperatura mínima (T. min), Temperatura máxima (T. max) y Temperatura medias mensual (T. med); fueron solicitados a las estaciones meteorológicas más cercanas: 1) Estación meteorológica –INTA, Colonia Benítez (Área Margarita Belén); 2) Estación Meteorológica-Departamento de Hidráulica, Universidad Nacional del Nordeste (Área Monte Alto).

4.2.7 Análisis de los resultados

La composición de la fauna flebotomínica y su variación en tiempo y espacio se analizó en función de la diversidad y abundancia de especies, proporción de sexo, variación de abundancia relativa mensual y estacional, abundancia de especie por ecotopo (domicilio, peridomicilio, extradomicilio); y correlación de abundancia de Phlebotominae más abundantes, con variables meteorológicas (temperatura, humedad relativa y precipitaciones). Se utilizaron pruebas de χ^2 (Chi-cuadrado) para analizar diferencias estadísticamente significativas entre: a) el número total de Phlebotominae por área, b) la diferencia de los totales de *Ny. neivai* y de *Mg. migonei* en las dos áreas estudiadas, c) abundancia de sexo por especie; d) abundancia de especie por ecotopo y abundancia total por ecotopo (intradomicilio, peridomicilio, extradomicilio).

Los índices empleados en la medición de la estructura y diversidad de las comunidades de Phlebotominae fueron el índice de diversidad de Shannon-Wiener (H'), equitatividad de Pielou (J') y riqueza específica (S).

Dado que la comparación de la diversidad entre varias muestras puede ser cuestionada debido a la elección arbitraria de un solo índice de diversidad para realizar la comparación, varios índices de diversidad pueden ser comparados al mismo tiempo para asegurarse de que un ordenamiento de diversidad sea robusto. Una manera formal de hacer esto, es

definir una familia de índices de diversidad, dependiente de un solo parámetro continuo (Tothmeresz, 1995). Por ello, para la comparación de distintos índices de diversidad en las poblaciones de Phlebotominae, se utilizaron los perfiles de diversidad basado en la exponencial del índice de Renyi, que depende de un parámetro alfa (α). Variando el parámetro de escala α , el índice de Renyi resultante $H(\alpha)$, genera un rango de índices de diversidad, siendo que para $\alpha=0$ esta función da el número total de especies, $\alpha=1$ da un índice proporcional al índice de Shannon – Wiener y para $\alpha=2$ da un índice que se comporta como el índice de Simpson (Tothmeresz, 1995). Al graficar los perfiles resultantes pueden compararse diversidades de cada comunidad. Si una comunidad, muestra un perfil con valores mayores, esta comunidad es más diversa. Si los perfiles de las comunidades se cruzan éstas no son comparables.

Dado que en la mesoescala se observó una diferencia en la distribución de machos de *Ev. cortelezzii* y *Ev. sallesi*, para el análisis de riqueza específica, diversidad de Shannon y equitatividad, se discriminó a los machos por especie, mientras que las hembras fueron considerados como especie distinta agrupadas como complejo *cortelezzii*. Para las otras escalas de análisis, tanto machos como hembras de ambas especies fueron considerados como complejo y analizados como única especie dado que no se observó diferencias en la distribución de machos de ambas especies. Si bien esta decisión quita riqueza específica, la comparación entre unidades no se ve afectada ya que solo se realizó este agrupamiento cuando los machos de ambas especies estaban presentes en todas las unidades de comparación.

La distribución espacial se interpretó según la variación en la abundancia total y discriminada por área de estudio (MA y MB), de especies de flebotominos adultos capturados mensualmente. Además, con el objetivo de observar las variaciones espaciales en la estructura de la comunidad de flebotomos, se realizaron análisis de coordenadas principales, utilizando distancia Bray Curtis. A partir del resultado de dicha ordenación se observó si el resultado producido por el análisis correspondía a un efecto espacial a mesoescala (sitios de muestreo), a microescala (ecotopos), o a una combinación de éstos. Asimismo se realizaron con la misma distancia (Bray Curtis) análisis de conglomerados que complementan a las ordenaciones y que presentan las similitudes entre las especies de la comunidad de Phlebotominae. Las ordenaciones fueron realizadas de 2 formas

diferentes: Base 1) teniendo en cuenta la distribución por ecotopos (microescala): Intradomicilio, peridomicilio o exterior y en las dos localidades; durante el período enero – diciembre de 2013. Base 2) teniendo en cuenta los sitios de captura (mesoescala): MA01, MA02, MA03 y MB01, MB02, MB03; durante el período enero - diciembre 2013.

La correlación de la abundancia de los Phlebotominae capturados con los registros mensuales de las variables meteorológicas, se realizó en base al índice de Spearman. Dado que el ciclo completo de *Ny. neivai* puede variar entre 36 y 54 días según observaciones en colonias experimentales (Andrade Filho et al., 2004), en el presente estudio se llevó a cabo la correlación comparando la abundancia promedio mensual de las especies más abundantes y de interés epidemiológico (promedio de los tres sitios de estudio para cada localidad), con los registros promedio mensuales de las variables meteorológicas del mismo mes de captura (lag = 0), y con los registros promedio mensuales del mes anterior la captura (lag = -1) (Salomón et al., 2004; Fernández et al., 2012). Los análisis fueron realizados mediante los software Bioestat (v.5.0), Past (v.2.17) e Infostat (V.2014). Todos los test fueron considerados con diferencias significativas con $p < 0,05$.

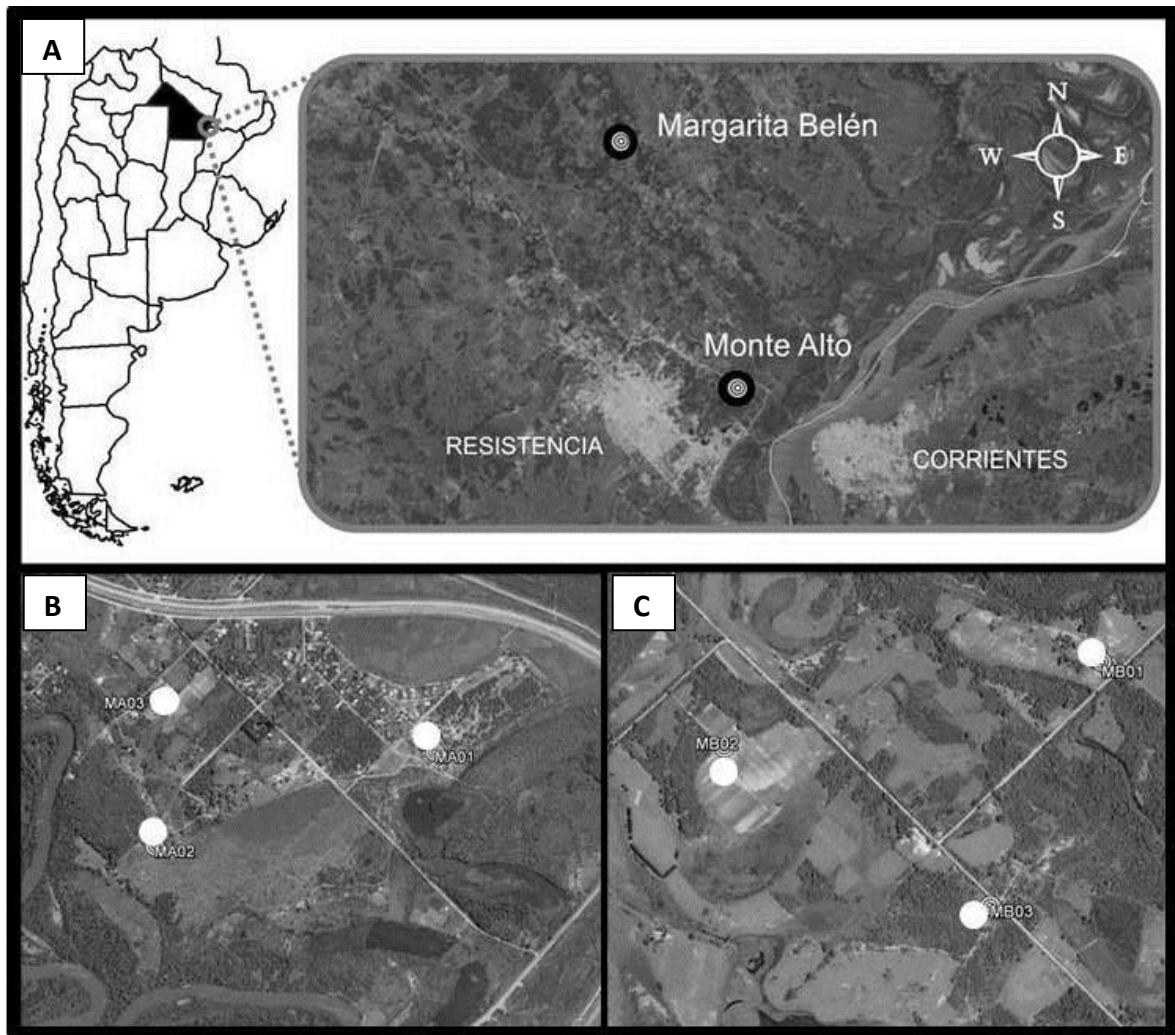


Fig. 16: Imagen satelital mostrando la ubicación de las áreas y sitios de estudio, A) Monte Alto, Margarita Belén dentro de la provincia del Chaco y las ciudades de Resistencia y Corrientes; B) Sitios de muestreo Monte Alto, C) Sitios de muestreo Margarita Belén. Chaco, Argentina; enero-diciembre 2013; Imágenes extraídas de *Google Earth*, versión 4.0.2416 (beta) <http://earth.google.es>. 2014.

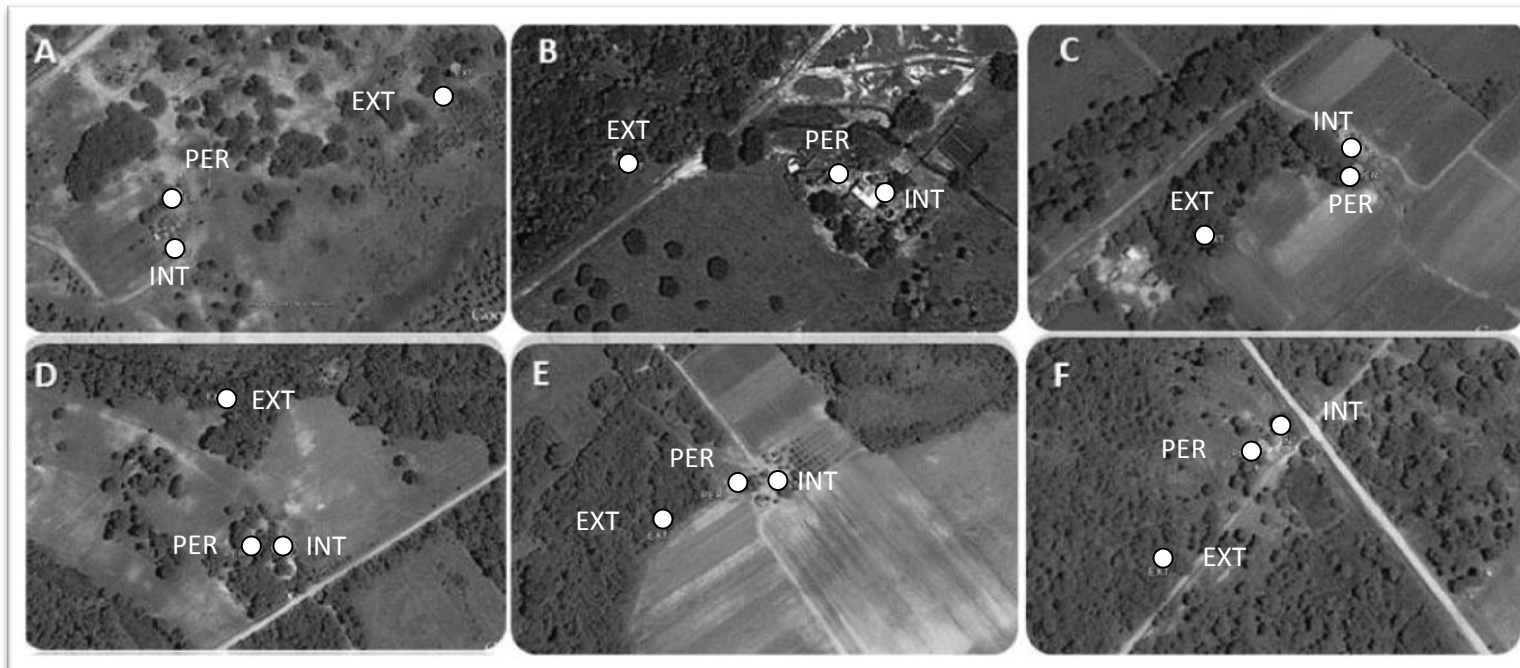


Fig. 17: Imágenes satelitales de los distintos sitios de Estudio, mostrando en cada uno la posición de intradomicilio (INT), peridomicilio (PER), extradomicilio (EXT). A) MA01, B) MA02, C) MA03, D) MB01, E) MB02, F) MB03. Imágenes extraídas de *Google Earth*, versión 4.0.2416 (beta) <http://earth.google.es> 2014.

4.3 RESULTADOS

Durante el período enero a diciembre de 2013, se capturaron en total 8477 Phlebotominae, de los cuales 4763 fueron capturados en Monte Alto y 3714 en Margarita Belén. Las especies registradas fueron: *Nyssomyia neivai* (88,55%); *Migonemyia migonei* (9,58%); complejo *cortelezzii* (1,56%) – (de los cuales el 0,96 % fueron hembras; 0,38% machos de *Evandromyia cortelezzii* y 0,22% machos de *Evandromyia sallesi*); *Brumptomyia brumpti* (0,13%); *Psathyromyia shannoni* (0,09%); *Nemapalpus* sp. (0,02%); *Sciopemyia sordellii* (0,02%); *Evandromyia corumbaensis* (0,02%); *Evandromyia aldafalcaoae* (0,01%); *Micropygomyia quinquefer* (0,01%). Vuelve a destacarse la presencia de *Evandromyia corumbaensis* y *Evandromyia aldafalcaoae*, registradas por primera vez para la Argentina, y *Micropygomyia quinquefer*, registrada por primera vez en la región Chaqueña húmeda. La razón de sexo fue de 1,4 machos por hembra para *Ny. neivai* y de 1,5 para *Mg. migonei* mientras que se capturó mayor número de hembras para el complejo *cortelezzii* y *Br. brumpti*, iguales proporciones para *Nemapalpus* sp. y *Sc. sordellii* y solo machos de *Pa. shannoni*, *Ev. aldafalcaoae*, *Ev. corumbaensis*, *Mi. quinquefer*. Se observaron diferencias significativas en las abundancias de machos y hembras de *Ny. neivai*, *Mg. migonei* y complejo *cortelezzii*, entre las áreas de estudio (**TABLA VI**).

La abundancia total de Phlebotominae capturados por sitio, mostró diferencias significativas entre los 3 sitios de captura de MA ($\chi^2= 1778,275$; gl=2; $p < 0,0001$) como así también entre los 3 sitios de Margarita Belén ($\chi^2=5383,575$; $p < 0,0001$; gl=2), y a su vez entre el total para MA y el total para MB ($\chi^2= 1720$; gl=2; $p < 0,0001$) (**Fig. 18**). El sitio con mayor abundancia de Phlebotominae capturados, corresponde a MB01 (n= 3342) mientras que la menor abundancia se registró en MB02 (n=75) (**TABLA VII**). Se observó tanto para MA como para MB, que *Ny. neivai* es la especie de mayor abundancia en todos los sitios estudiados.

Las áreas MA y MB presentaron la misma riqueza específica ($S= 9$), y no se encontraron diferencias significativas entre los índices de diversidad de Shannon de ambas áreas ($t= 1,0174$; $p=0,309$). Sin embargo, cada sitio de estudio mostró una riqueza específica y diversidad particulares (**TABLA VII**). Los sitios con mayor riqueza específica

corresponde a MB01 con $S=9$ mientras y MA01 con $S=7$, los cuales a su vez presentaron el menor índice de diversidad con $H'=0,3915$ y $H'=0,3174$ respectivamente (**TABLA VII**). A su vez, los sitios con menor riqueza específica MA02 y MB02 ($S=4$; $S=5$), presentaron una mayor diversidad ($H'=0,6609$ y $H'=0,7143$), establecida por la mayor equitatividad en su distribución de abundancia por especie. Esta diferencia también se observa en los perfiles de diversidad del índice de Renyi, donde los sitios presentan una distribución cruzada, dada por la diferencia en la riqueza específica y la diversidad (**Fig. 19**). Como fue aclarado en la metodología, la variación de alpha, se asemeja para $\alpha = 0$ a la riqueza específica, mientras que $\alpha > 0$ da resultados comparables a índices de diversidad; por ende el cruce de las curvas, indica para este caso, que los sitios con mayor Riqueza, presentan la menor diversidad.

Se observó que *Sc. sordellii*, *Pa. shannoni* y *Br. brumpti* solo fueron registradas en MB, mientras que *Ev. aldafalcaoae*, *Ev. corumbaensis* y *Mi. quinquefer* solo se registraron en MA (**TABLA VII**).

La abundancia total de Phlebotominae capturados por ecotopo en ambas área de estudio, mostró diferencias significativas ($\chi^2 = 2860,78$; $gl = 2$; $p = <0,0001$), siendo el peridomicilio el sitio de mayor abundancia, seguido de extradomicilio e intradomicilio. A su vez se observó que tanto *Ny. neivai* como *Mg. migonei* mostraron diferencias significativas en su abundancia por ecotopo (**TABLA VIII**). *Nyssomyia neivai*, *Mg. migonei* y complejo *cortelezzii* mostraron mayor abundancia en el peridomicilio seguido de extradomicilio e intradomicilio, mientras que las demás especies mostraron mayor abundancia en extradomicilio, y otras fueron capturadas en un ecotopo particular (**TABLA VIII**). La mayor diversidad y equitatividad se observó en el intradomicilio, seguido del peridomicilio y extradomicilio; la riqueza específica, sin embargo, fue menor en intradomicilio e igual para peridomicilio y extradomicilio (**TABLA VIII**). Se observó una distribución cruzada en los perfiles de diversidad del índice de Renyi, debido a la diferencia de riqueza específica y diversidad entre los ecotopos (**Fig. 20**).

No se observaron diferencias significativas entre los índices de diversidad de Shannon de intradomicilio y peridomicilio ($t=1,32$; $gl=921,04$; $p=0,18$), pero si se observaron diferencias entre peridomicilio y extradomicilio ($t=3,5621$; $gl=6268,5$; $p= <0,001$) y entre extradomicilio e intradomicilio ($t=3,1819$; $gl=1062,7$; $p=0,001$).

El análisis de agrupamiento, basado en la variación de la comunidad de Phlebotominae respecto a los ecotopos (**Fig. 21**), presenta la clasificación de las especies de flebótomos capturados donde se observan tres grupos claramente diferenciados. Un primer grupo formado por *N. neivai*, un segundo, por *Mg. migonei* y comp. *cortelezzii* y el tercer grupo formado por el resto de las especies, muy similares entre sí.

Por otro lado, al realizar el análisis de agrupamiento, realizando la clasificación según los ecotopos de los distintos sitios de captura (**Fig. 22**), se observa que los Intradomicilios de MB y MA forman un grupo, mientras que los extradomicilios y peridomicilios de ambas localidades forman un grupo diferente. Aun así, se observa que el extradomicilio de MB parecería presentar diferencias dentro del grupo, mientras que el extradomicilio de MA estaría más relacionado a los peridomicilios de las dos localidades. Esto marcaría una diferencia principal, en las comunidades de flebótomos del intradomicilio, con respecto al extradomicilio y peridomicilio.

El análisis de coordenadas principales que ordena a los sitios de muestreo de ambas localidades, arrojó un resultado de más de un 96% de la variabilidad acumulada entre los dos primeros ejes (**Fig. 23**). Allí, no se observa claramente un agrupamiento, y por ende, sugiere que no se presenta un efecto causado por el sitio de muestreo.

En cuanto a la variación estacional, considerando la abundancia total de Phlebotominae capturados en la región, se observó mayor abundancia en verano (n=4284) seguido de otoño (n=2097) y primavera (n=1937), mientras que en invierno se registró la menor abundancia (n= 159) (**Fig. 24**). A su vez, se observó que las especies varían esta predominancia en la mesoescala (sitios de muestreo). Tanto *Ny. neivai* como *Mg. migonei* registraron su mayor abundancia, durante el mes de enero con promedios entre MA y MB de 461,83 para *Ny. neivai* y 46,17 para *Mg. migonei*; registrándose promedios de 172,95 mm de precipitación acumulada mensual, humedad relativa de 72%, temperaturas máximas de 46,17 °C y mínimas de 20,82 °C (**Fig. 25**). *Nyssomyia neivai* mostró picos de abundancia para MA en enero y mayo, y abundancia moderada para el período octubre – diciembre (**Fig. 26-A**), mientras que para MB registró un solo pico en enero y abundancia moderada en noviembre (**Fig. 26-B**). Para *Mg. migonei* se observó lo contrario, con una distribución para MA con un solo pico de abundancia en enero, declinando hacia los meses

fríos y volviendo a aumentar a partir de octubre (**Fig. 26-C**); y una distribución para MB con picos durante Enero, Abril y abundancia moderada en noviembre (**Fig. 26-D**).

Considerando la variación en la microescala (ecotopos), se observó que tanto *Ny. neivai* como *Mg. migonei* mostraron variación en su promedio de abundancia por ecotopo, a lo largo del año con distribuciones particulares para MA y MB (**Fig. 27**). Se registró que ambas especies mostraron en promedio para MA una mayor abundancia en el peridomicilio durante los meses correspondientes a verano y otoño, disminuyendo su abundancia durante el invierno en todos los ecotopos. Sin embargo, pasado el invierno durante la primavera y principio de verano la abundancia de Phlebotominae capturados por ecotopo aumenta, observándose la mayor abundancia en el extradomicilio (**Fig. 27-A-C**). En MB sin embargo, se observa que *Ny. neivai*, alterna su distribución de mayor abundancia entre los ecotopos a lo largo del año, observándose en algunos meses, una mayor abundancia en el extradomicilio y otros meses en el peridomicilio; pudiendo presentar en este último, picos de alta abundancia (enero – abril – noviembre) mientras que durante los meses de julio a septiembre, disminuye su abundancia en todos los ecotopos (**Fig. 27-B**). En MB se observa que *Mg. migonei* presenta su mayor abundancia a lo largo del año en el peridomicilio, excepto por el mes de febrero donde registra mayor abundancia en intradomicilio pero con un registro bajo (con un promedio de 2 ejemplares capturados en el mes) (**Fig. 27-D**). Dado que la frecuencia de las especies restantes es demasiado baja como para realizar alguna inferencia, esta tendencia no fue estudiada.

