

Biomédica 2017;37(Supl.2):215-23
doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3382>

COMUNICACIÓN BREVE

Especies de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) recolectados en reservas naturales de las regiones del Darién y del Pacífico en Colombia

Rafael J. Vivero^{1,2}, María Angélica Contreras^{1,2}, Juan D. Suaza^{1,2},
Iván D. Vélez¹, Charles Porter², Sandra I. Uribe²

¹ Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Grupo de Investigación en Sistemática Molecular y Biología de Insectos, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia

Introducción. Los departamentos de Chocó y Antioquia en Colombia presentan condiciones climáticas y de vegetación que favorecen el establecimiento de especies de vectores del género *Lutzomyia* y la transmisión de *Leishmania* spp. a poblaciones humanas que ingresan a ambientes selváticos conservados.

Objetivo. Reportar las especies de flebotomíneos presentes en tres reservas naturales de las regiones del Darién y del Pacífico en Colombia.

Materiales y métodos. Los flebotomíneos se recolectaron en las reservas naturales El Aguacate (Acandí, Chocó), Nabugá (Bahía Solano, Chocó) y Tulenapa (Carepa, Antioquia). La recolección se hizo con trampas de luz CDC, mediante búsqueda activa en sitios de reposo y con trampas Shannon. La determinación taxonómica de especies se basó en las claves taxonómicas. En algunas especies de interés taxonómico, se evaluó el uso de secuencias parciales de la región 5' del gen *COI*.

Resultados. Se recolectaron 611 flebotomíneos adultos: 531 en Acandí, 45 en Carepa y 35 en Bahía Solano. Se identificaron 17 especies del género *Lutzomyia*, tres del género *Brumptomyia* y una del género *Warileya*. Las distancias genéticas (K2P) y los soportes de agrupación (>99 %) en el dendrograma de *neighbor joining* correspondieron a la mayoría de unidades taxonómicas operacionales moleculares (*Molecular Operational Taxonomic Units*, MOTU) establecidas para el grupo *Aragaoi* y confirmaron claramente la identidad de *Lu. coutinhoi*.

Conclusión. Se identificaron especies que tienen importancia en la transmisión de la leishmaniasis en Acandí, Bahía Solano y Carepa. Se confirmó la presencia de *Lu. coutinhoi* en Colombia.

Palabras clave: Psychodidae; *Leishmania*; reservas naturales, Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3382>

Species of sand flies (Diptera: Psychodidae) collected from natural reserves in the Pacific and Darien regions of Colombia

Introduction: The departments of Chocó and Antioquia in Colombia show climatic and vegetation conditions favoring the establishment of vector species of the genus *Lutzomyia* and the transmission of *Leishmania* spp. to human populations entering conserved forest environments.

Objective: To report the species of Phlebotomine sandflies present in three natural reserves in the Darien and Pacific regions of Colombia.

Materials and methods: Sand flies were collected specifically in the natural reserves El Aguacate (Acandí, Chocó), Nabugá (Bahía Solano, Chocó) and Tulenapa (Carepa, Antioquia). Sand flies were collected with CDC light traps, active search in resting places and Shannon traps. The taxonomic determination of species was based on taxonomic keys. For some species of taxonomic interest, we evaluated the partial sequences of the 5' region of *COI* gene.

Results: A total of 611 adult sand flies were collected: 531 in Acandí, 45 in Carepa and 35 in Bahía Solano. Seventeen species of the genus *Lutzomyia*, three of the genus *Brumptomyia* and one of the

Contribución de los autores:

Rafael J. Vivero: diseño del estudio, muestreos en campo, identificación clásica y molecular, análisis de datos y escritura del manuscrito

María Angélica Contreras: identificación molecular

Juan D. Suaza: muestreos en campo y escritura del manuscrito

Iván D. Vélez: diseño del estudio y escritura del manuscrito

Charles Porter: diseño del estudio, identificación clásica y molecular, y escritura del manuscrito

Sandra I Uribe: diseño del estudio, análisis de datos y escritura del manuscrito

genus *Warileya* were identified. The genetic distances (K2P) and grouping supported (>99%) in the neighbor joining dendrogram were consistent for most established molecular operational taxonomic units (MOTU) of the *Aragaoi* group and clearly confirmed the identity of *Lu. coutinhoi*.

Conclusion: Species that have importance in the transmission of leishmaniasis in Acandí, Bahía Solano and Carepa were identified. The presence of *Lu. coutinhoi* was confirmed and consolidated in Colombia.

Key words: Psychodidae; *Leishmania*; natural reservations, Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3382>

El conocimiento de la distribución y la presencia de insectos vectores del género *Lutzomyia* es fundamental para alertar sobre el riesgo de transmisión de leishmaniasis en diferentes regiones de Colombia (1,2) cuyas características ecológicas son propicias para el establecimiento de los vectores y de la cadena epidemiológica de la enfermedad (3,4). En este contexto, las poblaciones de insectos vectores de los ecosistemas tropicales son dinámicas tanto en el espacio como en el tiempo (5), aspecto que debe considerarse con especial atención en los estudios ecoepidemiológicos para el diseño de estrategias de prevención y control de las poblaciones del género *Lutzomyia* y de la transmisión de la enfermedad (6).

El género *Lutzomyia* incluye gran diversidad de especies con características morfológicas particulares cuyo papel en la transmisión es, por lo general, específico de cada especie (4,7), razón por la cual su determinación taxonómica es crucial para entender aspectos biológicos y ecológicos que determinan patrones y dinámicas espacio-temporales de las enfermedades que transmiten (1,8).

