

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES  
ESCUELA DE BIOLOGÍA

Tesina para la obtención del título de grado en Ciencias Biológicas.

## **Diversidad y variación espacio-temporal de flebotomos (Diptera, Psychodidae) en la Planta Bajo Grande y peridomicilios aledaños, al Este de la ciudad de Córdoba.**

---



**Tesinista: Iliana Mayra Ontivero. Firma: .....**

**Director: Dr. Walter Ricardo Almirón. Firma:.....**

**Co-director: Mgtr. Med. Juan Ramón Rosa. Firma: .....**

**Cátedra de Introducción a la Biología, Centro de investigaciones Entomológicas de Córdoba (CIEC), Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIByT-CONICET-UNC). Universidad Nacional del Nordeste.**

**Diversidad y variación espacio-temporal de flebótomos (Diptera,  
Psychodidae) en la Planta Bajo Grande y peridomicilios aledaños, al  
Este de la ciudad de Córdoba.**

**Tribunal Examinador**

**Dra. Adriana Salvo**

**Firma: .....**

**Dr. Francisco Ludueña-Almeida Firma: .....**

**Dra. Liliana Croco**

**Firma: .....**

**Calificación: .....**

**Fecha: .....**

# **Diversidad y variación espacio-temporal de flebótomos (Diptera, Psychodidae) en la Planta Bajo Grande y peridomicilios aledaños, al Este de la ciudad de Córdoba.**

**Palabras Claves:** Phlebotominae, Diversidad, distribución espacial, Variación temporal, Variables Meteorológicas, caracterización del ambiente.

## **RESUMEN**

Los flebótomos son importantes vectores por ejemplo de virus (*Phlebovirus*), bacterias (*Bartonella*) y parásitos (*Leishmania*). En Argentina se citan 40 especies de flebótomos distribuidas en 14 provincias y los casos de Leishmaniasis se extienden desde el norte hasta la localidad de Unquillo, Córdoba, pero los vectores se registraron incluso más al sur. En la periferia de la ciudad de Córdoba se encontraron ejemplares de *Migonemyia migonei* y *Evandromyia cortelezzi-sallei*. El objetivo de este trabajo fue determinar la diversidad y la distribución espacial y temporal de Phlebotominae en la zona de Bajo Grande, Córdoba, así como factores que influyen en su presencia. Para ello se colocaron trampas CDC desde noviembre de 2015 hasta junio de 2016, en 8 sitios, 4 ubicados en el predio de la planta “Bajo Grande” y 4 en peridomicilios aledaños. Se registraron las especies de flebótomos presentes y su distribución mensual por sitios y por ambientes (silvestre/peridomicilio). Se estimaron el Índice de Abundancia Especifica e Índice de Constancia. Se realizaron Pruebas de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples. Además, se correlacionaron variables meteorológicas con la abundancia de flebótomos y se generaron modelos de regresión lineal múltiple. Se analizó la semejanza entre sitios según los animales domésticos presentes y las especies de flebótomos capturadas mediante Producto Punto de vectores y análisis de conglomerados.

Se recolectaron en total 97 ejemplares de flebótomos, pertenecientes a las especies, en orden de abundancia, de *Ev. cortelezzi-sallei* y *Mg. migonei*. La mayor abundancia se registró en el mes de abril, y en una de las viviendas, y por ambientes fue mayor en el peridomicilio. *Evandromyia cortelezzi-sallei* fue más abundante durante el verano, mientras que *Mg. migonei* lo fue en otoño. Durante las capturas, *Ev. cortelezzi-sallei* fue una especie constante y *Mg. migonei* una especie esporádica. La correlación con variables meteorológicas para ambas especies fue más potente con la precipitación acumulada entre 15-21 días previos a la fecha del muestreo. El modelo de regresión

lineal múltiple indicó que la abundancia de *Ev. cortelezzi-sallei* en la periferia de la ciudad de Córdoba se puede predecir a partir de la temperatura media, la humedad relativa y la precipitación. Se obtuvieron dos grupos de sitios según la composición de animales domésticos y las especies de flebótomos presentes. Estos resultados indican que en la zona de Bajo Grande, hay al menos dos especies de flebótomos ya establecidas. Estas especies fueron más abundantes durante los meses cálidos y habría estado influenciada por varios factores, como las variables meteorológicas y la presencia de fuentes de alimento. Finalmente, se puede decir, que la periferia este de la ciudad de Córdoba, debido a la presencia de flebótomos y hospedadores vertebrados susceptibles, se encuentra en una situación de riesgo de transmisión de Leishmaniasis si *Leishmania* spp. ingresara a la zona.

## INTRODUCCIÓN

Los flebótomos, conocidos con diferentes nombres comunes según su ubicación geográfica, son dípteros de la familia Psychodidae (Phlebotominae), de amplia distribución mundial, aunque con mayor diversidad en el cinturón tropical y subtropical. Son insectos pequeños, de 2 a 4 mm, holometábolos, con un ciclo de vida de entre 40 y 45 días en condiciones ideales, controladas de temperatura y humedad. Se desarrollan en suelos ricos en materia orgánica en descomposición que sirve de alimento a las larvas (Forattini, 1973). La hembra hematófaga puede transmitir, durante la picadura, virus (*Phlebovirus*), bacterias (*Bartonella*) y parásitos (*Leishmania*), agentes etiológicos respectivos de la fiebre Papatasi, Bartonelosis y Leishmaniasis, todas de importancia sanitaria (Rangel & Lainson, 2003).

A nivel mundial se han descrito más de 800 especies de flebótomos de las cuales 93 se consideran vectores comprobados o probables de *Leishmania* spp. (WHO, 2010). En América se distribuyen desde Canadá a la Patagonia Argentina (Muzón *et al.*, 2002). En Argentina se citan 40 especies de flebótomos distribuidas en 14 provincias (Misiones, Corrientes, El Chaco, Formosa, Entre Ríos, Santa Fe, Santiago del Estero, Tucumán, Salta, Jujuy, Catamarca, Córdoba, Buenos Aires y Río Negro) (Casertano *et al.*, 2015; Szelag *et al.*, 2016). Algunas de estas especies de flebótomos fueron consideradas como probables vectores de Leishmaniasis independientemente de su expresión clínica, tegumentaria (LT) o visceral (LV), por asociación o por abundancia en áreas de transmisión activa. Esto fue observado en el caso de *Migonemyia migonei*, vector putativo de LV en la región chaqueña (Salomón *et al.*, 2010) y paranaense (Moya *et al.*, 2015); otras fueron halladas naturalmente infectadas (Salomón *et al.*, 2008b), como *Nyssomyia neivai* con *Le. braziliensis*, en Tucumán (Córdoba Lanús *et al.*, 2006), *Ny. whitmani* con *Le. braziliensis* y *Lutzomyia longipalpis* con *Le. infantum*, en Misiones (Fernández *et al.*, 2010) y hembras del complejo *cortezzi* con *Le. braziliensis* en El Chaco (Rosa *et al.*, 2012). En todos los casos, son necesarios estudios de competencia vectorial para confirmar su rol en el ciclo de transmisión de la Leishmaniasis.

La Leishmaniasis está ampliamente distribuida en América y los casos humanos de LT se notificaron desde los 35°N (Estados Unidos) (Aronson *et al.*, 2016), hasta los 29°S en Reconquista, Santa Fe, Argentina, concomitante con casos humanos de LV. En Argentina es de denuncia obligatoria de acuerdo al Programa Nacional de

Leishmaniasis (Ley Nacional N°15465, Decreto Nacional N°3640 de 1964). Este límite sur se desplazó hasta los 31°14'S en Córdoba (localidad de Unquillo), a partir de la notificación del primer caso humano autóctono de LT en diciembre de 2014 (SIVILA, 2015). La distribución de flebotomos coincide con la distribución de casos humanos de Leishmaniasis, pero los registros de vectores competentes se extienden más al sur y corresponden a los de las localidades de Urquiza (Entre Ríos) (31°S), Cayastá (Santa Fe) (31°S), Alijilán (Catamarca) (28°S), Icho Cruz (31°S) y Altos de Chipión (30°) (Córdoba) (Salomón *et al.*, 2008 a,b). En 2014, se incorporan a estos registros los ejemplares encontrados durante estudios de vigilancia de arbovirus en la Planta Depuradora de líquidos cloacales “Bajo Grande”, ubicada en sector este de la ciudad de Córdoba, ampliando la distribución más austral de los vectores competentes *Mg. migonei* y *Evandromyia cortelezzi-sallei* (Visintin *et al.*, 2016). Los registros actuales de potenciales vectores de Leishmaniasis en la Planta Bajo Grande, incrementan la necesidad de realizar estudios de distribución y abundancia de flebotomos en la zona, incluyendo domicilios, en un contexto eco-epidemiológico.

Las condiciones ambientales y climáticas influyen en la dinámica poblacional de los flebotomos, lo que repercute en la cadena epidemiológica de la Leishmaniasis. En áreas tropicales húmedas, la densidad poblacional de la mayoría de las especies de flebotomos se incrementa durante o poco después de la temporada de lluvias. De la misma manera, hay un decrecimiento marcado de la abundancia de adultos durante períodos de sequía prolongados. En las regiones templadas, a temperaturas por debajo de 12°C, huevos y larvas de cuarto estadio entran en diapausa (Forattini, 1973) y la actividad de los adultos prácticamente cesa (Izri *et al.*, 2006). En la provincia de Salta (Bosque húmedo subtropical), *Ny. neivai* fue más abundante desde la primavera al otoño, con capturas discontinuas (bi o trimodal) como resultado de los picos de lluvia y las altas temperaturas, y prácticamente inactivo durante el invierno (estación seca y de bajas temperaturas), ya que hubo pocas o ninguna captura (Salomón *et al.*, 2004). Este comportamiento también podría observarse en la periferia de la ciudad de Córdoba con clima templado, en la zona de Bajo Grande, donde se registrarían flebotomos durante los meses cálidos, cuando las condiciones meteorológicas previas hayan sido óptimas para el desarrollo de los estados inmaduros.

Los flebótomos son muy sensibles a los cambios bruscos de temperatura y son especialmente sensibles a los cambios bruscos de humedad (Rangel & Lainson, 2003). Las temperaturas a las que se mantienen activos los flebótomos, y las hembras pueden picar, están comprendidas entre los 15-28°C, por esta razón centran su actividad en los periodos nocturnos cuando la temperatura baja y la humedad ambiente aumenta (Lucientes *et al.*, 2005). Durante el día buscan refugio en troncos de árboles, madrigueras de animales y grietas. Estos microhábitats, con poca luminosidad y escaso movimiento de aire, son utilizados por los adultos como sitios de reposo y ovipostura, ya que los protegen de los cambios ambientales bruscos y contienen materia orgánica para el desarrollo de las larvas. La preferencia por estos sitios varía con la especie, latitud, altitud y época del año, existiendo especies silvestres, semidomésticas y domésticas (Barretto, 1943). De las especies presentes en nuestro país, se encuentran en todos los ambientes *Ny. neivai*, *Mg. migonei*, *Psathyromyia bigeniculata*, *Ny. whitmani* y *Pintomyia fischeri*, siendo la primera la que tiene mayor capacidad de adaptación antrópica, y junto a *Mg. migonei* pueden estar presentes en vegetación residual y aún en peridomicilios con vegetación prácticamente nula (Fernández, 2012).

La cría de animales domésticos aumenta la probabilidad de encontrar flebótomos en el domicilio y peridomicilio. En Salta, la captura de *Ny. neivai* en el peridomicilio fue igual a la captura en el extradomicilio (ambiente silvestre), cuando recintos de cabras, cerdos o pollos se encontraban al lado de la vivienda (Salomón *et al.*, 2004). Por esta razón, es de esperar que en la zona de Bajo Grande, se encuentre mayor abundancia y riqueza de flebótomos en el peridomicilio de viviendas habitadas, que cuenten con gran número y variedad de animales domésticos, en comparación con sitios silvestres.