La correlación de la abundancia mensual de Phlebotominae, con las variables meteorológicas del mismo mes a la captura, registró que *Ny. neivai* presenta una mayor correlación con las precipitaciones acumuladas mensuales, ($rs=0,669$ $p=0,017$), y con la Temperatura media mensual ($rs=0,584$ $p=0,017$); mientras que no se observa correlación con las Temperaturas máximas y mínimas, ni con la humedad relativa (**Tabla IX**). Se observa sin embargo, que *Mg. migonei* muestra una mayor correlación con la temperatura mínima ($rs=0,859$ $p<0,001$), y mantiene una menor correlación con las precipitaciones ($rs=0,577$ $p=0,492$); la humedad relativa por su parte, no mostró correlación con la abundancia de *Mg. migonei* (**Tabla IX**).

Sin embargo, al correlacionar la abundancia promedio de estas especies con las variables meteorológicas del mes anterior a la captura, se observó que tanto para *Ny. neivai* como

para *Mg. migonei*, una mayor correlación con la temperatura media mensual ($r_s=0,6235$ $p=0,031$ y $r_s=0,831$ $p<0.001$), mientras que no se observó correlación con las precipitaciones del mes anterior a la captura ($r_s=0,2242$ $p= 0,483$ y $r_s=0,5071$ $p= 0,093$); a su vez, la humedad relativa tampoco mostró correlación para las abundancias de *Ny. neivai* ni *Mg. migonei* ($r_s= -0,2137$ $p= 0,504$ y $r_s= -0,1972$ $p= 0,539$) (**Tabla IX**).

TABLA VI: Distribución de abundancia y razón de sexos en Monte Alto y Margarita Belén, Chaco, Argentina, durante el período enero-diciembre 2013.

	Monte Alto		Margarita Belén		Total		M / H
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	
<i>Mg. migonei</i> *	201	298	129	184	330	482	1.5
<i>Ny. neivai</i> *	1880	2301	1200	2125	3080	4426	1.4
comp. <i>cortelezzii</i> *	48	0	33	0	81	0	
<i>Ev. cortelezzii</i>	-	28	-	4	-	32	0.6 ^a
<i>Ev. sallesi</i>	-	2	-	17	-	19	
<i>Pa. shannoni</i> **	0	0	0	8	0	8	0.0
<i>Br. brumpti</i> **	0	0	10	1	10	1	0.1
<i>Nemapalpus</i> sp.**	1	0	0	1	1	1	1.0
<i>Sc. sordellii</i> **	0	0	1	1	1	1	1.0
<i>Ev. aldafalcaoae</i> **	0	1	0	0	0	1	0.0
<i>Ev. corumbaensis</i> **	0	2	0	0	0	2	0.0
<i>Mi. quinquefer</i> **	0	1	0	0	0	1	0.0
Total	2130	2633	1373	2341	3503	4974	

* Con diferencias significativas entre sexo y sitio de estudio (χ^2 , $p < 0.05$), ** χ^2 No calculado por baja frecuencia; M/H: Razón de sexo; ^a calculado considerando el total de las hembras del complejo *cortelezzii* / la sumatoria de los machos de *Ev. cortelezzii* y *Ev. sallesi*.”- “no puede diferenciarse por caracteres morfológicos.

TABLA VII: Distribución de abundancia por especie y sitios de captura en Monte Alto y Margarita Belén, Chaco, Argentina e índices de riqueza específica, diversidad de Shannon-Wiener y equitatividad de Pielou durante el período enero, diciembre 2013.

ESPECIE	MA01	MA02	MA03	MB01	MB02	MB03	MA TOT.	MB TOT.	TOTAL
<i>Mg. migonei</i>	136	41	322	279	13	21	499	313	812
<i>Ny. neivai</i>	2081	167	1933	3011	58	256	4181	3325	7506
<i>comp. cortelezzii*</i>	22	5	21	19	1	13	48	33	81
<i>Ev. cortelezzii*</i>	8	3	17	3	0	1	28	4	32
<i>Ev. sallesi*</i>	0	0	2	11	1	5	2	17	19
<i>Pa. shannoni</i>	0	0	0	7	0	1	0	8	8
<i>Br. brumpti</i>	0	0	0	9	2	0	0	11	11
<i>Nemapalpus</i> sp.	1	0	0	1	0	0	1	1	2
<i>Sc. sordellii</i>	0	0	0	2	0	0	0	2	2
<i>Ev. aldafalcaoae</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Ev. corumbaensis</i>	0	0	2	0	0	0	2	0	2
<i>Mi. quinquefer</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	1
Total	2250	216	2297	3342	75	297	4763	3714	8477
S	7	4	6	9	5	6	9	9	
H	0,3174	0,6609	0,5121	0,3915	0,7143	0,5594	0,4391	0,4182	
J	0,1631	0,4767	0,2858	0,1782	0,4438	0,3122	0,1999	0,1904	

MA: Monte Alto; MB: Margarita Belén; MA TOT.: sumatoria de sitios Monte Alto, MB TOT. :sumatoria de sitios Margarita Belén; S: Riqueza específica; H': Índice de Shannon – Wiener; J': Índice de equitatividad de Pielou.*Dado que se observan diferencias en la distribución de *Ev. cortelezzii* y *Ev. sallesi* (machos) y la imposibilidad de diferenciar a las hembras por especie, se analiza a los machos por especie y a las hembras como especie diferente agrupadas como complejo *cortelezzii*.

TABLA VIII: Distribución de abundancia total por especie y ecotopo en Monte Alto y Margarita Belén, Chaco, Argentina e índices de riqueza específica, diversidad de Shannon-Wiener y equitatividad de Pielou durante el período enero-diciembre 2013.

Especie	Monte Alto			Margarita Belén			TOTAL		
	INT	PER	EXT	INT	PER	EXT	INT	PER	EXT
<i>Mg. migonei</i> ^{a,b}	44	262	193	18	263	32	62	525	225
<i>Ny. neivai</i> ^{a,b}	414	1907	1860	215	2220	890	629	4127	2750
comp. <i>cortelezzii</i> ^{b*}	21	36	21	9	32	13	30	68	34
<i>Pa. shannoni</i> ^c	0	0	0	1	3	4	1	3	4
<i>Br. brumpti</i> ^c	0	0	0	0	2	9	0	2	9
<i>Nemapalpus</i> sp. ^c	0	0	1	0	0	1	0	0	2
<i>Sc. sordellii</i> ^c	0	0	0	0	2	0	0	2	0
<i>Ev. aldafalcaoae</i> ^c	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Ev. corumbaensis</i> ^c	0	2	0	0	0	0	0	2	0
<i>Mi. quinquefer</i> ^c	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Total</i> ^{a,b}	480	2207	2076	234	2522	949	723	4729	3025
S	4	4	5	4	6	6	5	7	7
H	0.4964	0.4527	0.3731	0.4458	0.4228	0.3077	0.4821	0.4384	0.3639
J	0.3581	0.3266	0.2318	0.3216	0.2359	0.1717	0.2995	0.2253	0.187

INT: intradomicilio; *PER*: peridomicilio; *EXT*: extradomicilio; *S*: Riqueza específica; *H'*: Índice de Shannon – Wiener; *J'*: Índice de equitatividad de Pielou. ^a Con diferencias estadísticamente significativas (χ^2 , $p < 0.05$) entre ecotopos de cada área (MA y MB); ^b con diferencias estadísticamente significativas en el total por ecotopo (χ^2 , $p < 0.05$); ^c χ^2 no calculado por baja frecuencia; * Machos y hembras de *Ev. cortelezzii* y *Ev. sallesi*.

TABLA IX: Resultados del índice de correlación de Spearman para la abundancia promedio de Phlebotominae capturados y registros meteorológicos del mismo mes (LAG=0) y del mes anterior a la captura (LAG = -1). Período, enero – diciembre 2013. Chaco, Argentina.

Variable	LAG	<i>Ny. neivai</i>	<i>Mg. migonei</i>
Precip.	0	0.669	0.5775
	-1	0.2242*	0.5071*
Temp. MAX.	0	0.5254*	0.8380
	-1	0.5919	0.7465
Temp. Med	0	0.5849	0.8451
	-1	0.6235	0.8310
Temp. Min	0	0.5744	0.8592
	-1	0.6095	0.7535
HR	0	0.0981*	-0.2394*
	-1	-0.2137*	-0.1972*

Precip.: Precipitación mensual acumulada; *Temp. MAX.:* Temperatura Máxima mensual, *Temp. Med.:* Temperatura media mensual; *Temp. Min.:* Temperatura mínima mensual; *HR:* Humedad Relativa media mensual. 0= correlación con registros promedio mensuales del mismo mes de la captura, -1= correlación con registros promedio mensuales del mes anterior a cada captura. *Sin diferencias significativas $p < 0.05$

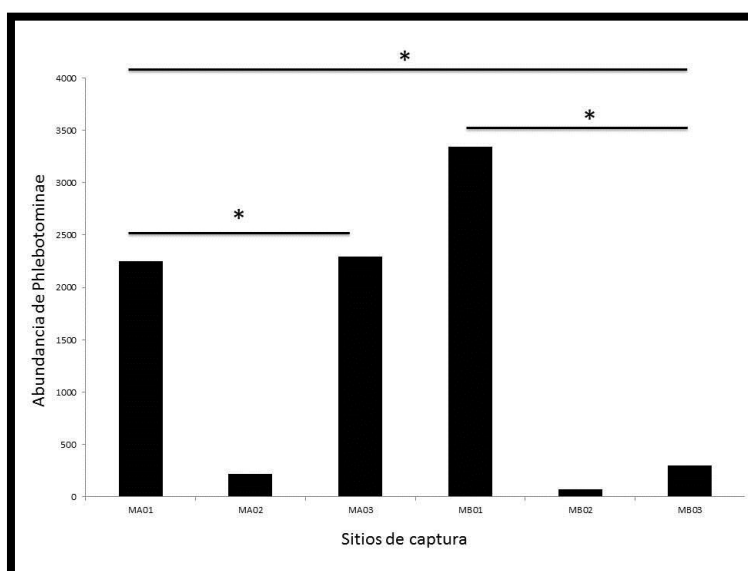


Fig. 18: Abundancia total de Phlebotominae por sitio de captura, durante el período enero – diciembre 2013, Chaco, Argentina. * χ^2 con diferencias significativas ($p < 0,05$), entre los sitios de MB, entre los sitios de MA y entre MA y MB

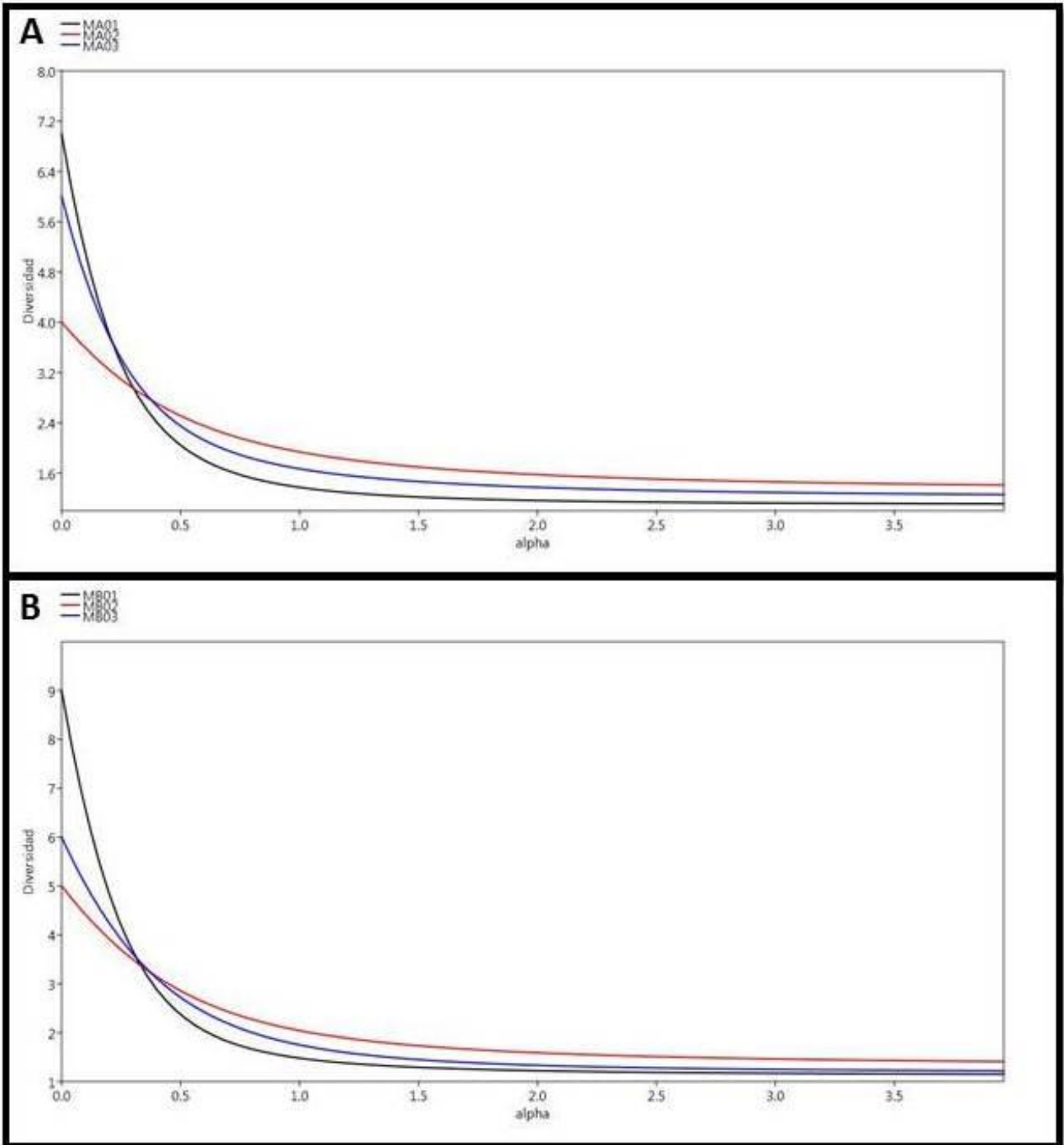


Fig. 19: Perfiles de diversidad para los resultados obtenidos en el periodo enero – diciembre 2013, en los sitios de captura en Margarita Belén (A) y Monte Alto (B). Chaco, Argentina. α = constante α de índice de Renyi.

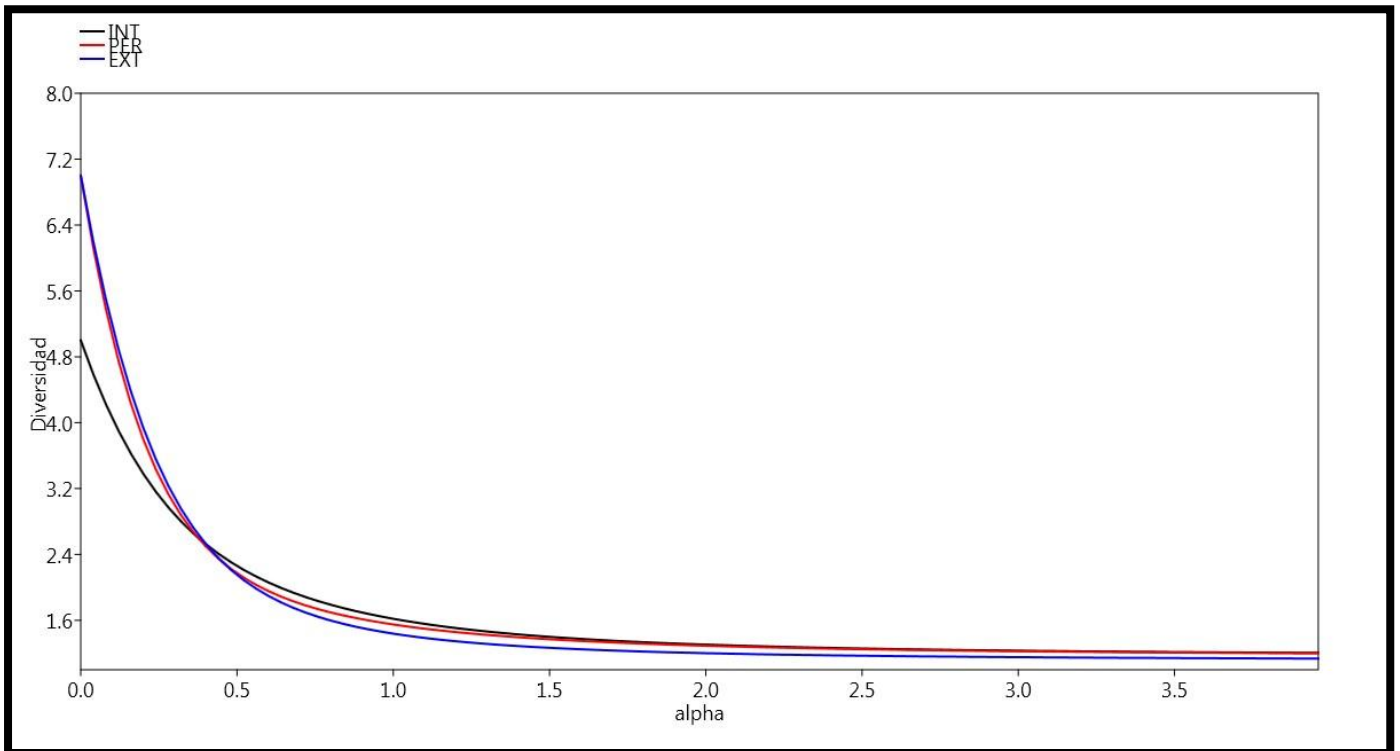


Fig. 20: Perfiles de diversidad para los resultados obtenidos en el periodo enero – diciembre 2013, en los distintos ecotopos estudiados. Chaco, Argentina. (*INT*): intradomicilio, (*PER*): peridomicilio, (*EXT*): extradomicilio. α = constante α de índice de Renyi.

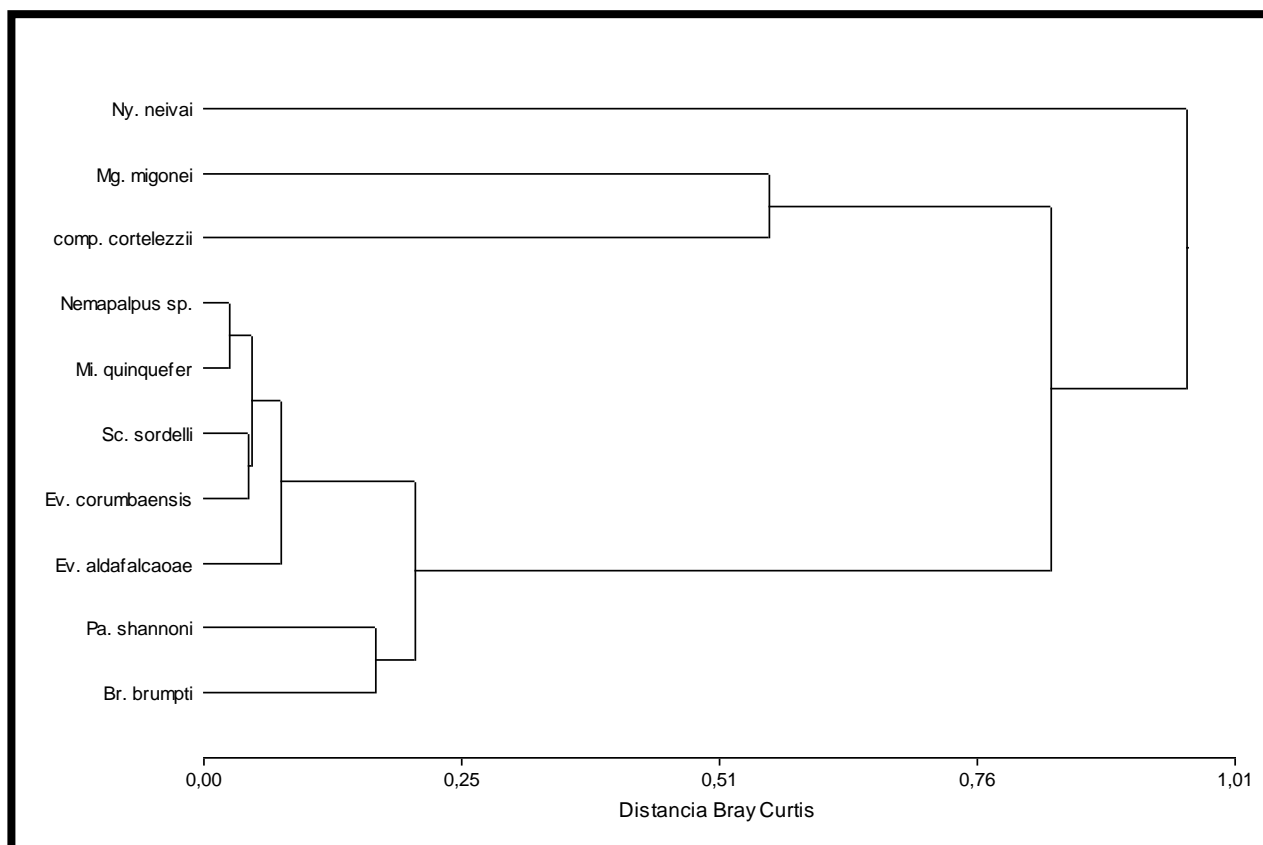


Figura 21: Clasificación de las especies de Phlebotominae capturados durante el período enero – diciembre 2013, en función de la abundancia por ecotopos: intradomicilio, extradomicilio o peridomicilio; de las localidades de Monte Alto y Margarita Belén. Chaco, Argentina

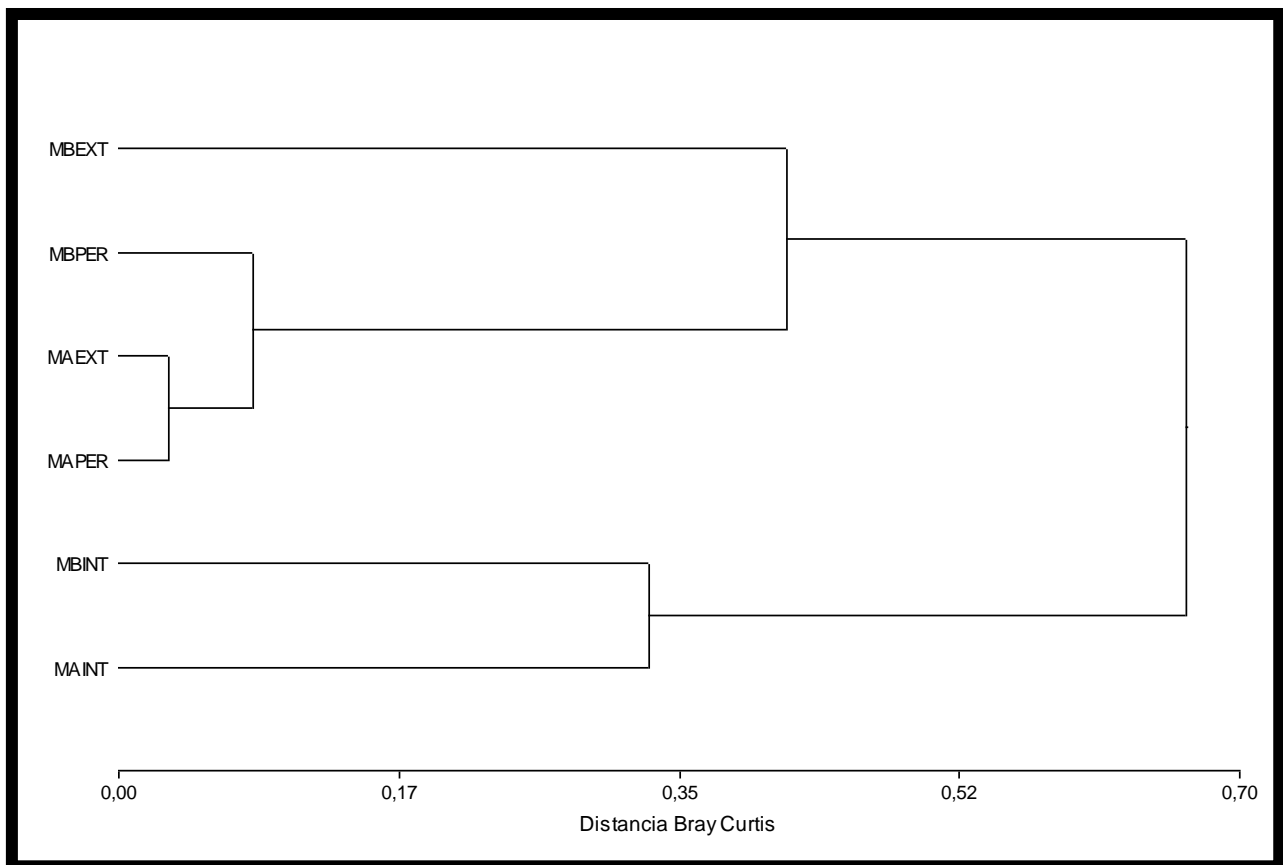


Figura 22: Clasificación de ecotopos: intradomicilio, peridomicilio y extradomicilio, de las localidades Monte Alto y Margarita Belén; en función de abundancia por especie de Phlebotominae capturados durante el período enero-diciembre 2013; Chaco, Argentina.

