



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Biblioteca Digital FCEN-UBA

Eco-epidemiología de vectores de *Leishmania* spp. en el noreste de la Argentina (Provincia de Misiones)

Fernández, María Soledad
2012

Tesis Doctoral

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires

www.digital.bl.fcen.uba.ar

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Fuente / source:

Biblioteca Digital de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad De Ciencias Exactas Y Naturales

"Eco-epidemiología de vectores de *Leishmania* spp. en el noreste de la Argentina (Provincia de Misiones)".

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Ciencias Biológicas.

María Soledad Fernández

Director: Dr. O. Daniel Salomón

Consejera de Estudios: Dra. María Busch

Lugar de Trabajo: Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación en Endemio-epidemias (CeNDIE).

Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Carlos G. Malbrán".

Paseo Colón 568. Ciudad de Buenos Aires.

Buenos Aires, 2012

"Eco-epidemiología de vectores de *Leishmania* spp. en el noreste de la Argentina (Provincia de Misiones)".

La leishmaniasis es una enfermedad de transmisión vectorial producida por parásitos tripanosomatídeos del género *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), los vectores involucrados son flebótomos (Díptera: Psychodidae: Phlebotominae) y los reservorios son mamíferos. En nuestro país el ser humano es considerado un hospedador accidental. En Misiones (noreste de la Argentina), donde se realizó esta tesis, se registran casos de leishmaniasis tegumentaria (LT) y leishmaniasis visceral (LV). El trabajo se llevó a cabo en dos áreas: 1) un área endémica de LT, en una zona de chacras ubicada en un frente de deforestación al sur de la ciudad de Puerto Iguazú donde se registró un brote en los años 2004-2005, con *Nyssomyia whitmani* como vector de *Leishmania braziliensis* y con reservorio desconocido; y 2) en un foco de LV (ciudad de Posadas), donde se registró el primer caso humano en el país (2006), con *Lutzomyia longipalpis* como vector de *L. infantum* (*syn chagasi*) y el perro doméstico como reservorio. Para el área endémica de LT se realizaron estudios de la composición de la comunidad de vectores en el tiempo y entre ambientes dentro de las chacras, relacionando a los flebótomos con variables climáticas y ambientales. Además se estudió el papel de los micromamíferos como potenciales reservorios de *Leishmania* spp. Para la ciudad de Posadas, se describió la distribución de *Lu. longipalpis* y sus cambios en el tiempo y se relacionó la abundancia con variables ambientales. Para ambos escenarios se encontró que la abundancia de los vectores estaría explicada al menos en parte por variables ambientales (principalmente relacionadas con la cobertura vegetal y la abundancia de animales silvestres y/o domésticos) y en el caso del escenario de transmisión de LT se encontró asociación positiva con variables climáticas (temperatura, precipitación). La abundancia de vectores se asoció con la de micromamíferos, sin embargo no se encontró evidencia suficiente para incriminarlos como reservorios. La distribución espacial de vectores resultó heterogénea en ambos escenarios, en la ciudad de Posadas se encontró un patrón de islas de alta abundancia de vectores, incrementándose la abundancia del vector entre los años 2007 y 2009. Para ambos escenarios (LT y LV) se recomienda alejar sitios de cría y dormitorios de animales domésticos de la vivienda y de la ceja de monte (LT) cuando corresponda y reforzar cuidados de protección personal y tenencia responsable de mascotas (LV) en situaciones de riesgo donde exista mayor probabilidad de contacto hombre-vector, siendo la primavera y el verano las estaciones de mayor abundancia de los vectores.

Palabras claves: vectores, *Leishmania* spp., ambiente rural, ambiente urbano, distribución espacial, distribución temporal, reservorios silvestres.

“Eco-epidemiology of vectors of *Leishmania* spp. in northeastern Argentina (Province of Misiones).”

Leishmaniasis is a vector-borne disease caused by parasites of the genus *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), sandflies are the vectors involved (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and mammals are the reservoirs. In our country the man is considered an accidental host. In Misiones (northeastern Argentina), where this thesis were performed, tegumentary leishmaniasis (TL) and visceral leishmaniasis (VL) were recorded. This work was carried out in two areas: 1) an intense deforested area endemic of LT, composed by farms, in the south of the city of Puerto Iguazú where an outbreak took place in 2004-2005, with *Nyssomyia whitmani* as a vector of *Leishmania braziliensis* and unknown reservoir, and 2) in a focus of VL (Posadas), where the first case were recorded for the country (2006), with *Lutzomyia longipalpis* as vector and the domestic dog as reservoir. For the LT endemic area studies of the sandfly community were conducted along the time and between habitats within the farms, relating sandflies with climatic and environmental variables. In addition we studied the role of small mammals as potential reservoirs of *Leishmania* spp. In the city of Posadas, the distribution of *Lu. longipalpis* and its changes over time and abundance were related to environmental variables. For both scenarios it was found that the abundance of vectors would be explained at least partially by environmental variables (mainly related to vegetation cover and abundance of wildlife and /or domestic animals) and in the case of the LT scenario it was found a positive association between vectors and climatic variables (temperature, precipitation). The abundance of vectors was associated with small mammals, but it was not found enough evidence to incriminate them as reservoirs. The spatial distribution of vectors was heterogeneous in both scenarios and in the city of Posadas it was found vectors concentrated in limited ‘islands’ of high abundance, and that the vector abundance increased between 2007 and 2009. For both scenarios (TL, VL, LV) is recommended to remove resting and breeding sites of domestic animals near the house and the forest edge (TL) where it is appropriate and enhance protective care and responsible pet ownership (VL) at risk situations where there is greater probability of man-vector contact, being the spring and summer the seasons of greatest abundance of vectors.

Keywords: vectors, *Leishmania* spp., rural environmental, urban environmental, spatial distribution, temporal distribution, wilds reservoirs.

Los resultados de este trabajo de tesis han sido publicados parcialmente en los siguientes artículos:

Salomón OD, Quintana MG, Mastrángelo A y Fernández MS. Leishmaniasis and climate change: Case Study – Argentina. *Journal of Tropical Medicine*, *en prensa*.

Fernández MS, Salomón OD, Cavia R, Pérez AA, Acardi SA, Guccione JD. *Lutzomyia longipalpis* spatial distribution and association with environmental variables in an urban focus of visceral leishmaniasis, Misiones, Argentina. 2010. *Acta Trop.* 114 (81-87).

Salomón OD, Andrade Filho JD, Fernández MS, Rosa JR, Szelag EA, Santini MS. - *Nuevos registros de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) para la Argentina*. 2010. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 69: 261-265.

Quintana MG, Fernández MS, Salomon OD. Distribution and abundance of Phebotominae, vectors of leishmaniasis, in Argentina: Spatial and temporal analysis at different scales. *Journal of Tropical Medicine*. 2012. *J Trop Med*. Published online 2012 January 19. doi: 10.1155/2012/652803.

Fernández MS, Lestani E, Cavia R, Salomón OD. Phlebotominae fauna in a recent deforested area with American Tegumentary Leishmaniasis transmission (Puerto Iguazú, Misiones, Argentina): seasonal distribution in domestic and peridomestic environments. *Acta Trop.* 2012; 122:16-23

Agradecimientos

A Daniel y María. Daniel gracias por todo lo que me enseñaste. No podría enumerar las infinitas cosas que aprendí en estos 6 años trabajando a tu lado, en especial quiero destacar tu paciencia para enseñarme a determinar flebotomos y la confianza que me transmitiste para llevar adelante cada etapa del trabajo. Gracias por hacer que siempre vaya a trabajar contenta y con ganas de volver al día siguiente. María, haberme acompañado enriqueció mi trabajo y siempre que necesité me ayudaste. Gracias por tus críticas constructivas al trabajo realizado.

A Eduardo, Jimena y Soraya. Excelentes compañeros de campo, y amigos.

A Adriana Pérez y Regino Cavia. Siempre estuvieron dispuestos a ayudarme. Sus conocimientos estadísticos y de SIG enriquecieron mi formación. Gracias a ambos, me alegra que sean parte de mi trabajo.

A mis compañeros redilos (de oeste a este): Gaby, Denise, Cristina, Juan, Enrique, Matías, Soles, Nacho, Mariana, Mariela, Lucrecia, Euge, Pablo, Daniel, Pablo, Andrea, Sori y los Posadeños, Edu, y todos los que vendrán. Por compartir discusiones, análisis de datos, resultados, escritura de trabajos, muestreos, el trabajo de laboratorio, en fin... y a los cendies, desde Soles hasta Daniel, además, por soportarme todos los días, cosa que no es poco.

A mis compañeros del laboratorio de ecología de poblaciones FCEyN-UBA, 63, 106bis y 104. Ellos fueron parte de mi formación como bióloga desde que era estudiante y continúan siéndolo. Gerardo, gracias por darme una mano con análisis multivariado y Vicky, gracias por acompañarme al campo en una oportunidad.

A mis compañeros de biome: Adriana, Gerardo, Fernando, Julieta, Adelia, Gaby, y todas l@s helpers. La docencia enriqueció mi trabajo de investigación y viceversa. No me imagino un trabajo sin el otro.

A los chacrereros de "las 2000" por recibirme y permitirme trabajar en campo. Por el respeto y cariño mutuo que se generó después de tantos viajes.

A la Fundación Mundo Sano, quienes apoyaron el trabajo de campo realizado en Puerto Iguazú, y a los integrantes de la sede Iguazú. A Pablo Teta y David Flores por la ayuda en la determinación sistemática de los roedores y comadrejas.

A todos mis compañeros de grado, posgrado, docentes e investigadores que contribuyeron a mi formación e hicieron posible que hoy esta tesis se esté presentando.

A los amigos que siempre están.

A la familia grande, los Fernández y también a los Turjanski.

A la familia chica, a Maite, por tantas sonrisas, y a Pol, *San Pol*.

Este trabajo contó con financiamiento parcial de FOCANLIS (ANLIS, Dr. Carlos G Malbrán), CONICET y Fundación Mundo Sano.

Esta tesis está dedicada a todos aquellos que trabajan para que la educación sea universal, pública, libre y gratuita.

Índice

Abreviaturas.....	10
Capítulo 1. Introducción general	11
1.1. Eco-epidemiología de la Leishmaniasis	11
1.1.1. Agentes etiológicos	13
1.1.2. Vectores	14
1.1.3. Reservorios	17
1.2. Situación de la leishmaniasis en el mundo	20
1.2.1. Incidencia	20
1.2.2. Control.....	22
1.2.3. Leishmaniasis y cambio climático.....	23
1.3. Escenarios de transmisión y situación de las leishmaniasis en Argentina	24
1.3.1. Leishmaniasis tegumentaria	24
1.3.2. Leishmaniasis visceral.....	25
1.4. Consideraciones finales	27
Objetivo general	29
Capítulo 2. Eco-epidemiología de vectores de <i>Leishmania</i> spp. en un área endémica de leishmaniasis tegumentaria, noreste de la provincia de Misiones.	30
2.1. Introducción.....	30
2.2. Área de estudio	32
2.3. Variaciones temporales en la abundancia de flebótomos en el ambiente doméstico y peridoméstico.	34
2.3.1. Materiales y Métodos.	34
2.3.2. Resultados.....	36
2.3.3. Discusión	42
2.4. Variaciones estacionales en la abundancia de flebótomos en el ambiente peridoméstico y bordes de parches de vegetación remanente.	45
2.4.1. Materiales y Métodos.	45
2.4.2. Resultados.....	47
2.4.3. Discusión	58
2.5. Estudio de la comunidad de micromamíferos como potenciales reservorios de <i>Leishmania</i> spp.	62
2.5.1. Materiales y Métodos	62
2.5.3. Resultados.....	65
2.5.3. Discusión	68

Capítulo 3. Distribución espacial y variación temporal de <i>Lutzomyia longipalpis</i> en el ambiente urbano, ciudad de Posadas, Misiones.	70
3.1. Introducción.....	70
3.2. Área de estudio	72
3.3. Distribución espacial de <i>Lutzomyia longipalpis</i> en un foco urbano de leishmaniasis visceral y su relación con variables ambientales.	73
3.3.1. Materiales y Métodos.	73
3.3.2. Resultados.....	77
3.3.3. Discusión	81
3.4. Variación temporal de la distribución de la abundancia de <i>Lutzomyia longipalpis</i> (años 2007-2009) en la ciudad de Posadas, Misiones.	85
3.4.1. Materiales y Métodos.	85
3.4.2. Resultados.....	89
3.4.3. Discusión	91
Capítulo 4. Conclusiones generales y trabajos futuros.....	95
Referencias bibliográficas	100

Abreviaturas

LT	leishmaniasis tegumentaria
LV	leishmaniasis visceral
LC	leishmaniasis cutánea
LM	leishmaniasis mucosa
OMS / WHO	Organización Mundial de la Salud (World Health Organization)
Indec	Instituto Nacional de Estadísticas y Censos
IGM	Instituto Geográfico Militar
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction)
RFLP	Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (Restriction Fragment Length Polymorphism)
2000ha	2000 hectáreas
AVAD	Años de vida ajustados por discapacidad
IDR	Índice de densidad relativa
GLM	Modelos lineales generalizados
ACP	Análisis de componentes principales
RDA	Análisis de redundancia

Capítulo 1. Introducción general

1.1. Eco-epidemiología de la Leishmaniasis

El término leishmaniasis se utiliza para denominar a un conjunto de manifestaciones clínicas producidas por diferentes agentes etiológicos, todos ellos parásitos tripanosomatídeos pertenecientes al género *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). Esta enfermedad es de transmisión vectorial: requiere de un hospedador intermedio. El vector involucrado en todos los casos es un insecto díptero del grupo de los flebotominos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). El hombre contrae la enfermedad cuando es picado por una hembra que previamente picó a un animal infectado. Los reservorios, mamíferos que mantienen al agente etiológico en la naturaleza, son conocidos sólo para algunas especies de *Leishmania* y/o en algunos escenarios de transmisión particulares [1] (**Figura 1.1**).