En general, los sitios con una gran abundancia de flebótomos se corresponden con muchos casos humanos y caninos de Leishmaniasis (Margonari *et al.*, 2006). Estos sitios de alta prevalencia suelen estar rodeados de zonas con un número muy inferior de casos (Ashford, 2000), debido a la escasa capacidad de dispersión de los vectores, los cuales se desplazan en vuelos cortos de 4 a 8 m, y recorren una distancia máxima por día de 200 a 300 m (Cáceres, 1995). Por esta razón, su distribución y abundancia son consideradas como indicadores en espacio y tiempo de la probabilidad de transmisión del parásito (Peterson, 2006; Salomón *et al.*, 2008 b, 2011).

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la diversidad y la distribución espacial y temporal de flebótomos en la zona de Bajo Grande, en el Este de la ciudad de Córdoba, zona con antecedentes recientes de presencia de flebótomos.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la composición específica de flebótomos en la zona de Bajo Grande (Planta Bajo Grande y domicilios aledaños).
- Analizar la distribución espacial de riqueza y abundancia de especies, según sean semidomésticas (peridomicilio) o silvestres (predio de la Planta Bajo Grande).
- Describir la dinámica temporal de flebótomos en la zona de estudio y su relación con variables meteorológicas (temperatura, humedad relativa y precipitación acumulada).
- Caracterizar los sitios de muestreo según la presencia y número de animales domésticos como probables fuentes de alimentación más próximas, y en función de la riqueza y abundancia de flebótomos.

## **METODOLOGÍA**

### **Área de estudio**

El estudio se llevó a cabo en la zona de Bajo Grande, en la periferia este de la ciudad de Córdoba, a 8 Km del casco céntrico. Se accede por el camino Bajada de Piedra-Chacra de la Merced. La zona se caracteriza por presentar un paisaje suburbano de pocas casas aisladas, sitios de extracción de áridos y tierras dedicadas al cultivo de hortalizas y frutales. En el lugar se emplaza la planta de tratamientos de líquidos cloacales, “Bajo Grande”, de la Municipalidad de Córdoba, cuyo predio consta de piletas contenedoras, un sector donde se seca el material decantado, diversas instalaciones de concreto y lagunas cubiertas por vegetación acuática como *Azolla* spp. En el mismo, se visualizan áreas dominadas por árboles de paraíso (*Melia azedarach*) y mora (*Morus alba*), mientras que en los sectores este y sur predominan las gramíneas. Entre los componentes de la fauna del lugar se destacan cuises (*Microcavia australis*), palomas (*Zenaida auriculata*), teros (*Vanellus chilensis*), comadrejas (*Didelphis albiventris*) y liebres (*Lepus europaeus*) (Gorgas & Tassile, 2002).

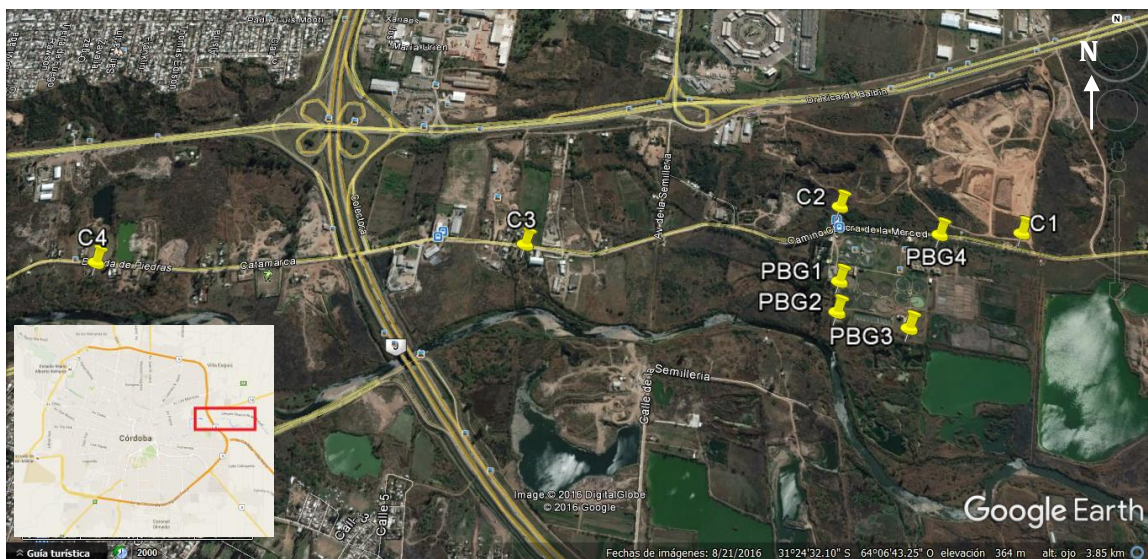
La zona de estudio se encuentra en una región con clima templado, con precipitaciones pluviales entre los 500 y 800 mm anuales. Los meses con mayores



precipitaciones corresponden a diciembre, enero y febrero. El período más cálido se registra entre noviembre y marzo. La temperatura media es de 17,7°C, siendo los promedios de temperatura máxima y mínima en verano de 31°C y 17°C respectivamente, en tanto que en invierno son de 19°C y 4°C respectivamente (Periodo 1961-1990, Servicio Meteorológico Nacional).

### **Captura de flebótomos adultos**

Los muestreos se realizaron en 8 sitios, 4 de ellos ubicados dentro de la Planta de tratamientos de líquidos cloacales de Bajo Grande, PBG1 (31°24'16,19"S; 64°6'23,52"O), PBG2 (31°24'20,38"S; 64°6'24,31"O) y PBG3 (31°24'21,68"S; 64°6'14,28"O), entre manchones de vegetación existentes, y PBG4 (31°24'9,72"S; 64°6'7,79"O) en el peridomicilio de una vivienda dentro del predio. Los otros 4 sitios, correspondieron al peridomicilio de viviendas habitadas sobre el camino Bajada de Piedra-Chacra de la Merced, C1 (31°24'9,44"S; 64°5'55,49"O), C2 (31°24'5,75"S; 64°6'22,15"O), C3 (31°24'11,07"S; 64°7'9,35"O) y C4 (31°24'13,63"S; 64°8'12,09"O) (Fig. 1).



**Fig. 1:** Área de estudio. Sitios de muestreo 2015-2016: PBG1, PBG2, PBG3, y PBG4 dentro del predio de la Planta de Tratamiento de líquidos cloacales Bajo Grande; C1, C2, C3 y C4 en el peridomicilio de viviendas habitadas, sobre el camino Bajada de Piedra-Chacra de la Merced, ciudad de Córdoba.

Todos los sitios reúnen las condiciones de un escenario epidemiológico donde la captura de flebótomos es probable. Dichos escenarios se caracterizan por la presencia de sombra, tierra húmeda, detritos orgánicos, proximidad a parches de vegetación densa y

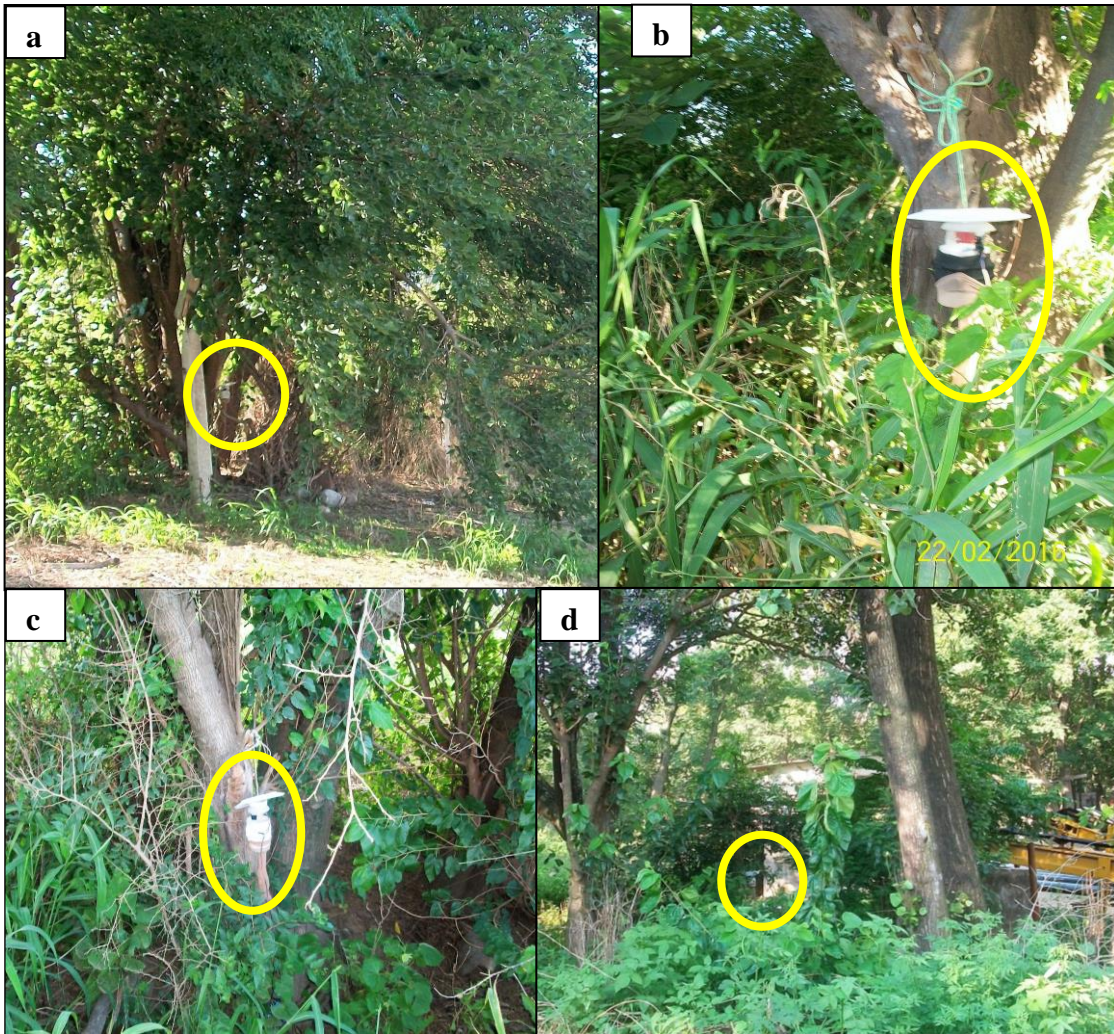
accesibilidad a fuentes de ingesta sanguínea (animales de corral, caniles, etc.) sin interferencia de luces externas (Correa Antonialli *et al.*, 2007) (Fig. 2; 3).



**Fig. 2:** Sitios de colecta de flebótomos desde noviembre 2015 hasta abril de 2016 en peridomicilios de viviendas de la zona de Bajo Grande, Córdoba. a) C1; b) C2; c) C3; d) C4. Marca amarilla: posición de la trampa CDC.

Las capturas se realizaron dos veces por mes, procurando hacerlo los días con las mejores condiciones meteorológicas dentro de la quincena, entre noviembre de 2015 y junio de 2016, abarcando las estaciones de primavera, verano y otoño. En cada sitio de muestreo se instaló una trampa de luz tipo CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (Sudia & Chamberlain, 1962) a 1,5m del nivel del suelo, la que permaneció activa desde las 18 hs. hasta 8 hs. del día siguiente. En cada sitio se utilizó la misma trampa y bolsa colectora, para evitar contaminación de las muestras. Los sitios de muestreo se agruparon en aquellos con acción antrópica y silvestres, según la presencia de animales domésticos. Entre los primeros se incluyeron C1-C4 y PBG4, donde se registró el número y tipo de animales domésticos, y entre los segundos a PBG1-PBG3.