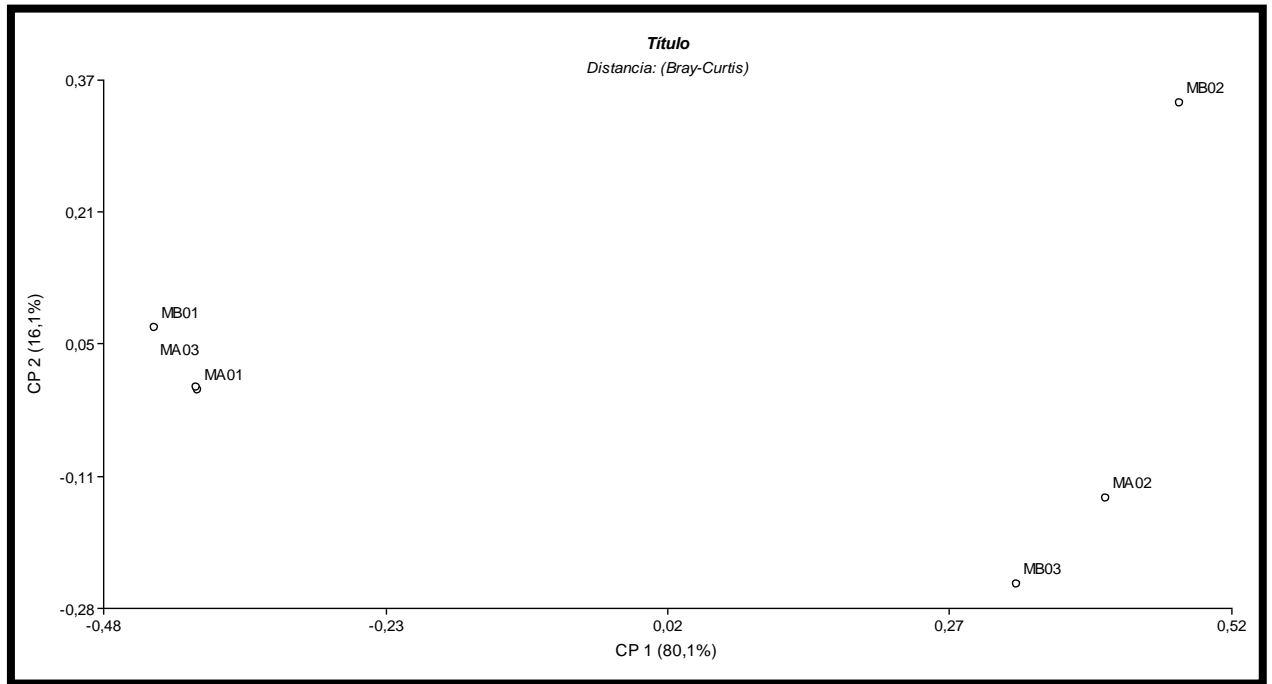


Figura 23. Análisis de coordenadas principales. Ordenación basada en la variación de las comunidades de Phlebotominae según Sitios de muestreo dentro de las localidades; en el período enero, diciembre 2013. Chaco, Argentina.

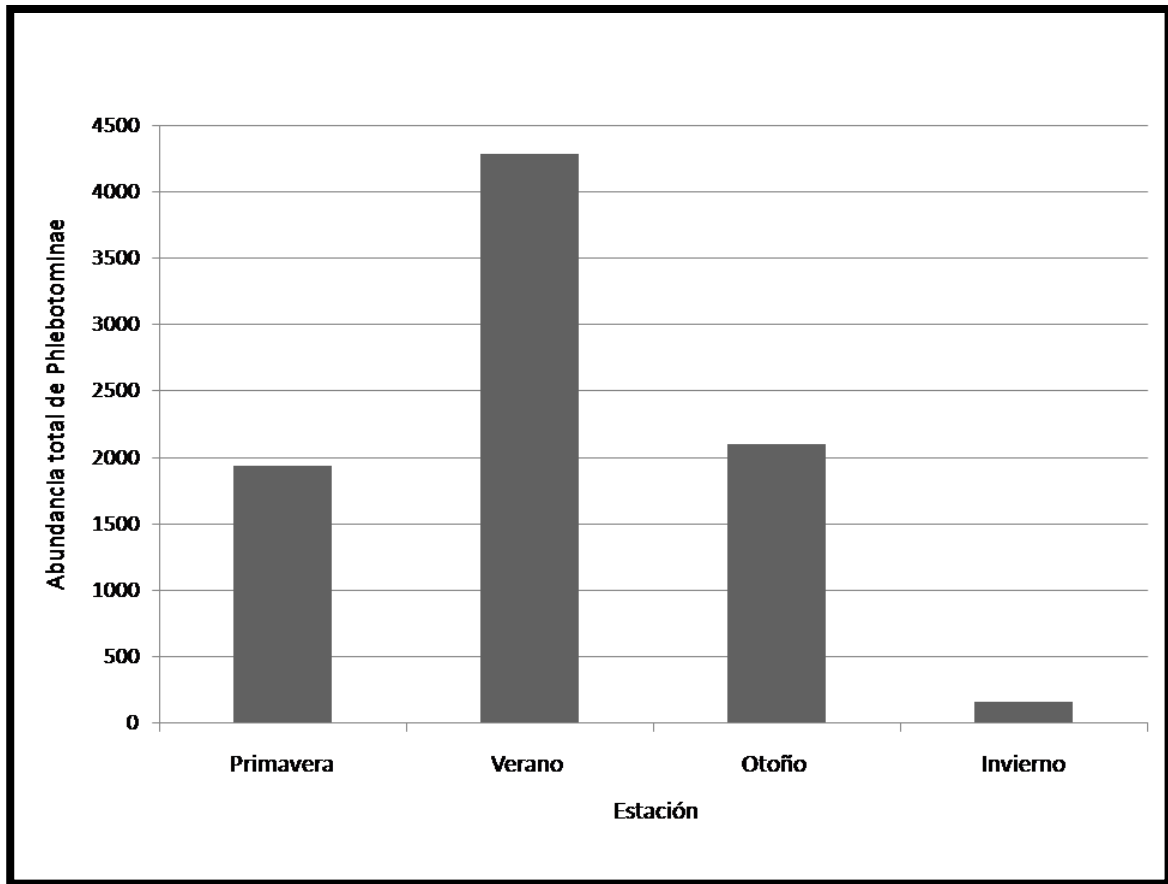


Fig. 24: Distribución estacional de abundancia total de Phlebotominae capturados en la región de estudio, durante el período enero – diciembre 2013, Chaco, Argentina. *Primavera = abundancia de septiembre, octubre, noviembre; Verano = abundancia de diciembre, enero, febrero; Otoño = abundancia de marzo, abril, mayo; Invierno = abundancia de junio, julio, agosto.*

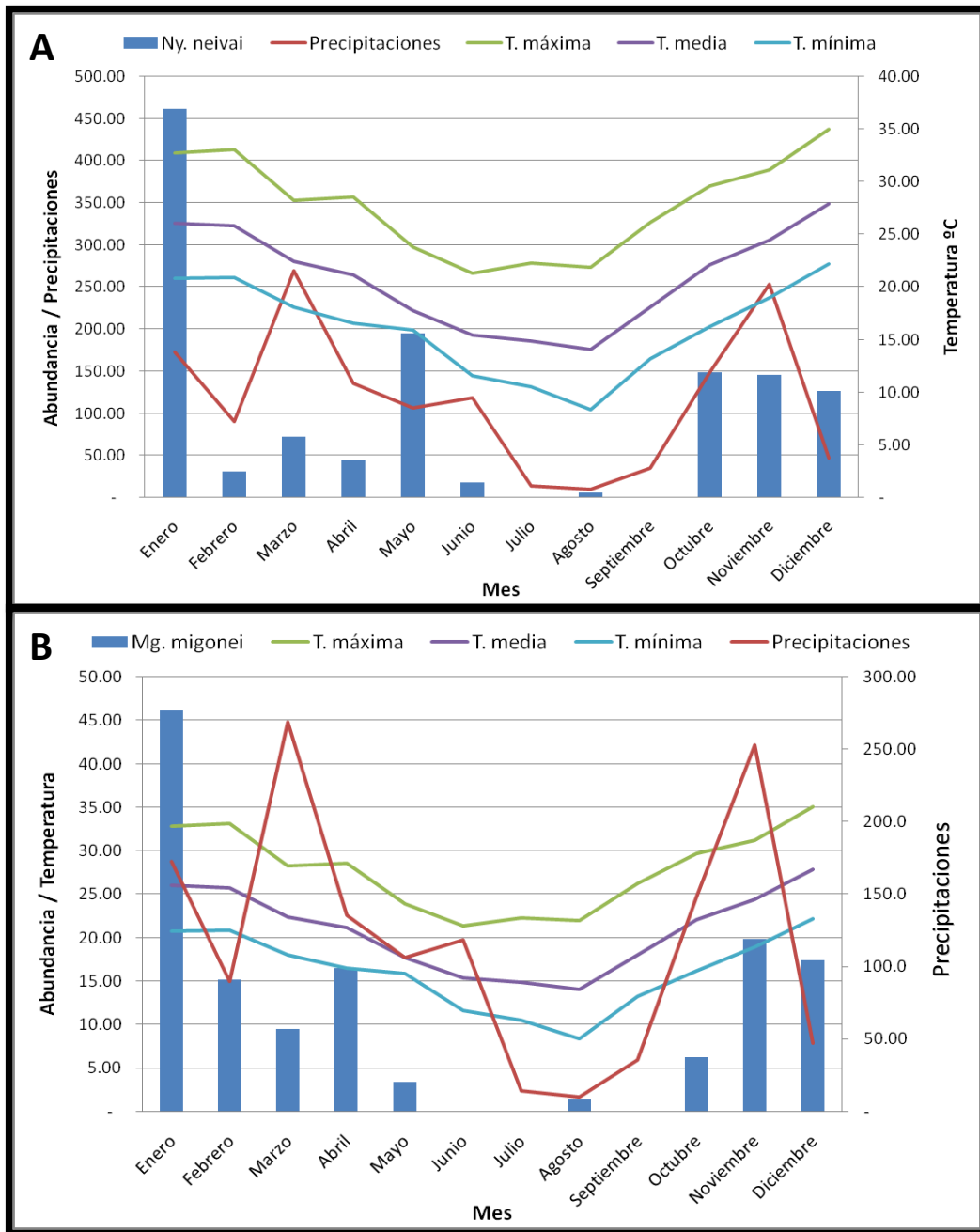


Fig. 25: Promedio de abundancia mensual de *Ny. neivai* (A) y *Mg. migonei* (B) capturados en el período enero- diciembre 2013 y asociación con variables climáticas promedio mensual. Chaco, Argentina.

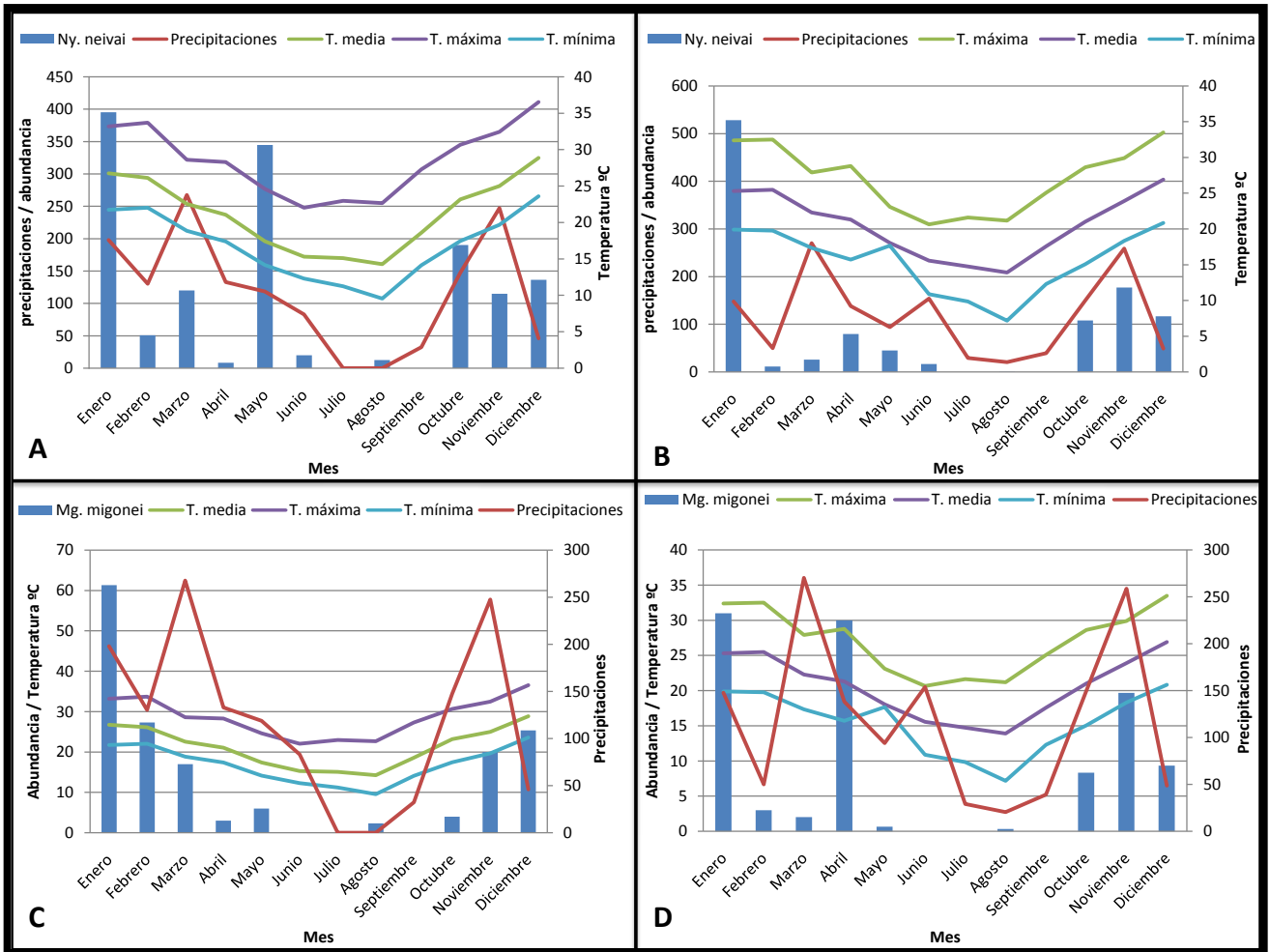


Fig. 26: Promedio de abundancia mensual de *Ny. neivai* (A, B) y *Mg. migonei* (C, D) capturados en el período enero - diciembre 2013 y asociación con variables meteorológicas promedio mensual en la región de Monte Alto (A, C) y Margarita Belén (B, D). Chaco, Argentina.

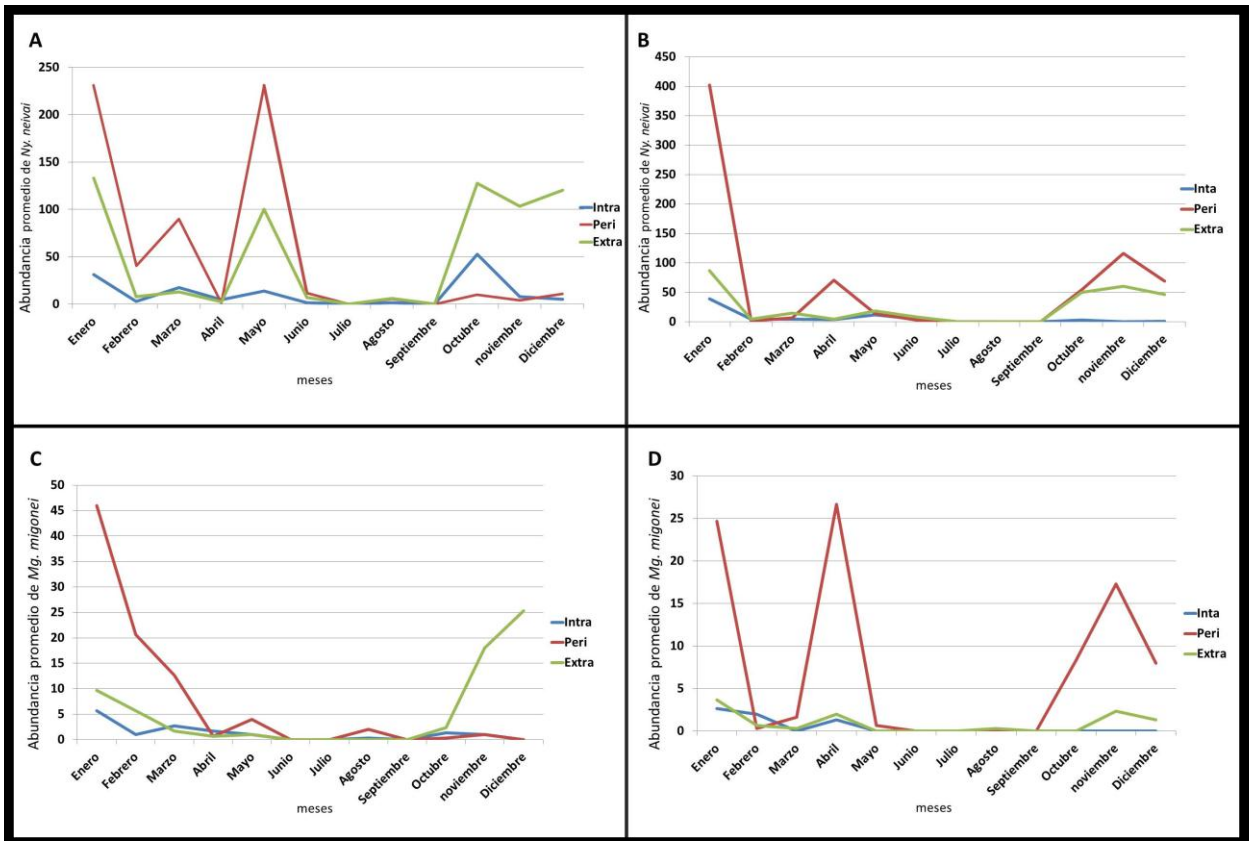


Fig. 27: Promedio de abundancia mensual de los sitios de muestreo, por ecotopo, en cada área de estudio, de *Ny. neivai* (A- B) y *Mg. migonei* (C-D) en Monte Alto (A-C) y Margarita Belén (B-D) durante el período enero - diciembre 2013, Chaco, Argentina. *Intra* = intradomicilio, *Peri* = peridomicilio, *Extra*= extradomicilio.

4.4 DISCUSIÓN

Las diferencias observadas sobre la abundancia total de las capturas acumuladas en el periodo de estudio, de las especies de Phlebotominae entre sitios de muestreo de cada localidad, como así también entre las localidades estudiadas (MA y MB), indican que las poblaciones de Phlebotominae muestran una variación espacial de abundancia y diversidad entre la macroescala (localidades) y mesoescala (sitios de muestreo); generalmente determinada por la abundancia mayoritaria de una especie y la variación de especies de baja frecuencia o de aparición esporádica. Este predominio de una especie por sobre las demás especies de la comunidad, ya fue observado para en distintas regiones biogeográficas argentinas (Fernández et al., 2012; Quintana et al., 2012; Rosa et al., 2010; Salomón et al., 2008 a-c; Córdoba Lanús & Salomón, 2002).