Los efectos del cambio climático, la urbanización desorganizada y la expansión de la frontera agrícola han influido de manera considerable en el incremento de los casos de leishmaniasis y en la circulación de diferentes especies del parásito *Leishmania* (*Le. panamensis*, *Le. braziliensis*), por lo cual se hace necesario desarrollar estudios de vigilancia de los reservorios y de los insectos vectores del género *Lutzomyia* (9-13).

En los departamentos de Chocó y Antioquia se ha registrado hasta la fecha, aproximadamente, el 50 % de la fauna de flebotomíneos de Colombia, así como la presencia de un gran número de

especies de vectores como *Lutzomyia gomezi*, *Lu. panamensis*, *Lu. longipalpis*, *Lu. trapidoi* y *Lu. evansi*, entre otras, que se han encontrado naturalmente infectadas (2,14,15).

Aunque en estos departamentos se han estudiado diversos focos de transmisión de la leishmaniasis (13), es poco el conocimiento existente sobre los insectos de importancia médica en regiones poco exploradas, como los municipios de Bahía Solano (reserva natural Nabugá) y Acandí (Chocó), los cuales tienen una gran actividad ecoturística y de extracción de madera (11). Estos factores constantemente exponen a la población humana al contacto con los vectores y a la subsecuente infección por *Leishmania* spp. (1). Otras áreas boscosas protegidas, como la reserva natural Tulenapa, que alberga el Centro de Desarrollo Tecnológico del Darién, ubicadas en el municipio de Carepa en Antioquia, también son de relevancia para el desarrollo de estudios biológicos de insectos vectores de leishmaniasis.

En este contexto, en el presente estudio se presenta un reporte taxonómico de flebotomíneos y especies de importancia médica presentes en tres reservas naturales de los municipios de Bahía Solano y Acandí en el Chocó, y de Carepa en Antioquia.

Materiales y métodos

Área de estudio

Los muestreos entomológicos se hicieron en tres áreas de bosque conservado. La primera fue la reserva natural El Aguacate, municipio de Acandí (8°36'56,33" N, 77°19'44,69" O), en la costa Caribe del Darién chocono (figura 1). Esta región corresponde a una zona de bosque húmedo tropical (16). Los registros mensuales de temperatura arrojan un promedio anual de 28 °C, presentándose una pequeña disminución entre los meses de enero y abril. La reserva tiene una cobertura de 200 hectáreas con fragmentos de bosque que contienen una gran diversidad de especies. Las viviendas de los colonos están construidas básicamente con madera y están separadas unas de otras por

Correspondencia:

Rafael J. Vivero Gómez, Calle 62 N° 52 - 59, laboratorio 632, Medellín, Colombia

Teléfonos: (574) 219 6502 y (300) 678 6498

rjviverog@unal.edu.co

Recibido: 18/07/17; aceptado: 12/09/17

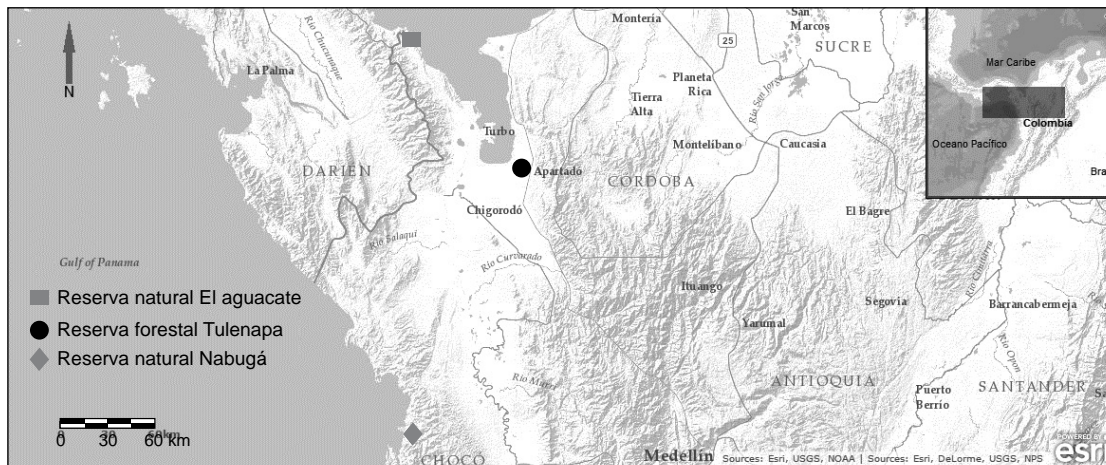


Figura 1. Localización geográfica de las áreas de estudio en los departamentos de Antioquia y Chocó.

Fuente del mapa: elaborado por ESRI, U.S. Geological Survey, USGS, National Oceanic and Atmospheric Administration, NOAA

parches forestales o cultivos de iraca que fragmentan el ambiente silvestre. La población estimada es de 100 habitantes.

La segunda zona de estudio correspondió al área conocida como reserva natural Nabugá ($6^{\circ}21'26,16''$ N, $77^{\circ}21'46,45''$ O), ubicada al noroccidente de Colombia, en el océano Pacífico norte, específicamente en Bahía Solano (Chocó) (figura 1). La zona está a 45 minutos de Bahía Solano, es estrictamente selvática y tiene una gran riqueza de fauna y flora, con un bajo grado de intervención o perturbación de las especies nativas vegetales. La temperatura promedio en Nabugá es de 26°C y la humedad relativa es de 91% (16).

Entre las actividades económicas de estas dos primeras áreas de estudio, se destaca el turismo ecológico, la agricultura y la ganadería en menor escala, así como la pesca deportiva y artesanal.