**Fig. 3:** Sitios de colecta de flebótomos desde noviembre 2015 hasta abril de 2016 en el predio de la planta Bajo Grande, Córdoba. a) PBG1; b) PBG2; c) PBG3; d) PBG4. Marca amarilla: posición de la trampa CDC.

### **Procesamiento de los adultos recolectados**

Los insectos capturados fueron transportados al laboratorio en las bolsas de las respectivas trampas, las cuales estaban identificadas según el sitio de muestreo, y se sacrificaron por frío en freezer (-20 °C). Una vez muertos, los insectos se colocaron en cápsulas de Petri para su observación bajo microscopio-estereoscópico y separación de flebótomos adultos, los cuales se conservaron en alcohol 70° durante 72 hs como mínimo, antes de iniciar el proceso de clarificación y montaje.

Clarificación: Se utilizó la técnica propuesta por Forattini (1973) modificada, sometiendo a los insectos a los siguientes pasos:

- 1°) Hidróxido de Potasio al 10%, 3 hs.
- 2°) Ácido acético glacial al 10%, 20 min.

3°) Lavados con agua destilada, 3 repeticiones de 15 minutos.

4°) Las hembras fueron separadas y dispuestas en Lacto-Fenol para su conservación hasta el montaje.

5°) A los machos se los sometió a deshidratación en diferentes series de graduaciones alcohólicas: 60%, 70%, 80%, 90% y absoluto, por tiempo variable de 15 a 20 minutos.

6°) Los machos posteriormente fueron conservados en Eugenol hasta al montaje definitivo.

Montaje: se realizó el montaje en portaobjetos para su observación al microscopio. Las hembras fueron montadas en líquido de Berlesse, separando cabeza, tórax y abdomen, y se dispusieron de forma vertical al eje mayor del portaobjetos. Los machos se montaron en bálsamo de Canadá, dispuestos de manera horizontal, separando solo la cabeza del resto del cuerpo.

Para identificarlos se utilizó la clave propuesta por Galati y Lainson (2003).

### **Variables Meteorológicas**

Los datos meteorológicos se obtuvieron desde la estación Meteorológica de Barrio Empalme ID: ICRDOBAC26 (31°26'26''S; 64°07'36''O), por ser la más próxima a la zona de estudio. La estación cuenta con registros históricos de precipitación, humedad y temperatura.

### **Análisis de datos**

Se registró el número de individuos de cada sexo de las especies presentes en cada fecha y sitio de muestreo. Con el objetivo de comparar la abundancia de las distintas especies colectadas, se estimó el Índice de Abundancia de Especies (Roberts & Hsi, 1979):

$$IAE = \frac{a + R_j}{K}$$

$a$ : Número de celdas vacías (ceros) para cada especie multiplicado por un valor C.

C: Mayor rango asignado considerando todos los sitios + 1.

$R_j$ : Suma de todos los rangos para cada especie en todos los sitios.

K: Número total de sitios de muestreo.

Para ello, los datos se ordenaron en una tabla de doble entrada, asentando en las filas a las especies y en las columnas los sitios de muestreo y ambientes. Se estableció el

rango para cada especie, en cada sitio de muestreo, asignando el número 1 a la especie con más individuos colectados. De modo que los índices varíen entre 0 y 1, correspondiendo el valor 1 a la especie más abundante, se estimó el *IAE* estandarizado:

$$IAE^* = \frac{C - IAE}{C - 1}$$

Este índice considera la frecuencia de la especie en relación a las otras especies y también el número de sitios o ambientes investigados.

Se generaron gráficos de dispersión con las abundancias absolutas de las especies y por sexos, en cada mes y estación climática, primero en cada sitio de muestreo, y luego diferenciando entre ambiente peridomiciliario y silvestre. La existencia de diferencias significativas entre las abundancias de flebótomos colectados en los distintos meses, estaciones climáticas y lugares de muestreo se detectó mediante la prueba de Kruskal Wallis y de comparaciones múltiples. En los análisis, se utilizaron solo los meses con presencia de flebótomos.

Para determinar el porcentaje del total de muestreos en que las especies estuvieron presentes y estimar cuan constante es una especie en un determinado sitio y ambiente, se obtuvo el índice de constancia de especies (Dajoz, 1973):

$$c = \frac{p * 100}{P}$$

*p*: Número de muestreos en las que la especie estuvo presente.

*P*: Número total de muestreos realizados.

A través de este índice, las especies se separaron en tres categorías: 1) Constantes o permanentes (cuando estuvieron presentes en más del 50% de los muestreos); 2) Esporádicas (presentes entre 25-50% de los muestreos); 3) Raras (presentes en menos del 25% de los muestreos).

Con el objetivo de verificar cuáles son las variables ambientales que tendrían mayor incidencia en la variación poblacional de flebótomos en la zona de estudio, se correlacionaron las abundancias absolutas con las variables meteorológicas: temperatura media, humedad relativa y precipitaciones acumuladas. Teniendo en cuenta el tiempo de desarrollo de los flebótomos, se consideraron tiempos de retardo desde una semana hasta dos meses, tomando periodos por semana (1 a 8 semanas previas a la fecha del muestreo) y por quincena (15, 30, 45 y 60 días previos a la fecha del muestreo). Se analizó la correlación entre cada variable meteorológica, considerada como predictora, y la abundancia poblacional, como variable respuesta. Además, se realizaron regresiones

lineales múltiples, con la finalidad de predecir las variaciones de la abundancia de flebótomos explicadas por las variables meteorológicas. Los modelos se elaboraron para la especie y sexo más abundante. La selección del subconjunto de variables regresoras, se obtuvo mediante el método “paso a paso” (Stepwise). El mejor modelo se seleccionó utilizando los criterios de información Akaike (AIC) y Bayesiano (BIC).

La semejanza entre sitios se analizó considerando a cada sitio como un vector geométrico cuyas componentes son las frecuencias registradas de cada especie de animal doméstico como probables fuentes de alimento y según la riqueza y abundancia de especies de flebótomos recolectados en cada sitio. Al comparar dos sitios (vectores), si el ángulo que forman sus vectores representantes es cercano a  $0^\circ$  se considera que los mismos son similares, en cambio si el ángulo entre ellos es cercano a  $90^\circ$  debe interpretarse que los ambientes son muy diferentes. Un paso algebraico previo a determinar el ángulo entre los vectores consiste en determinar el coseno de dicho ángulo, el que varía entre  $-1$  y  $1$ . Se demuestra que el coseno de dicho ángulo es el coeficiente de correlación de Pearson cuando se consideran a las variables como vectores (o puntos) en el espacio de las observaciones (Johnson & Wichern, 1998). Por lo tanto, el coseno del ángulo determinado entre dos sitios (considerados como vectores) constituye una medida de la semejanza entre ellos. Para graficar la multidimensionalidad del espacio definido por los tipos de animales domésticos considerados como variables, se realizó un análisis de conglomerados, utilizando el coeficiente de correlación de Pearson y método de encadenamiento promedio. Para graficar la semejanza según la riqueza y abundancia de flebótomos, al ser sólo dos variables (especies), se obtuvo el gráfico de vectores normalizados.

Los análisis antes descriptos se realizaron utilizando los programas informáticos: PAST (Hammer *et al.*, 2001) e INFOSTAT® (Di Rienzo *et al.*, 2016).

## RESULTADOS

Se recolectaron en total 97 ejemplares de flebótomos adultos, de los cuales 18 corresponden a la especie *Migonemyia migonei* (9 hembras y 9 machos), 65 hembras corresponden al complejo *Evandromyia cortelezzi-sallesi*, ya que las hembras de estas especies no se pueden diferenciar morfológicamente y 14 machos de *Evandromyia cortelezzi* (**Tabla 1**).

La especie *Ev. cortelezzi-sallei* se capturó desde noviembre de 2015 hasta abril de 2016, mientras que *Mg. migonei* solo se registró durante los meses de enero, marzo y abril (**Tabla 1**).

**Tabla 1:** Flebótomos capturados desde Noviembre de 2015 hasta Junio de 2016 en la zona de Bajo Grande, Córdoba. Especies y su abundancia por sexos. M: machos; H: hembras.

Especies	Meses	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Total
	Sexo									
<i>Ev. cortelezzi-sallei</i>	M	0	3	3	5	0	3	0	0	14
	H	1	5	3	15	13	28	0	0	65
<i>Mg. migonei</i>	M	0	0	3	0	2	4	0	0	9
	H	0	0	0	0	3	6	0	0	9
<b>Total</b>		1	8	9	20	18	41	0	0	<b>97</b>

*Evandromyia cortelezzi-sallei* se encontró en todos los sitios de muestreo, siendo siempre la especie más abundante ( $IAE^*=1$ ), mientras que *Mg. migonei* solo estuvo presente en cuatro sitios poco abundantes ( $IAE^*=0,25$ ) (**Tabla 2**). Al analizar el índice de abundancia específica según ambientes, la especie *Ev. cortelezzi-sallei* predominó en ambos ambientes ( $IAE^*=1$ ), y *Mg. migonei* tuvo un índice mayor en el peridomicilio ( $IAE^*=0,3$ ) que en el ambiente silvestre ( $IAE^*=0,17$ ).

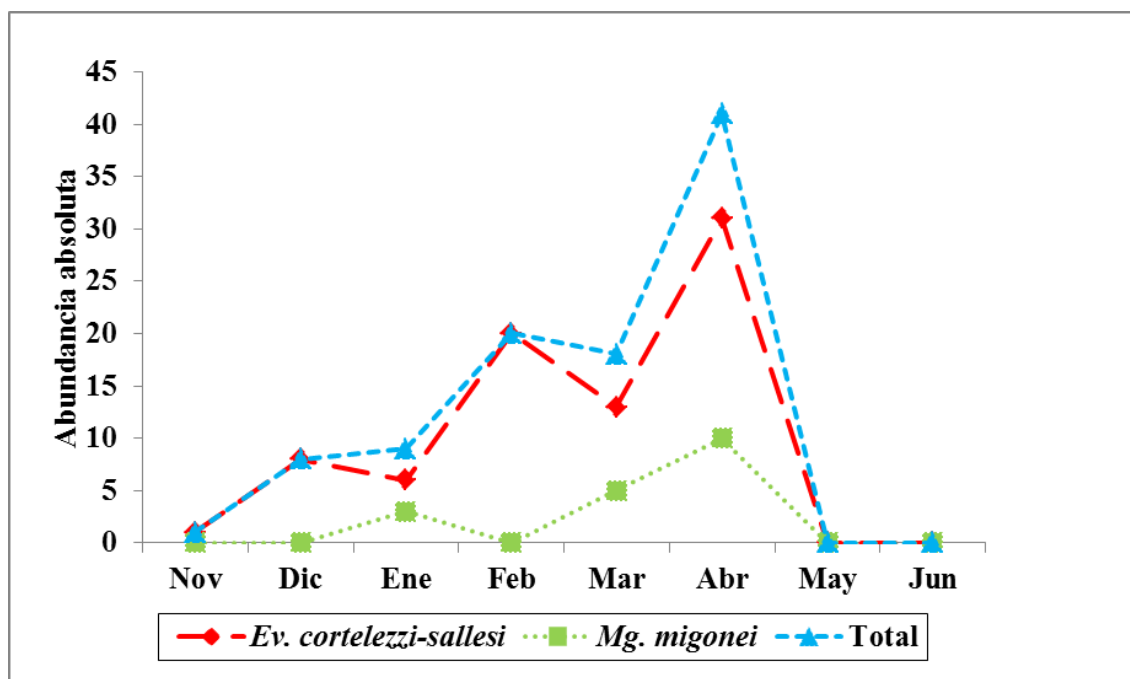
**Tabla 2:** Distribución de las especies de Flebótomos por ambientes y sitios de muestreo en la zona de Bajo Grande, Córdoba. IAE: índice de abundancia específica;  $IAE^*$ : índice de abundancia específica estandarizado.