La composición de fauna y abundancia de especies vuelve a mostrar diferencias con lo establecido para la región chaqueña húmeda y para el país (Salomón 2010b); como así también para lo observado en la primera etapa de trabajo (Cap. III), citándose por primera vez la presencia de *Evandromyia aldafalcaoae* y *Evandromyia corumbaensis* en el país. Como fue aclarado en el capítulo anterior (Cap. III), estas especies se consideraban restringidas al estado de Mato Grosso do Sul, Brasil (Galati, 2003a); a partir de este registro se amplía su distribución sur en el continente. A su vez, se registra por primera vez para la región Chaqueña húmeda, la presencia de *Micropygomyia quinquefer*. Esta especie, fue descrita por primera vez en las cataratas del Iguazú Misiones (Dyar, 1929), y registrada en la provincia del Chaco por Rosa et al. (2010), restringida a la región del Chaqueña seca, en la localidad de Misión Nueva Pompeya. Actualmente se conoce su distribución en las provincias Argentinas de Salta, Chaco y Misiones (Salomón et al., 2008c). Debe destacarse, que esta especie fue hallada naturalmente infectada con parásitos de *Leishmania* sp. en la Provincia de Misiones, en áreas periurbanas de la ciudad de Puerto Iguazú, asociada a casos humanos de *L. (V.) braziliensis* (Salomón 2009b). Por lo que este registro en la región Chaqueña húmeda, reviste de importancia en relación al riesgo de transmisión de LC en la región.

Se observó que *Ny. neivai* y *Mg. migonei* presentan mayor proporción de machos en las capturas; discordante a lo observado por otros investigadores en el país, donde utilizando la misma metodología de captura, observaron que las hembras predominaron sobre los machos (Córdoba Lanús & Salomón 2002; Quintana et al., 2010; Rosa et al., 2010), mientras que el complejo *cortezzi* y *Br. brumpti* mostraron mayor proporción de hembras.

Al comparar los índices de diversidad y equitatividad de MA y MB, pude observarse diferencias en la distribución de especies entre localidades. Si bien ambos sitios presentaron igual índice de diversidad y riqueza específica, la composición de cada sitio presenta diferencia con especies únicas para cada uno, como el caso de *Sc. sordellii*, *Pa. shannoni* y *Br. brumpti* para MB y *Ev. aldafalcaoae*, *Ev. corumbaensis* y *Mi. quinquefer* para MA. A su vez se observó una gran variabilidad entre sitios de captura (mesoescala), mostrándose distribuciones cruzadas entre los perfiles de diversidad de los sitios de MA y MB. En ambos casos, esta distribución cruzada hace difícil la comparación entre sitios, ya que al tener marcadas diferencias de equitatividad y diversidad específica, no es posible considerar solo un índice de diversidad para realizar comparaciones apropiadas e identificar sitios de mayor diversidad.

La abundancia total por ecotopo mostró diferencias estadísticamente significativas, registrándose la mayor captura en el peridomicilio, seguido de extradomicilio e intradomicilio. Sin embargo, los resultados de la primera etapa de trabajo (Cap. III), y lo observado por Rosa et al. (2010) en el área de Monte Alto, mostraron una mayor abundancia de Phlebotominae en el extradomicilio, seguido del peridomicilio y una muy baja frecuencia en el domicilio. Esta variación puede deberse a explosiones de abundancia extraordinarias de *Ny. neivai* que ocurren en el peridomicilio, por motivos aún no determinados, y que son considerados como un importante factor de riesgo en la transmisión de LC, en zonas en las que *L. (V.) braziliensis* está circulando (Shaw, 2007; Salomón et al., 2009b).

La comunidad de Phlebotominae mostró diferencias en su diversidad, riqueza específica y equitatividad en los distintos ecotopos. En el intradomicilio se observó el mayor índice de diversidad de las poblaciones de Phlebotominae, pero a su vez la menor riqueza específica, mientras que en el extradomicilio y peridomicilio se observó igual riqueza

específica, pero diferencias en sus índices de diversidad. Si bien no se realizaron trabajos en Argentina que busquen determinar las variaciones de diversidad entre ecotopos; en Brasil, se observó que en Estado de Mato Grosso do Sul (en latitudes próximas a las de la provincia del chaco), que la mayor diversidad (basado en el índice de Shannon-Wiener), y la mayor riqueza específica, se registra en el borde de Bosque; mientras que el domicilio y peridomicilio, presentan menor diversidad. A su vez, se observó que el Bosque contiene la mayor riqueza específica, y que por el contrario, el domicilio mantiene la menor riqueza (Oliveira de Andrade et al., 2009, Brandão Nunes et al., 2008). Si bien los trabajos realizados en la región Chaqueña, no llevaron a cabo análisis de diversidad o riqueza específica, se puede observar que Rosa et al. (2010) registro para el Área de Monte el mismo número de especies para extradomicilio y peridomicilio, mientras que en el domicilio, solo se registró la presencia de *Ny. neivai*. Los datos aquí observados amplían para la región Chaqueña, el número de especies conocidas en el domicilio, como así también el número de especies registradas en la región.

Basados en el índice de diversidad de Shannon se observa que las poblaciones de intradomicilio y peridomicilio, estarían más relacionadas entre sí, no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre los índices de diversidad de Shannon entre ambos ecotopos, mientras que la población del extradomicilio presentaría una diversidad particular, con diferencias estadísticamente significativa con respecto a los índices de los otros dos ecotopos. Aun así, al igual que la comparación de perfiles de diversidad entre MA y MB, entre ecotopos también se observa una distribución cruzada, determinada por la diferencia entre diversidad y riqueza específica de los ecotopos; lo que indica que no puede asegurarse que un ecotopo presente mayor diversidad si consideramos la familia de índices de Renyi. Los resultados aquí observados, constituye el primer registro de variación de diversidad de las comunidades de Phlebotominae en distintos ambientes para la Argentina. Futuros estudios podrán determinar si los resultados aquí observados, se mantienen en las distintas regiones biogeográficas, o si por el contrario, se observan otras asociaciones distintas como las observadas para el Estado de Mato Grosso de Sul (Oliveira de Andrade et al., 2009, Brandão Nunes et al., 2008).

Considerando la variación de abundancia de *Mg. migonei* y *Ny. neivai* se observó que ambas especies, presentan una mayor abundancia en el peridomicilio, seguido del

extradomicilio e intradomicilio; de la misma manera, el complejo *cortelezzii* mostró mayor abundancia en peridomicilio pero con igual distribución en intradomicilio y extradomicilio. Estos datos son discordantes a lo observado, en la Provincia de Tucumán y la los estados de Paraná y Rio de Janeiro Brasil; donde se observó una mayor predominancia de estas especies en el domicilio (Córdoba Lanús & Salomón, 2002; Fordellon et al., 2012; Meneses et al., 2002).

Si bien los datos observados sobre la variación de abundancia, y diversidad de fauna sugieren que existe una diferencia entre localidades y entre eco topos. El análisis de clasificación mostró que se presentan 3 grupos de Phlebotominae, donde *Ny. neivai* estaría claramente diferenciado de las especies restantes, mostrando una distribución particular considerando la variación de ecotpos entre las dos localidades. A su vez, *Mg. migonei* y comp. *cortelezzii* presentan una distribución asociada entre sí, pero diferente a las otras especies capturadas. Estas observaciones refuerzan lo observado anteriormente, marcando la predominancia de *Ny. neivai* en ambientes con alto grado de modificación antrópica, y la distribución asociada de estas especies, en áreas Periurbanas y Rurales de la región Chaqueña húmeda (Salomón et al., 2008a.; Rosa et al., 2010).

A su vez, se observó que el análisis de agrupamiento realizando la clasificación según los ecotpos de ambas localidades, mostro que las comunidades de Phlebotominae del intradomicilio, serían sensiblemente diferentes a las comunidades de extradomicilio y peridomicilio, reforzando las diferencias observadas, en base a los índices de diversidad y riqueza específica para los ecotpos. Además, el análisis sugiere que el extradomicilio de MB, sería diferente al extradomicilio de MA, el cual estaría más relacionado a los peridomicilios de ambas localidades. Esto podría deberse a que las comunidades de Phlebotominae podrían presentar diferencias en base al grado de conservación y tamaño de los parches de Bosque, siendo éstos mayores y más conservados en áreas Rurales (MB); mientras que los parches de bosque de MA por tratarse de zonas Periurbanas, serían más similares en su estructura, a los ambientes modificados del peridomicilio.

Considerando la variación en la mesoescala (sitios de captura), se observó mediante el análisis de coordenadas principales, que no se observa efecto de la mesoescala sobre la estructura de la comunidad; y por ende, la microescala (ecotpos) sería el factor condicionante de la comunidad de Phlebotominae, ya que no se vió influencia de otros

factores. La distribución de flebótomos en diferentes ambientes con algún grado de modificación por acción antrópica podría asociarse a dos situaciones, por una parte a factores biológicos reproductivos y fisiológicos metabólicos de los insectos, y por otra parte a la influencia de los factores abióticos sobre los biológicos mencionados. Este hecho fue observado por Freitas et al. (2009) en relación a *Ny. neivai* en el sur de Brasil relacionando el desplazamiento de colonias de flebótomos, a la búsqueda de sitios de reposo post alimentación, o a la búsqueda de probables sitios de cría. Asimismo, es posible que la presencia de algunos animales domésticos actúen como factor limitante de dispersión intentando justificar su abundancia en algunos ambientes peridomiciarios próximos a las unidades habitacionales de sus pobladores (Galati et al., 2009).

Se observó que la variación estacional de la abundancia total de Phlebotominae capturados, presenta una distribución de abundancia de primavera a otoño, con picos de abundancia durante el verano y escasos registros en invierno. Esta variación de abundancia, principalmente determinada por la variación de *Ny. neivai* como especie dominante, mostró diferencias con trabajos anteriores en la región, que proponen distribuciones de tipo bimodal con picos de abundancia en primavera y otoño (Salomón et al., 2008a). En el presente trabajo se observó que tanto *Ny. neivai* como *Mg. migonei* presentaron picos de abundancia promedio en enero, con temperaturas altas y precipitaciones medias. A su vez, se determinó que ambas especies pueden mostrar variación en su distribución mensual dependiendo de la localidad, sugiriendo que cada ambiente podría mantener condiciones microclimáticas que producirían variaciones en las comunidades. Así, se observó que ambas especies presentan distribuciones irregulares entre localidades, registrado picos de abundancia asociados a los meses de enero, abril-mayo y octubre-diciembre. Esta distribución variable, con picos de abundancia en distintos meses, se observó para *Ny. neivai*, en la provincia de Salta (Salomón et al., 2004); sin embargo, en esta provincia la diferencia en los picos de abundancia se observó entre periodos de tiempo y no entre localidades; registrándose tanto distribuciones de tipo de tipo bimodal como trimodal; Sin embargo, en la provincia de Salta estos picos de abundancia estaban relacionados al otoño, a diferencia de los resultados aquí observados donde los picos se relacionan al verano. A su vez, Quintana et al. (2010) observó en la misma provincia que los picos de abundancia podrían ocurrir en primavera- verano y en

verano-otoño, separados por la estación de lluviosa; A su vez, observó que a diferencia de lo observado para la región Chaqueña, los Phlebotominae de la provincia de Salta, mantienen picos de mayor o menor abundancia en todas las estaciones. Estas observaciones parecen sugerir que en regiones donde las temperaturas se mantienen elevadas a lo largo del año, el factor determinante serían las precipitaciones; mientras que en regiones donde las temperaturas presentan una estacionalidad más marcada, éste sería el factor modelador de la abundancia de poblaciones. Esto podría ser fundamentado al comparar la distribución de *Ny. neivai* en el estado de São Paulo (Brasil), donde se observa que esta especie, puede presentar su mayor abundancia durante el otoño e invierno. Si bien estas estaciones registran las temperaturas más bajas en la región, la variación de la temperatura a lo largo del año es mucho menos marcada. A su vez, es durante éste periodo que las precipitaciones disminuyen determinando la estación seca (Galati et al., 2010).

En cuanto a su variación en la microescala, se observó que tanto *Ny. neivai* como *Mg. migonei* mostraron para MA una mayor abundancia en el peridomicilio en los meses correspondientes a verano y otoño disminuyendo abruptamente su abundancia durante el invierno y principio de primavera, en todos los ecotopos. Pasado el invierno se observa que las poblaciones podrían recomponerse aumentando su abundancia durante los meses de octubre-noviembre, pero esta abundancia se registra en el extradomicilio. Esta observación podría indicar que durante el invierno, pequeñas poblaciones permanecen en baja abundancia en los parches de bosque actuando como poblaciones fuente, que al pasar el periodo desfavorable pudieran colonizar otros ambientes. La capacidad de mantenerse en estos parches de bosque podría estar asociada a las condiciones microclimáticas (Salomón et al., 2001a, 2004) que no se mantendrían en intradomicilio y peridomicilio debido a la mayor modificación del ambiente impuesta por el hombre; reduciendo por ende, la disponibilidad de sitios de refugio ante condiciones climáticas extremas (bajas temperaturas, vientos fuertes). A su vez esto podría explicar por qué en MB los ambientes de peridomicilio (con mayor cobertura arbórea y materia orgánica en descomposición, y mejores condiciones para el desarrollo y resguardo de Phlebotominae que MA) pudieron mantener la mayor abundancia de Phlebotominae antes y pasado el invierno. Esto concuerda con observaciones realizadas en la provincia de Tucumán por Salomón et al., (2008d), donde se observó que la abundancia de las poblaciones de Phlebotominae

parecerían ser más sensibles al clima en hábitad peridomésticos que en los parches de vegetación secundaria. Podríamos considerar que en la región chaqueña, el estrecho contacto entre los asentamientos humanos y los parches de bosque, sumado a la marcada estacionalidad de las condiciones climáticas, podrían favorecer al establecimiento de las poblaciones en el área de bosque, colonizando ocasionalmente el peridomicilio y la vivienda humana. Sin embargo, debe considerarse que estudiando la genética de poblaciones de *Ny. withmani* en el estado de Rio de Janeiro, Meneses et al. (2005), observó que las poblaciones de domicilio e intradomicilio serían genéticamente diferentes a las poblaciones del extradomicilio. Futuros estudios, podrían determinar si los registros de *Ny. neivai* en los diferentes ecotopos de esta región, pertenecen al mismo pool de genes, o por el contrario se trata de poblaciones diferentes.

La asociación de la abundancia de *Ny. neivai* y *Mg. migonei* con la temperatura del mismo mes de la captura, puede estar relacionada al incremento del metabolismo y de la actividad de los adultos, mientras que la asociación de la abundancia con los registros del mes anterior a la captura, pueden estar relacionado al incremento en el metabolismo en los restantes estados del ciclo biológico (Fernández et al., 2012). Los resultados observados sugieren que las precipitaciones serían el factor determinante para la variación de la abundancia mensual de los adultos de *Ny. neivai*, mientras que *Mg. migonei* parecería no ser afectado; a su vez, se observó que ambas especies se verían influenciadas por las temperaturas medias mensuales. Considerando la variación asociada a los registros meteorológicos del mes anterior, y asumiendo que de esta manera, estaríamos viendo la influencia de estos factores sobre los estados inmaduros; se observó que éstos no sufrirían los efectos de las precipitaciones, ni de la Humedad relativa. Sin embargo, si se verían afectados por las Temperaturas, y en especial por la variación de la Temperatura media mensual. Resultados similares fueron observados para *Ny. withmani* por Fernández et al. (2012) en la provincia de Misiones, donde se observó que con un retraso de 31 días, las temperatura explicaría mejor la variación de abundancia que las precipitaciones. Los resultados aquí observados también postulan que la temperatura sería el factor crítico limitante, pudiendo esta asociación estar mediada por las precipitaciones para *Ny. neivai* durante meses de otoño con temperaturas templadas. Esta asociación ya fue propuesta para *Ny. neivai* en la provincia de Salta (Salomón et al., 2004) donde se observó incluso, que

correlaciones con retrasos de largo termino, mostraban una asociación con las precipitaciones del año anterior a las capturas, y que correlaciones con retrasos de tiempo más corto (hasta 20 semanas) mostraban mayor asociación con la temperatura y la humedad. Aun así, estas observaciones deberán ser mejor analizadas, teniendo en cuenta que los registros meteorológicos fueron tomados de estaciones meteorológicas a varios kilómetros de distancia, pudiendo la variación microclimática y factores no contemplados en éste estudio como la velocidad del viento, ciclo lunar y fotoperiodo explicar mejor las variaciones de abundancia de las poblaciones.

En conclusión, se observó que *Ny. neivai* y *Mg. migonei* presentan un alta abundancia y distribución espacio temporal asociada a zonas rurales altamente modificadas, siendo *Ny. neivai* la especie predominante en la región chaqueña húmeda, datos ya observados para la región (Salomón et al., 2008a; Rosa et al., 2010).

Se destaca que la mayor abundancia en zonas altamente modificadas de especies incriminadas en la transmisión de LC en Argentina, como *Ny. neivai*, *Mg. migonei* (incriminada también en el ciclo zoonótica de LV) y complejo *cortezii*; como así también su variación en la microescala con registros en ambientes de domicilio y peridomicilio; representaría un factor de riesgo aumentando las posibilidades de contacto humano – vector – reservorio. A su vez considerando la variación estacional, se observa que este riesgo sería mayor en el verano, durante los meses cálidos y de precipitaciones medias, debiendo priorizar monitoreos de riesgo, durante los meses de enero, abril- mayo y octubre-diciembre períodos que han mostrado un incremento en la abundancia de vectores. El invierno por su parte, sería el momento adecuado para la implementación de medidas de control debido a la disminución de la abundancia de las poblaciones, estas acciones deberían focalizarse en parches de bosque en zonas con mayor modificación antrópica mientras el peridomicilios también deberían ser considerados cuando éstos presenten una alta cobertura arbórea y materia orgánica en descomposición que pudiese constituir un refugio para los estados inmaduros. Futuros estudios deberán determinar la capacidad de estas especies de permanecer en estado de diapausa durante el período desfavorable y la influencia de las temperaturas extremas sobre el desarrollo y supervivencia de estados inmaduros.

CAPÍTULO V

**FAUNA FLEBOTOMINICA EN AMBIENTES URBANOS
Y DISPERSIÓN DE *LU. LONGIPALPIS* EN LA
PROVINCIA DEL CHACO**

5.1 INTRODUCCIÓN

En Argentina, *Lutzomyia longipalpis*, vector de *Leishmania infantum* (*syn. Leishmania chagasi*), se registró por primera vez en la Argentina con unos pocos ejemplares capturados en 1951 en Candelaria, provincia de Misiones (Duret, 1952), posteriormente volvió a ser registrada, nuevamente con muy pocos ejemplares, en 2001 en la localidad de Corpus, en la misma provincia (Salomón et al., 2001a). A pesar de las capturas regulares e intensivas de Phlebotominae en diversos lugares del país desde el año 1998, no fue sino hasta 2004 cuando volvió a registrar la presencia de esta especie en el país, en áreas urbanas de la Ciudad de Clorinda, provincia de Formosa. Este fue el primer registro del país asociado a ambientes peridomésticos, con poblaciones abundantes y continuas en el tiempo. Simultáneo a este registro, se informó de un brote de Leishmaniasis Visceral (LV) urbana que ocurría en la orilla opuesta del río Pilcomayo, en la ciudad de Asunción, República del Paraguay (Salomón & Orellano, 2005). En los años siguientes el vector comenzó una dispersión desde el este hacia el centro, sur y oeste del país, siendo registrado en las provincias de Misiones (2006), Corrientes (2008-2009), Chaco, Entre Ríos (2010) y Salta (2013) (Salomón et al., 2008b, 2009a, 2011a,b; Gómez Bravo et al., 2013).

Hasta la década de 1980 sólo se habían registrado 16 casos humanos de LV en Argentina, restringidos a escenarios rurales de la región chaqueña (Salomón et al., 2001a). Desde 1980 hasta el 2005 no se registraron casos humanos de LV en Argentina. Sin embargo, en el año 2006, se registró el primer caso autóctono humano de LV urbana debido a *Le. infantum* en Posadas, provincia de Misiones, con presencia de canes infectados y una amplia distribución del vector en la zona urbana (Salomón et al., 2008b). Simultáneamente, un foco de LV humana en la ciudad de La Banda, provincia de Santiago del Estero, sugirió la existencia de transmisión esporádica de *Le. infantum*, asociada al vector putativo *Migonemyia migonei*, en la región chaqueña (Salomón et al., 2010a). En el año 2009 se registró que la provincia de Corrientes presentaba transmisión activa de LV, con presencia continua de *Lu. longipalpis*, perros infectados con *Le. infantum* y la notificación de un caso humano autóctono (Gould et al., 2013).

En este trabajo se presentan los resultados de la vigilancia entomológica instalada en la ciudad de Resistencia y muestreos únicos desarrollados en centros urbanos de las en las

localidades de Margarita Belén, Colonia Benítez e Isla del Cerrito, con el objetivo de determinar la abundancia y diversidad específica de Phlebotominae en ambientes urbanos; como así también monitorear la dispersión de *Lu. longipalpis* en una zona receptiva a la transmisión de LV como lo es la Provincia del Chaco, considerando que en el año 2010 se registró la presencia del vector, *Lu. longipalpis* en la ciudad de Resistencia; y a su vez en la ciudad de Corrientes (separada de Resistencia por el río Paraná), se registra transmisión activa de LV con presencia continua del vector, canes infectados con *Le. infantum* y la notificación de casos humanos autóctonos (Gould et al. 2013).

5.2 MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1 Área de estudio:

Los muestreos se realizaron en la ciudad de Resistencia, Margarita Belén, Isla del Cerrito y Pueblo de Pescadores (perteneciente al municipio de Colonia Benítez) (**Fig. 28**); todas ellas consideradas dentro de la Bioregión del Chaco Húmedo (Burkart et al., 1999).

La ciudad de Resistencia de principal importancia por ser el área urbana más grande de la provincia, también reviste de importancia por ser considerada como área vulnerable a la instalación de LV, debido al registro de *Lu. longipalpis* en la ciudad en el año 2010, durante muestreos realizado por el Programa Nacional de Leishmaniasis (Salomón et al., 2011b). Como fue aclarado en el capítulo II, esta ciudad localizada en la bioregión del Chaco Húmedo (Burkart et al., 1999), se encuentra incluida en el departamento San Fernando que aloja 390 874 habitantes concentrados en las ciudades de Resistencia, Barranqueras, Fontana y Puerto Vilelas. Su cercanía a la ciudad de Corrientes, forma uno de los centros urbanos más grandes del Nordeste Argentino (**Fig. 28**). El departamento Primero de Mayo, fronterizo a la provincia de Corrientes, aloja a los Municipios de Margarita Belén, y Colonia Benítez. El Pueblo de Pescadores (conocido también como Barrio de Pescadores), perteneciente al Municipio de Colonia Benítez, corresponde a una comunidad que alberga 795 habitantes (CENSO, 2010). Ubicado sobre el delgado albardón costero del río Paraná, ésta comunidad, ocupa el lado izquierdo de la cabecera chaqueña de Puente General Manuel Belgrano, que une la provincia del Chaco y

la Provincia de Corrientes (**Fig. 28**). Si bien la mayoría de sus habitantes, se dedican a la pesca, éstos mantienen un estrecho vínculo comercial y social con las ciudades de Resistencia y Corrientes.