En una primera gran clasificación de las leishmaniasis, encontramos a las leishmaniasis del viejo mundo (África, Asia y Europa) y las del nuevo mundo (América). En cada región del planeta, esta enfermedad tiene diferentes características clínicas (manifestaciones clínicas, adquisición de inmunidad, etc.) y ecológicas (agentes etiológicos, vectores, reservorios y escenarios de transmisión).

Utilizando como criterio el papel que cumple el ser humano en el ciclo de las leishmaniasis, podemos hacer otra división en dos grandes grupos: leishmaniasis zoonóticas, en las cuales los reservorios son animales silvestres, comensales o domésticos y leishmaniasis antroponóticas, en donde el reservorio es el ser humano [2].

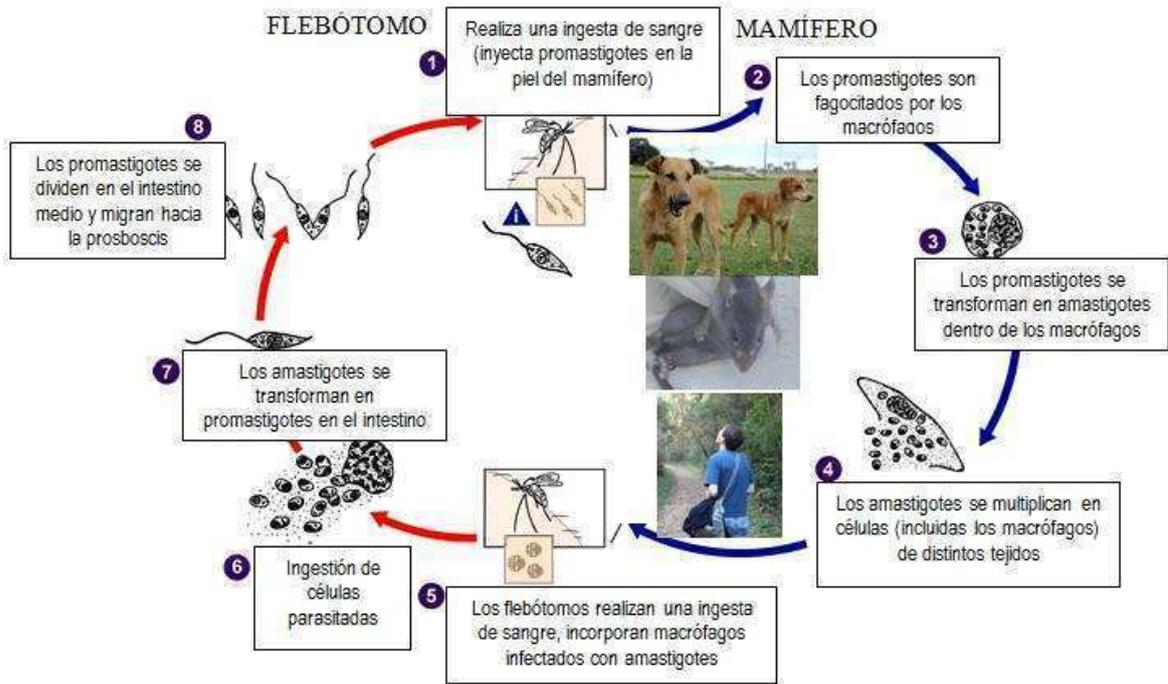


Figura 1.1. Ciclo de transmisión de la Leishmaniasis (adaptado de “Centre for diseases control and prevention – CDC-, <http://www.cdc.gov/>). No todos los mamíferos (silvestres, comensales, domésticos, e incluso el hombre) contraen la enfermedad y/o funcionan como reservorios: esto es dependiente del agente etiológico, de la especie del vector involucrado y de los escenarios de transmisión.

La ecología estudia la interacción entre los seres vivos (individuos, poblaciones, comunidades) y el ambiente. La epidemiología es el estudio del comportamiento de las enfermedades dentro de las poblaciones de hospedadores y de los factores bióticos y abióticos que la determinan [3]. Una enfermedad suele no tener una única causa y los determinantes que la producen son múltiples y pertenecen a distintos niveles de organización. El conocimiento de estos determinantes tiene implicancias en la prevención y el control de la enfermedad [4] [5]. La eco-epidemiología de la leishmaniasis hace referencia al estudio de las influencias ecológicas sobre la distribución en tiempo y espacio de esta enfermedad en el hombre a diferentes escalas, incluyendo a su vez la dimensión cultural. Los atributos de las comunidades y poblaciones de insectos vectores y de reservorios (p.e.: riqueza, diversidad, abundancia), su distribución y fluctuaciones poblacionales observadas en el tiempo y en el espacio, contribuyen a comprender la distribución de casos humanos (probabilidad de contacto hombre-vector en tiempo y espacio) de leishmaniasis, en distintos escenarios donde se han reportado casos en nuestro país.

En la Argentina, las leishmaniasis son consideradas enfermedades emergentes^a y tiene origen zoonótico. Las dos manifestaciones clínicas presentes son la leishmaniasis visceral y la leishmaniasis tegumentaria, esta última incluye a la leishmaniasis cutánea y la leishmaniasis mucosa. La forma cutánea produce lesiones que, según la especie de *Leishmania* de que se trate, pueden llegar a resolverse espontáneamente, persistir o con el tiempo provocar recidivas o LM. La LT es una enfermedad que produce un alto costo social ya que los pacientes que no reciben tratamiento adecuado pueden tener lesiones mutilantes que afectan su vida social y su capacidad productiva. La LV, es la forma más grave de esta enfermedad, y afecta en forma sistémica diferentes órganos, usualmente con hepato y esplenomegalia. Cuando tiene manifestaciones clínicas polisintomáticas si no se trata adecuadamente resulta fatal en más del 90% de los casos humanos, y en América mantiene una tasa de letalidad superior al 6% aún con tratamiento [2], siendo en Argentina de aproximadamente el 8% (Gould, comentario personal).

En las siguientes secciones de la introducción, se describirán los agentes etiológicos, vectores, reservorios y escenarios de transmisión. Si bien en muchos casos las descripciones son generales y se refieren a todo el espectro de las leishmaniasis a nivel mundial, los ejemplos y descripciones particulares hacen referencia a las leishmaniasis del nuevo mundo, en particular a las de la región del Cono Sur de América y en particular de la Argentina (ver referencias bibliográficas).

1.1.1. Agentes etiológicos

El parásito causal de la enfermedad es un tripanosomatídeo del género *Leishmania*. Actualmente este género se divide en dos subgéneros: *Leishmania* y *Viannia*. Se reconocen al menos 29 especies de *Leishmania* spp. en el mundo [2], asociadas a distintas patologías en humanos. Estas son principalmente las leishmaniasis visceral, cutánea, mucosa, mucocutánea y cutánea difusa, cada una de ellas descritas por diferentes cuadros clínicos, capacidad de generar o no inmunidad, tasas de incidencia, mortalidad y morbilidad^b, escenarios de contagio [1] [2] [6] [7] [8].

En la Argentina, se han aislado cuatro especies de *Leishmania* a partir de casos humanos: *Leishmania (Viannia) braziliensis* [9] [10] [11] [12], *L. (Leishmania)*

^a Para ser clasificada como emergente, una enfermedad tiene que aparecer por primera vez, aumentar su incidencia o ser reportada para nuevas áreas o poblaciones [180].

^b Hace referencia a la proporción de personas que se enferman en un lugar en un período de tiempo determinado en relación a la población total de ese lugar.

amazonensis [10]; *L. (Viannia) guyanensis* [11] [13], las tres especies asociadas a leishmaniasis cutánea, y *L. infantum* (*syn. chagasi*), responsable de la LV [14] [15]. También se ha aislado *L.(Viannia) braziliensis* a partir de vectores involucrados en distintos escenarios de transmisión [12] [13] [16] y *L. infantum*, a partir de vectores y reservorios [17]. *L. braziliensis* y *L. infantum* son las responsables de la mayor parte de los casos en el país, de LT y LV respectivamente. Los aislados de *L. amazonensis* hasta el momento se encuentran restringidos a un área de la provincia de Salta con fluido tránsito con Bolivia, y los escasos registros de *L. guyanensis* requieren aún de una caracterización epidemiológica más precisa.

1.1.2. Vectores

Los flebótomos son vectores de algunos agentes etiológicos que producen enfermedades tanto en humanos como en animales, como los protozoarios del género *Leishmania*, otros tripanosomatídeos, bacterias del género *Bartonella* y una gran cantidad de arbovirus [18] [19].

Los parásitos tripanosomatídeos del género *Leishmania*, son transmitidos a los mamíferos (incluido el hombre), a partir de la picadura de una hembra infectada perteneciente a ciertas especies de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae).

Este díptero mide entre 2 y 3 mm en estado adulto y su ciclo de vida se completa con tres estadios más: huevos, larvas (I-IV) y pupas (**Figura 1.2**). El ciclo de vida completo dura alrededor de 45 días. En estudios efectuados en colonias experimentales se han registrado rangos que varían desde los 26 a 56 días a partir del huevo hasta la eclosión de los adultos, o de 59 a 121 días considerando el ciclo completo, dependiendo de la especie, de los recursos disponibles y de las condiciones de humedad y temperatura en el ambiente y sustrato [20, 21, 22]. Se ha registrado que en condiciones de temperatura por encima de las consideradas óptimas por ensayos de laboratorio para la mayoría de las especies neotropicales (25^o-27^o) el ciclo biológico se completa de manera más rápida; y a medida que la temperatura disminuye el ciclo se torna más lento [18]. En relación a la humedad, se han obtenido resultados de ciclos completos en colonias experimentales trabajando con una humedad relativa de alrededor del 80% [20], siendo que la mayoría de las especies neotropicales no sobreviven en condiciones de humedad relativa menores al 50% [18]. Los huevos son colocados en tierra húmeda o materia orgánica no anegada, en condiciones de sombra. Las larvas sufren tres mudas (larvas I a IV) antes de pasar a pupa a partir de la cual emerge el adulto. Una vez producida la muda imaginal, la hembra tarda entre 1

y 4 días en hacer su primera ingesta de sangre y de 3 a 10 días después realiza la primera ovipostura, que pueden llegar a ser de hasta alrededor de 100 huevos [23], pero con un amplio rango de variación [20]. La longevidad de los adultos en condiciones naturales es prácticamente desconocida, pero estudios de laboratorio han demostrado que en condiciones controladas pueden vivir entre 20 y 30 días [18].

Los adultos vuelan generalmente al atardecer y al amanecer en búsqueda de alimento. Normalmente no vuelan más de 200 metros [23] con un promedio de 60 metros [19] y las especies asociadas a ambientes modificados por el hombre tienen mayor radio de vuelo que las especies asociadas a ambientes silvestres, como son los bosques [18] [19]. Durante el día se encuentran en sitios oscuros, relativamente frescos respecto al ambiente externo, húmedos, templados, que no presenten cambios bruscos de condiciones, como por ejemplo cuevas de animales o huecos de árboles [2] [18] [23], y para las especies que invaden los domicilios y peridomicilios humanos sus refugios se encuentran generalmente dentro de estos límites, en corrales de animales, como chiqueros y gallineros [18].