Ambiente	Silvestre					Peridomicilio							Total	
Sitios Especies	PBG1	PBG2	PBG3	IAE	IAE*	PBG4	C1	C2	C3	C4	IAE	IAE*	IAE	IAE*
<i>Ev. cortelezzi-sallei</i>	5	11	8	1	1	5	1	37	1	11	1	1	1	1
<i>Mg. migonei</i>	0	1	0	2,667	0,17	2	0	13	0	2	2,4	0,3	2,5	0,25

La abundancia total mensual (considerando la suma de ambas especies) fue mayor en abril de 2016 (n=41) (**Tabla 1**), pero no hubo diferencias significativas en la abundancia entre meses ( $H=3,14$ ;  $gl=4$ ;  $p=0,33$ ). Al analizar las abundancias de cada especie por separado se observó que *Ev. cortelezzi-sallei* fue la especie más abundante en todos los meses muestreados (**Fig. 4**) y sigue el mismo patrón que la abundancia total, siendo más abundante durante abril (n=31), seguido por febrero (n=20), mes en el cual fue la única especie que se registró. La diferencia de abundancia entre meses para la especie no fue significativa ( $H=3,61$ ;  $gl=4$ ;  $p=0,211$ ). *Migonemyia migonei* se



encontró en mayor abundancia en el mes de abril (n=10) (**Fig. 4**), pero la diferencia de la abundancia entre meses no resultó significativa (H=1,32; gl=4; p=0,238).



**Fig. 4:** Abundancia absoluta total de las especies de flebotomos recolectadas en la zona de Bajo Grande, Córdoba, desde noviembre de 2015 hasta junio de 2016. Se diferencia la abundancia para cada especie.

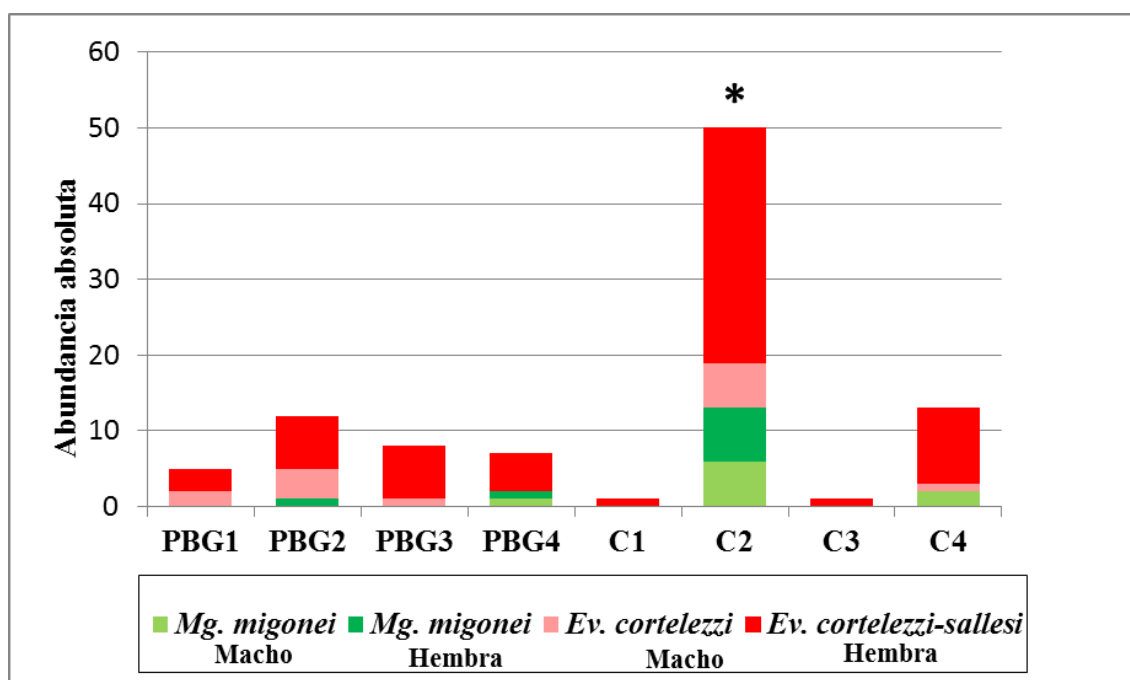
La abundancia mensual de las especies discriminada por sexos, varió según la especie (**Tabla 1**). Las hembras del complejo *Ev. cortelezzi-sallesii* estuvieron presentes desde noviembre hasta abril, siendo más abundantes durante el mes de abril (n=28), aunque la diferencia entre la abundancia por meses no fue significativa (H=5,02; gl=4; p=0,068). Por su parte, los machos de *Ev. cortelezzi* se recolectaron en los meses de diciembre, enero, febrero y abril, siendo más abundantes durante febrero (n=5), pero las diferencias de abundancia halladas, tampoco resultaron estadísticamente significativas (H=1,75; gl=4; p=0,257). En el caso de *Mg. migonei*, los machos se capturaron durante los muestreos de enero, marzo y abril, siendo más abundantes en este último (n=4), pero esta diferencia de abundancias entre meses no fue significativa (H=0,72; gl=4; p=0,39). Las hembras de *Mg. migonei* se registraron durante marzo (n=3) y abril (n=6), pero esta diferencia en su abundancia no fue estadísticamente significativa (H=0,89; gl=4; p=0,18).

La abundancia absoluta del total de flebotomos colectados por sitios de muestreo fue significativamente mayor en el sitio C2 (n=50) (H=11,92; gl=7; p=0,015) (**Fig. 5**). La



abundancia de cada especie por sitios, indicó que *Ev. cortelezzi-sallei* también fue significativamente más abundantes en el sitio C2 ( $H=10,03$ ;  $gl=7$ ;  $p=0,023$ ). En el caso de *Mg. migonei*, en el sitio C2 fue donde se registró mayor número de ejemplares ( $n=13$ ), pero la diferencia en relación a los demás sitios de muestreo no fue significativa ( $H=2,69$ ;  $gl= 7$ ;  $p=0,12$ ) (Tabla 2).

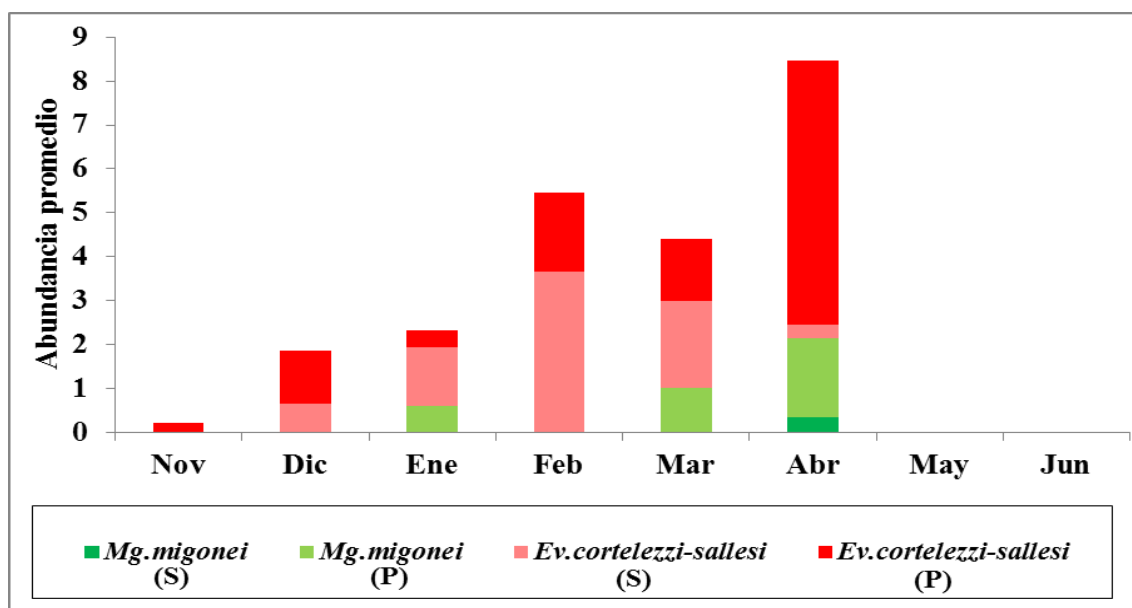
Las hembras de *Ev. cortelezzi-sallei* estuvieron presentes en todos los sitios de muestreo, siendo significativamente más abundantes en el sitio C2 ( $H=9,32$ ;  $gl=7$ ;  $p= 0,023$ ). Los machos, en tanto, se encontraron en 5 sitios de muestreo (PBG1=2, PBG2=4, PBG3=1, C2=6, C4=1), pero la diferencia entre sitios no fue significativa ( $H=4,60$ ;  $gl=7$ ;  $p=0,052$ ). En el caso de *Mg. migonei*, ambos sexos se capturaron en tres sitios de muestreo cada uno. Las hembras se capturaron en los sitios C2, PBG4, y PBG2 ( $n=7$ ,  $n=1$ ,  $n=1$ , respectivamente), pero no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los sitios ( $H=1,22$ ;  $gl=7$ ;  $p=0,288$ ). Los machos se registraron en C2, PBG4, y C4 ( $n=6$ ,  $n=1$ ,  $n=2$ , respectivamente), pero la diferencia de abundancias entre sitio tampoco fue significativa ( $H=2,33$ ;  $gl=7$ ;  $p=0,066$ ) (Fig. 5).



**Fig. 5:** Abundancia absoluta total de las especies de flebótomos recolectadas en la zona de Bajo Grande, Córdoba, por sitios de muestreo desde noviembre de 2015 hasta junio de 2016. Se diferencia para cada especie la abundancia por sexo.\* Difiere significativamente la abundancia total y la abundancia de *Ev. cortelezzi-sallei*.

La abundancia promedio del total de flebotomos fue mayor en el ambiente peridomiciliario con 14,4 ejemplares. Mientras que en el ambiente silvestre fue de 8,33 ejemplares. Esta diferencia no resultó estadísticamente significativa ( $H=0,05$ ;  $gl=1$ ;  $p=0,77$ ). Al analizar la variación mensual de la abundancia por ambiente, se observó que la abundancia en el ambiente peridomiciliario fue mayor durante el mes de abril ( $\bar{X}=7,8$ ), aunque no se detectaron diferencias significativas ( $H=1,77$ ;  $gl=4$ ;  $p=0,60$ ), mientras que el pico de abundancia en el ambiente silvestre fue durante el mes de febrero con 3,66 ejemplares, aunque esta diferencia no resultó significativa ( $H=2,39$ ;  $gl=4$ ;  $p=0,52$ ).

*Evandroyia cortelezzi-sallezi* fue más abundante en el peridomicilio durante el mes de abril con un promedio de 6 ejemplares. En el ambiente silvestre su abundancia fue mayor durante febrero ( $\bar{X}=3,66$ ). Además se destaca que esta especie estuvo presente en ambos ambientes en la mayoría de las fechas de muestreos. Por su parte, *Mg. migonei* se encontró en el peridomicilio durante los meses de enero, marzo y abril, con 0,6, 1 y 1,8 ejemplares promedio respectivamente, mientras que en el ambiente silvestre solo se registró en abril con 0,33 individuos (**Fig. 6**).