La tercera área de estudio está ubicada en el municipio de Carepa (Antioquia) y es conocida como la reserva forestal Tulenapa ($7^{\circ}45'42,10''$ N, $76^{\circ}39'22,57''$ O), la cual es una sede natural de estudios biológicos y alberga el Centro de Desarrollo Tecnológico del Darién de la Universidad de Antioquia (figura 1), con una extensión protegida de 193 hectáreas de bosque virgen no intervenido. Tulenapa es un área semiprotegida, de importancia para la vida silvestre, y presenta rasgos geológicos de especial interés para fines de conservación. La zona, localizada en la subregión del Urabá antioqueño, registra una temperatura promedio de 25°C y su humedad relativa es de 93% (17). La principal actividad económica de la región es la explotación intensiva de banano.

Recolección, procesamiento e identificación de flebotómíneos

Los muestreos entomológicos se hicieron durante tres días consecutivos. En Bahía Solano, se efectuaron entre el 5 y el 8 de mayo del 2012; en Acandí, entre el 2 y el 5 de noviembre de 2011, y en Carepa, del 3 al 6 de febrero de 2013.

Para la recolección se emplearon ocho trampas de luz CDC, activadas entre las 17:00 y las 06:00 h (18). También, se hizo búsqueda activa entre las 05:00 y las 10:00 horas con aspirador bucal para la recolección de adultos en reposo sobre raíces tabulares de árboles (18). También, se hizo recolección activa con trampas de luz Shannon durante tres horas en la noche (18).

Los flebotómíneos recolectados se conservaron a -20°C en viales de 1,5 ml debidamente codificados. Los individuos fueron procesados siguiendo el protocolo de montaje y aclaración propuesto por Young, *et al.* (19), en el cual se sumergen las estructuras de los adultos en una solución de lactofenol (proporción 1:1 de ácido láctico y fenol) durante 24 horas. En los montajes permanentes se empleó bálsamo de Canadá y, en los semipermanentes, láminas cóncavas con solución de lactofenol.

La determinación taxonómica de especies se basó en claves taxonómicas generadas a partir de los caracteres morfológicos del estado adulto (19-21). La recolección de los especímenes adultos se conservó en láminas portaobjetos y en alcohol etílico al 70% , y se mantiene en la Unidad de Entomología Médica del Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET,

de la Universidad de Antioquia. Se consultaron los estudios actuales sobre registros y distribución geográfica de flebotomíneos en los dos departamentos y en Colombia (2,14,15,22,23). Por último, se calculó el número absoluto y el porcentaje de individuos para cada especie, según el método de recolección y la localidad de muestreo.

Análisis genético de secuencias parciales del gen citocromo oxidasa I

Es necesario indicar que la extracción de ADN y los ensayos moleculares se hicieron exclusivamente para la verificación taxonómica de ejemplares adultos de *Lu. coutinhoi*, con la finalidad de confirmar su presencia en Colombia mediante un método complementario al análisis de caracteres morfológicos. El ADN se extrajo del tórax y los segmentos proximales del abdomen utilizando el protocolo de alta concentración de sales (24). El fragmento 5' del gen mitocondrial *COI* se amplificó con los iniciadores LCO1490 GGTCACAATCATAAAGATATTGG y HCO2198-TAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA, en las condiciones de reacción y con el perfil térmico previamente descritos (25). Los productos obtenidos se secuenciaron en ambos sentidos de la cadena de ADN.

Se estimó la variabilidad genética (sitios variables y distancias genéticas K2P) entre las secuencias del *COI* obtenidas de *Lu. coutinhoi* y las de otras especies del grupo *Aragaoi*. Se generó un dendrograma de distancias K2P con el método *neighbor joining* (NJ) para representar de forma gráfica el patrón de agrupamiento entre las distintas secuencias (26).

Lutzomyia coutinhoi presenta leves variaciones morfológicas en el aparato reproductor (*genitalia*) de los machos y gran similitud morfológica en el de las hembras, con respecto a otras especies del grupo *Aragaoi*. Aunque las claves actualizadas de Galati (21) permiten la diferenciación de estas especies, las cuales contemplan mediciones como la de los antenómeros, algunos caracteres, como la forma y la pigmentación del falo (*aedeagus*), la forma final de los filamentos genitales y la presencia de tufo de setas, son subjetivos.

Resultados

Se recolectaron 616 flebotomíneos adultos, la mayoría de ellos con las trampas CDC (n=585; 94,9 %), en tanto que, mediante búsqueda activa (n=10; 1,62 %) y con las trampas Shannon (n=16; 2,5 %), se recolectaron menos ejemplares (cuadro 1).

Se identificaron 21 especies distribuidas en los géneros *Lutzomyia*, *Brumptomyia* y *Warileya* (cuadro 1). El mayor número de especies se registró en la reserva natural El Aguacate. La especie más frecuente en esta reserva fue *Lu. carpenteri* (n=244; 45,9 %), en tanto que en las reservas naturales de Tulenapa y Nabugá, las más frecuentes fueron *Lu. serrana* (n=20; 44,4 %) y *Lu. reburra* (n=14; 40 %), respectivamente (cuadro 1).

En el registro de flebotomíneos obtenido en la reserva natural Nabugá (Bahía Solano), se destacó la especie *Lu. coutinhoi* (figura 2), hallazgo que permitió confirmar su presencia en Colombia (cuadro 1). Para consolidar este hallazgo, se analizaron los patrones morfológicos exhibidos principalmente por los machos y, para su confirmación taxonómica, se utilizaron secuencias parciales del marcador mitocondrial, el gen citocromo oxidasa I (*COI*), tanto en machos como en hembras. Previamente, Contreras, et al. (2), habían reportado las secuencias de nucleótidos del gen *COI*, pero no hicieron un análisis minucioso que validara la identidad de la especie y confirmara su presencia en Colombia.