En la naturaleza se alimentan del néctar de flores, frutos y otros azúcares vegetales y de áfidos. Sólo las hembras se alimentan de sangre, requiriendo en la mayoría de las especies al menos una ingesta para el desarrollo de los huevos, hematofagia que les permite intervenir en la transmisión de la leishmaniasis [2] [18] [23]. Se ha registrado que el número de huevos producidos está relacionado de manera directa con la cantidad de sangre ingerida [24]. Muy pocas especies son capaces de reproducirse sin la necesidad de ingerir sangre (autogenia) y sólo en una cavernícola se ha descrito la partenogénesis [2, 18]. Algunas especies de flebotominos son especie-específicas con la especie de vertebrado de la que realizan la ingesta de sangre, aunque usualmente son más generalistas, pudiendo ingerir sangre de varias especies de mamíferos [18]. Por ello el radio de vuelo, en ambientes domésticos y peridomésticos, está condicionado por la oferta y distribución de fuentes de alimento [2]. Entre otros estímulos que atraen a los flebotomos hasta su hospedador, se ha descrito a la temperatura y al olor corporal [18]. A diferencia de otros nematócera hematófagos, tanto machos como hembras son atraídos al hospedador vertebrado, generalmente llegando los machos primero y atrayendo a las hembras con las que copulan luego que estas se alimentan.

La relación vector-parásito suele ser especie-específica, mediada por moléculas específicas (lipofosfoglicanos), aunque también existirían vectores permisivos donde las uniones serían por carga (terminales hidroxilo) [25] [26]

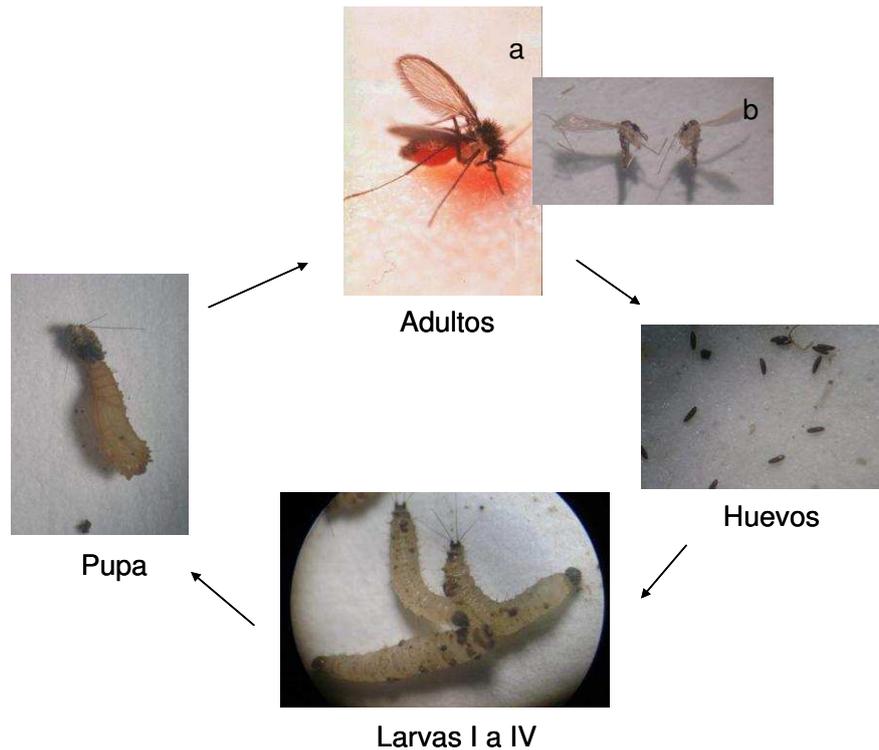


Figura 1.2. Ciclo de vida del flebótomo. Adultos: a) hembra hematófaga alimentándose (estilete perpendicular al sustrato) y b) vista en lupa binocular. Fuente imágenes: WHO/TDR/Stammers, Fiocruz Salvador, Brasil, CeNDIE). Las fotos utilizadas fueron copiadas de diferentes fuentes y colaboradores, según los créditos que se detallan, y fueron generadas sin precisión de escala. A los efectos de suplir la falta de escala se describen los rangos de longitud (tamaño real): adultos <5mm; huevos 0,3mm longitud-0,10mm ancho; larvas 0,4 a 0,7mm y pupas 2,5 a 2,8mm.

Para ser considerada vector de riesgo para el ser humano de *Leishmania* sp., una especie de flebótomo debe cumplir con una serie de criterios: 1) debe ser antropofílico, 2) debe picar al reservorio, 3) debe encontrarse en la naturaleza infectado con la misma especie de *Leishmania* que la encontrada en humanos, 4) el vector debe soportar el crecimiento del parásito que transmite y 5) el vector debe ser capaz de transmitir el parásito a través de la picadura [2]. En muchas ocasiones estos criterios son difíciles de probar en su conjunto y diversos autores involucran vectores de manera condicional en diferentes áreas, aunque con suficiente evidencia molecular y/o ecológica de su participación en el ciclo de transmisión de la leishmaniasis [12] [27].

En el mundo existen más de 800 especies de flebótomos, presentes en todos los continentes a excepción de la Antártida, distribuidas en su mayoría en la zona tropical y subtropical [23], aunque la mayor parte de ellas no juegan un rol en la transmisión de la leishmaniasis y sólo 93 son vectores confirmados o probables de leishmaniasis [2]. En América se han descrito más de 400 especies y 40 de ellas fueron informadas como posibles vectores [18].

En la Argentina, se han descrito 28 especies de flebotominos [28]: *Evandromyia cortelezzii*, *Ev. evandroi* (Brèthes), *Ev. sallesi* (Galvão & Coutinho), *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva), *Martinsmyia alphabetica* (Fonseca), *Micropygomyia oswaldoi* (Mangabeira), *Mi. peresi* (Mangabeira), *Mi. quinquefer* (Dyar), *Migonemyia migonei* (França), *Nyssomyia neivai* (Pinto), *Ny. whitmani* (Antunes & Countinho), *Pintomyia bianchigalatae* (Pinto), *Pi. fischeri* (Pinto), *Pi. misionensis* (Castro), *Pi. pessoai* (Countinho & Barretto), *Pi. monticola* (Costa Lima), *Pi. torresi* (Brèthes), *Psathyromyia lanei* (Floch & Abonnenc), *Pa. pascalei* (Coutinho & Barretto), *Pa. punctigeniculata* (Floch & Abonnenc), *Pa. shannoni* (Dyar), *Sciopemyia sordellii* (Lutz & Neiva), *Trichophoromyia auraensis* (Mangabeira), *Brumptomyia avellari* (Costa Lima), *Br. brumpti*, *Br. guimaresi* (Coutinho & Barreto), *Br. pinto* y *Oligodontomyia* sp. (Costa Lima) (nomenclatura actualizada según Galati 2003 [29] y Marcondes 2007 [30]).

Las especies incriminadas como vectores en nuestro país son, en áreas asociadas a casos humanos de LC : *Ny. neivai*, *Ny. whitmani*, *Ev. cortellezi*/*Ev. sallesi* y *Mg. migonei*, por evidencia molecular (infección natural) o ecológica, es decir concordancia espacio-temporal entre casos humanos y abundancia de flebotomos, y situaciones de uso compartido de hábitat [12] [16] [31] [32] [33] [34]. En áreas asociadas a casos humanos de leishmaniasis visceral, por evidencia molecular y ecológica, se incriminó a *Lu. longipalpis* [14], mientras que en áreas donde esta especie se encontró ausente y se registraron casos autóctonos de LV, se propuso a *Mg. migonei* como vector putativo [27].

1.1.3. Reservorios

Ashford [35] define al reservorio de una infección como el sistema ecológico en el cual un agente infeccioso sobrevive de manera persistente. Para las enfermedades transmitidas por vectores, este sistema comprende uno o más vectores y uno o más hospedadores mamíferos, viviendo bajo ciertas condiciones de densidad, abundancia, proximidad, que permiten al agente etiológico ser transferido de manera continua entre ellos. Se ha propuesto que la habilidad de los patógenos de infectar un amplio número de hospedadores aumenta el riesgo para enfermedades emergentes tanto en humanos como en animales [36], como es el caso de la leishmaniasis en la Argentina y en diversas partes del mundo. El mantenimiento del ciclo ecológico de la *Leishmania* involucra muchas veces un número pequeño de especies vectores y reservorios vertebrados [2].

Los hospedadores reservorios de *Leishmania* spp. (mamífero que mantiene el parásito circulando en la naturaleza) es conocido sólo en algunos escenarios de transmisión y se han descrito diferentes reservorios de leishmaniasis, según las características del ciclo de transmisión (región geográfica del planeta, bioma, el o los agentes etiológicos, el o los vectores involucrados).

También pueden existir mamíferos que, aunque contraigan la infección no juegan un papel en el mantenimiento del sistema ecológico, estos son los hospederos accidentales. Los reservorios, sean silvestres o domésticos, pueden o no mostrar signos de la infección y en algunos casos también pueden morir a causa de ella.

La incriminación de un hospedador reservorio o comunidad de reservorios en muchos de los escenarios de transmisión de *Leishmania* spp. suele ser dificultosa, pero una vez que esto ocurre se torna una información valiosa para estudiar la dinámica de la infección [36] [37]. Muchas veces las estrategias de control se basan en prevenir la transmisión desde el reservorio en lugar de interrumpirla desde el vector [36].

Los criterios definidos para la incriminación de reservorios de *Leishmania* spp., según la WHO [2] son: 1) un reservorio debería ser suficientemente abundante y longevo para proveer de una fuente de sangre significativa a los vectores, 2) debe existir contacto intenso entre vectores y reservorios, por ejemplo, el contacto existente entre vectores y reservorios en cuevas y refugios, 3) la proporción de individuos infectados en la población debería exceder el 20%, aunque esta prevalencia puede variar de manera estacional, 4) el período de infección en el reservorio debería ser suficientemente largo y la infección debería ser suficientemente no patogénica como para permitir a los parásitos sobrevivir en alguna estación donde no exista transmisión, y 5) los parásitos deben estar disponibles en la piel o en la sangre en número suficiente para ser tomados por los vectores.

Al igual que ocurre en la incriminación de vectores, los parásitos que se identifiquen en los reservorios deben ser los mismos que se identifiquen en los humanos infectados para ser considerados como tales [2].

Sin embargo, algunos de estos criterios son discutidos y se ha mencionado que aún siendo posible la transmisión, esta podría no ocurrir por ejemplo por cuestiones comportamentales o sociales [36] [38]. También el hecho de presentar el mismo parásito en la especie hospedadora, potencial reservorio, y en el humano, podría deberse a que se trata de un hospedador accidental, que se ha infectado de la misma fuente que el ser humano [38].

En relación con las características ecológicas de la especie (o especies) que actúen como reservorio, usualmente se sugiere que ésta debería ser abundante,

representar una alta proporción de la biomasa de mamíferos presentes, comúnmente es una especie gregaria, y debería sobrevivir a períodos no infectivos. Muchas veces se da una dependencia del vector sobre el reservorio, ya sea por alimento o por hábitat [35].

La incriminación de reservorios de *Leishmania* spp. en general es difícil, y las conclusiones acerca de los potenciales reservorios se basan en una acumulación de evidencia de los criterios definidos para la incriminación de los mismos [2].

Dentro de los reservorios descritos hasta el momento para *Leishmania* spp. se encuentran roedores, edentados, marsupiales, cánidos, primates no humanos e incluso humanos, dependiendo del contexto eco-epidemiológico [1] [2] [6] [35].

Como reservorio principal de *L. infantum* (*syn chagasi*), agente causal de la leishmaniasis visceral en el nuevo mundo, ha sido identificado el perro doméstico (*Canis familiaris*) especialmente en ambientes con transmisión doméstica y peridoméstica [2] [8] [17] [35] [39] [40]. Entre los reservorios silvestres de *Leishmania* sp. causantes de leishmaniasis visceral, se han mencionado a los zorros, *Cerdocyon thous* (Linnaeus), y *Lycalopex vetulus* (Lund) (Canidae), a la comadreja, *Didelphys marsupiales* (Linnaeus) (Didelphidae) y a los roedores *Proechimys canicollis* (Allen) y *Thrichomys apereoides* (Lund) (Echimyidae), y *Rattus rattus* (Linnaeus) (Muridae) [8] [41] [42] [43] [44]. En un brote reciente de LV debido a *L. infantum* que tuvo lugar en España (Fuenlabrada, comunidad autónoma de Madrid, 2012), se incriminó a la liebre *Lepus granatensis* (Rosenhauer) (Leporidae) como reservorio responsable del mismo. Aun faltan estudios para definir si este animal actuaría como reservorio primario o secundario en dicha región. *Leishmania donovani*, agente causal de la leishmaniasis visceral en amplias regiones del viejo mundo, en Sudán e India tiene como reservorio al ser humano, fundamentalmente al producir la leishmaniasis dérmica post-Kalazar, donde hay gran oferta de parásitos en la piel humana, lo que puede ocurrir con otras *Leishmania* en situaciones de inmunocompromiso del hospedador [5].