Isla del Cerrito pertenece al departamento Bermejo, presenta una superficie de 164 km² y aloja a 1835 habitantes (Censo, 2010). Su límite Este, corresponde a la desembocadura del Río Paraguay con el Paraná, frente a la ciudad de Paso de la Patria (Corrientes) y separada de la costa chaqueña por el río Ancho, afluente del Río Paraguay desembocando en el Paraná. Asimismo limita con la localidad Paraguaya de Paso Patria (**Fig. 28**).

5.2.2 Captura de Phlebotominae en Ambientes Urbanos

Se seccionaron centros urbanos de la provincia del Chaco, con el objeto de determinar la fauna de Phlebotominae asociada a ambientes urbanos, como así también determinar la posible dispersión del vector de LV en la provincia. Se realizaron muestreos sistemáticos, estacionales en la ciudad de Resistencia durante los años 2010 a 2012, mientras que en las localidades de Margarita Belén, Pueblo de Pescadores (Colonia Benítez) e Isla del Cerrito, se llevó a cabo un único muestreo en el año 2011, con el objeto de identificar la fauna asociada a estas localidades, y en especial, la posible presencia de *Lu. longipalpis*. La metodología usada para cada caso, se detalla a continuación.

Para la vigilancia entomológica del vector de LV en la ciudad de Resistencia, como así también la identificación de los Phlebotominae en ambiente urbano; se realizó un muestreo sistemático al azar por estratos. Éstos, se conformaron dividiendo a la ciudad de Resistencia por sus avenidas principales en cuatro estratos: Norte – Sur - Este – Oeste (**Fig. 31**). Desde noviembre de 2010 a mayo de 2012, se realizaron capturas estacionales en los diferentes estratos, en primavera, verano y otoño. Los muestreos no se realizaron en invierno, debido a que experiencia previa en la región, determinó que durante esta estación se registran capturas de abundancia baja o nula (Salomón et al., 2008a, Rosa et al., 2010).

Debido a dificultades logísticas no pudieron realizarse muestreos en los cuatro estratos durante una misma estación; por lo tanto, se muestrearon dos estratos en una estación, y los otros dos en la estación siguiente, así sucesivamente hasta que todos los estratos fueron muestreados al menos una vez en todas las estaciones. Por lo tanto, en primavera de 2010

se muestrearon los estratos Norte y Este; en verano 2011, Sur y Oeste; en otoño 2011, Norte y Este; en primavera 2011 Sur y Oeste; en verano de 2012 Norte y Este, en otoño 2012 Sur y Oeste. De esta manera, los estratos Norte y Este se muestrearon durante: primavera del año 2010, otoño del año 2011 y verano del año 2012; Sin embargo los estratos Sur y Oeste se muestrearon en: primavera 2011, verano 2011 y otoño 2012.

Los sitios de muestreo, fueron seleccionados listando y numerando los barrios de la ciudad en cada estrato. Posteriormente, en cada estación fueron seleccionados utilizando tablas de números al azar 6 barrios dentro de cada estrato, y se muestrearon 2 estratos por estación; haciendo un total de 12 barrios / trampas por estación. Los Barrios muestreados eran eliminados del sorteo, de manera de no llevar a cabo más de un muestreo por barrio y así aumentar el número de barrios muestreados. A su vez, en barrios contiguos, se tuvo en cuenta que cada trampa esté separada por al menos 400 mts distancia (Salomón 2008).

En cada barrio sorteado, se seleccionó como sitio de muestreo una vivienda; elegida bajo el concepto de peor escenario epidemiológico, por presentar características favorables para el desarrollo y presencia de vectores (Salomón et al., 2011a,b). En cada una de las viviendas se instaló una trampa de luz de tipo mini CDC, que permaneció activa por 12 hs (19 hs a 7 hs del día siguiente) situada a 1,5 mts del suelo, ubicada sobre el refugio de animales (canil, gallinero, etc.) en el patio de la vivienda (**Fig. 29**). Cuando las condiciones climáticas no fueron óptimas para la captura (lluvia durante la captura, vientos fuertes durante la noche), las trampas fueron reinstaladas la siguiente noche.

Además del muestreo urbano de la ciudad de Resistencia, se seleccionaron centros urbanos próximos a la ciudad de Resistencia como puntos centinela para determinar la dispersión de *Lu. longipalpis* a la vez de aumentar los registros de fauna flebotomínica urbana.

Los muestreos se realizaron en verano del año 2011 en las ciudades de *Margarita Belén* (27° 14-16' S – 58° 59-57' O): situada próxima a la Ruta Nacional n° 11, punto de conexión con la provincia de Formosa; *Isla del Cerrito* (27° 17-18' S - 58° 37-36' O): Municipio fronterizo a la República de Paraguay y a la provincia de Corrientes; *Pueblo de Pescadores* (27° 27-26' S – 58° 52-51' O): perteneciente al municipio de Colonia Benítez, zona urbana sobre la margen derecha del río Paraná, y fronteriza a la ciudad de Corrientes (**Fig. 28**). Se instalaron 2 trampas en Isla del Cerrito, 10 en Margarita Belén y 5 en Barrio de Pescadores, determinado en función de la cantidad de habitantes, al interés

epidemiológico y al área geográfica, que permita una distancia mínima entre trampas de 400 mts de radio (Salomón, 2008; Salomón et al., 2011 a,b).

Los Phlebotominae capturados en cada trampa fueron separados de otros insectos mediante la utilización de lupas estereoscópicas y conservados en alcohol 70% por al menos 48hs para ser posteriormente sometidos al proceso de clarificación y montaje descriptos en el Capítulo II. Las determinaciones de especie se realizaron bajo microscopio según las claves propuestas por Galati (2003b) y se siguieron las abreviaturas de género propuestas por Marcondes (2007).

Dada la conocida simpatria de *Evandromyia cortezezzii* y *Ev. sallesi* en la región (Rosa et al., 2012), y la imposibilidad de la diferenciación de hembras de dichas especies mediante caracteres morfológicos, se cita a las mismas como complejo *cortezezzii*.

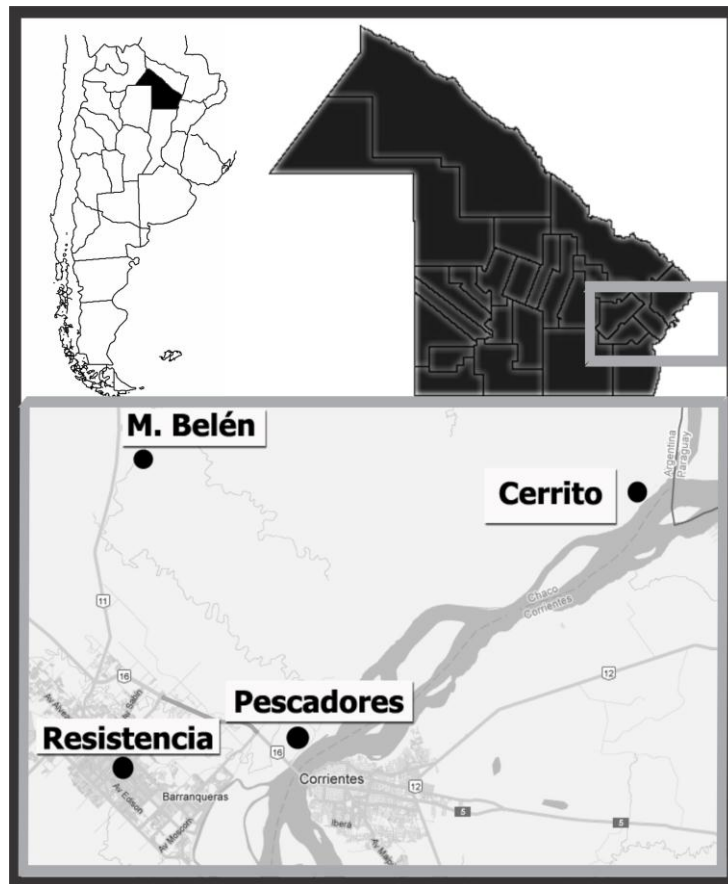


Fig. 28: Mapa mostrando la ubicación de los puntos de muestreo urbano, en la provincia del Chaco, durante los años 2010 a 2012. Chaco, Argentina.

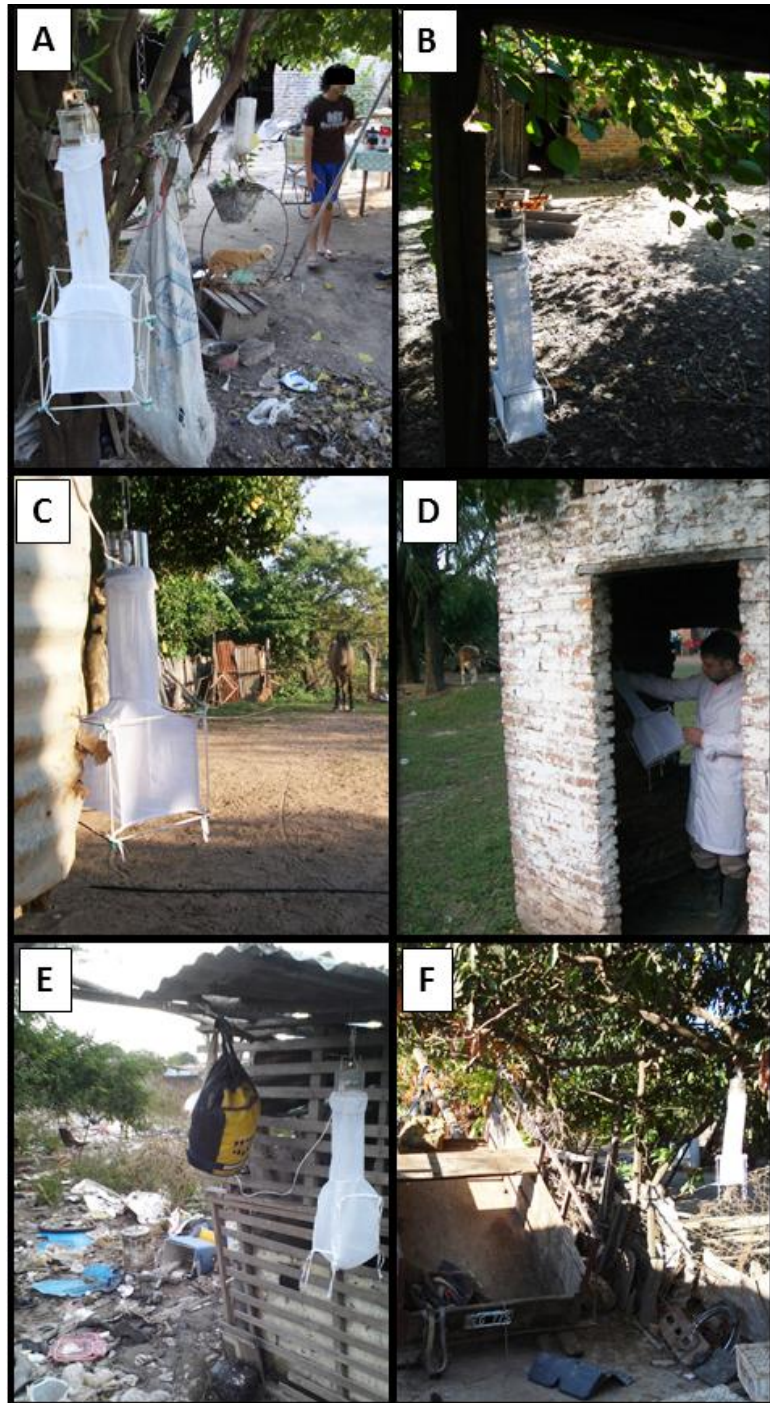


Fig. 29: Imágenes los sitios muestreos urbano, ejemplificando los ambientes seleccionados para los muestreos realizados durante los años 2010 a 2012. Chaco, Argentina.

A-B) Sitios con registro de Phlebotominae en Margarita Belén;

C-D) Sitios con presencia de *Lu. longipalpis* en Pueblo de Pescadores (Colonia Benítez);

E-F) Sitios con registro de Phlebotominae en la ciudad de Resistencia.

5.3 RESULTADOS

Durante el periodo de estudio fueron instaladas 85 trampas de las cuales 14 presentaron al menos un Phlebotominae, obteniendo en total 38 ejemplares distribuidos en 3 localidades. Las especies registradas, fueron *Lutzomyia longipalpis*, *Migonemyia migonei*, *Nyssomyia neivai*, *Evandromyia cortelezii* y *Evandromyia sallesi* (TABLA X).

La ciudad de Margarita Belén presentó el mayor índice de ejemplares capturados por trampa, 1,33 Phlebotominae por trampa (Phl/Tr), seguido por Pueblo de Pescadores 1 (Phl/Tr) y Resistencia 0,35 (Phl/Tr), mientras que en Isla del Cerrito no se registraron Phlebotominae (TABLA X).

De las seis trampas instaladas en Margarita Belén, dos registraron presencia de Phlebotominae (Fig. 30A), se identificó la presencia de *Ny. neivai*, *Mg. migonei* y comp. *cortelezii*; mientras que las trampas instaladas en Isla del Cerrito, no registraron presencia de Phlebotominae (Fig. 30B). Por su parte, dos de las cinco trampas instaladas en Pueblo de Pescadores, presentaron Phlebotominae. Es importante resaltar que el único sitio donde se registró la presencia *Lu. longipalpis* fue Pueblo de Pescadores, y a su vez, ésta fue la única especie capturada en este sitio (Fig. 30C).

De las 72 trampas instaladas en la ciudad de Resistencia 10 presentaron Phlebotominae. Se observó que la mayoría de las trampas con Phlebotominae (9 de 10 trampas), se registraron en los estratos Norte y Este de la ciudad (Fig. 31). Se capturaron ejemplares de *Ny. neivai*, *Mg. migonei* y complejo *cortelezii* (de los cuales cuatro machos pertenecieron a *Ev. sallesi* y uno a *Ev. cortelezii*). Se registraron Phlebotominae en las tres estaciones estudiadas con un predominio de trampas con Phlebotominae en verano (6 de 10 trampas con Phlebotominae), seguidos de primavera (3 de 10) y otoño (1 de 10).

TABLA X: Abundancia de especies de Phlebotominae (hembras / machos) capturados por localidad, en zonas urbanas de la Provincia de Chaco, Argentina. Período noviembre de 2010 a mayo de 2012.

Sitio	<i>Lutzomyia</i> <i>Migonemyia</i> <i>Nyssomyi</i> complejo					Total
	<i>TTr/Tr+</i>	<i>longipalpis</i>	<i>migonei</i>	<i>a neivai</i>	<i>cortelezzii</i>	
Resistencia	72 / 10	0 / 0	1 / 0	3 / 11	5 / 5*	9 / 16
Margarita Belén	6 / 2	0 / 0	3 / 2	1 / 0	2 / 0	6 / 2
Pueblo de Pescadores	5 / 2	0 / 5	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 5
Isla del Cerrito	2 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
Total	85 / 14	0 / 5	4 / 2	4 / 11	7 / 5	15 / 23

Tr / Tr+: N° total trampas colocadas en la localidad / N° de trampas con al menos un Phlebotominae; * Cuatro machos de *Ev. sallesi* y un macho de *Ev. cortelezzii*

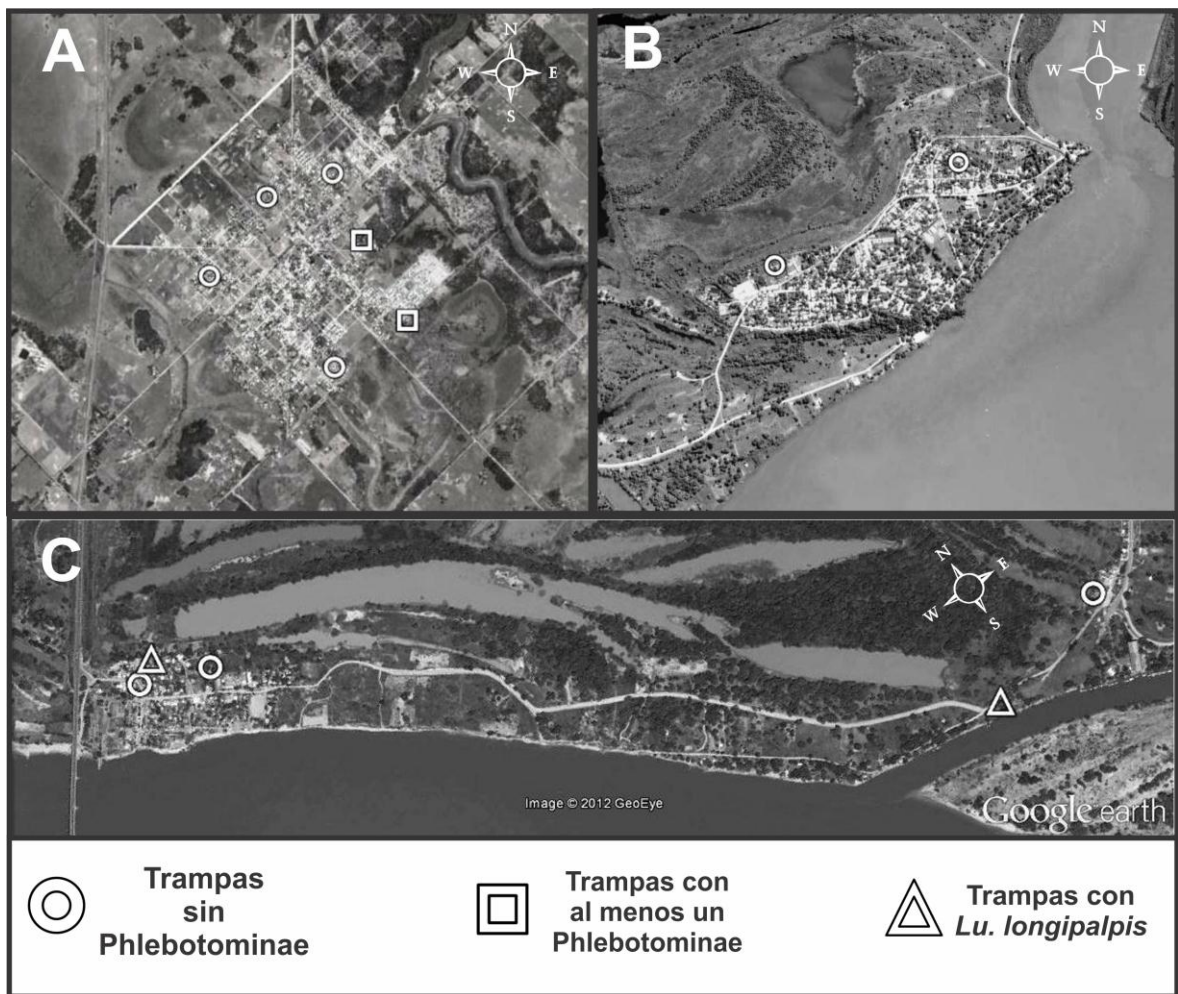


Fig. 30: Imágenes satelitales mostrando los resultados de las trampas instaladas en los ambientes urbanos, durante los años 2010 a 2012. Chaco, Argentina.

A) Margarita Belén; B) Isla del Cerrito; C) Pueblo de Pescadores (Colonia Benítez).

Imágenes tomadas del *Google Earth*, versión 4.0.2416 (beta) <http://earth.google.es>

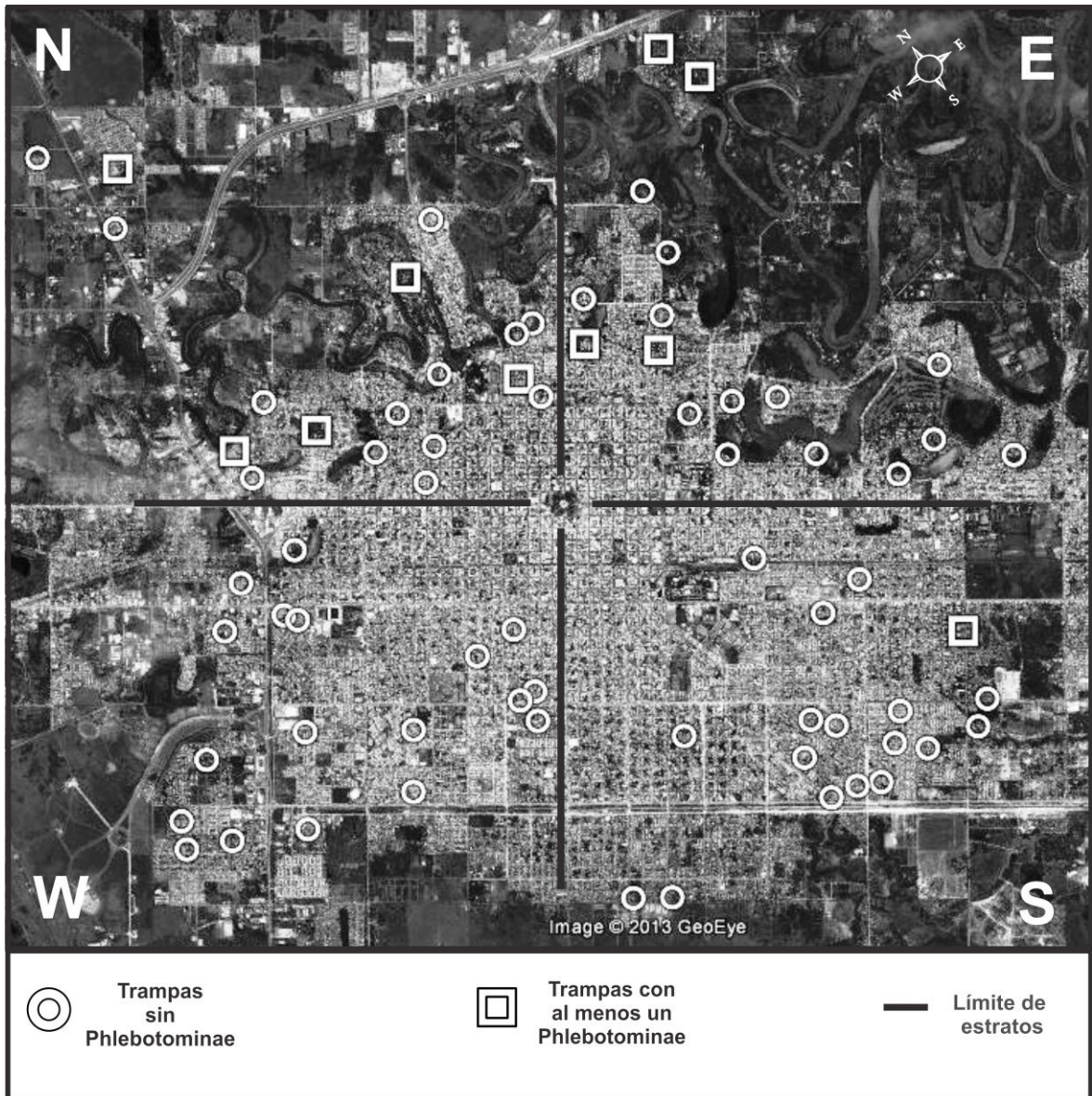


Fig. 31: Imagen satelital mostrando los resultados de las trampas instaladas en la ciudad de Resistencia, durante los años 2010 a 2012. Chaco, Argentina.