El análisis genético de un fragmento de 527 nucleótidos del gen *COI* reveló 85 sitios variables de nucleótidos y 59 de aminoácidos en *Lu. coutinhoi* y *Lu. aragaoi* (figura 3a), consideradas las especies más cercanas y las que guardan mayor similitud morfológica. El número de sitios se mantuvo en el rango de variabilidad de nucleótidos de las otras especies del grupo *Aragaoi* contempladas en el estudio (*Lu. carpenteri*, *Lu. runoides*, *Lu. aragaoi*, *Lu. shannoni* y *Lu. aclydifera*).

Las distancias genéticas K2P entre *Lu. coutinhoi* y *Lu. aragaoi* fluctuaron entre 0,175 y 0,180, lo cual concuerda con el rango de distancias entre especies dentro del grupo *Aragaoi* (K2P: 0,128 a 0,183). El dendrograma de NJ fue consistente y se respaldó utilizando el método de remuestreo *bootstrap* (>99 %), y reflejó de manera clara la agrupación de secuencias del *COI* de *Lu. coutinhoi* con respecto a las demás especies (figura 3b).

Discusión

El inventario taxonómico de flebotomíneos de este estudio incluye un gran número de especies del género *Lutzomyia* de importancia en la transmisión de la leishmaniasis (*Lu. panamensis*, *Lu. trapidoi*, *Lu. gomezi*, *Lu. trinidadensis*, *Lu. hartmani*) (1), especialmente en ambientes rurales cercanos a reservas forestales asociadas con ecosistemas de bosque húmedo tropical (27-29). Entre los hallazgos más

Cuadro 1. Especies de los géneros *Brumptomyia*, *Lutzomyia* y *Warileya* recolectadas en las reservas naturales El Aguacate, Nabugá y Tulenapa, Colombia

Departamento	Departamento del Chocó				Departamento de Antioquia						Total por especie (%)
	Reserva natural				El Aguacate, Acandí		Tulenapa, Carepa				
Región	Pacífico				Darién Caribe		Urabá				
Método de recolección	Búsqueda activa		Trampa CDC		Trampa CDC		Trampa CDC		Trampa Shannon		
Especie	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	
<i>Lu. carpenteri</i>	-	-	-	-	74	164	2	4	-	-	244 (39,6)
<i>Lu. trapidoi</i> ⁺	-	1	1	-	45	89	2	1	-	-	139 (22,6)
<i>Lu. camposi</i>	-	-	-	-	39	9	3	1	1	-	53 (8,6)
<i>Lu. hartmani</i> ⁺	-	-	-	-	1	38	-	-	-	-	39 (6,3)
<i>Lu. gomezi</i> ⁺	-	-	3	-	13	13	-	-	-	-	29 (4,7)
<i>Lu. panamensis</i> ⁺	-	-	-	-	14	-	-	-	9	2	25 (4,1)
<i>Lu. serrana</i>	-	-	-	-	-	-	10	6	2	2	20 (3,2)
<i>Lu. sanguinaria</i> ⁺	-	-	-	-	9	10	-	-	-	-	19 (3,1)
<i>Lu. reburra</i>	-	-	7	7	-	-	-	-	-	-	14 (2,3)
<i>Lu. trinidadensis</i> ⁺	4	4	-	-	2	-	-	-	1	-	11 (1,8)
<i>Lu. barretoimajuscula</i>	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	6 (1)
<i>Lu. vespertilionis</i>	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	5 (0,8)
<i>Lu. coutinhoi</i>	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	3 (0,5)
<i>Lu. aclydifera</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1 (0,2)
<i>Lu. atroclavata</i> ⁺	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1 (0,2)
<i>Lu. shannoni</i> ⁺	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1 (0,2)
<i>Lu. triramula</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (0,2)
<i>Br. hamata</i>	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	2 (0,3)
<i>Br. mesai</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1 (0,2)
<i>Br. leopoldoi</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (0,2)
<i>Wa. nigrosaculus</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (0,2)
Total por sexo	4	6	14	15	205	326	17	12	12	4	616
Total por trampa (%)	10		25		531		29		16		

+ Vector comprobado o sospechoso de *Leishmania* spp. en América (según Bates, *et al.* (1); Maroli, *et al.* (5))

importantes se destaca, asimismo, la confirmación taxonómica de *Lu. coutinhoi* para Colombia. Por otra parte, la presencia de los géneros *Warileya* y *Brumptomyia*, frecuentemente asociados con una perturbación ambiental reducida, resulta útil para emplearlos como bioindicadores del estado natural de los ecosistemas (14,30,31).

Este es el primer reporte exploratorio de flebotómicos en la reserva natural y estación experimental Tulenapa, el cual abre la posibilidad de hacer futuros estudios biológicos más sistémicos y con mayor esfuerzo de muestreo. Todas las especies recolectadas ya han sido registradas para el departamento de Antioquia (2), y solo *Lu. panamensis* y *Lu. trinidadensis* revisten importancia médica (1,32).

La fauna de flebotómicos recolectada en la reserva El Aguacate en Acandí no evidenció diferencias sustanciales en cuanto a la riqueza de especies con respecto a estudios anteriores en la misma localidad (15). Sin embargo, sí hubo diferencias con respecto a la abundancia, pues fue menor la

de *Lu. panamensis* y mayor la de *Lu. trapidoi*, lo cual sugiere una alternancia estacional (abril Vs. noviembre) asociada con las épocas de recolección y con el efecto de las variables climáticas en las poblaciones de estos insectos vectores (33,34).