Para el caso de las *Leishmania* spp. causantes de leishmaniasis tegumentarias, el o los reservorios aún no han sido incriminados con certeza para la mayor parte de las especies que circulan en la región neotropical. Se han realizado diversos estudios que indican que los roedores y/o edentados podrían estar actuando como reservorios [35] [45]. Ashford [35], menciona para el nuevo mundo a los edentados *Choloepus* spp. (Megalonychidae) y *Bradypus* spp. (Bradypodidae) y a los roedores *Otodylomys phyllotis* (Merriam), *Neotoma micropus* (Baird) (Cricetidae), *Proechimys* spp. (Echimyidae) y *Cuniculus paca* (Linnaeus) (Muridae). En estudios puntuales se ha aislado *Leishmania* sp. y discutido en algunos casos el papel como reservorio o reservorio potencial en *Otodylomys phyllotis* [46], *Sigmodon hispidus* (Say

y Ord) (Muridae), *Rattus rattus* [42] [47] [48], *Neotoma micropus* [49], *Thrichomys apereoides* (Lund) (Echimyidae) [42], *Nectomys squamipes* (Brants) (Muridae), *Bolomys lasiurus* (Lund) (Muridae), *Holochilus sciureus* (Wagner) (Muridae), *Akodon cursor* (Winger) (Muridae), *Marmosa* sp. (Gray) (Didelphidae), *Didelphis albiventris* (Lund) (Didelphidae) [44] [48]. Grimaldi y Tesh [1], completan esta lista de reservorios probables o sospechosos de *L. braziliensis* con roedores de los géneros *Oryzomys*, *Rhipidomys* (Muridae) y *Proechimys* (Echimyidae), además de mencionar a edentados, marsupiales, equinos y al perro doméstico. Sin embargo, el papel de estos últimos en el ciclo de transmisión de la leishmaniasis cutánea aún no es claro. Silva y col. [50] sugieren que tanto perros, caballos y mulas podrían ser reservorios secundarios, pero el desarrollo de las lesiones en estos animales sugiere que ellos son hospedadores accidentales, al igual que el humano. Danta-Torres [51], explica que el hecho de encontrar perros infectados con *L. braziliensis* en áreas endémicas es esperado, ya que los perros son susceptibles al parásito y están expuestos a los flebótomos, pero estos animales representan una fuente muy pobre de parásitos para los vectores. Sin embargo, Sousa y Pearson [52] proponen al perro doméstico como único reservorio posible en un escenario donde no se encontraron otros posibles reservorios (noreste de Brasil). La evidencia obtenida hasta el momento del rol de los perros como reservorios de leishmaniasis tegumentaria es circunstancial y estos no han demostrado tener capacidad para actuar como reservorio funcional [13] [53] [54], al igual que el ser humano y se requieren investigaciones más amplias y precisas para involucrarlo [53].

En la Argentina, el perro doméstico ha sido identificado como reservorio doméstico del ciclo de la leishmaniasis visceral urbana [14] [17]. Para el caso de leishmaniasis tegumentaria, debida a *L. braziliensis*, no ha sido incriminado el reservorio con certeza. Según bibliografía previa se ha propuesto la circulación parasitaria en un reservorio o comunidad de reservorios silvestres, donde se caracterizó al parásito a partir de estos animales [42] [55], descartándose al perro doméstico como tal [13] [54].

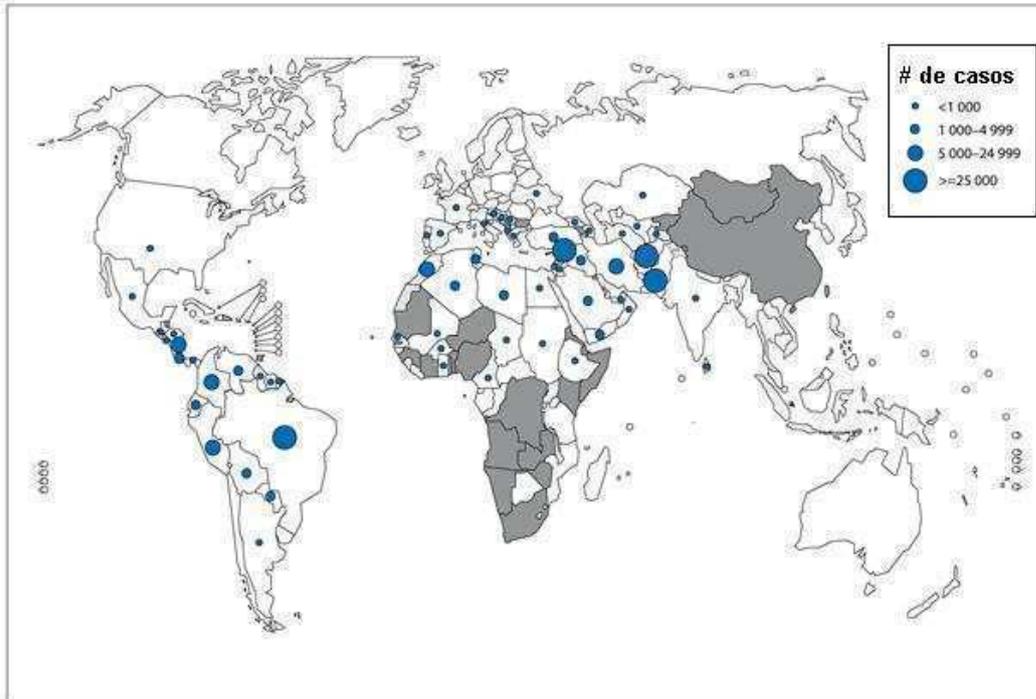
1.2. Situación de la leishmaniasis en el mundo

1.2.1. Incidencia

La leishmaniasis es endémica en al menos 88 países del mundo y 24 países de América tropical y subtropical [1]. La incidencia anual global de la leishmaniasis se estima en 1 a 1,5 millones de casos de leishmaniasis tegumentaria y 500.000 de

leishmaniasis visceral [56]. Afecta principalmente a la población más pobre del planeta, principalmente perteneciente a países en vías de desarrollo [57] (**Figura 1.3**).

a)



b)

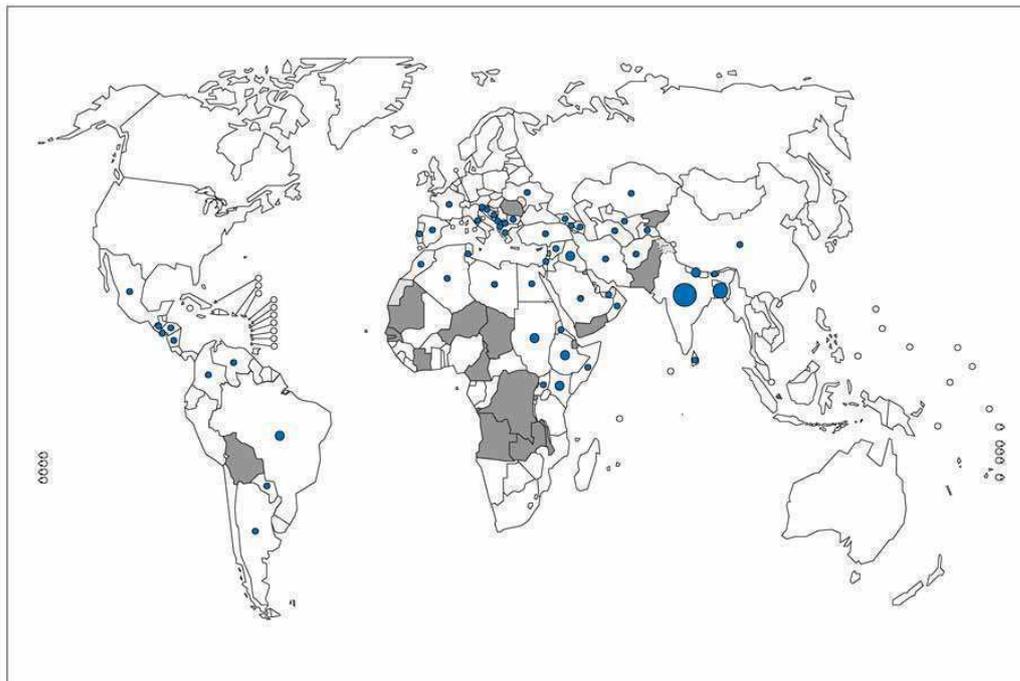


Figura 1.3 Países según categorías de número de casos reportados de leishmaniasis tegumentaria (a) y leishmaniasis visceral (b) en el mundo, discriminados por países. Se presenta el promedio de casos entre los años 2005 y 2009. Los países en gris representan países con registros de LT ó LV previos a esa fecha y los países en blanco países en donde no se registraron casos de LT ó LV hasta el año 2009. Fuente: WHO. Imagen: adaptación de <http://gamapserver.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx>

Se estima que en la actualidad 350 millones de personas se encuentran en riesgo de contraer la enfermedad [2] y los años de vida perdidos ajustados por discapacidad^c se calculan en 2,4 millones (AVAD) [57]. El impacto en la salud pública de la leishmaniasis ha sido subestimado por muchos años y en los últimos diez años, las regiones endémicas se expandieron en todo el mundo [6]. Esto estaría relacionado con cambios en el ambiente que incrementan la exposición a los vectores (por ejemplo movimientos migratorios de áreas rurales a urbanas, urbanización desordenada, desarrollo de proyectos que implican la intromisión del hombre en áreas endémicas, deterioro de las condiciones sociales y económicas en los suburbios de las ciudades) y a factores de riesgo individuales que facilitan la evolución de la enfermedad (desnutrición, co-infección de *Leishmania*/HIV), aunque también el progresivo mejoramiento de los sistemas de vigilancia puede haber contribuido al aumento en el registro [6].

1.2.2. Control

Al ser la leishmaniasis una enfermedad con características eco-epidemiológicas tan diversas, no existe una única recomendación para el control de la misma, sino que depende del escenario de transmisión, vectores y reservorios involucrados.

Las principales estrategias de control propuestas incluyen la búsqueda de casos y tratamiento, el control vectorial y de los animales reservorios cuando es posible [57]. Las medidas de control vectorial con insecticida se basan en los adultos, ya que los sitios de cría de larvas son difíciles de identificar [1]. Sin embargo, esta medida de control sólo sirve para áreas urbanas, aunque con un amplio rango de efectividad en los resultados en relación con la aplicación de insecticidas [58]. En áreas silvestres, ha demostrado ser poco efectiva [4]. Las medidas de protección personal para personas expuestas, como el uso de repelente, ropa adecuada y evitar zonas de riesgo, han demostrado ser efectivas [1], sin embargo cuando se señalan prescripciones de prevención, aunque sean sencillas es necesario tener en cuenta las limitaciones de cada paisaje social para ser llevadas a la práctica [59].

En el caso de la LV, la principal medida de control se basa en el ordenamiento del ambiente (p.e. alejar sitios de cría o dormitorios de animales domésticos más de 5

^c Años de vida ajustados en función de la discapacidad: el número de años que habría podido vivir una persona, perdidos por su defunción prematura, o los años de vida productiva perdidos por discapacidad (Fuente: OMS)

metros del ser humano, remover la tierra con frecuencia para evitar el asentamiento de criaderos [58]), control de perros callejeros y la tenencia responsable de mascotas [Programa Nacional de Leishmaniasis, documento de trabajo 2009], ya que se ha demostrado que los perros infectados aunque asintomáticos son una fuente de infección para los vectores y por lo tanto tienen un papel activo en la transmisión [39].

1.2.3. Leishmaniasis y cambio climático

El impacto del cambio climático global sobre la leishmaniasis afecta la distribución de esta enfermedad de tres maneras: 1) por el efecto de la temperatura sobre el desarrollo de los parásitos y la competencia vectorial ^d, 2) por el efecto de la temperatura y otras variables ambientales en la distribución y abundancia de las especies vectores y 3) a partir de cambios socio-económicos que modifican la cantidad de personas que están en contacto con los ciclos de transmisión [57].

Los cambios en la temperatura global tienen su impacto sobre la transmisión de leishmaniasis, ya que a medida que la temperatura del planeta aumenta, los insectos tropicales amplían sus distribuciones tanto en latitud como en elevación, y por consiguiente aumenta el área de transmisión del patógeno [60]. En un estudio llevado a cabo en la Argentina (región chaqueña), se ha encontrado que la abundancia de flebótomos estaría relacionada de manera positiva con la temperatura máxima [61].

Otros fenómenos relacionados con el cambio climático, como el aumento en las precipitaciones, podrían afectar también la abundancia de vectores. Por ejemplo, para la Argentina, se ha demostrado que la abundancia de *Ny. neivai* está relacionada con las precipitaciones [61] [62] [63].

Peterson y Shaw [64] modelaron el nicho para tres especies de vectores presentes en Sudamérica y encontraron que en dos escenarios de cambio climático, uno más conservador y otro menos conservador, *Ny. whitmani* encontraría condiciones propicias para su expansión hacia áreas donde la LT parece estar emergiendo.