Imágenes tomadas del *Google Earth*, versión 4.0.2416 (beta) <http://earth.google.es>

5.4 DISCUSIÓN

En el presente monitoreo de distribución espacial de *Lu. longipalpis* en la ciudad de Resistencia, se observó ausencia del vector de LV en los sitios de muestreo urbanos, aun donde se registró por primera vez en el año 2010 (Salomón et al., 2011b). Su registro estuvo restringido al Pueblo de Pescadores, la zona más próxima a la ciudad de Corrientes.

La mayor abundancia de Phlebotominae por trampa en la localidad de Margarita Belén, seguida de Pueblo de Pescadores y Resistencia podría explicarse por el diferente grado de urbanización que éstas presentan, observándose en las localidades de Margarita Belén y Pescadores, un estrecho contacto con ambientes Rurales. De tal modo, considerando que las zonas rurales muestran un estrecho contacto a remanentes de bosques y presencia de animales de corral, éstas favorecen al desarrollo de poblaciones de Phlebotominae (Walsh et al., 1993; Shaw, 2007; Marins de Aguiar & Muniz de Medeiros, 2003); mientras que en los ambientes urbanos los sitios para el desarrollo de vectores se encuentran más limitados, y por lo general, restringidos a zonas periféricas de la ciudad (Shaw, 2007; Quintana et al., 2012; Santini et al., 2013; Gómez Bravo et al., 2013). Sin embargo, dada la baja abundancia observada en las capturas, esta tendencia debe ser confirmada mediante vigilancia continua. Aún así, puede marcarse una clara diferencia de abundancia y de diversidad específica entre los resultados aquí obtenidos y lo observado para las zonas periurbana – rurales en capítulos anteriores y lo establecido para la región (Salomón et al., 2008a; Rosa et al., 2010).

En la Ciudad de Resistencia, todas las trampas con al menos un Phlebotominae se localizaron entre los “peores escenarios” muestreados, en o próximos a hábitats con condiciones favorables para los insectos: presencia de gallinas y/o perros, suelo de tierra, árboles con sombra próximos a una laguna, charca o riacho. Estas variables se han encontrado asociadas a la presencia urbana de Phlebotominae en otras localidades de Argentina, por aportar sitios potenciales de refugio, alimento y/o cría a los Phlebotominae (Santini et al., 2012; Santini et al., 2013). De la misma manera, la mayor abundancia relativa encontrada en los estratos Norte y Este de la ciudad de Resistencia podría estar favorecida por las lagunas y charcas originadas por el río Negro, aunque nuevamente estos resultados preliminares deben ser confirmados mediante vigilancia continua y simultánea entre los estratos.

Aunque se seleccionaron dos estratos por estación del año, debido a limitaciones logísticas, priorizando objetivos de monitoreo de presencia-ausencia de *Lu. Longipalpis*, cada estrato fue muestreado al menos una vez en todas las estaciones. El resultado estacional presenta así, una tendencia a mayores capturas de Phlebotominae en verano seguido de primavera y otoño, lo cual es coherente con los estudios previos de variación estacional y asociación a variables climáticas en zonas rurales de la provincia (Salomón et al., 2008a; Rosa et al., 2010) y como fue observado en capítulos anteriores. Por ello, para una vigilancia entomológica urbana, orientada a identificar la presencia de especies de interés epidemiológico, a la vez de monitorear la abundancia de poblaciones de Phlebotominae; de no poder realizar las capturas en todas las estaciones, al menos deben priorizarse capturas durante verano y primavera.

Las especies capturadas son también las más representadas en estudios de diversidad en zonas rurales en la región Chaqueña (Salomón et al., 2008a, b; Rosa et al., 2010), exceptuando a *Lu. longipalpis* que en las capturas recientes en Argentina ha mostrado una presencia casi exclusiva urbana (Gould et al., 2013; Gómez Bravo et al., 2014).

Nyssomyia neivai, *Mg. migonei* y complejo *cortelezzii* han sido incriminadas en la transmisión de Leishmaniasis Cutánea en zonas rurales de las provincias biogeográficas de Chaco Oriental y Occidental. A su vez, *Nyssomyia neivai* y comp. *cortelezzii* fueron halladas naturalmente infectadas con *Leishmania braziliensis* en Argentina (Córdoba Lanús et al., 2006; Rosa et al., 2012) y la primera es considerada vector epidémico de LC en Argentina (Salomón et al., 2008c; Quintana et al., 2012).

Se destaca la presencia de *Mg. migonei*, como factor de riesgo para la transmisión de LV en la región, ya que este especie es considerada como probable vector de *Le. infantum* pudiendo intervenir en la transmisión esporádica de LV en la región Chaqueña, debido a su asociación a brotes de LV en la provincia de Santiago del Estero, sin presencia de *Lu. longipalpis* (Salomón et al., 2010a). Esta observación, también fue registrada en Brasil, donde además de incriminarla como vector en brotes de LV sin la presencia de *Lu. longipalpis*, se determinó su infección natural con parásitos de *Le. infantum* (Carvalho et al., 2010).

El hallazgo de *Lu. longipalpis* en el área urbana de Resistencia en abril de 2010, sugería una dispersión activa en dirección sur-oeste del vector de LV en la Argentina (Salomón et

al., 2011a,b). Sin embargo, los resultados aquí observados han demostrado la ausencia de *Lu. longipalpis* en la región. Esto podría deberse a condiciones climáticas (temperatura mínima invernal muy baja en 2010) que pudiera llevar a diapausa (Rajinder et al., 2010; Carvalho et al., 2011) o ambientales que limitaron su colonización continua o dispersión a otros sitios de la ciudad. La persistencia del vector de LV en Pueblo de Pescadores a su vez, puede explicarse por una colonización continua desde la ciudad de Corrientes (población fuente) al otro lado del río Paraná, o a condiciones de hábitat o amortiguación climática debida al mismo río. Serán requeridos futuros estudios para determinar la calidad del río Paraná como barrera física para la dispersión de Phlebotominae, como fue demostrado para grandes ríos de Brasil (Coutinho – Abreu et al., 2008; Saraiva et al., 2012). Las acciones de vigilancia de LV humana y canina se deben priorizar también en el Pueblo de Pescadores, no sólo por la presencia del vector sino también por el continuo tránsito de canes entre Chaco y Corrientes. Si bien la LV humana y canina, es una enfermedad de denuncia obligatoria en el país, hasta ahora no hay registros para la provincia del Chaco, por lo que se enfatiza entonces la necesidad del fortalecimiento de capacidades diagnósticas a fin de la captación temprana de probables casos de LV.

En conclusión, el monitoreo preliminar de *Lu. longipalpis* en la ciudad de Resistencia, mostró que la colonización incipiente del vector de LV observada en el año 2010 con capturas de baja abundancia relativa, no fue seguida de instalación continua de poblaciones del vector y ampliación de su distribución espacial como en otros centros urbanos de la Argentina (Santini et al., 2012). A su vez, los muestreos desarrollados tanto en Resistencia como en los municipios de Margarita Belén, Pueblo de Pescadores e Isla del Cerrito, registraron que los ambientes urbanos presentan una riqueza específica y abundancia de poblaciones de Phlebotominae mucho menor a lo observado en ambientes rurales en la región (Salomón et al., 2008a; Rosa et al., 2010). Determinar la capacidad potencial de *Lu. longipalpis* de continuar su dispersión en esta zona biogeográfica tras un invierno templado, y de colonizar sitios del centro urbano a partir de los focos continuos periféricos (Pueblo de Pescadores), requieren de una estrategia de vigilancia entomológica y de búsqueda de infección canina apropiada, no solo para entender la dinámica de dispersión del vector de LV, sino para monitorear el riesgo de transmisión activa de LV en la región

chaqueña tanto para vectores primarios y secundarios como *Mg. migonei* (Rosa et al., 2010; Salomón et al., 2010a) .

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES GENERALES

6.1 CONCLUSIONES GENERALES

Se determinó la presencia en ambientes periurbanos rurales de la región Chaqueña húmeda, de 12 especies de Phlebotominae distribuidas en 8 géneros. Se determinó que *Ny. neivai* es la especie predominante, pudiendo compartir esta dominancia con *Mg. migonei* en áreas rurales altamente modificadas. Se observó a su vez, que la riqueza específica y abundancia de Phlebotominae, podría estar asociada a las modificaciones antrópicas del ambiente, registrándose mayor riqueza y abundancia en áreas periurbanas y rurales con mayor modificación antrópica (capítulos III y IV). Los resultados observados, sugieren que las localidades con mayor grado de modificación (MA - MB), presentan mayor riqueza y abundancia de Phlebotominae, principalmente representada por la predominancia de *Ny. neivai* y *Mg. migonei*, observándose por el contrario que en ambientes menos modificados (CB), si bien la abundancia es menor, la equidad y la diversidad es mayor que en ambientes modificados. Esta relación ya fue observada por Rodríguez et al. (2014) en la selva amazónica de Brasil, donde las áreas con mayor grado de modificación presentan mayor riqueza de especies. Sin embargo, resultados observados en el país, en la provincia de Misiones, muestran que los ambientes degradados presentan una menor riqueza específica, contrario a lo registrado en esta región (Fernández et al., 2012). El aumento en la abundancia de Phlebotominae, en ambientes modificados y de fragmentación de bosque ya fue observado anteriormente (Valderrama et al., 2011; Quintana et al., 2010); también fue indicado que la abundancia de Phlebotominae periurbanos es altamente heterogénea según el paisaje, dependiendo de la disponibilidad de alimento y sitios de cría (Salomón et al., 2008 a,c,d). Esto podría fundamentarse, en que algunos Phlebotominae especialmente aquellos capaces de transmitir la Leishmaniasis, poseen una tendencia adaptativa a colonizar o invadir nuevos habitats, en áreas deforestadas y antrópicamente modificadas (Desjeux, 2001; Peterson & Shaw, 2003; Salomón et al., 2006c; Valderrama et al., 2011). A su vez, algunos estudios demuestran que los flebótomos en áreas periurbanas con creciente grado de modificación antrópica se alimentan de humanos, aumentando así el riesgo de infección de la Leishmaniasis en áreas cercanas a la vivienda (Nery et al., 2004; Salomón et al., 2006c; Carvalho et al., 2010).

Los resultados obtenidos de los estudios de infección natural en ambientes rurales, mostraron que si bien no se observaron parásitos intestinales en las disecciones realizadas,

esto no descarta la circulación del parásito en los sitios estudiados, ya que podría deberse a la baja sensibilidad del método y al bajo número de Phlebotominae analizados, o por tratarse de un periodo inter-epidémico de baja transmisión. Futuros estudios podrían orientarse a la determinación de la infección natural por métodos moleculares que aumenten la sensibilidad de detección de *Leishmania* sp. y a la identificación de reservorios silvestres y peridomésticos (actualmente desconocidos en la Argentina), con el fin de ampliar el conocimiento sobre la posible transmisión peridoméstica en la región chaqueña. Aun así se destaca como factor de riesgo, la presencia de 1) *Ny. neivai*, hallada naturalmente infectada con *Leishmania* sp. en la provincia de Tucumán (Córdoba Lanús et al., 2006) e incriminada como responsable de la transmisión epidémica en ambientes modificados peridomésticos en la Argentina, Brasil y Paraguay; 2) *Mg migonei* considerada como el vector de LT capaz de mantener la circulación zoonótica del parásito en periodos inter-epidémicos y eventualmente generar casos humanos aislados (Salomón et al., 2006a), e incriminada en Argentina como vector putativo de LV (Salomón et al., 2010a); y 3) complejo *cortelezzii*, incriminado como probable vector de LC en Argentina debido a su alta abundancia en brotes esporádicos de LC y por haber sido hallado naturalmente infectado con *Le. braziliensis* en la región Chaqueña occidental (Rosa et al., 2011).

Se determinó por primera vez en la Argentina, la presencia de *Ev. aldafalcaoae* y *Ev. corumbaensis*. Ambas especies, anteriormente restringidas al estado de Mato Grosso do Sul, Brasil (Galati 2003a), actualmente amplían su distribución sur, siendo éste su registro más Austral en el continente. Si bien su baja abundancia en las capturas sugeriría una improbable participación en la transmisión de la Leishmaniasis (al menos en la región Chaqueña), se desconoce el rol de ambas especies en la transmisión del parásito. Futuros estudios podrían entonces determinar su posible infección natural con flagelados del género *Leishmania* y determinar así su posible participación en la transmisión de la Leishmaniasis en la región. A su vez se destaca la presencia de *Mi. quinquefer*, siendo este su primer registro en la región del Chaco húmedo, ampliando así su distribución conocida en la región Chaqueña, anteriormente restringida a la región del Chaco seco.

Considerando la macroescala (localidades) y mesoescala (sitios de muestreo) espacial, se observó que la mayor abundancia relativa y riqueza específica se registró en Margarita

Belén, sitio que mostró la menor diversidad, debido a la alta predominancia de *Ny. neivai* y *Mg. migonei* sobre las demás especies, mostrando el más bajo índice de equidad. Su predominancia podría estar asociada al grado de modificación del ambiente lo que explicaría los valores similares en el sitio Monte Alto (con igual grado de modificación del bosque que Margarita Belén), y la mayor diversidad en Colonia Benítez por tratarse de un sitio con un bajo grado de modificación antrópica.

Se observó que durante los años 2010 – 2012 la abundancia promedio de *Ny. neivai* y *Mg. migonei*, en las localidades estudiadas mostraron igual proporción de abundancia (capítulo III). Mientras que durante el año 2013 se observó una clara predominancia de *Ny. neivai* sobre *Mg. migonei* (Capítulo IV). Salomón et al. (2008a) sugieren un tipo de distribución para la región Chaqueña húmeda, con *Ny. neivai* altamente abundante y escaso *Mg. migonei*, concordante con lo observado durante el año 2013. La dominancia de *Ny. neivai* ya fue observada en las distintas regiones biogeográficas argentinas (Córdoba Lanús & Salomón 2002; Salomón et al., 2008a,c,d; Rosa et al., 2010; Quintana et al., 2012), sin embargo, registros de 2010 – 2012 muestran una co-dominancia entre *Ny. neivai* y *Mg. migonei*. Futuros estudios, ampliando los años de muestreo bajo una misma metodología, deberían orientarse a determinar la capacidad de *Ny. neivai* de aumentar su abundancia entre períodos de tiempo anuales, como lo observado en estos resultados; a la vez de determinar cuáles son las condiciones que pudieran favorecer ésta dominancia, y si esta variación puede presentarse en otras Bioregiones de Argentina. Dado que *Ny. neivia* es la especie con mayor distribución en el país y considerada vector epidémico de *Le. braziliensis* (Salomón et al., 2008c), conocer los factores determinantes del aumento de densidad de esta especie, representarían una importante herramienta para determinar el riesgo de transmisión asociado, como así también generar mapas de predicción y focalizar esfuerzos para la prevención y el control.

Se concluyó a partir de los análisis multivariados, realizados con el objetivo de observar las variaciones espaciotemporales en la estructura de la comunidad de Phlebotominae, que según el análisis de clasificación, la comunidad se divide en 3 grupos principales. El primer grupo conformado por *Ny. neivai*, estaría claramente diferenciado de las especies restantes, mostrando una distribución particular considerando la variación entre ecotopos y localidades. A su vez, *Mg. migonei* y comp. *cortelezzii* conformarían el segundo grupo,

presentando una distribución asociada entre sí, pero diferente a las otras especies capturadas, las cuales están muy próximas entre sí, formarían el tercer grupo. Estas observaciones refuerzan lo sugerido por Salomón et al. (2008) y Rosa et al. (2010), en base a la abundancia y distribución de especies, marcando la predominancia de *Ny. neivai* en ambientes con alto grado de modificación antrópica, y la distribución asociada de estas especies, en áreas Periurbanas y Rurales de la región Chaqueña húmeda

A su vez, se observó en el análisis de ordenación, que tanto en los muestreos realizados en año 2010 y 2012 como en año 2013, que las comunidades de Phlebotominae del intradomicilio, serían sensiblemente diferentes a las comunidades de extradomicilio y peridomicilio, reforzando las diferencias encontradas, en base a los índices de diversidad y riqueza específica para los ecotpos. A su vez, el análisis realizado en base a los resultados del año 2013, sugiere que el extradomicilio de MB, sería diferente al extradomicilio de MA, el cual estaría más relacionado a los peridomicilios de ambas localidades. Esto podría deberse a que las comunidades de Phlebotominae podrían presentar diferencias en base al grado de conservación y tamaño de los parches de Bosque de áreas Rurales y Periurbanas. A su vez, considerando la variación en la mesoescala (sitios de captura), se observó mediante el análisis de coordenadas principales, que no se observa efecto de la mesoescala sobre la estructura de la comunidad. De la misma manera, al comparar las distribuciones temporalmente, durante los años 2010 y 2012, no se observó efecto temporal sobre la composición de la comunidad. Por lo tanto, según estas observaciones, la microescala (ecotpos) sería el factor condicionante de la comunidad de Phlebotominae, ya que no se vio influencia de los factores de macroescala, mesoescala ni temporal.

Se determinó que la variación estacional, de la abundancia total de Phlebotominae, presenta picos de abundancia en verano, abundancia moderada en primavera –otoño y una muy baja abundancia en invierno. Se estableció que *Ny. neivai* puede presentar picos de abundancia en los meses de enero-febrero, abril-mayo, noviembre-diciembre, variando el número de picos entre años e incluso entre localidades. Trabajos anteriores en la localidad de Monte Alto (Salomón et al., 2008a), mencionan una distribución con picos de abundancia en abril y noviembre. Sin embargo, en la provincia de Salta Salomón et al. (2004) sugirió que *Ny. neivai* podría presentar picos de abundancia tanto, bimodales (con picos en otoño y primavera), como trimodales (con picos en otoño y verano-primavera),

manteniendo siempre la mayor abundancia en otoño. En el presente trabajo se observó que la mayor abundancia de *Ny. neivai* en los sitios estudiados se presentó en verano (diciembre, enero y febrero) mientras que también se observaron picos de menor densidad en Otoño (abril-mayo) y primavera (octubre, noviembre). Ampliar el período de tiempo de los estudios, permitirá en futuros trabajos determinar si *Ny. neivai* podría presentar verdaderas distribuciones bimodales o trimodales; o por el contrario son distribuciones unimodales con picos de abundancia y capturas discontinuas, determinados por la relación temperatura/precipitaciones, que durante años con abundantes precipitaciones y altas temperaturas durante el verano y primavera, se comportarían de manera bimodal como lo observado por Salomón et al. (2008a). Por ende, se concluye que en la mesoescala, la variación de los paisajes en sus condiciones ambientales, culturales y microclimáticas, pueden modificar la distribución de riqueza, diversidad y abundancia de las poblaciones de Phlebotominae. Esto muestra una gran variabilidad entre sitios de captura, como lo observado para MA y MB (Capítulo IV) y concordante con estudios anteriores en el país (Salomón et al., 2008d; Quintana et al., 2010; Fernandez et al., 2012).

A su vez, también se determinó que la abundancia y diversidad de las poblaciones de Phlebotominae, varía en la microescala. Los resultados obtenidos durante el período 2010-2012 en MA, MB y CB (Capítulo III) se asemejan a lo observado por Rosa et al. (2010) en la localidad de Monte Alto, donde se observó la mayor abundancia de Phlebotominae en el extradomicilio, seguido del peridomicilio e intradomicilio. Sin embargo al considerar la abundancia total de Phlebotominae capturados durante el período enero - diciembre 2013 para MA y MB (Capítulo IV) se observa una mayor densidad de Phlebotominae en el peridomicilio, seguido del extradomicilio, con escasos registros en el intradomicilio. Si bien no puede descartarse que la diferencia entre los dos períodos pueda deberse al diseño de muestreo con mayor número de réplicas durante 2013, esta diferencia debe ser considerada en futuros estudios con el fin de determinar la variación de la abundancia en períodos de tiempo superiores a 3 años, con el fin de identificar si las diferencias observadas son atribuidas al diseño metodológico o variaciones climáticas y ambientales. Estudios relacionados en el país, mostraron que pequeños cambios en la microescala pueden disparar aumentos en la densidad de los Phlebotominae y por ende aumentar el

riesgo asociado al contacto humano, vector, reservorio (Salomón et al., 2006d; Quintana et al., 2010).

Al analizar estas variaciones de abundancias mensuales en la microescala, se concluyó que tanto *Ny. neivai* como *Mg. migonei* durante el invierno podrían, en sitios con mayor grado de modificación del peridomicilio y por ende con menor refugio ante condiciones desfavorables, mantener poblaciones que permanecerían en baja abundancia en los parches de bosque. Estas poblaciones podrían actuar como poblaciones fuente, que al pasar el período desfavorable pudieran dispersarse a otros ambientes. La capacidad de mantenerse en estos parches de bosque podría estar asociada a las condiciones microclimáticas (Salomón et al., 2001a,2004) que no se mantendrían en intra y peridomicilio debido a la baja cobertura arbórea y por ende menor refugio ante condiciones climáticas extremas (bajas temperaturas, vientos fuertes). A su vez, esto podría explicar por qué en MB, los ambientes de peridomicilio (con mayor cobertura arbórea y refugio ante condiciones extremas que MA) pudieron mantener la mayor abundancia de Phlebotominae antes y pasado el invierno. Concluyendo que las poblaciones de Phlebotominae parecerían ser más sensibles al clima en habitats peridomésticos, que en los parches de bosque próximos al domicilio, reforzando lo sugerido por Salomón et al. (2008d) en la provincia de Salta. Basados en la variabilidad observada en la microescala, se recomienda para los diseños futuros de vigilancia y control en ésta región, tener en cuenta la variación en el período de tiempo, como así también la variación producida por pequeños cambios de paisaje, lo que refuerza lo observado en otras regiones biogeográficas del país, y remarcando la importancia de esta variación, no solo en esta región, sino en toda el área de transmisión de la LC en la Argentina (Salomón et al., 2008d; Quintana et al., 2012; Fernández et al., 2012).