Este hallazgo sugiere que *Lu. trapidoi* puede pasar de ser un vector secundario a ser vector primario en ausencia de *Lu. panamensis*, lo cual es de importancia en salud pública porque la superposición de especies de vectores y la alternancia estacional implican una mayor complejidad en los ciclos de transmisión de la leishmaniasis (35). En este sentido, es necesario precisar que *Lu. trapidoi* es vector de *Leishmania braziliensis*, *L. panamensis* y *L. mexicana* en la región del Pacífico y en el valle del río Cauca, principalmente, mientras que *Lu. panamensis* es vector de *L. braziliensis* y *L. panamensis* en el valle del río Magdalena y la región del Darién (1,11). Lo anterior amerita la realización de estudios sobre la infección natural en las poblaciones de *Lu. trapidoi* en el municipio de Acandí, para validar su estatus de vector en la región de Urabá en Colombia.

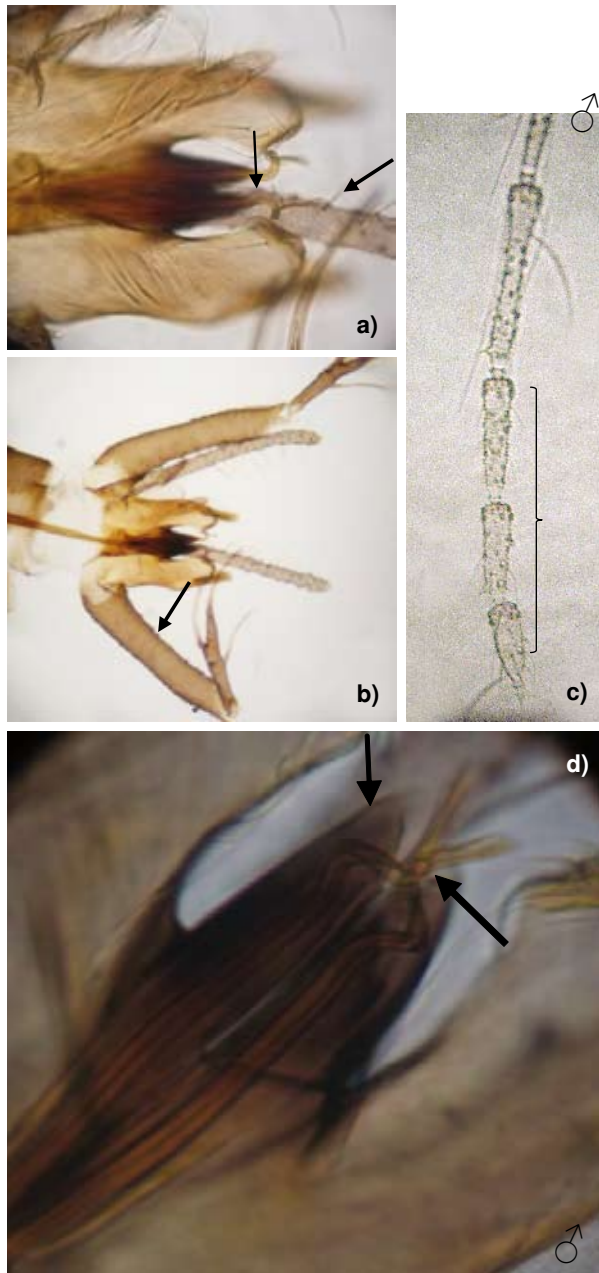


Figura 2. Estructuras morfológicas de interés (señaladas con flechas) del aparato reproductor (genitalia) externo e interno de machos de *Lutzomyia coutinhoi* (Mangabeira, 1942) y *Lu. aragaoi* Costa Lima 1932. *Lu. coutinhoi*: **a)** falo (*aedeagus*) y terminación en forma de espiral de filamentos genitales; **b)** ausencia de tufo distales en el gonocoxito; *Lutzomyia aragaoi*; **c)** ausencia de ascoides en los tres últimos flagelómeros; **d)** señalización de la forma del falo (*aedeagus*) y terminación de filamentos genitales (Microscopio Motic-40X/0,65).

En la reserva de Nabugá (Bahía Solano) también se recolectaron varias especies de importancia en la transmisión de *Leishmania* (*Lu. trapidoi*, *Lu. trinidadensis*, *Lu. gomezi*) (1), pero uno de

los principales hallazgos fue la recolección de ejemplares de *Lu. coutinhoi*, como confirmación de su presencia en Colombia.

Lutzomyia coutinhoi se había registrado únicamente en Brasil, Bolivia y Perú (19), y es una especie sin importancia epidemiológica. Las especies del grupo *Aragaoi* provenientes de diferentes localidades pueden presentar considerables variaciones en la forma, la longitud y la pigmentación de sus parámetros y del falo (*aedeagus*) (19,21). Sin embargo, presenta claramente un parámetro y un falo (*aedeagus*) alargados (este último relativamente más delgado), con filamentos genitales que se diferencian claramente en cuanto a la forma en que va el espiral (figura 2a) de especies del mismo grupo, como *Lu. aragaoi* (figura 2d). Galati (21) ubica esta especie en el género *Psathyromyia*, y sugiere la ausencia de tufo de setas distales en el gonocoxito (figura 2b) y el falo (*aedeagus*) en forma de cono, como caracteres diagnósticos en los machos. En las hembras, la longitud del flagelómero III (210 μm) es menor que en *Lu. aragaoi* (320 μm) (19,21). Otro rasgo distintivo es la ausencia de ascoides en los tres últimos flagelómeros, lo cual constituye uno de los caracteres diagnósticos de *Lu. coutinhoi* (21) (figura 2c).