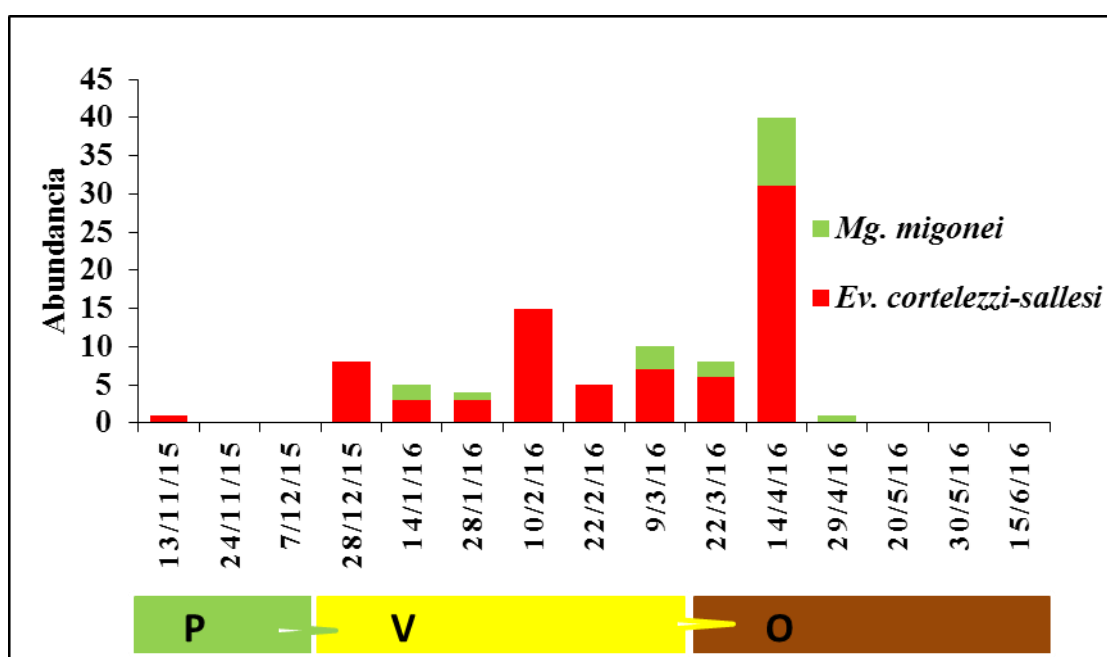


**Fig. 6:** Abundancia promedio de las especies de flebotomos por ambientes, recolectadas en la zona de Bajo Grande, Córdoba, desde noviembre de 2015 hasta junio de 2016. (S): Silvestre; (P): Peridomicilio.

La abundancia de cada especie por estaciones climáticas, indicó que *Ev. cortelezzi-sallezi* fue significativamente mayor durante el verano ( $H=4,19$ ;  $gl=2$ ;  $p=0,023$ ), cuando

se registró la mayor cantidad de muestreos positivos (n=6) (**Fig. 7**), sumando 41 ejemplares capturados, mientras que en otoño, solo 2 muestreos fueron positivos, y a pesar de que el segundo muestreo fue el más abundante (abril), la suma da un total de 37 individuos capturados en otoño.

La abundancia de *Mg. migonei* fue mayor en otoño, cuando se capturaron 12 individuos como resultado de 3 muestreos positivos. En verano, esta especie también estuvo presente durante 3 muestreos, pero en menor abundancia (n=6), no obstante, la diferencia de la abundancia entre las estaciones climáticas no fue significativa ( $H=0,69$ ;  $gl=2$ ;  $p=0,085$ ) (**Fig. 7**).



**Fig. 7:** Flebótomos colectados por muestreo en cada estación climática desde noviembre de 2015 hasta junio de 2016 en la zona de Bajo Grande, Córdoba. Primavera (P), Verano (V) y Otoño (O).

Según el índice de constancia, *Ev. cortelezzi-sallezi* estuvo presente en el 60% del total de muestreos, entrando en la categoría de especie constante o permanente, por el contrario, *Mg. migonei* estuvo presente en el 40% de los muestreos, lo que indica que es una especie esporádica. Al analizar la constancia por sitios de muestreo a lo largo de los meses, *Ev. cortelezzi-sallezi* fue constante en el sitio C2 (c=62,5%), esporádica en los sitios PBG1, PBG2, PBG3 (c=37,5%), PBG4 y C4 (c=25%) y especie rara en C1 y C3 (c=12,5%). En tanto que *Mg. migonei* fue una especie esporádica en C2 y PBG4 (c=25%) y rara en C4 y PBG2 (c=12,5%) (**Tabla 3**).

La constancia de acuerdo a los ambientes, indicó que *Ev. cortelezzi-sallei* es una especie constante tanto en el ambiente silvestre (c=62,5%) como en el peridomiciliario (c=75%), pero *Mg. migonei* se detectó como una especie esporádica en el peridomicilio (c=37,5%) y una especie rara en el ambiente silvestre (c=12,5%) (**Tabla 3**).

**Tabla 3:** Clasificación de las especies de flebótomos según el índice de constancia, por sitios y ambientes, en la zona de Bajo Grande, Córdoba, y según el total de muestreos desde noviembre de 2015 hasta junio de 2016. c: especie constante; e: especie esporádica; r: especie rara.

Ambiente Sitios Especies	Silvestre				Peridomicilio						Total de muestreos
	PBG1	PBG2	PBG3	Por ambiente	PBG4	C1	C2	C3	C4	Por ambiente	
<i>Ev. cortelezzi-sallei</i>	e	e	e	c	e	r	c	r	e	c	c
<i>Mg. migonei</i>		r		r	e		e		r	e	e

La correlación entre la abundancia de las especies de flebótomos y las variables meteorológicas, indicó que la abundancia de *Ev. cortelezzi-sallei* se relacionó positivamente con la temperatura media en el día de captura (r=0,54; p=0,04). Con la precipitación acumulada, la mayor relación se obtuvo entre los 15 y 21 días previos a la fecha de muestreo (r=0,71; p=0,003), pero también se relacionó positiva y significativamente durante los periodos comprendidos entre 1 a 7 días (r=0,54; p=0,04), 15 días, (r=0,57; p=0,03), 30 días (r=0,59; p=0,02) y 45 días (r=0,54; p=0,04), previos al día de muestreo. Durante el periodo de 1 a 7 días previos a la fecha de muestreo, la abundancia de *Ev. cortelezzi-sallei* también se correlacionó positivamente con la humedad relativa media (r=0,53; p=0,04).

La abundancia de *Mg. migonei*, se correlacionó positivamente con la precipitación acumulada entre 15 y 21 días previos a la fecha de muestreo (r=0,65; p=0,01), así como con la precipitación acumulada durante los 30 días (r=0,57; p=0,03) y 45 días (r=0,55; p=0,03), previos a la fecha de muestreo. No se encontró correlación de la abundancia de esta especie con la temperatura media ni con la humedad relativa.

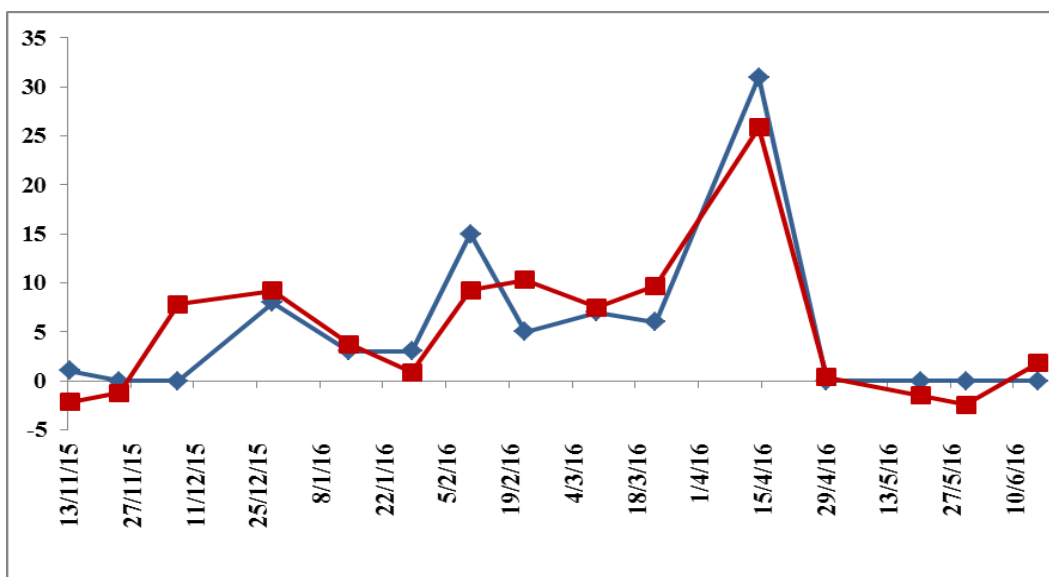
El modelo de regresión lineal múltiple que mejor se ajustó a la abundancia observada de *Ev. cortelezzi-sallei* ( $R^2_{Aj}=0,746$ ,  $p<0,005$ ) (**Fig. 8**) (especie predominante) según los criterios de AIC y BIC, fue el siguiente:

$$Y=-49,54+0,82*X_1+0,45*X_2+0,15*X_3$$

X<sub>1</sub>: Temperatura media del día de muestreo.

X<sub>2</sub>: Humedad relativa media entre 29 y 35 días previos a la fecha de muestreo.

X<sub>3</sub>: Precipitación acumulada entre 15 y 21 días previos a la fecha de muestreo.



**Fig. 8:** Abundancia de *Ev. cortelezzi-sallesi* desde Noviembre de 2015 hasta Junio de 2016 en la zona de Bajo Grande, Córdoba. En azul los valores observados y en rojo los valores esperados a partir del modelo generado.

**Tabla 4:** Modelos de regresión lineal múltiple. Variable dependiente: abundancia de *Ev. cortelezzi-sallesi*. Regresoras: variables meteorológicas retenidas en cada modelo. T° med 0/ 15-21: Temperatura media del día de captura/ entre 15-21 días previos; PPac 15-21 /45: Precipitación acumulada durante 15-21/ 45 días previos a la fecha de muestreo; HR 29-35: Humedad relativa promedio entre los días 29-35 previos a la fecha de muestreo.

	Coef de regresión	p-valor	CpMallows	R <sup>2</sup> <sub>Aj</sub>	AIC	BIC
<b>Modelo 1</b>	-49,54	<b>0,0025</b>		<b>0,75</b>	<b>90,8</b>	<b>94,34</b>
T° med 0	0,83	0,004	15,11			
PPac 15-21	0,16	0,0023	17,36			
HR 29-35	0,45	0,005	14,32			
<b>Modelo 2</b>	-49,63	<b>0,0029</b>		<b>0,75</b>	<b>90,9</b>	<b>95,14</b>
T° med 0	1,91	0,0005	27,86			
HR 29-35	0,46	0,0046	16,9			
PPac 45	0,07	0,002	18,01			
T°med 15-21	-1,52	0,01	13,21			

El modelo retuvo 3 variables, y su AIC y BIC fueron menores que el modelo 2 con 4 variables (**Tabla 4**). La correlación entre los datos observados y los esperados a partir del modelo fue  $r=0,89$  ( $p<0,01$ ) (**Fig. 8**). Analizando los coeficientes de las variables regresoras del modelo, se puede advertir cuales ejercerían un mayor efecto en el

sistema. De este modo, la temperatura media del día de muestreo ( $X_1$ ) tendría una gran influencia sobre la abundancia de *Ev. cortelezzi-sallei*, seguida, en orden decreciente, por la humedad relativa promedio ( $X_2$ ) entre los días 29 y 35 previos a la fecha de muestreo y por la precipitación acumulada ( $X_3$ ) entre 15 y 21 días previos a la fecha de muestreo.

Tomando como variable dependiente a la abundancia de las hembras del complejo *Ev. cortelezzi-sallei*, por ser las más abundantes, y estar presentes en la mayoría de los muestreos, el modelo resultante mejor ajustado ( $R^2_{Aj}=0,74$ ;  $p<0,005$ ) (**Tabla 5**) fue el siguiente:

$$Y=-46,34+0,69*X_1+0,44*X_2+0,15*X_3$$

$X_1$ : Temperatura media del día de muestreo.