Considerando que la asociación de abundancia de *Ny. neivai* y *Mg. migonei* con la temperatura del mismo mes de la captura, puede asociarse al incremento del metabolismo y actividad de los adultos; y a su vez, la asociación de la abundancia con los registros del mes anterior a la captura pueden estar relacionados al incremento en el metabolismo en los restantes estados del ciclo biológico (Fernández et al., 2012). Se concluye que, si bien las precipitaciones parecerían ser el factor determinante para la variación de abundancia mensual de los adultos de *Ny. neivai*, los adultos de *Mg. migonei* parecerían no ser

afectados por éstas, manteniendo una mayor asociación con las temperaturas medias y mínimas mensuales. Esta correlación positiva de la abundancia mensual de *Ny. neivai* con las precipitaciones, podría explicar los aumentos de abundancia durante abril - mayo. Al comparar los picos de abundancia con la variación de temperatura y precipitaciones, podría suponerse que la caída en la abundancia desde el pico en enero-febrero hacia los meses de invierno, podría ser interrumpida, aumentando la densidad de las poblaciones durante los meses de mayo-abril por influencia de las precipitaciones, a pesar que las temperaturas sigan su pendiente negativa hacia los meses de invierno. En contraste, la independencia de *Mg. migonei* a las precipitaciones, determinarían su distribución sin picos de abundancia marcados, durante el período abril - mayo. Es necesario el desarrollo de diseños de campo y laboratorio, que identifiquen como influirían los factores de temperatura y precipitaciones en la densidad de poblaciones de Phlebotominae, especialmente en *Ny. neivai*, de manera de determinar si hay una asociación de rangos en los cuales las poblaciones de *Ny. neivai* alternan su dependencia a las condiciones de temperaturas o precipitaciones.

Se concluye además, que si se considera a la variación de los registros meteorológicos del mes anterior, como determinantes de la actividad y metabolismo de los estados inmaduros, éstos parecerían ser mayormente afectados por las temperaturas, mientras que las precipitaciones y la humedad relativa no parecerían tener efecto en los inmaduros de ninguna de las dos especies. Esta observación, refuerza lo sugerido por Fernández et al. (2012) en la provincia de Misiones, donde se observó que con un retraso de 31 días, la temperatura explicaría mejor la variación de abundancia que las precipitaciones.

En base a los resultados obtenidos, se concluye que la temperatura sería un factor crítico limitante de la abundancia de poblaciones, pudiendo esta asociación estar mediada por las precipitaciones para *Ny. neivai* durante meses de otoño con temperaturas templadas y abundantes precipitaciones; fortaleciendo lo observado por otros investigadores en otras regiones biogeográficas del país (Salomón et al., 2004; Quintana et al., 2012; Fernández et al., 2012).

Se logró determinar la diversidad específica y abundancia de Phlebotominae en ambientes urbanos y rurales en la provincia del chaco, y la influencia que las modificaciones antrópicas ejercen sobre las poblaciones de Phlebotominae. Se determinó

que la abundancia Phlebotominae en ambientes urbanos, es menor que en ambientes rurales, al igual que la riqueza específica; representada únicamente por *Ny. neivai*, *Mg. migonei*, complejo *cortezii* y *Lu. longipalpis* en áreas urbanas. A su vez los resultados observados entre los ambientes urbanos, sugieren que el grado urbanización parecería afectar a la densidad de Phlebotominae, registrándose mayor densidad en ambientes menos urbanizados que presentan un contacto más estrecho con remanentes de bosques y presencia de animales de corral, generalmente restringidos a las zonas periféricas de la ciudad (Capítulo V).

En el presente estudio pudo determinarse mediante capturas simultáneas estacionales que *Lu. longipalpis* tiene una distribución exclusivamente urbana, comparando los muestreos urbanos / periurbanos / rurales. Trabajos anteriores, en el país, señalaron esta distribución (Salomón et al., 2011a,b; Santini et al., 2012), pero hasta el momento no se habían realizado capturas paralelas en ambientes periurbanos / rurales que aseguraran esta distribución exclusivamente urbana, al menos en esta región de estudio. Futuros estudios deberán determinar si esta distribución se mantiene en otras regiones biogeográficas del país, y si los esfuerzos de vigilancia y control de *Lu. longipalpis* deben focalizarse solo en ambientes urbanos.

Se demostró que, la dispersión de *Lu. longipalpis* observada por Salomón et al. (2011b) en la ciudad de Resistencia, no fue seguida por la colonización continua y dispersión a otros centros urbanos próximos, probablemente por las condiciones climáticas (temperatura mínima invernal muy baja en 2010), que pudiera llevar a diapausa (Rajinder et al. 2010, Carvalho et al. 2011b) o condiciones ambientales que limitaron su colonización y dispersión. Su registro restringido al Barrio de Pescadores, podría explicarse por una colonización continua desde la ciudad de Corrientes (población fuente) o amortiguación climática debida al mismo río. Futuros estudios deberán ser orientados a determinar la prevalencia de LV en reservorios caninos en Barrio de Pescadores, para determinar el riesgo de transición en la comunidad. También es necesario determinar la capacidad de *Lu. longipalpis* de dispersarse pasivamente o activamente desde la ciudad de Corrientes con el fin de desarrollar medidas de control orientadas al bloqueo de la dispersión del vector.

En conclusión, la presencia de vectores competentes de LT y LV como *Ny. neivai* y *Mg. migonei*, complejo *cortelezzii* y *Lu. longipalpis* con registros próximos al domicilio, en ambientes rurales, periurbanos y urbanos de la provincia del Chaco, significaría un factor de riesgo en la región, aumentando las probabilidades del contacto humano-vector-reservorio. El aumento en la frecuencia de estas especies en los meses cálidos y meses posteriores a periodos de lluvias, deberá ser considerado al momento de proponer medidas de prevención y control. También deberán ser considerados para futuros diseños de muestreo, la variabilidad que las poblaciones de Phlebotominae presentan, debido a pequeños cambios en el paisaje y a nivel de la microescala inclusive. Debe tenerse especial atención al aumento en el número de vectores que pudieran sufrir zonas sometidas a modificaciones antrópicas. Se hace necesaria la vigilancia entomológica periódica en sitios críticos (alto grado de modificaciones antrópica y casos históricos de Leishmaniasis) para el alerta temprana sobre cambios en número o composición específica de poblaciones de Phlebotominae para la adecuada prevención y distribución de recursos.

6.2 RECOMENDACIONES

A partir de las conclusiones de esta tesis se plantean las siguientes

Recomendaciones:

- 1) Priorizar, las acciones de vigilancia de LV humana y canina en Pueblo de Pescadores, no sólo por la presencia del vector sino también por el continuo tránsito de canes entre Chaco y Corrientes. Si bien la LV humana y canina, es una enfermedad de denuncia obligatoria en el país, hasta ahora no hay registros para la provincia del Chaco. Se enfatiza la necesidad del fortalecimiento de capacidades diagnósticas a fin de la captación temprana de probables casos de LV.
- 2) Realizar anualmente, muestreos sistemáticos en primavera / verano en la ciudad de Resistencia para mantener una vigilancia entomológica activa de *Lu. longipalpis*. De ocurrir registros en la ciudad, se sugiere seguir las recomendaciones del Programa Nacional de Leishmaniasis para el control de foco.
- 3) Considerar el aumento de abundancia de *Mg. migonei* en ambientes urbanos, como situación de riesgo de transmisión de LV. Considerando su incriminación como vector putativo de *Le. infantum* esporádica en la región Chaqueña.
- 4) Priorizar estudios de vigilancia de LV canina en la ciudad de Resistencia, realizando muestreos de Phlebotominae adultos ante casos positivos/sitios positivos.
- 5) Comenzar en la ciudad de Resistencia y alrededores, campañas de concientización y educación de la población, sobre condiciones de riesgo y métodos de prevención para la trasmisión de la LV.
- 6) Se sugiere continuar monitoreando las comunidades de flebótomos en áreas periurbanas - rurales, para alertar acerca de cambios en la abundancia, distribución y composición de las poblaciones de Phlebotominae, especialmente antes de realizar cualquier intervención ambiental en zona endémica (antes, durante y después de la intervención).

7) Ampliar los registros en tiempo en las áreas estudiadas, determinando las características ambientales y climáticas que influyen en la abundancia de vectores a distintas escalas. Utilizar los resultados obtenidos para el desarrollo de modelos predictivos con el objeto de anticipar la ocurrencia de especies de interés sanitario y alertar a los sistemas de salud (a través del Programa Nacional de Leishmaniasis) para focalizar recursos y esfuerzos de prevención y control en las zonas de alerta.

8) Establecer como sitios “centinela” las áreas donde ocurrieron casos de LT, teniendo en cuenta la concentración del riesgo en espacio-tiempo (los sitios que concentran las mayores abundancia del insecto vector como así también la época del año conocida como de mayor transmisión, el verano), y vigilancia activa de casos.

9) Desarrollar modelos que constituyan verdaderos sistemas de alerta temprana, basados en el cambio de uso y cobertura de superficie para predecir a corto y mediano plazo riesgos de transmisión de leishmaniasis tegumentaria en la región endémica de Argentina.

6.3 LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

A partir de los resultados obtenidos y en base a las recomendaciones antes mencionadas, se observa la necesidad de profundizar distintas líneas de investigación, priorizando los siguientes estudios:

- 1) Estudios de vigilancia serológica de LV humana y canina en Pueblo de Pescadores y Resistencia, y su correlación espaciotemporal con abundancia de *Lu. longipalpis*.
- 2) Estudios con diseño orientado a determinar la calidad del río Paraná como barrera física para la dispersión de Phlebotominae, y capacidad de dispersión pasiva y activa de *Lu. longipalpis* desde la ciudad de Corrientes.
- 3) Estudios de dinámica a diferentes escalas espaciotemporales de los vectores, reservorios y de los factores intervinientes en la transmisión de la leishmaniasis.
- 4) Identificación de probables vectores y reservorios mediante diagnóstico de infección por técnicas moleculares (PCR-RFLP y secuenciación)
- 5) Determinación de la competencia vectorial a través de infecciones experimentales. Especialmente la competencia vectorial de *Mg. migonei* para *Le. infantum*, y de *Ny. neivai* / *Ev. cortelezzii* y *Ev. sallesi* para *Le. braziliensis*.
- 6) Determinar mediante ensayos sobre colonias experimentales de *Ny. neivai*, la influencia de Temperatura, Humedad, Inundación de hábitat y fotoperiodo sobre la supervivencia y duración de los distintos estados del ciclo biológico.
- 7) Desarrollar a partir de los resultados obtenidos, modelos predictivos y su posterior validación a campo con el objeto de contribuir al diseño de mapas de riesgo para la región endémica de Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

Acardi S.A.; Liotta D.J.; Santini M.S.; Romagosa C.M.; Salomón O.D. 2010. Detection of *Leishmania infantum* in naturally infected *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and *Canis familiaris* in Misiones, Argentina: the first report of a PCR-RFLP and sequencing-based confirmation assay. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 105 (6): 796-799.

Aguiar G.M.; Vilela M.L.; Lima R.B. 1987. Ecology of the Sandflies of Itaguai, an area of Cutaneous Leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro. Food preferences (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 82(4): 583-584.

Alberto J.A. 2006. El Chaco Oriental y sus Fisonomías Vegetales. *Geogr. Digit.* 3 (5): Disponible: <http://hum.unne.edu.ar/revistas/geoweb/Geo5/contenid/chacorien1.htm>

Alexander B.; Maroli M. 2003. Control of phlebotomine sandflies. *Med Vet Entomol.* 17: 1-18.

Andrade Filho J.D.; Galati E.A.B.; Falcão A.L. 2004. Biology of the first generation of a laboratory colony of *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 99 (6): 597-601.

Ashford R.W. 2007. Disease as a stabilizing factor in the protection of landscape: the leishmaniasis models. *Eco Health* 4: 99-103.

Barretto M.P. 1943. Observações sobre a biologia em condições naturais dos Phlebotomus do Estado de São Paulo (Diptera, Psychodidae). 162p. Tese de Docência Livre. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Beck L.R.; Lobitz B.M.; Wood B.L. 2000. Remote Sensing and Human Health: New Sensors and New Opportunities. *Emerging Infectious Diseases*. 6 (3): 217-227.

Bejarano J.F.R. 1959. Complejo patógeno de la leishmaniasis en la República En: Bejarano J.R.F.; Del Ponte E. & Orfila R.R. (eds). Primeras Jornadas Entoepidemiológicas Argentinas. Buenos Aires, *La Prensa Médica Argentina*. 1: 545-546.

Bernasconi, V.E. 1930. Consideraciones sobre el censo de leishmaniosis. *Rev Soc Pat reg Norte*. 5: 590-602.

Borges Alves G.; Teruya Oshiro E; da Cruz Leite M.; Aline Vidor Melão A.; Moraes Ribeiro L.; Lopes Fontoura Mateus N.; Brazil R.P.; Andrade Filho J.D.; Gutierrez de Oliveira A. 2012. Phlebotomine sandflies fauna (Diptera: Psychodidae) at rural settlements in the municipality of Cáceres, state of Mato Grosso, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 45(4):437-443.

Brandão Nunes V.L.; Galati E.A.B.; Cardozo C.R.; Ghizzi M.E.; Andrade A.R.O.; Santos M.F.C.; Aquino R.B.; Rosa D. 2008. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área urbana do município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia.* 52(3): 446-451

Brazil R.P.; Brazil B.G. 2003. Biología de flebotomíneos do Brasil, En: Rangel E.F. & Lainson R. (eds.). *Flebotomíneos do Brasil.* Rio de Janeiro: Fiocruz. p. 257-274.

Burkart R.N.; Bárbaro R.O.; Sánchez Gómez D.A.; 1999. Ecorregiones de la Argentina, Administración de Parques Nacionales, Buenos Aires, 43 pp.

Cabrera A.L. 1971. Fitogeografía de la República Argentina. *Soc Arg Bot.* 14: 1-50.

Carvalho G.M.L.; Brazil R.P.; Sanguinette C.C.; Andrade Filho J.D. 2011a. Description of *evandromyia spelunca*, a new phlebotomine species of the *cortelezzii* complex, from a cave in Minas Gerais State, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Parasites & Vectors.* 4 (8): 1-8

Carvalho G.M.; De Vasconcelos F.B.; Da Silva D.G.; Botelho H.A.; Andrade Filho J.D. 2011b. Diversity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Ibitipoca State Park, Minas Gerais, Brazil. *J Med Entomol.* 48 (4): 764-9.

Carvalho M.R.; Valença H.F.; da Silva F.J.; de Pita-Pereira D.; de Araújo Pereira T.; Britto C.; Brazil R.P.; Brandão Filho S.P. 2010. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. *Act Trop.* 116: 108-10.

Castro M. 1959. Diptera: Psychodidae-Flebotominae. En: Bejarano, J.R.F.; Del Ponte, E. & Orfila, R.R. (eds). *Primeras Jornadas Entoepidemiológicas Argentinas.* Buenos Aires, *La Prensa Médica Argentina.* 1: 545-546.

Censo 2010. Buenos Aires: Instituto Nacional de Estadística y Censos. Disponible: <http://www.censo2010.indec.gov.ar/>

Cerino D.A.; Teodoro U.; Silveira T.G.; 2009. Sand flies (Diptera: Psychodidae) in the urban area of the municipality of Cianorte, Paraná State, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 38, 853–858.

Chaniotis B.N. 1967. The biology of California *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae) under laboratory conditions. *J Med Entomol.* 4: 221-233.

Chaves L.F.; Añez N. 2004. Species co-occurrence and feeding behaviour in sand fly transmission of American cutaneous leishmaniasis in western Venezuela. *Act Trop* 92: 219-224.

Comer J.A.; Kavanaugh D.M.; Stallknecht D.E.; Corn J.L. 1994. Population dynamics of *Lutzomyia shannoni* (Diptera: Psychodidae) in relation to the epizootiology of vesicular stomatitis virus on Ossabaw Island, Georgia. *J Med Entomol.* 31: 850-854.

Comer J.A., Stallknecht D.E., Corn J.L., Netles V.F. 1991. *Lutzomyia shannoni* (Diptera: Psychodidae): a biological vector of the New Jersey serotype of vesicular stomatitis virus on Ossabaw Island, Georgia. *Parassitologia.* 33 (1): 151-158.

Córdoba Lanús E.; Lizarralde de Grosso M.; Piñero J.E.; Valladares B.; Salomón O.D. 2006. Natural infection of *Lutzomyia neivai* with *Leishmania spp.* in northwestern Argentina. *Act Trop.* 98: 1–5.

Córdoba Lanús E.; Salomón O.D. 2002. Phlebotominae fauna in the province of Tucumán, Argentina. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 44 (1): 23-27.

Coutinho-Abreu L.V.; Sonoda I.V.; Fonseca J.A.; Melo M.A.; Balbino V.Q.; Ramalho-Ortigão M. 2008. *Lutzomyia longipalpis s.l.* in Brazil and the impact of the São Francisco River in the speciation of this sand fly vector. *Parasites & Vectors*, 1: 37

Dedet J.P. 1999. Les Leishmaniosis. Dedet J.P. (eds). Ellipses AUPELF/UREF, Paris, 253 pp.

Desjeux P. 2001. The increase in risk factors for the leishmaniasis. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 95: 239–243.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Dorval M.E.C.; Cristaldo G.; Carlos da Rocha H.; Peixoto Alves T.; Andrade Alves M.; Teruya Oshiro E.; Gutierrez de Oliveira A.; Brazil R.P.; Galati E.A.B.; Venâncio da Cunha R. 2009. Phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) of an American cutaneous leishmaniasis endemic area in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 104 (5): 695-702.

Dudiuk J.; Rosegarten C. 1997. Nuestro espacio geográfico. Ed. DL Producciones, Resistencia, 156p.

Duret J.P. 1952. Notas sobre flebotomos argentinos. *Revista Sanidad Militar Argentina*. 51: 534-536

Dyar H.G. 1929. The present knowledge of the American species of *Phlebotomus Rondani* (Diptera, Psychodidae). *Amer J Hyg*. 10: 112-124.

Endris R.G.; Perkins P.V.; Young D.G.; Johnson R.N. 1982. Techniques for laboratory rearing sand flies (Diptera: Psychodidae). *Mosquito News*. 42: 400-407.

Feitosa M.A.C.; Castellón E.G. 2004. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em fragmentos florestais ao redor de conjuntos habitacionais na cidade de Manaus, Amazonas Brasil. II. Estratificação horizontal. *Acta Amaz*. 34: 121-127.

Fernández M.S.; Lestani E.A.; Cavia R.; Salomón O.D. 2012. Phlebotominae fauna in a recent deforested area with American tegumentary leishmaniasis transmission (Puerto Iguazú, Misiones, Argentina): seasonal distribution in domestic and peridomestic environments. *Act Trop*. 122: 16-23.

Ferro C.; Cárdenas E.; Corredor D.; Morales S.; Munstermann L.E. 1998. Life Cycle and Fecundity Analysis of *Lutzomyia shannoni* (Dyar) (Diptera: Psychodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 93(2): 195-199.

Freitas J.S.; Reinhold-Castro K.R.; Casanova C.; Silva J.P.; Previdelli I.; Teodoro U. 2009. Memória espacial e/ou olfativa em flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose tegumentar americana, sul do Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 42: 151-155.

Forattini O.P. 1973. Entomologia médica. Psychodidae, Phlebotominae, Leishmanioses, Bartonelose. São Paulo: Edgard Blücher/Editora da USP; v.4, 658p.

Fordellon R.C.M.; Galati E.A.B.; Fordellone R.C.C. 2012. Ecological aspects of the sandfly fauna (Diptera, Psychodidae) in an American cutaneous Leishmaniasis endemic area under the influence of hydroelectric plants in Parana panama river, State of Paraná, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 45 (4): 430-436.

Galati E.A.B.; Marassá A.M.; Gonçalves-Andrade R.M.; Bueno E.F.M.; Paiva M.R.; Malafrente R.S. 2010. *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva) and *Nyssomyia neivai* (Pinto) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in a sympatric area: seasonal and nocturnal hourly rhythm in black and white modified Shannon traps. *Rev Bras Entomol.* 54(4): 677–686.

Galati E.A.B.; Fonseca M.B.; Marassá A.M.; Bueno E.F.M. 2009. Dispersal and survival of *Nyssomyia intermedia* and *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in a cutaneous leishmaniasis endemic area of the speleological province of the Ribeira Valley state of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104(8): 1148-1158.

Galati E.A.B. 2003a. Classificação de Phlebotomine, En: Rangel E.F. & Lainson R. (eds.). Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz. p. 23-52. 367 pp.

Galati E.A.B. 2003b. Morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da América. En: Rangel E.F.& Lainson R. (eds.). Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz. p. 53-175. 367 pp.

Ginsburg R.; Adamoli J.; Herrera P.; Torella S. 2005. Los Humedales del Chaco: clasificación, inventario y mapeo a escala regional. En: Temas de la biodiversidad del Litoral fluvial Argentino II. Coordinador: Aceñolaza F.G.; INSUGEO, *Misceláneas.* 14: 121–138.

Gómez Bravo A.; Quintana M.G.; Abril M.; Salomón O.D. 2013. The first record of *Lutzomyia longipalpis* in the Argentine northwest. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 108: 107 - 1073.

González G.; Arce Queirolo A. 1955. Leishmaniosis. II. Leishmaniosis cutáneo-mucosa y guerra en el Bosque. *Rev Méd Paraguay*. 1: 69-74.

González G.; Oliveira y Silva M. 1939. La leishmaniosis forestal americana en la guerra del Chaco. Novena Reunión Sociedad Argentina de Patología Regional, tomo 2, p. 959-974.

Gould I.T.; Perner M.S.; Santini M.S.; Saavedra S.B.; Bezzi G.; Maglianese M.I.; Antman J.G.; Gutiérrez J.A.; Salomón O.D. 2013. Leishmaniasis visceral en la Argentina: notificación y situación vectorial (2006-2012). *Medicina (Buenos Aires)*. 73: 104-110.

Heymann D.L.; Rodier G.R. 2001. Hot spots in a wired world: WHO surveillance of emerging and re-emerging infectious diseases. *Lancet Infectious Disease*. 1: 345-353.

Hutcheson K. 1970. A test for comparing diversities based on the Shannon formula. *Journal of Theoretical Biology*. 29: 151-154.