^d La competencia vectorial se refiere a la facilidad con que una especie de flebótomo se infecta con *Leishmania* sp., replica el protozoo y lo transmite.

1.3. Escenarios de transmisión y situación de las leishmaniasis en Argentina

1.3.1. Leishmaniasis tegumentaria

En América Latina, la LT ocurre principalmente en áreas naturales boscosas y áreas deforestadas asociadas a cambios en el uso de la tierra [6]. El escenario de transmisión “tradicional” más ampliamente descrito por la bibliografía para los casos de LT es el del ciclo silvestre, donde la población de riesgo es la que realiza tareas en áreas con vegetación poco modificada, o la transmisión peridoméstica por alteración de la vegetación residual cercana a las viviendas [65]. En este último escenario, la deforestación suele tener un rol importante, ya que aumenta el contacto efectivo hombre-vector en el frente de deforestación a la vez que la alteración del paisaje produce cambios en las comunidades de vectores y/o reservorios [63] [65] [66] [67]. También se ha descrito transmisión peridoméstica por contigüidad espacial con la vegetación residual, o directamente en ambientes rurales, periurbano ruralizado o en la interface urbano-rural [65].

Estos últimos escenarios se enmarcan dentro de lo que diversos autores han llamado la “urbanización de la LT”, [68] [69] [70], una enfermedad que pasó de ser característica de personas que por su actividad tenían contacto con el ambiente selvático (por ejemplo, trabajadores forestales [71]), a presentarse en brotes en diferentes escenarios, afectando a diferentes grupos etarios y a ambos sexos, aunque en proporciones variables de acuerdo al escenario de transmisión particular [65]. La urbanización desordenada y la deforestación han sido propuestas como los factores principales de la re-emergencia de esta enfermedad en el mundo [56] [69] [72] [73].

Los primeros casos autóctonos de leishmaniasis tegumentaria registrados en Argentina datan de 1916. Desde entonces y hasta la década de 1980 la transmisión de esta enfermedad tuvo características endémicas en 9 provincias del norte argentino, con un promedio de 43 casos anuales notificados [74] [75]. El área abarca desde la frontera norte a los 28° S, comprendiendo las zonas fitogeográficas de las Yungas, Chaco y Selva Paranaense [76]. Entre 1984 y 1987 se registró un brote epidémico de LT asociado a población periurbana y rural en el noreste de la provincia de Salta, con foco en la localidad de Pichanal [77]. A partir de dicho episodio epidémico se registraron brotes en las provincias de Jujuy, Tucumán, Catamarca, Santiago del Estero, Chaco, Formosa, Corrientes y Misiones [65].

Los resultados obtenidos hasta el momento a partir de datos indirectos indican como factores determinantes de la distribución de la LT debida a *L. braziliensis* a la distribución focal de vectores, la circulación parasitaria en un reservorio o comunidad de reservorios silvestres, y las oportunidades de contacto efectivo de los componentes del ciclo enzoótico con el hombre o con componentes del ciclo peridoméstico. El/los reservorios con masa crítica para mantener el parásito en los períodos inter-epidémicos aún no ha/n sido incriminado/s con certeza en el área sur de distribución de *L. braziliensis* (Brasil, Paraguay, Bolivia, Argentina).

1.3.2. Leishmaniasis visceral

Al igual que se describió para la LT, las características de transmisión de la LV también sufrieron cambios a lo largo del tiempo. Inicialmente, la transmisión de la LV en América ocurría en ambientes silvestres y rurales [40].

Actualmente, la LV se presenta también en áreas urbanas, asociada a profundas transformaciones ambientales que favorecen la adaptación y formación de nuevos criaderos de flebotominos, agravadas por factores socioeconómicos que favorecen la migración desde las zonas rurales hacia la periferia de las ciudades, en condiciones habitacionales precarias, bajos niveles de nutrición, escenarios de saneamiento deficiente, y desorden ambiental [78]. La presencia de animales domésticos, como perros, caballos y gallinas, presencia de abundante área vegetada con árboles frutales y deposición de materia orgánica en el suelo, favorecen la cría y establecimiento de flebotomos y su adaptación al peridomicilio [8] [78] [79].

La alta abundancia del vector de LV, *Lu. longipalpis* se ha propuesto como el principal factor de riesgo para la transmisión de LV en áreas urbanas [80].

En Brasil, a partir de la década del 80 la enfermedad se volvió endémica y epidémica en varias ciudades [81] [82]. La LV se encuentra actualmente en un proceso de expansión y urbanización en Brasil con casos humanos y gran número de perros positivos en varias ciudades de mediano y gran porte. La proximidad entre las viviendas, la alta densidad poblacional y el hecho que la mayor parte de la población sea susceptible a la infección, contribuyen a la rápida expansión de la LV en el ambiente urbano [81].

En Paraguay también se han registrado casos de LV, y entre los años 2000 y 2006, el 90% de los casos registrados pertenecía al departamento Central y distrito de Asunción, probablemente debido al establecimiento del ciclo de transmisión de la enfermedad en dicha región, en la cual convergen una alta proporción de perros con

LV y vectores del parásito, además de un crecimiento urbano desordenado de la población [14] [83].

La leishmaniasis visceral urbana es un problema relativamente reciente y complejo. La comprensión de la introducción, dispersión y mantenimiento de la enfermedad en este tipo de ambientes requiere aproximaciones analíticas que consideren a las variables ambientales y demográficas que expliquen la distribución de casos humanos, caninos y dispersión del vector, así como de métodos que permitan comprender la dinámica de las poblaciones humanas y los cambios ambientales que ocurren en las áreas de transmisión [82].

En nuestro país la expresión clínica visceral presentó registros individuales desde 1925 a 1989, (14 casos) [84] [85], dispersos en el tiempo y el espacio. *Lutzomyia longipalpis* sólo se habían encontrado en los años 1951 y 2000 en la provincia de Misiones, pero sin casos humanos de LV. El primer caso de LV autóctono fue reportado en el año 2006, en la ciudad de Posadas, provincia de Misiones, junto con casos de LV canina y la presencia de *Lu. longipalpis* [14]. A partir de este momento, y hasta abril de 2009 se registraron 35 casos humanos, en el área de Posadas y Garupá (ciudades adyacentes, 31 en Posadas y 4 en Garupá) cinco de los cuales fueron fatales y más de 7000 perros infectados, dato que se sabe subestimado, estimándose que este valor alcanzaría los 100.000 perros infectados. Estos datos se han actualizado al presente con 94 casos de LV humana distribuidos en cuatro provincias (Misiones, Corrientes, Santiago del Estero y Salta,) siendo la provincia de Misiones la que mayor número de casos acumula, con un total de 76 casos distribuidos en 15 localidades desde mayo 2006 hasta diciembre de 2011 (Sistema Nacional de Vigilancia de Salud y Gould comunicación personal).

Actualmente, el vector *Lu. longipalpis* se encuentra disperso en toda la Mesopotamia Argentina, con registros en las provincias de Formosa, Chaco, Misiones, Corrientes y el norte de Entre Ríos (Chajari) [85] [86] [87] [88], y el registro más austral para esta especie se encuentra en Salto, Uruguay [89]

En otro escenario de transmisión, en La Banda, Santiago del Estero, en los años 2007-2008, se describió un brote con presencia de *Mg. migonei* como vector involucrado y casos caninos. Este vector putativo de LV se encontró asociado a ambientes degradados, vulnerabilidad social, ambientes de transición periurbanos-rurales y con animales domésticos [27]

1.4. Consideraciones finales

La leishmaniasis ha demostrado en las últimas décadas una tendencia a generar brotes epidémicos en el mundo y en la Argentina cada vez más frecuentes.

Las manifestaciones de leishmaniasis presentes en la Argentina constituyen problemáticas diferentes: son clínicamente distintas, causadas por distintos agentes etiológicos, y en lo que incumbe a este trabajo, transmitidas por distintas especies de vectores, la LV con reservorio confirmado, el perro, y la LT sin reservorio identificado aún en nuestro país. Las características eco-epidemiológicas también hacen que el problema deba abordarse desde dos ópticas diferentes: por un lado, la eco-epidemiología de LT nos remite a diferentes escenarios de transmisión endémica y epidémica, con casos registrados desde hace un centenar de años [34], todos ellos asociados de alguna manera a ambientes selváticos. Para esta problemática en particular, en este trabajo me propongo responder preguntas surgidas a partir de años de investigación de la eco-epidemiología de la LT en la Argentina. Por el contrario, la LV surge de manera epidémica en nuestro país recientemente (año 2006), en un ambiente urbano, con vector y reservorio identificados [14]. Los aportes de esta tesis a la eco-epidemiología de LV surgen en este contexto y como necesidad de aplicar el conocimiento y la experiencia adquirida a la problemática que estaba teniendo lugar en nuestro país, incorporando nuevas estrategias de análisis al desafío que representa estudiar a los vectores en un brote de LV urbano.

Por lo expuesto anteriormente, esta tesis está organizada de la siguiente manera: el capítulo 2, trata de la eco-epidemiología de vectores y reservorios de LT, en un frente de deforestación en el noreste de la Argentina (localidad de Puerto Iguazú, Misiones). Allí se desarrollaron dos estudios observacionales sobre la composición de la comunidad de flebótomos en chacras ubicadas en un frente de deforestación. En el primero, se realizó un seguimiento quincenal de la comunidad de flebótomos en el ambiente de la vivienda y el corral de animales (chiquero) y se relacionó la abundancia de las especies dominantes con las variables climáticas a nivel de meso-escala^e (sección 2.3). El segundo estudio surge de manera de complementar el primero y para plantear hipótesis acerca de los potenciales sitios de

^e Salomón y Quintana [28] definen tres posibles escalas espaciales de análisis para el estudio de la abundancia del vector y de casos en seres humanos de Leishmaniasis en la Argentina: micro-escala, meso y macro escala. La primera se refiere a los cambios en la vegetación a pequeña escala, la vivienda y las características del peridomicilio. La segunda escala se refiere, a los efectos de la deforestación y la urbanización a nivel de los focos (localidad) donde se puede encontrar una estructura de la metapoblación de vectores o fenómenos relacionados con el brote. Y la tercera escala se refiere a la distribución de las tendencias a gran escala (país), las distribuciones potenciales de las especies en las eco-regiones, mapas de riesgo, etc.

cría o reposo y del riesgo de contraer leishmaniasis por probabilidad de contacto hombre-vector en dos ambientes: corral de animales (en este caso chiquero y/o gallinero) y parches de vegetación remanente. Consistió en un seguimiento estacional de la composición de la comunidad en los dos ambientes descritos y se relacionó con variables ambientales (climáticas, de vegetación, de fuentes de alimento) a nivel de micro-escala (sección 2.4). Este capítulo se completa con un estudio de la composición de la comunidad de micromamíferos en el área de estudio, con el objetivo de evaluar su rol como potenciales reservorios de LT. Para ello, se realizaron muestreos estacionales en los ambientes presentes, se identificaron las especies en cada uno de ellos y se buscaron lesiones en la piel compatibles con infección por LT así como se tomaron muestras de tejido y piel para análisis por PCR-RFLP [17] [90] (sección 2.5).

En el capítulo 3 de esta tesis, se estudia al vector de LV en un ambiente urbano en el noreste de Argentina (ciudad de Posadas, Provincia de Misiones). En una primera etapa se estudió a partir de un muestreo transversal la autocorrelación espacial de los vectores y se realizó un mapa de abundancia para la ciudad (año 2007), estudiando el patrón de distribución espacial de los mismos y su asociación con variables ambientales a escala de radios censales^f (sección 3.3). En un análisis complementario, se estudió la variación temporal (bianual), comparando el patrón de distribución obtenido en el año 2007 con uno nuevo obtenido a partir de un muestreo realizado en el año 2009. Para este último año, se realizó un análisis para explicar la abundancia de flebótomos a partir de variables ambientales obtenidas principalmente a nivel de micro-escala (sección 3.4).

En cada capítulo se describirán las diferentes aproximaciones metodológicas utilizadas y sus antecedentes aplicados a las leishmaniasis.

En un último capítulo, a partir de todos los trabajos realizados, se discute el aporte de esta tesis al conocimiento de la eco-epidemiología de vectores de leishmaniasis en la provincia de Misiones, Argentina y se proponen estudios complementarios para responder hipótesis que surgen del trabajo aquí expuesto.

^f El radio censal es una división efectuada por el INDEC con fines censales, cada radio está constituido por un conjunto de aproximadamente 300 viviendas.

Objetivo general

EL objetivo general de esta tesis es estudiar la distribución espacial y temporal de vectores de *Leishmania* spp en dos escenarios de transmisión en el noreste de la Argentina y relacionar su abundancia con variables climáticas y/o ambientales.

Capítulo 2. Eco-epidemiología de vectores de *Leishmania* spp. en un área endémica de leishmaniasis tegumentaria, noreste de la provincia de Misiones.