El análisis genético complementario de las secuencias del *COI* fue más exhaustivo en este estudio, y permitió consolidar la identificación de *Lu. coutinhoi* y la agrupación de sus secuencias (dendrograma NJ, figura 3b) frente al resto de especies del grupo *Aragaoi*, como *Lu. aragaoi*, *Lu. carpenteri*, *Lu. runoides*, *Lu. shannoni* y *Lu. aclydifera* (figura 3b). Las distancias K2P entre especies concordaron con lo propuesto en diversos estudios para la diferenciación de especies de *Lutzomyia* (36), e indica un significativo polimorfismo de nucleótidos entre *Lu. coutinhoi* y *Lu. aragaoi* (figura 3a), especies estrechamente relacionadas. Es necesario hacer énfasis en que tres de las secuencias registradas en GenBank como *Lu. aragaoi* por Contreras, et al. (2), corresponden en realidad a *Lu. coutinhoi*.

En conclusión, el análisis integrador de los caracteres morfológicos y moleculares es indispensable para un registro más preciso de los inventarios de flebotomíneos (37), ya que las hembras de algunas especies carecen de caracteres morfológicos distintivos (38). Asimismo, es necesario llevar a cabo curadurías sistemáticas de las secuencias registradas en GenBank, sobre todo cuando provienen de áreas geográficas cuya diversidad es poco conocida.

a)

<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921229.1	C A T T A A T T G G T G A T G A C C A A A T T T A T A A T G T A A T T G T A A C T G C T C A T G C C T T T G T A A T A A T T T T T T T A T A G T T A T A C	[78]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921231.1	[78]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921230.1 C	[78]
KP763471.1 <i>Lutzomyia aragaoi</i> T T A A C A	[78]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921229.1	C T A T T A T A A T T G G G G G T T T G G A A A T T G A T T G G T T C C T T T A A T A T T A G G G G C C C T G A T A T A G C A T T C C C T C G A A T A A	[156]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921231.1 A	[156]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921230.1 A A G C T C C	[156]
KP763471.1 <i>Lutzomyia aragaoi</i> A A	[156]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921229.1	A T A A T A T A A G A T T T T G G C T T T A C C T C C T T T C T G T A T C C C T T T A C T A T C A A G A A G A A T G G T T G A A A C A G G A G C A G G A A	[234]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921231.1	[234]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921230.1	[234]
KP763471.1 <i>Lutzomyia aragaoi</i> T A T A C T G A T A C T A C G	[234]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921229.1	C A G G A T G A A C A G T T T A T C C A C C T T T A T C A A G A A A T A T T G C C C A T A G A G G G G C T T C T G T T G A T T T A G C A A T T T T T C A C	[312]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921231.1	[312]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921230.1 G	[312]
KP763471.1 <i>Lutzomyia aragaoi</i> C C C C T A	[312]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921229.1	T T C A T T T A G C A G G G A T T T C C T C T A T T C T T G G G G C A G T A A A C T T T A T C A C A A C T G T T A T T A A T A T A C G G T C A A C A G G A A	[390]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921231.1	[390]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921230.1	[390]
KP763471.1 <i>Lutzomyia aragaoi</i> A T A A T T C T C A A A T	[390]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921229.1	T T T C C T T A G A T C G T A T A C C T T T A T T T G T T T G A T C A G T T A T A A T T A C T G C T A T T T T A C T T T T A T T A T C T C T A C C A G T T C	[468]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921231.1	[468]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921230.1	[468]
KP763471.1 <i>Lutzomyia aragaoi</i> A A C A	[468]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921229.1	T T G C T G G A G C T A T T A C A A T A C T T T T A A C A G A C C G A A A T T T A A A T A C T A C T T T T T T G A C	[527]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921231.1	[527]
<i>Lutzomyia coutinhoi</i> KC921230.1	[527]
KP763471.1 <i>Lutzomyia aragaoi</i> A A A T A T G T A G C T T A C A T T T	[527]