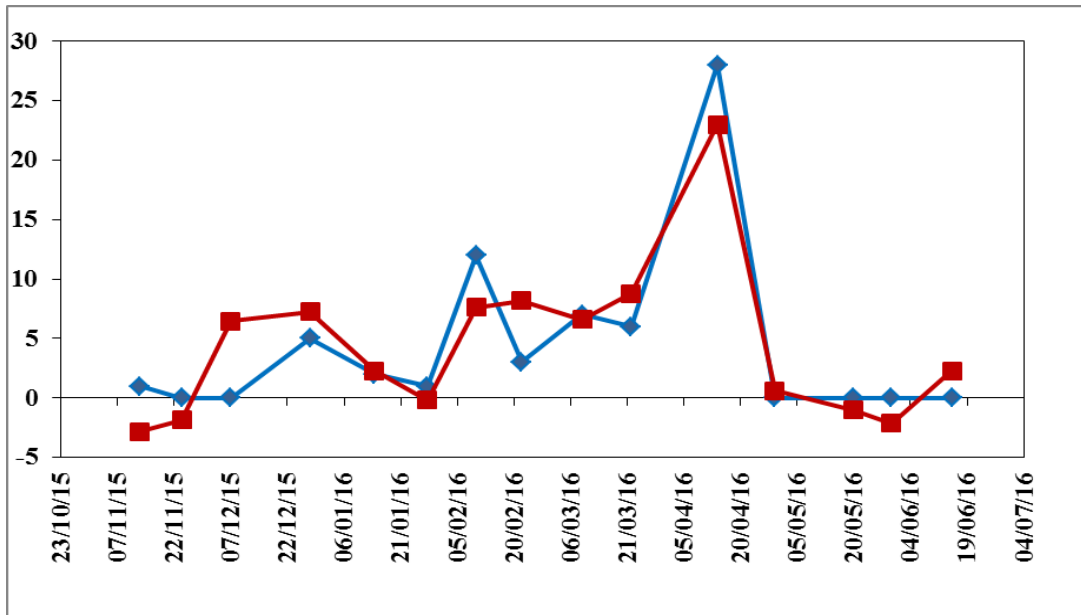
$X_2$ : Humedad relativa media entre 29-35 días previos a la fecha de muestreo.

$X_3$ : Precipitación acumulada entre 15-21 días previos a la fecha de muestreo.

**Tabla 5:** Modelos de regresión lineal múltiple. Variable dependiente: hembras de *Ev. cortelezzi-sallei*. Regresoras: variables meteorológicas retenidas en cada modelo. T° med 0: Temperatura media del día de captura; PPac 15-21 /1-7: Precipitación acumulada durante 15-21/ 1-7 días previos a la fecha de muestreo; HR 29-35: Humedad relativa promedio entre los días 29-35 previos a la fecha de muestreo.

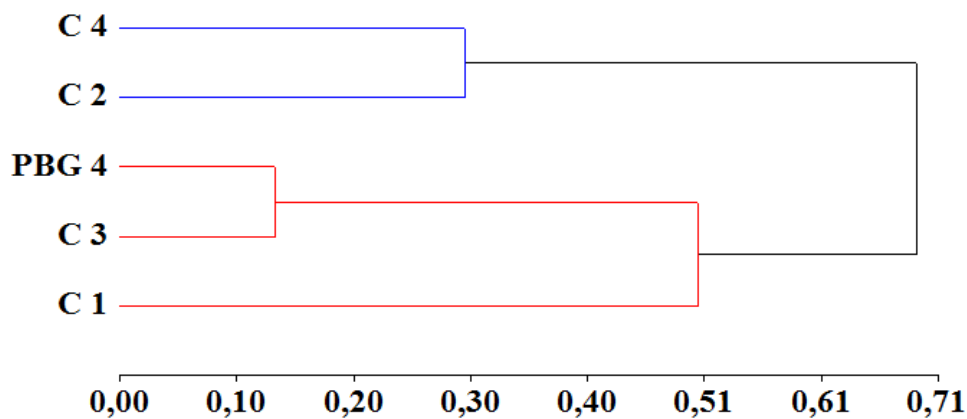
	Coef de regresión	p-valor	CpMallows	$R^2_{Aj}$	AIC	BIC
<b>Modelo 1</b>	-46,34	<b>0,002</b>		<b>0,74</b>	<b>87,75</b>	<b>91,29</b>
T° med 0	0,69	0,0065	13,38			
PPac 15-21	0,15	0,0019	18,11			
HR 29-35	0,44	0,0031	16,16			
<b>Modelo 2</b>	-20,57	<b>0,033</b>		<b>0,66</b>	<b>91,66</b>	<b>95,2</b>
Ppac 15-21	0,17	0,0014	19,65			
HR 29-35	0,26	0,041	7,96			
PPac 1-7	0,11	0,03	8,71			

La correlación entre los datos observados y los esperados a partir del modelo nuevamente fue  $r=0,89$  ( $p<0,01$ ) (**Fig. 9**). El modelo incluye las mismas variables que el modelo anterior ( $y$ : abundancia total de *Ev. cortelezzi-sallei*) y además, también coincide el orden de influencia de las variables sobre la abundancia de las hembras de *Ev. cortelezzi-sallei*.



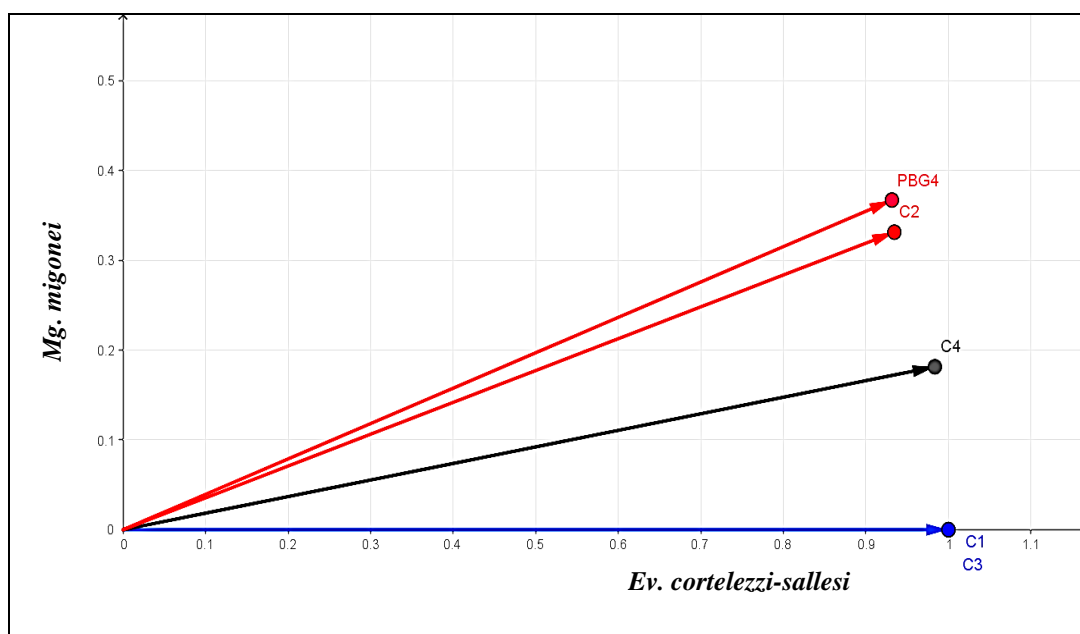
**Fig. 9:** Abundancia de hembras de *Ev. cortelezzi-sallei* desde Noviembre de 2015 hasta Junio de 2016 en la zona de Bajo Grande, Córdoba. En azul los valores observados y en rojo los valores esperados a partir del modelo generado.

La caracterización de ambientes con respecto a la composición de animales domésticos indicó que los sitios C1, C3 y PBG4 ( $\text{Cos } \alpha=1$ ) son similares, ya que presentan sólo perros y difieren de los sitios C2 ( $\text{Cos } \alpha=0,208$ ) y C4 ( $\text{Cos } \alpha=0,268$ ). Los sitios C2 y C4 resultaron similares entre sí ( $\text{Cos } \alpha=0,935$ ), estos tienen en común perros, gallinas y conejos. Además, el sitio C2 tiene cobayos y patos, en tanto que C4 posee un caballo, gansos y pájaros. Esto puede apreciarse en el dendrograma obtenido mediante el análisis de conglomerados que se utilizó para poder graficar la multidimensionalidad del espacio definido por los tipos de animales domésticos considerados como variables (**Fig. 10**).



**Fig. 10:** Agrupamiento obtenido mediante encadenamiento promedio de los sitios estudiados, según las distancias estimadas entre ellos ( $r = \text{Cos } \alpha$ ) según el tipo y número de animales domésticos registrados durante noviembre de 2015 hasta abril de 2016 en peridomicilios de viviendas en la zona de Bajo Grande, Córdoba.

Al comparar los sitios de muestreo según la presencia y abundancia de flebótomos, se observó que los sitios C2 y PBG4 son similares entre sí ( $\text{Cos } \alpha=0,999$ ), ya que ambos presentan las dos especies registradas (*Ev. cortelezzi-sallezi* y *Mg. migonei*) y en proporciones similares. La abundancia de *Ev. cortelezzi-sallezi* en proporción a la de *Mg. migonei* fue 2,8/1 en el sitio C2 y en PBG4 2,5/1. El sitio C4 también presentó a las dos especies, pero se aleja de C2 ( $\text{Cos } \alpha=0,992$ ) y PBG4 ( $\text{Cos } \alpha=0,98$ ), debido a que la abundancia de *Ev. cortelezzi-sallezi* es 5,5 veces mayor que la abundancia de *Mg. migonei*. En los sitios C1 y C3, sólo se recolectó 1 ejemplar de *Ev. cortelezzi-sallezi*, lo que se ve reflejado en la semejanza entre sí ( $\text{Cos } \alpha=1$ ), y en la diferencia con los sitios C2 ( $\text{Cos } \alpha=0,943$ ), PBG4 ( $\text{Cos } \alpha=0,926$ ), y C4 ( $\text{Cos } \alpha=0,98$ ). Debido a que las variables son las dos especies de flebótomos, se obtuvo el gráfico de vectores normalizados (**Fig. 11**), donde se puede apreciar el ángulo que forman los vectores entre sí, cuyo coseno es equivalente al Coeficiente de correlación de Pearson.



**Fig. 11:** Semejanza de los sitios de muestreo según las especies de flebótomos presentes y su abundancia. Cada sitio está representado por el correspondiente vector normalizado. Los flebótomos fueron registrados desde noviembre de 2015 hasta abril de 2016 en peridomicilios de viviendas en la zona de Bajo Grande, Córdoba.



## DISCUSIÓN

Se conoce la presencia de flebótomos en la provincia de Córdoba como fauna asociada a culícidos desde el año 2004, cuando se registraron ejemplares de *Mg. migonei* en la localidad de Altos de Chipión (Salomón *et al.*, 2008b). Posteriormente, en 2007 se capturó un ejemplar de *Mg. migonei* en Las Jarillas (Salomón *et al.*, 2008b). En 2014, a partir de la notificación del primer caso autóctono de LT en Unquillo, se colocaron trampas de vigilancia en la vivienda de la persona infectada, y se encontró 1 ejemplar de *Mg. migonei*. *Evandromyia cortelezzi-sallesi* se registró por primera vez en la provincia, en la localidad de La Para durante el año 2012 (Visintin *et al.*, 2016). Esta especie también se recolectó en la periferia este de la ciudad de Córdoba, en la Planta de tratamientos de líquidos cloacales “Bajo Grande”, durante 2014-2015, cuando se capturaron 6 hembras del complejo (Visintin *et al.*, 2016). En el predio de la planta Bajo Grande, también se capturó 1 ejemplar de *Mg. migonei* en 2013 (Beranek, M., com. pers., 22 de diciembre de 2015), sin embargo, no fue parte de estudios específicos sobre la fauna de flebótomos, sino que se los ha encontrado a partir de la vigilancia de arbovirosis transmitidas por culícidos.

Haber encontrado 97 ejemplares de flebótomos en la periferia este de la ciudad de Córdoba, indicaría una colonización establecida de las poblaciones de *Mg. migonei* y el complejo *Ev. cortelezzi-sallesi*. Con respecto al complejo *cortelezzi-sallesi*, se podría pensar que la especie presente es *Ev. cortelezzi*, ya que sólo se encontraron machos de esta especie. Además por lo general, ambas especies se han encontrado asociadas al mismo hábitat (Galati *et al.*, 1989), como es el caso de las capturas realizadas en Donadeu, Santiago del Estero (Salomón *et al.*, 2008b).