El objetivo de este capítulo es estudiar la eco-epidemiología de vectores de *Leishmania* sp. en un área endémica de LT, en una zona de chacras ubicadas en un frente de deforestación al sur de Puerto Iguazú, donde se produjo un brote epidémico en los años 2004-2005.

2.1. Introducción

En el borde noreste de la Argentina, en un frente de deforestación asociado a un brote de leishmaniasis tegumentaria, en un muestreo transversal realizado en el año 2005 el flebótomo *Nyssomyia whitmani* resultó ser la especie más abundante de la comunidad de flebótomos de la zona y fue encontrada con infección natural por *Leishmania braziliensis* en el área, proponiéndose como vector principal de LT [12].

En ese mismo trabajo se encontraron 14 especies de flebótomos, 3 de las cuales también han sido descritas como vectores de LT en otras partes de la Argentina y en Brasil: *Migonemyia migonei*, *Ny. neivai* y *Evandromyia cortellezi/sallesii* [34] [91].

Ny. whitmani fue descrita como una especie presente en el ambiente peridoméstico, asociada a la deforestación o cerca de los bosques de vegetación primaria [92] [93], y a pesar de ser una especie selvática, presenta comportamiento de alimentación oportunista, incluida la ingesta sobre humano y animales domésticos, y posee una gran capacidad de adaptación [92] [93] [94] [95]. En cambio, *Ny. neivai* se describió también asociada al ambiente doméstico [91] [94].

Se ha descrito que luego de la deforestación podrían ocurrir cambios en la dominancia de la comunidad de flebótomos y tres especies, *Ny. intermedia*, *Ny. neiva*[§] y *Ny. whitmani* podrían compartir el hábitat modificado, aunque a medida que la modificación del hábitat avanza, *Ny. intermedia* prevalecería [91]. Sin embargo esta dominancia podría no darse en todas las estaciones y podría no observarse en los primeros 10 años luego de la deforestación (Medina JC, comentario personal).

Las chacras del área de estudio se encuentran lindantes a parches de vegetación remanentes. Los habitantes de estas chacras, realizan intromisiones a los

[§] *Ny. intermedia* y *Ny. neivai* son especies genéticamente emparentadas que forman un complejo de especies. La Argentina sólo se encuentra en el área de distribución de *Ny. neivai*, y los trabajos que citan a *Ny. intermedia* fueron anteriores a la re-clasificación de este complejo de especies [181]

mismos, ya sea como tránsito ó para realizar actividades como la extracción de madera, la caza o simplemente en busca de privacidad [59].

Se ha registrado presencia de flebótomos en los bordes de estos parches, obteniéndose generalmente abundancias de la especie involucrada como vector, *Ny. whitmani*, en capturas categorizadas como bajas (menores a 20 individuos), pero en un caso se han registrado abundancias similares a la de los corrales de animales (del orden de los 1000 ejemplares) [12], lo cual demuestra la posible heterogeneidad existente en la distribución espacial de la abundancia de flebótomos y en particular de *Ny. whitmani*.

Si bien en la bibliografía se propone que los corrales de animales serían los ambientes con mayor abundancia en el frente de deforestación [12], podría estar ocurriendo que los flebótomos permanezcan en los parches de vegetación remanentes (áreas de descanso, cría y alimentación) y sólo se acercan al corral de animales en busca de una fuente de sangre. Por lo tanto, estudiar la relación entre estos dos ambientes proporciona información acerca de los posibles sitios de cría y del riesgo real existente al ingresar el hombre en el parche de vegetación remanente o a un área protegida.

En relación a los reservorios de LT, no existen estudios previos en el área de estudio y en el país acerca del rol de los micromamíferos –roedores y marsupiales- como potenciales reservorios de LT.

Existen evidencias para sospechar que los micromamíferos podrían llegar a estar involucrados como reservorios en el ciclo de transmisión de la leishmaniasis tegumentaria en la Argentina. La provincia de Misiones está comprendida en la distribución geográfica de al menos 7 especies de roedores (*Agouti paca*; *Dasyprocta azarae*; *Kannabateomys amblyonyx*; *Nectomys squamipes*; *Oryzomys nigripes*; *Euryoryzomys russatus* y *Rattus rattus*) y 5 especies de marsupiales (*Didelphis marsupiales* – ahora *D. aurita*-; *Didelphis albiventris*; *Marmosa cinerea* -ahora *M. paraguayanus*-; *Metachirus nudicaudatus*; *Philander opossum* –ahora *P. frenata*-) en las cuales se ha aislado *Leishmania* spp. en otras partes del mundo, principalmente en el sur de Brasil [1] [45], pero nada se sabe acerca de su papel como potenciales reservorios en nuestro país.

Se espera que la incriminación de potenciales reservorios silvestres, distribución de los mismos en el tiempo y el espacio, así como la dinámica de los vectores, permita comprender mejor la probabilidad de riesgo de transmisión a humanos, y diseñar estrategias más apropiadas de prevención y/o control.

2.2. Área de estudio

Se trabajó en una zona de chacras continua al casco urbano de la ciudad de Puerto Iguazú (perteneciente a la zona de 2000 hectáreas (“2000ha”), 25° 36' S, 54° 35' O, Figura 2.2.1), Misiones.

La zona está incluida en la región fitogeográfica de selva Paranaense: bosque húmedo subtropical del dominio Amazónico [76]. El área varía entre una altitud de 140 y 240 metros sobre el nivel del mar.

Originariamente, el área de 2000ha comprendía mayoritariamente un bosque de vegetación primaria y secundaria. La zona sufrió intervenciones a partir del año 1950, con la extracción de madera. Durante los años 2001 y 2002, la deforestación se intensificó acompañada de asentamientos humanos marginales, pero en esta etapa se ubicaban fundamentalmente bordeando caminos. En los años 2003 y principalmente 2004 se produce una intensa deforestación de la vegetación remanente, con la consecuente instalación de chacras en la zona [12] [59].

El área de estudio fue elegida por estar asociada a los casos humanos de leishmaniasis tegumentaria ocurridos en la zona. A la zona de 2000ha, se asociaron el 86% de los casos registrados de leishmaniasis tegumentaria en Puerto Iguazú durante los años 2003 y 2004 (36 casos [12]). En particular, en el año 2008 se han registrado 14 casos, 11 de los cuales fueron en habitantes de las 2000ha o en personas relacionadas a dicha área por su actividad laboral (Dra. Kuyuk, comentario personal).

La actividad productiva principal en la zona es la agricultura familiar de subsistencia y la cría de animales de granja a pequeña escala [96].

En las chacras del frente de deforestación, se pueden encontrar en mayor parte los siguientes elementos del paisaje: el domicilio, una vivienda de madera construida a unos 20 cm del suelo, con aberturas y uniones entre las maderas permeables a los insectos, y el peridomicilio, donde se encuentra los corrales de animales (chiqueros y/o gallineros y en algunos pocos casos otros animales como conejos o bueyes), cultivos de mandioca y maíz y una pequeña huerta. El área donde se instala la chacra está deforestada, pero se encuentra adyacente a parches de vegetación primaria o secundaria remanentes y en algunos casos al Parque Provincial Puerto Península que comprende el borde sur de las 2000ha (Figura 2.2.2).

Para algunos muestreos puntuales de micromamíferos y flebótomos (sección 2.5), se agregó como parte del área de estudio un sitio dentro de las 2000ha, pero con características distintas a la anterior ya que se utiliza para entrenamientos militares (“Predio Ejército”) y se caracteriza por conservar vegetación primaria y secundaria con

escasa intervención antrópica (camino, campamentos) en relación a la anterior. Esta zona se incorporó al sitio de estudio por haber sido relacionada con casos de LT (Dra. Kuyuk, comentario personal). Además en el muestreo de micromamíferos de primavera de 2008 se muestreo también dentro del área del Parque Nacional Iguazú, con las mismas características que las descritas para el "Predio ejército".

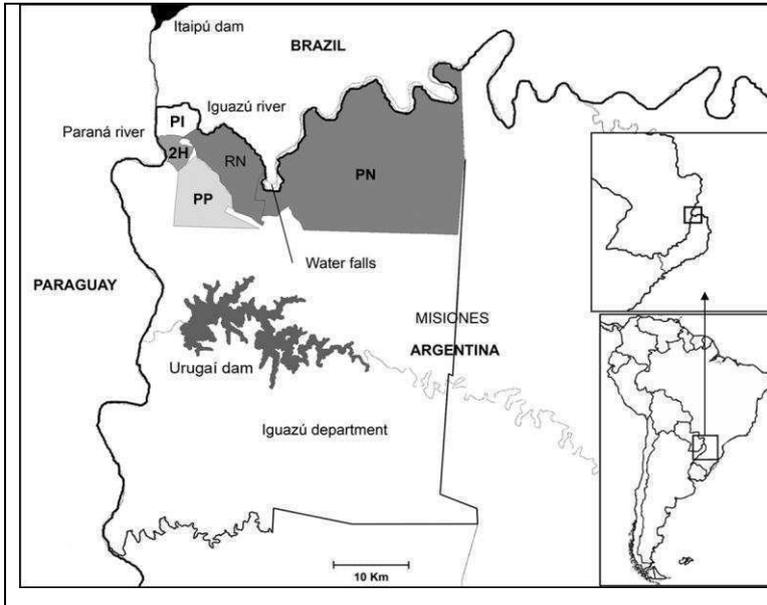


Figura 2.2.1. Ubicación del área de estudio en Sudamérica y elementos que rodean a las "2000 hectáreas". 2H: "2000 hectáreas"; PI: casco urbano de la Ciudad de Puerto Iguazú; PP: parque provincial puerto península; RN y PN: Reserva Natural y Parque provincial Iguazú. Water falls: área cataratas, Paraná e Iguazú River: ríos Paraná e Iguazú. El "Predio Ejército" se encuentra en el límite entre 2H y PP.

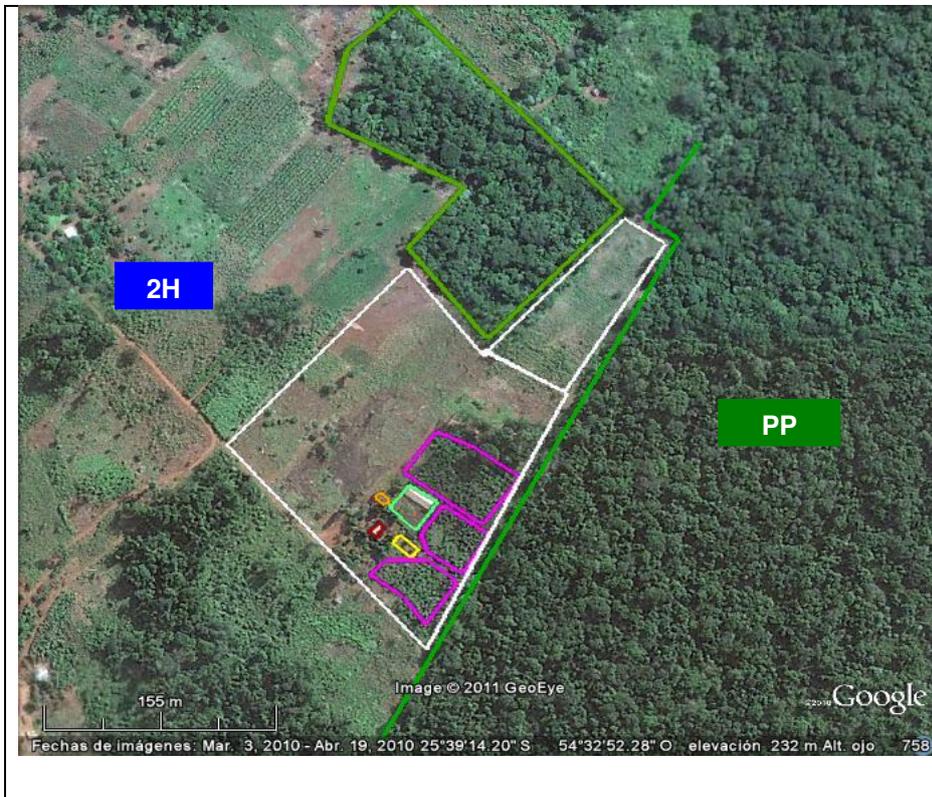


Figura 2.2.2. Elementos del paisaje que componen el área de estudio y las chacras (2H: "2000 hectáreas"). Modelo de chacra (área deforestada, rectángulo blanco), adentro: en rojo, la vivienda; en naranja: chiquero; en amarillo: cría de gallinas; en fucsia: plantaciones; verde claro: huerta (parte techada y parte descubierta); verde oscuro: parche de vegetación remanente. La línea recta verde oscura indica el límite con el parque provincial "Puerto Península" (PP). *Imagen de fondo extraída de Google Earth.*

2.3. Variaciones temporales en la abundancia de flebótomos en el ambiente doméstico y peridoméstico.

El objetivo particular de este trabajo es estudiar la composición de la comunidad de flebótomos a lo largo del tiempo en chacras instaladas en el frente de deforestación (2000ha, Puerto Iguazú, Misiones), dentro del ambiente doméstico y peridoméstico y relacionar a las especies más abundantes de la comunidad con variables climáticas registradas a nivel de meso-escala.