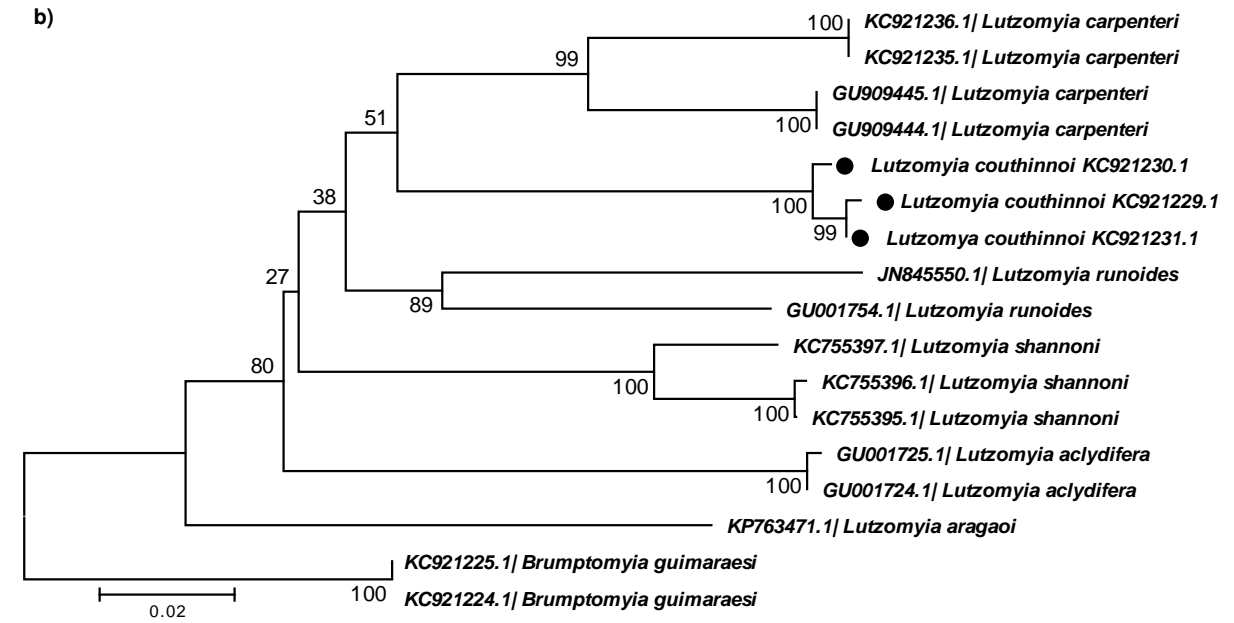


Figura 3. Confirmación taxonómica de *Lutzomyia coutinhoi* (Mangabeira, 1942) mediante el análisis de secuencias del gen *COI*. a) Secuencias parciales del gen *COI* de *Lutzomyia coutinhoi* Vs. *Lutzomyia aragaoi*; b) dendrograma de NJ con la agrupación de secuencias de *Lutzomyia coutinhoi* con respecto a especies hermanas del grupo *Aragaoi*

Se espera que este trabajo sea útil para los estudios epidemiológicos y que funcione como base para futuras investigaciones taxonómicas de especies del género *Lutzomyia* presentes en los municipios de Carepa, Acandí y Bahía Solano. Se sugiere, además, estudiar el estatus de infección natural por *Leishmania* spp. en las especies de *Lutzomyia* de importancia médica y en los reservorios silvestres de cada localidad.

El gran número de especies de vectores de leishmaniasis cutánea representa un factor de riesgo para la población humana que interactúa de forma

constante o esporádica con estos ambientes selváticos en los municipios de Acandí, Carepa y Bahía Solano.

Agradecimientos

A Jovany Barajas (PECET, Universidad de Antioquia), por su ayuda en la recolección de flebotómicos en la reserva Nabugá, Bahía Solano. A los pobladores locales que permitieron y facilitaron las visitas de campo para la recolección de los flebotómicos.

Conflicto de intereses

No existen conflictos de intereses.

Financiación

Grupo de Investigación en Sistemática Molecular y Biología de Insectos, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín; Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, Universidad de Antioquia, Medellín.

Referencias

- Bates PA, Depaquit J, Galati EA, Kamhawi S, Maroli M, Mcdowell MA, et al. Recent advances in phlebotomine sand fly research related to leishmaniasis control. *Parasit Vectors*. 2015;8:131. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0712-x>
- Contreras-Gutiérrez MA, Vélez ID, Porter CH, Uribe SI. Lista actualizada de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) de la región cafetera colombiana. *Biomédica*. 2014;34:483-98. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i3.2121>
- Dantas-Torres F, Tarallo VD, Latrofa MS, Falchi A, Lia RP, Otranto D. Ecology of phlebotomine sand flies and *Leishmania infantum* infection in a rural area of southern Italy. *Acta Trop*. 2014;137:67-73. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.04.034>
- Sharma U, Singh S. Insect vectors of *Leishmania*: Distribution, physiology and their control. *J Vector Borne Dis*. 2008;45:255-72.
- Maroli M, Khoury C. Current approaches to the prevention and control of leishmaniasis vectors. *Vet Res Commun*. 2006;30:49-52.
- Nieves E, Oraá L, Rondón Y, Sánchez M, Sánchez Y, Rujano M, et al. Distribution of vector sandflies leishmaniasis from an endemic area of Venezuela. *J Trop Dis Public Health*. 2015;3. <https://doi.org/10.4172/2329-891X.1000157>
- Teixeira C, Gomes R, Collin N, Reynoso D, Jochim R, Oliveira F, et al. Discovery of markers of exposure specific to bites of *Lutzomyia longipalpis*, the vector of *Leishmania infantum chagasi* in Latin America. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4:e638. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000638>
- Bejarano EE, Sierra D, Vélez ID. Novedades en la distribución geográfica del grupo verrucarum (Diptera: Psychodidae) en Colombia. *Biomédica*. 2003;23:341-50. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v23i3.1228>
- Armed Forces Pest Management Board. Sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): Significance, surveillance, and control in contingency operations. *Armed Forces Pest Manag Board*. 2015;49:72.
- Instituto Nacional de Salud. Semana epidemiológica número 45. Bogotá: INS; 2015. Fecha de consulta: 15 de diciembre de 2015. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Paginas/vigilancia-rutinaria.aspx>.
- Duque P, Vélez I, Morales M, Sierra D. Sand flies fauna involved in the transmission of cutaneous leishmaniasis in Afro-Colombian and Amerindian communities of Chocó, Pacific Coast of Colombia. *Neotrop Entomol*. 2004;33:255-64. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2004000200018>
- Ovalle CE, Porras L, Rey M, Ríos M, Camargo YC. Distribución geográfica de especies de *Leishmania* aisladas de pacientes consultantes al Instituto Nacional de Dermatología Federico Lleras Acosta, E.S.E., 1995-2005. *Biomédica*. 2006;26:145-51. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1508>
- Corredor A, Kreutzer RD, Tesh RB, Boshell J, Paláu MT, Cáceres E, et al. Distribution and etiology of leishmaniasis in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 1990;42:206-14. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1990.42.206>
- Vivero RJ, Muskus CE, Uribe SI, Bejarano EE, Torres C. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) en la reserva natural del cañón del río Claro (Antioquia), Colombia. *Actual Biol*. 2010;32:165-71.
- Vivero R, Muskus C, Torres C. Fauna of Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) in Acandí (Chocó, Colombia). *Acta Biol Colomb*. 2011;16:209-17.
- Rangel O, Arellano P. Clima del Chocó biogeográfico/Costa Pacífica de Colombia. En: Rangel O, editor. *Diversidad Biótica IV*. Bogotá: Universidad Nacional; 2004. p. 39-82.
- Espinal LS. Geografía ecológica del departamento de Antioquia (zonas de vida (formaciones vegetales) del departamento de Antioquia). *Fac Nac Agron*. 1964;24:24-32.
- Alexander B. Sampling methods for phlebotomine sand flies. *Med Vet Entomol*. 2000;14:109-22. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00237.x>
- Young DG, Duncan M. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *J Biol Sci*. 1994;14:79-94.
- Ibáñez-Bernal S. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de México. VI. Clave ilustrada para la identificación de las hembras de *Lutzomyia*, França. *Folia Entomol Mex*. 2005;44:195-212.
- Galati EA. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) Classificação, morfologia, terminologia e identificação de adulto. En: Rangel EF, Lainson R, editor. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2016. p. 367.
- Bejarano EE, Uribe SI, Pérez-Doria A, Egurrola J, Dib JC, Porter CH. New records of Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) at Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *Acta Biol Colomb*. 2015;20:221-4.
- Estrada LG, Aponte OA, Bejarano EE. New records of species of *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) from the department of Cesar, Colombia. *Acta Biol Colomb*. 2015;20:225-8.
- Vivero RJ, Contreras-Gutiérrez MA, Bejarano EE. Análisis de la estructura primaria y secundaria del ARN de transferencia mitocondrial para serina en siete especies de *Lutzomyia*. *Biomédica*. 2007;27:429-38. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i3.205>
- Hebert P, Cywinska A, Ball S, DeWaard J. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci*. 2003;270:313-21. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hajibabaei M, Singer GA, Hebert PD, Hickey DA. DNA barcoding: How it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends Genet*. 2007;23:167-72. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.02.001>
- Dutari LC, Loaiza JR. American cutaneous leishmaniasis in Panamá: A historical review of entomological studies on anthrophilic *Lutzomyia* sand fly species. *Parasit Vectors*. 2014;7:218. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-218>