Los resultados del presente trabajo indicarían además que están distribuidos al menos a lo largo de la transecta que cubre la zona de estudio (3,63 km entre los sitios más alejados, C1 y C4), ya que se encontraron en todos los sitios de muestreo. Recordemos que los flebótomos poseen escasa capacidad de dispersión y recorren una distancia máxima por día unos 200 a 300 m (Cáceres, 1995).

Las especies encontradas en este estudio (*Mg.migonei* y *Ev.cortelezzi-sallesi*) presentan una amplia distribución en el país y tienen potencialidad vectorial, ya que han sido asociadas a la transmisión zoonótica esporádica de LT en la Bio-región del Chaco Seco. *Evandromyia cortelezzi-sallesi* fue encontrado naturalmente infectado por *Le. infantum chagasi* y *Le. braziliensis* en la provincia del Chaco (Rosa *et al.*, 2012), y *Mg. migonei* se considera vector putativo de LV en Santiago del Estero, asociado a

ambientes degradados, vulnerabilidad social, ambientes de transición periurbanos-rurales y con animales domésticos (Salomón *et al.*, 2010). Asimismo, en Sao Paulo, Brasil, *Mg. migonei* ha sido encontrada con frecuencia en domicilios, y presenta afección por la sangre humana (Barretto, 1943). Las variaciones observadas en la abundancia de flebótomos, estaría describiendo los cambios en la composición de la comunidad de flebótomos a lo largo del periodo estudiado, ya que la mayor abundancia de ambas especies fue durante el mes de abril. *Evandromyia cortelezzi-sallei* en el presente trabajo, fue la especie dominante, lo que difiere de lo encontrado por Salomón *et al.* (2008a) para la eco-región de Chaco Seco, donde siempre se la ha registrado en menor proporción, en ambientes ocupados principalmente por *Mg. migonei*. Así mismo, *Mg. migonei* se encontró en baja abundancia, lo que coincide con lo registrado por Salomón *et al.* (2008b) en Altos de Chipión, Córdoba, lo que indicaría que en la provincia de Córdoba, de clima templado, la relación de la abundancia entre estas dos especies se invierte. *Ev. cortelezzi-sallei* estuvo presente desde noviembre hasta abril, lo que evidencia un amplio rango de condiciones meteorológicas a las que puede sobrevivir, mientras que *Mg. migonei* se registró de manera discontinua en los meses de enero, marzo, y abril, por lo que necesitaría condiciones meteorológicas dentro de un rango más acotado.

Las diferencias de abundancias de sexos por especie, encontrados en el presente trabajo, sugieren que las hembras tienden a aumentar hacia el final de la temporada, lo que podría deberse a una estrategia de las especies para asegurar la próxima generación. Si bien la abundancia de las hembras de *Ev. cortelezzi-sallei* siempre fue mayor que la de los machos, ésta tiende a aumentar de un mes a otro, en cambio los machos mantuvieron baja abundancia, por lo que se podría pensar que machos y hembras de esta especie responden de manera diferente a la atracción de la trampa, como es el caso de *Phlebotomus longipes* en Etiopía (Foster, 1972). Son numerosos los estudios que sugieren que el uso de trampas de luz puede conducir a capturar más especímenes machos (Barreto, 1943; Aguiar *et al.*, 1985), pero depende de las especies estudiadas, ya que se ha observado en este estudio el predominio de las hembras sobre los machos de *Ev. cortelezzi-sallei* utilizando este mismo método de captura. La mayor abundancia de hembras, también podría estar relacionada con que las hembras que se crían en los alrededores de los sitios de muestreo, buscan refugio en el sitio. Por el contrario, de *Mg. migonei* se registraron machos primero, en el mes de enero y marzo, esto podría deberse a que los machos emergen antes que las hembras (Chaniotis, 1967; Forattini, 1973).

Respecto a la mayor abundancia de flebótomos detectada en el sitio C2, estaría indicando que el sitio reúne condiciones favorables, como refugios, criaderos y fuentes de alimento, actuando como un microhábitat que les permite a los flebótomos proliferar. El hecho de que *Ev. cortelezzi-sallei* estuviera presente en todos los sitios, mientras que *Mg. migonei* solo en cuatro, indicaría un mayor rango de dispersión, o potencial capacidad de adaptación a diferentes ambientes por parte de *Ev. cortelezzi-sallei*.

La mayor abundancia de flebótomos en el ambiente peridomiciliario, podría deberse a la presencia de animales domésticos, que garantizan alimento, materia orgánica y refugio de manera constante. La abundancia en el ambiente silvestre tiene su pico máximo en febrero, esto podría deberse a múltiples factores, como sitios de cría con abundante materia orgánica y animales silvestres, pero luego decae paulatinamente en marzo y abril, lo que estaría asociado a las variables meteorológicas. En el peridomicilio el pico de mayor abundancia se da en abril, lo que podría sugerir a este ambiente como sitio preferencial de alimentación y refugio durante los meses de menor temperatura. En el caso de *Mg. migonei*, los resultados indican que es más probable encontrarlos asociados al ambiente peridomiciliario, lo que coincide con lo registrado para la especie por Barretto (1943), en Brasil y Fernández (2012), en la provincia de Misiones, Argentina. En cambio, *Ev. cortelezzi-sallei* que estuvo presente en ambos ambientes en la mayoría de los meses, fue más abundante en el ambiente silvestre durante febrero y la relación se invierte hacia abril, cuando la mayor abundancia se encontró en el peridomicilio, lo que estaría indicando que la especie tiene tendencia a encontrarse en el ambiente silvestre cuando las condiciones meteorológicas son favorables, y encontraría refugio en los meses en los que las condiciones meteorológicas no son las óptimas en el peridomicilio.

Durante el verano, es más probable encontrar ejemplares de *Ev. cortelezzi-sallei*, por lo que se cumple la hipótesis de que se registraría mayor abundancia en los meses cálidos, ya que se capturaron en todos los muestreos de verano y en la mayoría de los sitios de colecta, indicando una mayor distribución. No sucedió lo mismo con *Mg. migonei* que fue más abundante durante el otoño. Esto podría deberse al bajo número de ejemplares capturados, o a que en la zona templada de Bajo Grande, *Mg. migonei* tiene otro comportamiento. Por esta razón, son necesarios más estudios de los factores que favorecen la presencia de la especie en la zona.

Desde el punto de vista biológico, la interacción de diferentes variables tiene diferentes e incluso contradictorios efectos sobre la supervivencia de los vectores y la

probabilidad de transmisión de patógenos. El efecto de la temperatura y la humedad sobre la actividad y abundancia de flebótomos, varía según la especie (Salomón *et al.*, 2012). En este trabajo, la asociación encontrada entre la abundancia de *Ev. cortelezzi-sallei* y la temperatura durante el día de captura, estaría relacionada con la temperatura a la que están activos, y las hembras pueden picar (15-28°C) (Lucientes *et al.*, 2005). La asociación con la precipitación acumulada, y humedad relativa durante la semana previa al muestreo se debe a la importancia de la humedad para la supervivencia de los flebótomos adultos, y de los estados inmaduros (Rangel & Lainson, 2003). La precipitación tiene relación positiva durante los 45 días previos al muestreo, siendo más intensa esta relación durante el periodo comprendido entre el día 15 al 21 previos a la fecha de colecta, lo que estaría relacionado con la humedad del suelo y las condiciones necesarias para la supervivencia de las larvas, ya que el retraso encontrado es consistente con el período larval descrito para flebotominos (Forattini, 1973). Esto explicaría la variación de la abundancia entre meses, por lo tanto, las alteraciones en precipitaciones tendrían un efecto directo en la regulación de las poblaciones de *Ev. cortelezzi-sallei*. La especie *Mg. migonei*, en este estudio, no tuvo relación significativa con la temperatura media del día de captura, lo que no coincide con lo encontrado por Salomón *et al.* (2012), en la provincia del Chaco, de clima subtropical. Esto podría deberse a la baja abundancia de la especie registrada en este estudio, o como se expuso anteriormente, a que la presencia y abundancia de la especie en una zona de clima templado, responden a otros factores. La relación de la abundancia de *Mg. migonei* con la precipitación acumulada, al igual que para *Ev. cortelezzi-sallei*, indicaría la importancia de la humedad del suelo para los estados inmaduros.

En el Chaco seco, el mejor predictor de la abundancia de flebótomos es la precipitación (Salomón *et al.*, 2008b). Según los modelos de regresión lineal obtenidos en el presente trabajo, la abundancia de *Ev. cortelezzi-sallei* en la periferia de la ciudad de Córdoba se puede predecir a partir de la temperatura, la humedad relativa y la precipitación acumulada, que tendrían influencia en diferentes etapas del desarrollo y la supervivencia de flebótomos.

En cuanto a la caracterización de los sitios, si bien el sitio C2, presentó significativamente mayor abundancia que el resto de los sitios, el sitio C4 le sigue en abundancia de flebótomos. Ambos sitios tienen muchos animales domésticos, y se diferencian de los demás por la presencia de pollos y conejos principalmente. Los pollos son descritos como un factor de riesgo cuando los gallineros están cerca de dormitorios

humanos, debido al aumento del atractivo y la disponibilidad de potenciales sitios de cría en Brasil (Alexander *et al.*, 2002) y Misiones, Argentina (Fernández *et al.*, 2010). Los datos del presente trabajo indican que la presencia de animales domésticos, como perros y gallinas, favorecen la cría y establecimiento de flebótomos en el peridomicilio.

Además en C2, se observó un gran acúmulo de escombros y basura, y se encuentra inmediatamente al frente de la plata de tratamientos cloacales, donde hay abundante materia orgánica. Si bien, la C4, es muy similar en la composición de fuentes de alimento a C2, la abundancia de flebótomos es menor, lo que podría deberse a las condiciones de limpieza del predio, donde los dueños realizan un desmalezado constantemente, y no acumulan inservibles, además, está más próximo a la ciudad y alejado de la planta Bajo Grande. Entonces, las fuentes de alimento serían un factor importante para determinar la abundancia de flebótomos, pero no son los únicos factores involucrados. Con respecto a la caracterización de los sitios según las especies y abundancia de flebótomos encontrados, C2 se parece a PBG4, que a pesar de tener sólo perros este último sitio, compartiría las especies de flebótomos por la abundante vegetación y sitios de cría en las proximidades. La similitud encontrada entre C2 y C4 en cuanto a las especies de flebótomos, coincide con la similitud debida a animales domésticos, por lo que refuerza la hipótesis de que las fuentes de alimento disponibles en un sitio, son importantes para la presencia de flebótomos y su abundancia.

Finalmente, con base en los datos obtenidos en el presente estudio, en la periferia este de la ciudad de Córdoba hay al menos dos especies de flebótomos ya establecidas. Se registraron flebótomos durante los meses cálidos. Además, se encontró mayor abundancia y riqueza en peridomicilios que cuentan con gran número y variedad de animales domésticos, en comparación con sitios silvestres. *Evandromyia cortelezzi-sallei* parece ser más importante por su abundancia, pero el papel aparentemente secundario que parece tener *Mg. migonei* (menor abundancia), puede eventualmente cambiar de una temporada a otra, si las condiciones meteorológicas fueran favorables para la especie. *Migonemyia migonei* tuvo tendencia a encontrarse en peridomicilios, en cambio *Ev. cortelezzi-sallei* estuvo presente en ambos ambientes estudiados, cambiando las probabilidades de encontrarlo en uno u otro ambiente dependiendo de las condiciones meteorológicas. Se puede decir, entonces, que la periferia este de la ciudad de Córdoba se encuentra en situación de riesgo de transmisión de Leishmaniasis si *Leishmania* spp. ingresara a la zona, ya que se consideran la distribución y abundancia

de flebotomos como indicadores en espacio y tiempo de la probabilidad de transmisión del parásito (Peterson, 2006; Salomón *et al.*, 2008 b, 2011).