2.3.1. Materiales y Métodos.

Muestreo de flebótomos e identificación sistemática

Se capturaron flebótomos en tres chacras de aproximadamente 100 x 400 metros lindantes con parches de vegetación remanente, separadas entre sí por una distancia mínima de 1,25 kilómetros. Dos de ellas fueron seleccionados por haberse detectado casos humanos de LT en esas chacras y la tercera debido a la alta abundancia de flebótomos obtenida durante un muestreo previo llevado a cabo en el año 2005 [12].

Los flebótomos fueron colectados en las tres chacras desde el atardecer hasta la mañana siguiente con trampas de luz tipo mini-CDC, ubicadas en el chiquero y en la ventana de la casa a una distancia de 1,5 m del suelo [97]. Estos ambientes fueron elegidos por su gran abundancia de flebótomos antes descrita (chiquero) [12] y por su interés epidemiológico (vivienda), ya que es el sitio donde la familia permanece [59] durante las horas de mayor actividad de flebótomos [91] [95] [98].

Las trampas se colocaron cada 15 días aproximadamente (promedio intervalo de colocación: 15,6 días, Desvío Estándar: 8,3 días) desde junio de 2006 a marzo de 2008, excepto durante enero y febrero de 2008, meses en los cuales el muestreo estuvo suspendido por razones logísticas. El muestreo se repitió en cada ambiente de cada chacra de una a tres noches de acuerdo a las condiciones meteorológicas, y durante el mes de noviembre de 2007, debido a las fuertes y continuas lluvias no se pudo realizar el muestreo. En una chacra, la toma de muestras se inició más tarde, en noviembre de 2006.

Todos los flebótomos se mantuvieron a -20°C hasta su procesamiento. Las muestras se clarificaron con lacto-fenol y luego observaron bajo microscopio óptico y

se clasificaron de acuerdo a la clave de Galati [29]. Todos los especímenes fueron identificados, sexados y contados. También se registraron las hembras grávidas de *Ny. whitmani* por ser considerado un indicador indirecto de riesgo de transmisión de LT [62].

Análisis de datos

Se realizó una prueba de Wilcoxon [99] para comparar la abundancia total de flebótomos obtenida en el ambiente del chiquero y la vivienda. Para comparar la composición de la comunidad de flebótomos del ambiente chiquero y vivienda, se realizó una prueba de independencia, descartando aquellos muestreos en donde no se contaba con datos simultáneos de ambos ambientes [100].

Para comparar la diversidad entre el ambiente de vivienda y de chiquero se calculó el índice de Sørensen [101] utilizando datos de la abundancia de cada especie en cada ambiente. El índice (S) se calculó como $S = 2 * (\sum \min (niA, niB)) / total$, donde $\min (niA, niB)$ es el valor mínimo de la abundancia relativa de la especie i , entre la registrada en el ambiente A y el B respectivamente y "total" es la abundancia relativa total de todas las especies presentes en ambos ambientes. Se clasificó al grado de similitud obtenido entre ambas comunidades (vivienda y chiquero) en similitud baja (0 - 0,25), moderada (0,26 – 0,50), alta (0,51 – 0,75) y muy alta o completa (0,76 – 1,00).

Se evaluó la asociación entre la abundancia de las especies de flebótomos en las viviendas y en los chiqueros, utilizando los registros de abundancia en ambos ambientes en cada una de las sesiones de muestreo, con un análisis de correlación de Spearman [100]. Este análisis se realizó para la abundancia total promedio de las tres chacras y también con los datos de la abundancia discriminados por chacra.

Para evaluar si la abundancia de flebótomos observada estaba relacionada con las variables climáticas de temperatura y precipitación, se estudió la asociación de la abundancia promedio de flebótomos en cada sesión de muestreo con los datos meteorológicos disponibles tomados en la estación meteorológica del aeropuerto de Puerto Iguazú (ubicada aproximadamente a 12 km del área de 2000ha) proporcionado por el Servicio Meteorológico Nacional: temperatura mínima, máxima y media diaria, y los valores de precipitación diaria acumulada. También se estudió si existía algún tiempo de retardo en estas asociaciones, realizando correlaciones de Spearman simples y parciales, entre la abundancia de flebótomos y las variables climáticas mencionadas, con "retrasos" de hasta 10 muestreos (equivalentes a 156 días previos al muestreo) [62] [102]. Este análisis se realizó para el período continuo de capturas (junio de 2006 – diciembre 2007).

Los análisis de correlación se realizaron para las especies más abundantes de la comunidad de flebotomos, y todos los análisis fueron considerados significativos cuando el valor de p fue menor a 0,05.

2.3.2. Resultados

Se capturaron un total de 23.659 flebotomos en 151 trampas-noche (78 trampas-noche colocadas en chiqueros y 73 trampas-noche en viviendas). Los géneros *Nyssomyia* y *Migonemyia* representaron más del 95% de las capturas, y los géneros *Pintomyia*, *Evandromyia*, *Micropygomyia*, *Psathyromyia*, *Sciopemyia*, *Expapillata* y *Brumptomyia* completaron las capturas (Tabla 2.3.2.1). *Nyssomyia whitmani* dominó las capturas, seguida por *Mg. migonei*, representada también en valor absoluto por un alto número de ejemplares. Las demás especies acumularon menos del 5% del total de capturas, estando 8 especies representadas por sólo 1 ó 2 ejemplares.

Tabla 2.3.2.1. Capturas de flebotominos en el área de “2000 hectáreas”, Puerto Iguazú, junio de 2006 a marzo de 2008. Se presentan las especies discriminadas por ambiente y sexo. Esfuerzo de captura: 78 trampas-noche chiqueros y 73 trampas-noche viviendas. Total (%): Abundancia relativa total *100 para cada especie. Los ejemplares de *Brumptomyia sp.* se determinaron a nivel de género.

Especie	Viviendas			Chiqueros			Total (%)
	Hembras	Machos	Total	Hembras	Machos	Total	
<i>Ny. whitmani</i>	1164	661	1825	13893	6009	19902	91,8340
<i>Mg. migonei</i>	25	53	78	572	604	1176	5,3003
<i>Pi. fischeri</i>	3	1	4	161	164	325	1,3906
<i>Pa. shannoni</i>	2	1	3	36	60	96	0,4184
<i>Pi. pessoai</i>	5	5	10	24	18	42	0,2198
<i>Ny. neivai</i>	3	2	5	21	22	43	0,2029
<i>Ev. cortelezii/sallesii</i>	1	0	1	10	5	15	0,0676
<i>Pi. monticola</i>	1	0	1	3	5	8	0,0380
<i>Pa. punctigeniculata</i>	1	1	2	0	0	0	0,0085
<i>Mi. quinquefer</i>	0	0	0	2	0	2	0,0085
<i>Sc. sordelli</i>	1	0	1	1	0	1	0,0085
<i>Mi. oswaldoi</i>	1	0	1	0	0	0	0,0042
<i>Ex. firmatoi</i>	0	0	0	0	2	2	0,0085
<i>Pi. damascenoi</i>	0	0	0	1	0	1	0,0042
<i>Pa. pascalei</i>	0	0	0	1	0	1	0,0042
<i>Pi. bianchigalatae</i>	0	0	0	1	0	1	0,0042
<i>Brumptomyia sp.</i>	5	11	16	37	60	97	0,4776
Total	1212	735	1947	14762	6946	21708	

La abundancia de flebotomos fue mayor en los chiqueros que en las viviendas ($p < 0.0001$, con 91,26% de los especímenes totales capturados en el primer ambiente). El promedio de individuos capturados en el chiquero fue de 278,30 individuos por trampa-noche y en las viviendas de 26,76 individuos por trampa-noche.

En ambos ambientes, *Ny. whitmani* fue la especie dominante, seguida por *Mg. migonei*. En los chiqueros, *Pi. fischeri* fue la tercer especie en abundancia y las restantes especies estuvieron poco representadas en ambos ambientes, aunque con mayor presencia en el chiquero (Tabla 2.3.2.1). En relación a la composición de la comunidad, se observaron algunas diferencias entre ambientes: *Pi. fischeri* y *Mg. migonei* fueron más abundantes de lo esperado en chiquero, mientras que *Pi. pessoai* y todas las otras especies consideradas en una única categoría fueron más abundantes que lo esperado en las viviendas ($p < 0.05$ en todos los casos). *Ny. whitmani*, *Ny. neivai*, *Pa. shannoni*, *Brumptomyia* sp. y las hembras grávidas de *Ny. whitmani* resultaron homogéneamente distribuidas en ambos ambientes ($p > 0.05$). La comunidad de flebótomos en los ambientes estudiados presentaron similitud baja (índice de Sørensen 0,18).

En relación a las variaciones estacionales, *Ny. whitmani* estuvo representada tanto en chiqueros como en viviendas durante todas las estaciones, con mayores abundancias durante los meses cálidos (desde septiembre a junio, Figura 2.3.2.1). La presencia de hembras grávidas de *Ny. whitmani* se registró en todas las estaciones y el porcentaje registrado en ambos ambientes fue similar: 1,46% en chiqueros y 1,49% en viviendas. Sin embargo, existió diferencia numérica entre ambos ambientes: 17 hembras grávidas totales en vivienda y 207 en chiquero. *Migonemyia migonei* también estuvo presente en los chiqueros durante todas las estaciones, pero durante el invierno su abundancia descendió marcadamente (Figura 2.3.2.1). Las especies menos representadas mostraron un patrón similar, con mayor abundancia en primavera y verano, exceptuando *Pa. shannoni* que fue la única especie que permaneció relativamente constante a lo largo del año, con un promedio de alrededor de 1,23 individuos por trampa-noche en el ambiente del chiquero (figura 2.3.2.2).

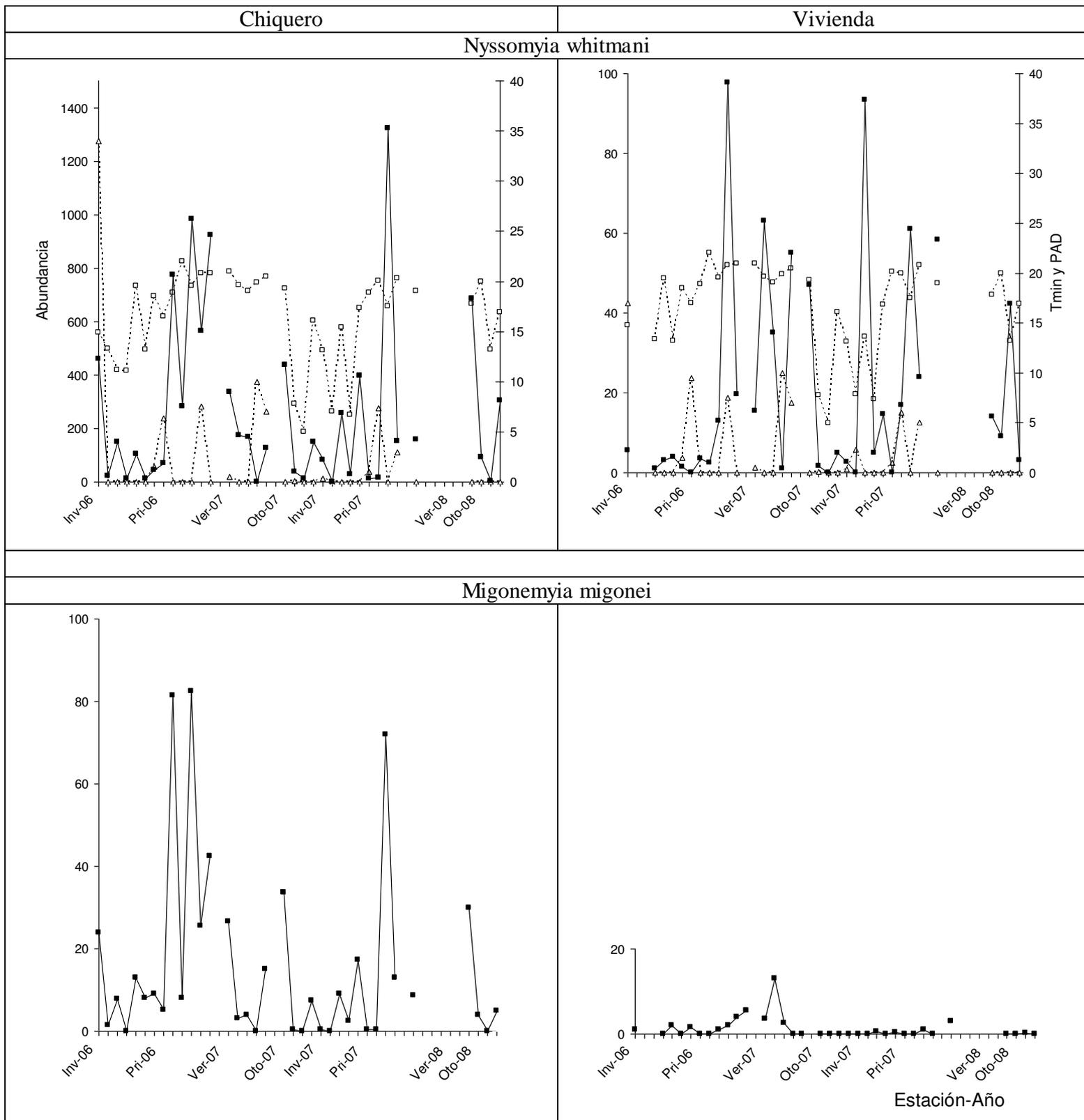


Figura 2.3.2.1. Abundancia de *Ny. whitmani* y *Mg. migonei* (línea continua, eje principal), y precipitación diaria acumulada (PAD, triángulos) y temperatura mínima diaria (Tmin, cuadrados), línea punteada, eje secundario, en el ambiente chiquero y vivienda. Inv: invierno; Pri: primavera; Ver: verano; Oto: otoño; 06, 07 y 08: años 2006, 2007 y 2008. Las discontinuidades en el muestreo se indican sin datos en el eje x. Para la abundancia de *Ny. whitmani* se utilizaron dos escalas distintas. “2000ha”, Puerto Iguazú, Argentina, junio 2006-marzo 2008.