28. **Le Ponti F, León R, Guerrini F, Gantier JC, Mouchet J, Echeverría R, et al.** Leishmaniasis in Ecuador: *Lutzomyia trapidoi*, vector of *Leishmania panamensis*. *Ann Soc Belg Med Trop.* 1994;74:23-8.
29. **Saldaña A, Chaves LF, Rigg CA, Wald C, Smucker JE, Calzada JE.** Clinical cutaneous leishmaniasis rates are associated with household *Lutzomyia gomezi*, *Lu. panamensis*, and *Lu. trapidoi* abundance in Trinidad de Las Minas, Western Panamá. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;88:572-4. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.12-0579>
30. **Barreto M, Burbano ME.** New geographic records of *Warileya* and *Brumptomyia* (Diptera : Psychodidae) in South Western Colombia. *Acta Biol Col.* 2007;12:143-8.
31. **Vivero RJ, Bejarano EE, Castro M, Vélez A, Pérez JE, Pérez-Doria A, et al.** Trece registros nuevos de *Lutzomyia* (Diptera : Psychodidae) para el departamento de Vichada, Orinoquia colombiana. *Biota Neotrop.* 2010;10:401-4.
32. **Salomon O.** Vectores de leishmaniasis en Las Américas. *Gazeta Médica da Bahia.* 2009;79:3-15.
33. **Montoya-Lerma J, Cadena H, Oviedo M, Ready PD, Barazarte R, Travi BL, et al.** Comparative vectorial efficiency of *Lutzomyia evansi* and *Lu. longipalpis* for transmitting *Leishmania chagasi*. *Acta Trop.* 2003;85:19-29. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(02\)00189-4](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(02)00189-4)
34. **Souza NA, Andrade-Coelho CA, Vilela ML, Peixoto AA, Rangel EF.** Seasonality of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), occurring sympatrically in area of cutaneous leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002;97:759-65. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000600001>
35. **Ferro C, López M, Fuya P, Lugo L, Cordovez JM, González C.** Spatial distribution of sand fly vectors and eco-epidemiology of cutaneous leishmaniasis transmission in Colombia. *PLoS One.* 2015;10:1-16.
36. **Gutiérrez MA, Vivero RJ, Vélez ID, Porter CH, Uribe S.** DNA barcoding for the identification of sand fly species (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in Colombia. *PLoS One.* 2014;9:e85496. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085496>
37. **Island C, Azpurua J, Cruz DD, Valderrama A, Windsor D.** *Lutzomyia* sand fly diversity and rates of infection by *Wolbachia* and an exotic *Leishmania* species on Barro Colorado Island, Panamá. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4:e627. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000627>
38. **Kuwahara K, Kato H, Gómez EA, Uezato H, Mimori T, Yamamoto Y, et al.** Genetic diversity of ribosomal RNA internal transcribed spacer sequences in *Lutzomyia* species from areas endemic for New World cutaneous leishmaniasis. *Acta Trop.* 2009;112:131-6. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.07.010>