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quiero darle las gracias a mi director, Walter Almirón. Son muchos los motivos, pero creo que pueden resumirse en tres: por darme la oportunidad, por enseñarme, y por creer en mí.

También quiero darle las gracias a Juan Rosa, mi co-director por su apoyo, por ser parte de mi formación y su buena onda.

Gracias al profesor Andrés Visintin por presentarme a los flebotomos, esos minibichos, por llevarme al campo cuando mi director no podía y por sus consejos.

Al profesor Francisco Ludueña-Almeida, por sus aportes y buena predisposición en cada encuentro.

Gracias a los miembros del tribunal, por sus útiles comentarios para el desarrollo de la tesina.

A Mauricio Beranek, por brindarme material, y acompañarme a los muestreos.

A Enrique Szelag por compartir sus conocimientos y su buena onda.

A los integrantes del CIEC, por su solidaridad y profesionalismo.

También, quiero agradecer a las familias en cuyas viviendas colocamos las trampas y al personal de la Planta Bajo Grande.

Al Ministerio de Salud de la Provincia, por prestarnos las trampas.

A las instituciones que me permitieron desarrollar mi tesina en sus instalaciones:

- El CIEC, IIByT.
- La cátedra de Introducción a la Biología, UNC.
- El Instituto de Medicina Regional, UNNE, Área de Entomología.

A mis padres, Nora y Jorge, quienes me enseñaron a valorar todo, y que hay que luchar para alcanzar tus sueños. Gracias a ustedes soy la persona que soy.

A Martín, mi compañero de vida, mi pilar, que ha aguantado en primera línea todo lo que implica realizar una tesina, que me ha ayudado en todo, me ha apoyado siempre.

A mis hermanos y mi abuela Moro, por su apoyo y amor incondicional, siempre estuvieron para aconsejarme y apoyarme.

Al resto de mi familia por alentarme a seguir adelante y no bajar los brazos.

Gracias a mis amigas Naida y Juliana, amigas de oro que encontré el primer día. Ustedes le pusieron color y locuras a este camino.

Gracias a todos los amigos que me brindó esta carrera.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, G. M. D., M. L. VILELA, P. D. A. SCHUBACK, T. SOUCASAUX & A. C. R. D. AZEVEDO. 1985. Aspectos da ecologia dos flebotomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro: IV. Frequência mensal em armadilhas luminosas (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 80(4): 465-482.
- ALEXANDER, B., R. LOPES DE CARVALHO, H. MCCALLUM & M. H. PEREIRA. 2002. Role of the Domestic Chicken (*Gallus gallus*) in the Epidemiology of Urban Visceral Leishmaniasis in Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 8(12): 1480-1485.
- ARONSON, N., B. L. HERWALDT, M. LIBMAN, R. PEARSON, R. LOPEZ-VELEZ, P. WEINA, E. M. CARVALHO, M. EPHROS, S. JERONIMO & A. MAGILL. 2016. Diagnosis and treatment of leishmaniasis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). *Clinical Infectious Diseases*, 63(12): 202-264.
- ASHFORD, R. W. 2000. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *International Journal for Parasitology*, 30(12): 1269-1281.
- BARRETTO, M. P. 1943. *Observações sobre a biologia em condições naturais dos Phlebotomus do Estado de São Paulo (Diptera, Psychodidae)*. Tese de Docência Livre. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
- CÁCERES, G. A. 1995. Especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) vectores de la "uta" en el Perú. *Revista Peruana de Entomología*, 38: 23-26.
- CASERTANO, S. A., J. D. ANDRADE FILHO & O. D. SALOMÓN. 2015. New records of Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) from the atlantic forest region of Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Entomología*, 26: 88.
- CHANLOTIS, B. N. 1967. The biology of California Phlebotomus (Diptera: Psychodidae) under laboratory conditions. *Journal of Medical Entomology*, 4(2): 221-233.
- CÓRDOBA LANÚS, E., M. L. DE GROSSO, J. E. PIÑERO, B. VALLADARES & O. D. SALOMÓN. 2006. Natural infection of *Lutzomyia neivai* with *Leishmania* spp. in northwestern Argentina. *Acta Tropica*, 98(1): 1-5.
- CORREA ANTONIALI, S. A., T. G. TORRES, A. C. PARANHOS FILHO & J. E. TOLEZANO. 2007. Spatial analysis of American visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul state, Central Brazil. *Journal of Infection*, 54(5): 509-514.
- DAJOZ, R. 1973. *Ecologia Geral*. 2 ed. Editora Vozes Ltda., São Paulo, 472p.
- DI RIENZO, J. A., F. CASANOVES, M. G. BALZARINI, L. GONZALEZ, M. TABLADA & C. W. ROBLEDO. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>
- FERNÁNDEZ, M. S. 2012. *Eco-epidemiología de vectores de Leishmania spp. en el noreste de Argentina (Provincia de Misiones)*. Disertación doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

- FERNÁNDEZ, M. S., O. D. SALOMÓN, R. CAVIA, A. A. PEREZ, S. A. ACARDI & J. D. GUCCIONE. 2010. *Lutzomyia longipalpis* spatial distribution and association with environmental variables in an urban focus of visceral leishmaniasis, Misiones, Argentina. *Acta Tropica*, 114(2): 81-87.
- FORATTINI, O. P. 1973. *Entomologia médica. Psychodidae, Phlebotominae, Leishmanioses, Bartonelose*. Vol IV. Edgard Blücher Ltda., São Paulo, 658p.
- FOSTER, W. A. 1972. Studies on leishmaniasis in Ethiopia. III. Resting and breeding sites, flight behaviour, and seasonal abundance of *Phlebotomus longipes* (Diptera: Psychodidae). *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 66: 313-28.
- GALATI, E. A. B. & R. LAINSON. 2003. Morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da América. In: *Flebotomíneos do Brasil*, Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, pp. 53-175.
- GALATI, E. A. B., V. L. B. NUNES, E. T. OSHIRO & F. A. REGO JR. 1989. Nova espécie de Phlebotominae, *Lutzomyia corumbaensis*, sp. n. (Diptera, Psychodidae) do complexo *Lutzomyia cortelezzii*. *Revista Brasileira de Entomologia*, 33: 765-475.
- GORGAS, J. A. & J. L. TASSILE. 2002. *Regiones Naturales de la Provincia de Córdoba*. Publicaciones Técnicas, Serie C. Ferreyra Editor. Agencia Córdoba Ambiente. Córdoba, 97p.
- HAMMER, Q., D. A. T. HARPER & P. D. RYAN. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Paleontología Electrónica. Disponible en: <http://nhm2.uio.no/norlex/past/download.html>
- IZRI, A., J. DEPAQUIT & P. PAROLA. 2006. Phlébotomes et transmission d'agents pathogènes autour du bassin méditerranéen. *Médecine Tropicale*, 66(5): 429-435.
- JOHNSON, R.A. & D. W. WICHERN. 1998. *Applied multivariate statistical analysis*. 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, 580p.
- LUCIENTES, J., J. A. CASTILLO, M. J. GRACIA & M. A. PERIBAÑEZ. 2005. Flebotomos, de la biología al control. *Revista Electronica de Veterinaria REDVET*, 6(8). Fecha de acceso: 25/05/2016. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080805.html>
- MARGONARI, C., C. R. FREITAS, R. C. RIBEIRO, A. C. M. MOURA, M. TIMBÓ, A. H. GRIPP, J. E. PESSANHA & E. S. DIAS. 2006. Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte municipality, state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101(1): 31-38.
- MOYA, S. L., M. G. GIULIANI, M. M. ACOSTA, O. D. SALOMÓN & D. J. LIOTTA. 2015. First description of *Migonemyia migonei* (França) and *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho) (Psychodidae: Phlebotominae) natural infected by *Leishmania infantum* in Argentina. *Acta Tropica*, 152: 181-184.
- MUZÓN, J., G. R. SPINELLI, O. D. SALOMÓN & G. C. ROSSI. 2002. A first record of phlebotominae from Argentinean Patagonia (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(6): 797-798.
- PETERSON, A. T. 2006. Ecologic niche modeling and spatial patterns of disease transmission. *Emerging Infectious Diseases*, 12(12): 1822-1826.
- RANGEL, E. F. & R. LAINSON. 2003. *Flebotomíneos do Brasil*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.
- ROBERTS, D. R. & B. P. HSI. 1979. An index of species abundance for use with mosquito surveillance data. *Environmental Entomology*, 8(6): 1007-1013.
- ROSA, J., D. P. PEREIRA, R. P. BRAZIL, J. D. A. FILHO, O. SALOMÓN & E. SZELAG. 2012. Natural infection of cortelezzii complex (Diptera: Psychodidae:



- Phlebotominae) with *Leishmania braziliensis* in Chaco, Argentina. *Acta Tropica*, 123(2): 128-131.
- SALOMÓN, O. D., A. V. MASTRÁNGELO & M. G. QUINTANA. 2011. Leishmaniasis and environment: an eco-epidemiological approach. Nriagu JO, editor. *Encyclopedia of Environmental Health*. Burlington, Mass, USA: Elsevier; pp. 481–490.
- SALOMÓN, O. D., M. G. QUINTANA, G. BEZZI, M. L. MORÁN, E. BETBEDER & D. V. VALDÉZ. 2010. *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina. *Acta Tropica*, 113(1): 84-87.
- SALOMÓN, O. D., M. G. QUINTANA & J. R. ROSA. 2008(a). Ecoepidemiología de la Leishmaniasis cutánea en la Argentina. *Salud(i)Ciencia*, 16(5): 514-520.
- SALOMÓN, O. D., J. ROSA, M. STEIN, M. QUINTANA, M. FERNÁNDEZ, A. VISINTÍN, G. SPINELLI, M. BOGADO DE PASCUAL, M. MILINARI, M. MORÁN, D. VALDÉZ, & M. ROMERO BRUNO. 2008(b). Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) fauna in the Chaco region and Cutaneous Leishmaniasis transmission patterns in Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(6): 578-584.
- SALOMÓN, O. D., M. L. WILSON, L. E. MUNSTERMANN & B. L. TRAVI. 2004. Spatial and temporal patterns of Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis focus in northern Argentina. *Journal of Medical Entomology*, 41(1): 33-39.
- SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL. Servicios climáticos. Ministerio de Defensa, Secretaría de Ciencia, Tecnología y Producción. *Guía climática*, localidad de Córdoba. Fecha de acceso: 15/06/2016. Disponible en: <http://www.smn.gov.ar/serviciosclimaticos/>
- SISTEMA NACIONAL DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA POR LABORATORIOS DE ARGENTINA. SIVILA/ SNVS-C2. 2015. Ministerio de Salud de la Nación. *Boletín Integrado de Vigilancia*, 242(2): 75-76. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/images/stories/boletines/Boletin-Integrado-De-Vigilancia-N242-SE2.pdf>
- SUDIA, W. D. & R. W. CHAMBERLAIN. 1962. Battery-operated light trap, an improved model. *Mosquito News*, 22(2): 126-129.
- SZELAG, E. A., J. D. ANDRADE FILHO, J. R. ROSA, M. A. PARRAS, M. STEIN, M. G. QUINTANA & O. D. SALOMÓN. 2016. Argentinian phlebotomine fauna, new records of Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) for the country and the province of Chaco. *Zootaxa*, 4139(3): 427–430.
- VISINTIN, A. M., M. D. BERANEK, M. J. AMIEVA, J. R. ROSA, W. R. ALMIRÓN & O. D. SALOMÓN. 2016. Spread of Phlebotominae in temperate climates: province of Córdoba, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(1): 75-78.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). 2010. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, *World Health Organization technical report series*, 949: 22-26.