Lainson R. 1989. Demographic changes and their influence on the epidemiology of the american leishmaniasis: En: Service M.W. (eds). *Demography and Vector-Borne Diseases*, Boca Raton, CRC Press, pp. 85-106.

Lawyer P.G.; Young D.G.; Butler J.F.; Akin D.E. 1987. Development of *Leishmania mexicana* in *Lutzomyia diabolica* and *Lutzomyia shannoni* (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol*. 24: 347-355.

Locatelli F.M.; Cajal S.P.; Barroso P.A.; Lauthier J.J.; Mora M.C.; Juarez M.; Kato H.; Nasser J.R.; Hashiguchi Y.; Korenaga M.; Marco J.D. 2014. The isolation and molecular characterization of *Leishmania* spp. from patients with American tegumentary leishmaniasis in northwest Argentina. *Act Trop*. 131: 16– 21.

Magurran A.E. 1988. *Ecological diversity and its measurement*. Princeton University Press, New Jersey, 179 pp.

Marcondes C.B. 2007. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the word. *Entomol News*. 118: 351-356.

Marins de Aguiar G. & Muniz de Medeiros W. 2003. Distribuição regional e hábitos das espécies de flebotomíneos do Brasil. En: Rangel E.F. & Lainson R. (eds.). Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz. p. 53-175.

Meneses C. R.; Cupolillo E.; Monteiro F.; Rangel E. F. 2005. Micro-geographical variation among male populations of the sandfly, *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *intermedia*, from an endemic area of American cutaneous leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Med Vet Entomol.* 19: 38-47.

Meneses C.R.; de Azevedo A.C.; da Costa S.M.; Costa W.A.; Rangel E.F. 2002. Ecology of American cutaneous leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *J Vector Ecol.* 27(2): 207-214.

Montenegro C.; Strada M.; Bono J.; Gasparri N.I.; Manghi E.; Parmuchi M.G.; Brouwer M. 2005. Estimación de la pérdida de superficie de bosque nativo y tasa de deforestación en el norte de Argentina. Tercer congreso forestal argentino y latinoamericano 6–9. Septiembre 2005, Corrientes.

Maroli M.; Feliciangeli M.D.; Bichaud L.; Charrel R.N.; Gradoni L. 2013. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Med Vet Entomol.* 27: 123–147.

Mott K.E.; Desjeux P.; Moncayo A.; Ranque P.; de Raadt P. 1990. Parasitic diseases and urban development. *Bull World Health Organ.* 68: 691-698.

Nery L.C.R.; Lorosa E.S.; Franco A.M.R. 2004. Feeding preference of sandflies *Lutzomyia umbratilis* and *L. spathotrichia* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in an urban forest in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 99: 571–574.

Nunes V.L.B.; Galati E.A.B.; Cardozo C.; Rocca M.E.G.; Andrade A.R.O.; Santos M.F.C.; Aquino R.B.; Rosa D. 2008. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área urbana do município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Bras Entomol.* 52: 446–451.

Oliveira de Andrade R.; Nunes L.B.; Galati E.A.B.; Arruda C.C.P.; Santos M.F.C.; Rocca M.E.G; Aquino R.B. 2009; Epidemiological study on leishmaniasis in an area of environmental tourism and ecotourism, State of Mato Grosso do Sul, 2006-2007. *Rev Soc Bras Med Trop.* 42(5):488-493.

Pan American Health Organization (PAHO); World Health Organization. 2007. Update of American Trypanosomiasis and Leishmaniasis Control and Research: Final Report. Rio de Janeiro, 06-07 November.

Parras M.A.; Rosa J.R.; Szelag E.A.; Salomón O.D. 2012. Identification of the natural breeding sites of sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), potential vectors of leishmaniasis, in the province of Chaco, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 107(4): 550-552.

Peterson A.T. 2006. Ecologic Niche Modeling and Spatial Patterns of Disease Transmission. *Emerging Infectious Diseases* 12. Disponible en: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no12/06-0373.htm>

Peterson A.T.; Shaw J.J. 2003. *Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions and climate change effects. *Int J Parasitol.* 33: 919-931.

Pimenta P.F.; Secundino N.F.; Nieves Blanco E.E. 2003. Interação Vetor-Hospedeiro, En: Rangel E.F. & Lainson R. (eds.). *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz. p. 275-289. 367 pp.

Pita-Pereira D.; Souza G.D.; Pereira T.A.; Zwetsch A.; Britto C.; Elizabeth F. Rangel E.F. 2011. *Lutzomyia* (*Pintomyia*) *fischeri* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), a probable vector of American Cutaneous Leishmaniasis: Detection of natural infection by *Leishmania* (*Viannia*) DNA in specimens from the municipality of Porto Alegre (RS), Brazil, using multiplex PCR assay. *Act Trop.* 120: 273– 275.

Quintana M.G.; Fernández M.S.; Salomón O.D. 2012. Distribution and Abundance of Phlebotominae, Leishmaniasis, in Argentina: Spatial and Temporal Analysis at Different Scales. *J Trop Med.* ID 652803:1-16.

Quintana M.G.; Salomón O.D.; Lizarralde de Grosso M.S. 2010. Distribution of Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in a Primary Forest-Crop Interface, Salta, Argentina. *J Med Entomol.* 47 (6): 1003-1010.

Quintana M.G. 2010. Dinámica y distribución de Phlebotominae, vectores de Leishmaniasis, en el noroeste argentino. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán. 167pp.

Rajinder S.; Mann R.S.; Kaufman P.E. 2010. The seasonal abundance of phlebotomine sand flies, *Lutzomyia* species in Florida. *J Am Mosq Control Assoc.* 26 (1): 10-7.

Rangel E.F. & Lainson R. 2009. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104: 937–954.

Rangel E.F. & Lainson R. 2003. Ecologia das leishmanioses: transmissores de leishmaniose tegumentar americana. En: Rangel E.F. & Lainson R. (eds.). *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz. p. 291-310. 367pp

Rangel E.; Barbosa A.; Andrade C.; Sousa N.; Wermelinger E. 1992. Development of *Leishmania (Viania) braziliensis* Vianna, 1911 in *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) under experimental conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 87 (2):235-238.

Ready P.D. 1979. Factors affecting egg production of laboratory-bred *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol.* 16: 413-423

Rioux J.A.; Guilvard E.; Dereure J.; Lanotte G.; Denial M.; Pratlong F.; Serres E.; Belmonte A. 1986. Infestation naturelle de *Phlebotomus papatasi* (Scopoli, 1786) par *Leishmania major* MON-25. A propôs de 28 souches isolées dans um foyer du Sud marocain. *Leishmania Taxonomie et phylogénèse. Application éco-épidémiologiques*. Coll. Int. CNRS/INSERM, 1984. IMEEE, Montpellier, p:471-480

Rodrigues Ramosa, W.; Fernandes Medeirosa J.; Genimar Rebou J.; Ríos Velásquez C.M.; Marialva E.F.; Desmoulière S.J.M.; Bessa Luz S.L.; Costa Pessoa F.A. 2014. Anthropic effects on sand fly (Diptera: Psychodidae) abundance and diversity in an Amazonian rural settlement, Brazil. *Act Trop.* 139 : 44–52.

Romaña C.; Najera L.; Conejos L.; Abalos J.W. 1949. Leishmaniosis tegumentaria en perros de Tucumán. II. Focos domésticos de leishmaniosis. *An. Inst. Medicina Regional*. 2: 282–292.

Rosa J.R.; Pereira D.P.; Brazil R.P.; Filho J.D.; Salomón O.D.; Szelag E.A. 2012. Natural infection of *cortelezzii* complex (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) with *Leishmania braziliensis* in Chaco, Argentina. *Act Trop*. 123: 128- 131.

Rosa J.R.; Salomón O.D.; Andrade Filho J.D., Carvalho G.M.L.; Szelag E.A.; Stein M.; Tapia E.S.; Brazil R.P. 2010. Distribution of Sandflies (Diptera: Psychodidae) in the province of Chaco, Argentina. *Neotropical Entomology*. 39: 303-5.

Salomón O.D.; Fernández M.S.; Santini M.S.; Saavedra S.; Montiel N.; Ramos M.A.; Rosa J.R.; Szelag E.A.; Martínez M.F. 2011a. Distribución de *Lutzomyia longipalpis* en la Mesopotamia Argentina, 2010. *Medicina (Buenos Aires)*. 71: 22 - 26.

Salomón O.D.; Rosa J.R.; Fabiani M.; San Miguel S.R.; Szelag E.A.; Nepote M.; Parras M.A. 2011b. Distribución de *Lutzomyia longipalpis* en el Chaco Argentino, 2010. *Medicina (Buenos Aires)*. 71: 225-230.

Salomón O.D.; Quintana M.G.; Bezzi G.; Morán M.L.; Betbeder E.; Valdéz D.V. 2010a. *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina. *Act Trop*. 113: 84-7.

Salomón O.D.; Andrade Filho J.D.; Fernández M.S.; Rosa J.R.; Szelag E.A.; Santini M.S. 2010b. Nuevos registros de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) para la Argentina. *Rev Soc Entomol Argent*. 69 (3-4): 261-265.

Salomón O.D., Ramos L.K., Quintana M.G., Acardi S.A., Santini M.S., Schneider A. 2009a. Distribución de vectores de leishmaniasis visceral en la provincia de Corrientes. *Medicina (Buenos Aires)*, 69: 625-30.

Salomón, O.D., Acardí, S.A., Liotta, D.J., Fernández, M.S., Lestani, E., López, D., Mastrángelo, A.V., Figueroa, M., Fattore, G. 2009b. Epidemiological aspects of cutaneous leishmaniasis in the Iguazú falls area of Argentina. *Act Trop*. 109: 5–11.

Salomón O.D. 2008. Programa Nacional de Leishmaniasis de Argentina. Documento MS Argentina para OPS, Informe Final Reunión Regional Programas Nacionales de Leishmaniasis, Medellín -Colombia, 6/2008.

Salomón O.D.; Rosa J.R.; Stein M.; Quintana M.G.; Fernández M.S.; Visintin A.M.; Spinelli G.R.; Bogado de Pascual M.M.; Molinari M.L.; Morán M.L.; Valdez D.; Romero B.M. 2008a. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) fauna in the Chaco region and Cutaneous Leishmaniasis transmission patterns in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 103 (6): 578-584.

Salomón O.D.; Sinagra A.; Nevot M.C.; Barberian G.; Paulin P.; Estevez J.O.; Riarte A.; Estevez J. 2008b. First visceral leishmaniasis focus in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 103 (1): 109-111.

Salomón O.D.; Quintana M.G.; Rosa J.R. 2008c. Ecoepidemiología de la leishmaniasis cutánea en Argentina. *Salud i Ciencia*. 16: 514-520.

Salomón O.D.; Quintana M.G.; Zaidenberg M. 2008d. Urban distribution of Phlebotominae in a cutaneous leishmaniasis focus, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 103 (3): 282-287.

Salomón O.D.; Sosa Estani S.; Ramos K.; Orellano P.W.; Sanguesa G.; Fernández G.; Sinagra A.; Rapascioli G. 2006a. Tegumentary leishmaniasis outbreak in Bella Vista city, Corrientes, Argentina during 2003. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 101: 767-774.

Salomón O.D.; Mocarbel N.J.; Pedroni E.; Colombo J.; Sandillu M. 2006b. Phlebotominae: vectores de Leishmaniasis en las provincias de Santa Fe y Entre Rios, Argentina. *Medicina (Buenos Aires)*. 66: 220-224.

Salomón O.D.; Orellano P.W.; Lamfri M.; Scavuzzo M.; Drí L.; Farace M.I.; Ozuna Q.D. 2006c. Phlebotominae spatial distribution associated with a focus of tegumentary leishmaniasis in Las Lomitas, Formosa, Argentina, 2002. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 101: 295-299.

Salomón O.D.; Quintana M.G.; Flores I.; Andina A.M.; Molina S.; Montivero L.; Rosales I. 2006d. Phlebotominae sandflies associated with a tegumentary leishmaniasis outbreak, Tucumán Province, Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop*. 39: 341-346.

Salomón O.D. 2005. Phlebotominae. En: Salomón O.D. (eds.). Artrópodos de interés médico en Argentina. Fundación Mundo Sano. p. 67-73.

Salomón O.D. & Orellano P.W. 2005. *Lutzomyia longipalpis* in Clorinda, Formosa province, an area of potential visceral leishmaniasis transmission in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 100: 475-476.

Salomón O.D.; Quintana M.G.; Orellano P.; Stein M.; Rosa J.R.; Acardi S.; Lamfri M.; Scavuzzo M. 2005. Phlebotominae associated with leishmaniasis foci in Argentina, 1990-2004. *Arch Inst Pasteur Tunis*. 82: 24-25.

Salomón O.D.; Wilson M.L.; Munstermann L.E.; Travi B.L. 2004. Spatial and Temporal Patterns of Phlebotominae Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in a Cutaneous Leishmaniasis Focus in Northern Argentina. *J Med Entomol*. 41: 33-39.

Salomón O.D. 2002. Leishmaniosis: vectores y brotes epidémicos en Argentina. En: Salomón O.D. (eds.) Actualizaciones en Artropodología Sanitaria Argentina. Fundación Mundo Sano, Buenos Aires. p. 185-196.

Salomón O.D.; Sosa Estani S.; Drí L.; Donnet M.; Galarza R.; Recalde H.; Tijera A. 2002a. Leishmaniosis tegumentaria en Las Lomitas, provincia de Formosa, Argentina, 1992-2001. *Medicina (Buenos Aires)*. 62: 562-568.

Salomón O.D.; Rossi G.C.; Spinelli G.R. 2002b. Ecological aspects of Phlebotomine (Diptera, Psychodidae) in an endemic area of tegumentary leishmaniasis in the northeastern Argentina, 1993-1998. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 97: 163-168.

Salomón O.D.; Rossi G., Sosa Estani S.; Spinelli G. 2001a. Presencia de *Lutzomyia longipalpis* y situación de la leishmaniosis visceral en Argentina. *Medicina (Buenos Aires)*. 61: 174-178.

Salomón O.D.; Bogado Pascual M.; Molinari M.L. 2001b. Study of a cutaneous Leishmaniasis outbreak in General Vedia, province of Chaco, 1996. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 43 (2): 99-104.

Salomón O.D. 1999. Control vectorial de leishmaniosis en la región neotropical. *Rev Soc Entomol Arg*. 58: 269-275.

Sampaio R.N.; Gonçalves M.C.; Leite V.A.; França B.V.; Santos G.; Carvalho Mdo S.; Tauil P.L. 2009. Estudio da transmissão da leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal. *Rev Soc Bras Med Trop.* 42: 686–690.

Sánchez-García L.; Berzunza-Cruz M.; Becker-Fauser I.; Rebollar-Téllez E. 2010. Sand flies naturally infected by *Leishmania (L.) mexicana* in the peri-urban area of Chetumal city, Quintana Roo, México. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 104 (6): 406-411

Santini M.A.; Gould I.T.; Acosta M.M.; Berrozpe P.; Acardi S.A.; Fernández M.S.; Gómez Bravo A.; Salomón O.D. 2013. Spatial distribution of Phlebotominae in Puerto Iguazú-Misiones, Argentina-Brazil-Paraguay border area. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 55 (4): 239 -243.

Santini M.S.; Fernández M.S.; Pérez A.A.; Sandoval A.E.; Salomón O.D. 2012. *Lutzomyia longipalpis* abundance in the city of Posadas, northeastern Argentina: variations at different spatial scales. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 107: 767-771.

Saraiva L., Carvalho G.M.; Sanguinette C. de C.; Carvalho D.A.; Andrade Filho J.D. 2012. Biogeographical aspects of the occurrence of *Nyssomyia neivai* and *Nyssomyia intermedia* (Diptera: Psychodidae) in a sympatric area of the Brazilian savannah. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 107 : 867-872.

Scorza J.V; Ortiz I.; Gomez I. 1968a. Observaciones biológicas sobre algunos flebótomos de Rancho Grande (Venezuela) 2- Microhabitads de *Phlebotomus* spp. (Diptera, Psychodidae). *Acta Biológica Venezuelica*, 6 (1): 1-27.

Scorza J.V; Ortiz I.; Gomez I. 1968b. Observaciones biológicas sobre algunos flebótomos de Rancho Grande (Venezuela) 6- Sobre factores microclimaticos que determinan la endemicidad de la flebotomofauna de “Rancho Grande”. *Acta Biológica Venezuelica*, 6 (2): 76-83.

Shaw J. 2007. The leishmaniasis-survival and expansion in a changing world. A mini-review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 102 (5): 541–547.

Sosa Estani S.; Salomón O.D. 2002. Aspectos clínicos, epidemiológicos y entomológicos de la transmisión de la leishmaniosis en la República Argentina. Sociedad Iberoamericana

de Información Científica (SIIC), Sección Expertos Invitados. Disponible: (<http://www.siicsalud.com/main/expinv.htm>).

Sudia W.D. & Chamberlain R.W. 1962. Battery-operated light trap, an improved model. *Mosquito News*. 22: 126-129.

Tothmeresz B. 1995. Comparison of different methods for diversity ordering. *Journal of Vegetation Science*. 6: 283-290.

Valderrama A.; Tavares M.G.; Andrade Filho J.D. 2011. Anthropogenic influence on the distribution, abundance and diversity of sand fly species (Diptera: Phlebotominae: Psychodidae), vectors of cutaneous leishmaniasis in Panama. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 106: 1024–1031.

Villalonga J.F. (1963). Leishmaniosis tegumentaria americana: clínica y tratamiento. *Rev Fac Med Tucumán*. 6: 197-208, Walsh J.F.; Molyneux D.H.; Birley M.H. 1993. Deforestation: effects on vector- borne disease. *Parasitology*. 106: S55-75.

World Health Organization. 2010. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March.

Young D.G. & Duncan M.A. 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memories of the American Entomologic Institute*. 54: pp. 881.

**COPIA DE PUBLICACIONES
DERIVADAS DE LA TESIS**

Incipient colonisation of *Lutzomyia longipalpis* in the city of Resistencia, province of Chaco, Argentina (2010-2012)

Enrique Alejandro Szelag^{1,2,3*}, Matías Ariel Parras², Mariela Fabiani²,
Juan Ramón Rosa², Oscar Daniel Salomón¹

¹Instituto Nacional de Medicina Tropical, Puerto Iguazú, Misiones, Argentina

²Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste, Chaco, Argentina

³Unidad de Epidemiología, Hospital Dr Julio C Ferrando, Ministerio de Salud Pública de la Provincia del Chaco, Chaco, Argentina

Lutzomyia longipalpis was recorded for the first time in Argentina in 2004, in the province of Formosa. In the following years, the vector spread to the south and west in the country and was recorded in the province of Chaco in 2010. From November 2010-May 2012, captures of Phlebotominae were made in the city of Resistencia and its surroundings, to monitor the spread and possible colonisation of *Lu. longipalpis* in the province of Chaco. In this monitoring, *Lu. longipalpis* was absent in urban sampling sites and its presence was restricted to Barrio de los Pescadores. This suggests that the incipient colonisation observed in 2010 was not followed by continuous installation of vector populations and expansion of their spatial distribution as in other urban centres of Argentina.

Key words: visceral leishmaniasis - sandflies - Phlebotominae

In Argentina, *Lutzomyia longipalpis*, the vector of *Leishmania infantum* (syn. *Leishmania chagasi*), was recorded for the first time in 1951 and again in 2001 in the rural areas of the province of Misiones (Salomón et al. 2001). Despite regular and intensive captures of Phlebotominae at various places in the country since 1998, it was not until 2004 that *Lu. longipalpis* was recorded in the city of Clorinda (province of Formosa). It was found in peridomestic environments in urban areas, represented by populations focally abundant and persistent in time. Simultaneously, an ongoing outbreak of urban visceral leishmaniasis (VL) was occurring on the opposite bank of the Pilcomayo River, in the city of Asunción (Paraguay) (Salomón & Orellano 2005). In the following years, the vector spread to the centre, south and west of the country and was recorded in the provinces of Misiones (2006), Corrientes (2008-2009), Chaco, Entre Ríos (2010) and Salta (2013) (Salomón et al. 2008c, 2009, 2011a, b, Bravo 2013).

Until 2006 in Argentina, only a few isolated cases of VL had been recorded and these were in the 1980s and restricted to rural scenarios of the Chaco region (Salomón et al. 2001). In 2006, the first human case of autochthonous urban VL due to *L. infantum* was recorded in Posadas, Misiones, in conjunction with the presence of infected dogs and a wide distribution of the vector in the urban area (Salomón et al. 2008c). Simultaneously, a human VL focus in the city of La Banda, province of Santiago del Estero, suggested that the existence of sporadic transmis-

sion of *L. infantum* associated with the putative vector *Migonomys migonoi*, in the Chaco bioregion (Salomón et al. 2010). In 2009, there was active transmission of VL in accordance with the continuous presence of *Lu. longipalpis*, dogs infected with *L. infantum* and one autochthonous human case in the city of Corrientes (Gould et al. 2013).

The aim of this work was to contribute to the development of an entomological surveillance strategy in the city of Resistencia to monitor the spread and possible colonisation of *Lu. longipalpis* in an area receptive to VL transmission. The choice of Resistencia and its surroundings on the west bank of the Paraná River was based both on *Lu. longipalpis* records in the city from 2010s (Salomón et al. 2011b) and on its proximity to Corrientes, located on the eastern, opposite shore of the river.

Resistencia (27°27'S 58°59'W), located in the Chaco bioregion (Burkart et al. 1999), is characterised by a warm climate with no dry season and a rainfall of approximately 1,300 mm per year. It is located in the department of San Fernando, which hosts 390,874 inhabitants, concentrated in Resistencia, Barranqueras, Fontana and Puerto Vilelas. Its proximity to Corrientes forms one of the largest urban centres of northeastern Argentina (B in Figure), totalling nearly 750,000 inhabitants distributed throughout more than 220,000 homes (INDEC 2010).

For this urban entomological surveillance of the VL vector, sampling was based on a stratified systematic sampling method. The city was initially separated into four main strata: north, south, east and west, divided by its main avenues (A in Figure).

From November 2010-May 2012, each main stratum was sampled once every season, except in winter (because, according to previous experience in the region, capture in this season is low to null) (Salomón et al. 2008b, Rosa et al. 2010). Due to logistical constraints, only two strata per season were sampled (north and east in one season and south and west the next season, until every stratum was sampled in all seasons).

doi: 10.1590/0074-0276130054

Financial support: Fundación Alberto J Roemmers

* Corresponding author: szelag_enrique@yahoo.com.ar

Received 12 February 2014

Accepted 8 April 2014

online | memoria.ioc.fiocruz.br