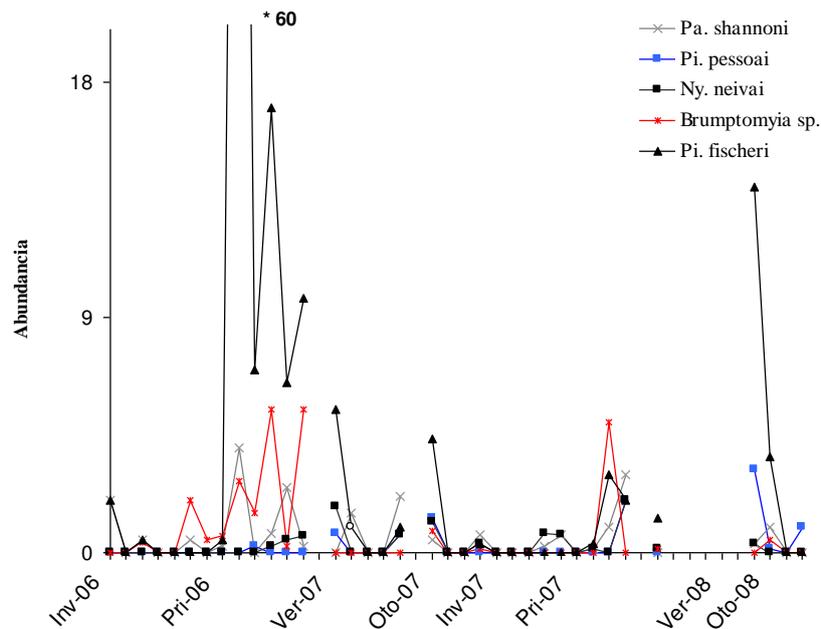


Figura 2.3.2.2. Abundancia de *Pa. shannoni*, *Pi. pessoai*, *Ny. neivai*, *Pi. fischeri* y *Brumptomyia* sp. en el ambiente “chiquero”. Inv: invierno; Pri: primavera; Ver: verano; Oto: otoño; 06, 07 y 08: años 2006, 2007 y 2008. Las discontinuidades en el muestreo se indican sin datos en el eje x. *60: valor de la abundancia promedio de *Pi. fischeri* en ese muestreo (eje y cortado para una mejor visualización de los datos). “2000ha”, Puerto Iguazú, Argentina, junio 2006-marzo 2008

Se encontró una asociación positiva entre abundancia media de *Ny. whitmani* y de *Mg. migonei* registrada en chiqueros y en viviendas de las tres chacras ($r_s=0.67$; $p=0.0003$ y $r_s=0.51$; $p=0.0052$ para *Ny. whitmani* y *Mg. migonei* respectivamente). Sin embargo cuando esta asociación entre la abundancia media de cada especie en ambos ambientes se verificó para cada chacra por separado si bien la tendencia se mantuvo su significación fue menor o incluso marginal (con valores de p que oscilaron entre 0,003 y 0,06).

Como patrón general de asociaciones entre la abundancia de *Ny. whitmani* y *Mg. migonei* con las variables climáticas, surge que para ambas especies en ambos ambientes se encontró una asociación positiva con todas las variables de temperatura a tiempo 0 (al momento del muestreo). En general, está asociación entre la abundancia y la temperatura desapareció o se hizo más débil 16 días previos al muestreo y luego reapareció cuando se trabajó con los valores de temperatura obtenidos a los 31 días previos al muestreo, incluso hasta los 47 días (Figura 2.3.2.3). Las asociaciones inversas entre la abundancia y las variables de temperatura comienzan a partir de los 78 días previos al muestreo. El valor más bajo de temperatura mínima diaria a partir de la cual se ha registrado presencia de flebótomos

fue de 6°C, siendo la máxima para ese día de 19,5°C. La abundancia de *Ny. whitmani* también estuvo asociada de manera positiva en ambos ambientes con la precipitación diaria acumulada de los 31 días previos al muestreo. Para *Mg. migonei*, esta asociación sólo se observó en chiqueros y fue marginal ($p < 0.10$, Figura 2.3.2.3). Sin embargo, la asociación entre la abundancia de ambas especies y la precipitación a los 31 días previos al muestreo se vuelve no significativa cuando se quita el efecto de la temperatura (correlación parcial de Spearman).

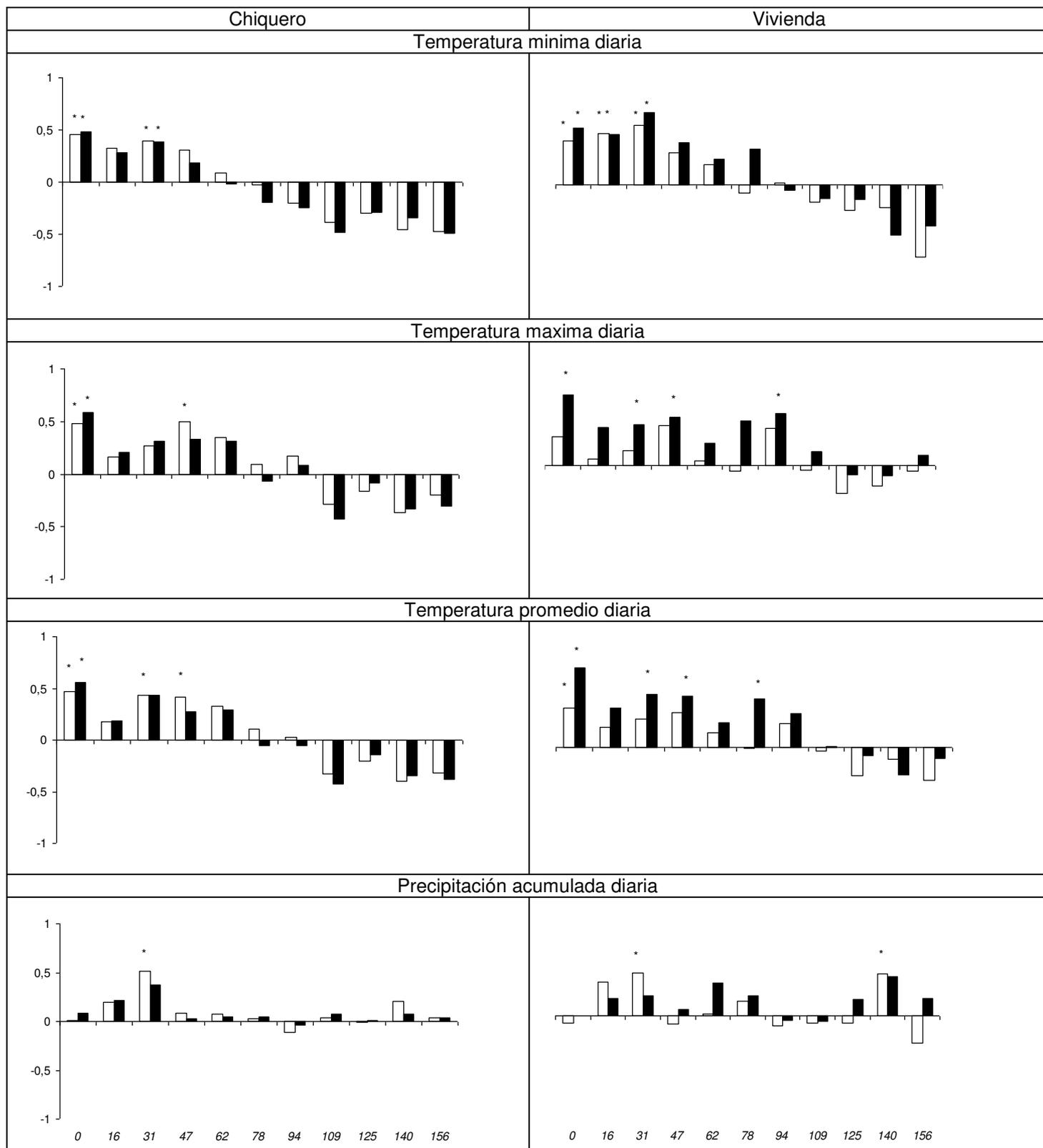


Figura 2.3.2.3. Coeficientes de correlación de Spearman (eje y) entre la abundancia de *Ny. whitmani* (barras blancas) y *Mg. migonei* (barras negras) en función de los días previos al muestreo (eje x), desde el mismo día del muestreo (día 0) hasta 156 días previos (correspondientes a 10 muestreos) para las variables climáticas estudiadas. La abundancia se calculó como el número de individuos capturados / trampas-noche. Los asteriscos indican las asociaciones positivas ($p < 0,05$) entre la abundancia de los flebotomos y las variables climáticas. “2000ha”, Puerto Iguazú, Argentina, Junio 2006-diciembre 2007

2.3.3. Discusión

Ny. whitmani es la especie dominante de la comunidad de flebótomos del foco de LT en el área de 2000ha, Puerto Iguazú, de dos a cuatro años después de la deforestación ocurrida en el año 2004 [12]. Esta especie también se registró como dominante en varios focos de LT en Brasil, donde se sugirió que estaba en proceso de adaptación a ambientes modificados, encontrándose presente en ambientes domésticos y peridomésticos [95] [103] [104] [105] [106] [107] [108]. Se ha sugerido que si bien *Ny. whitmani* puede estar presente luego de la deforestación, podría ser reemplazada por *Ny. intermedia* en ambientes peridomésticos [91]. Si bien el área de estudio no se encuentra dentro del área de distribución conocida para *Ny. intermedia*, si lo es para *Ny. neivai*, pero esta última se encontró en mucha menor abundancia respecto a *Ny. whitmani* en ambos ambientes. Sin embargo, en un foco de LT registrado a 50 km de la zona de 2000 hectáreas (en la ciudad de Puerto Esperanza, Misiones), se encontró a *Ny. neivai* como especie dominante [109].

La abundancia total de flebótomos y el número de especies capturadas fue menor en la vivienda respecto al chiquero, exceptuando a *Pa. punctigeniculata* que estuvo representada sólo por 2 ejemplares capturados en el ambiente del domicilio. La similitud entre ambas comunidades resultó baja, aunque esta diferencia sería cuantitativa más que cualitativa (debida a cambios en la abundancia de las especies entre comunidades). Para las dos especies dominantes de la comunidad, la abundancia obtenida en el ambiente chiquero se asoció positivamente con la abundancia obtenida en las viviendas. Las diferencias en la abundancia relativa entre ambientes para *Ny. whitmani*, fue anteriormente descrita por Souza y col. [93] y Sampaio y col. [104], quienes la describieron como una especie antropofílica pero también oportunista, y en este caso, chiqueros y viviendas podrían proveer una fuente de sangre, refugio y sitios de cría para los vectores [92] [110] [111]. En este sentido, cualquier estrategia de zooprofilaxis^h para LT debería ser evaluada teniendo en cuenta el riesgo asociado al aumento del tamaño de las poblaciones de vectores debida a la instalación de corrales de animales, la disposición espacial de estas estructuras en relación a la vivienda y el efecto de dilución parasitariaⁱ debida a los diferentes hospedadores disponibles. El hecho de que exista asociación entre las abundancias obtenidas en ambos ambientes cuando todas las chacras son consideradas en conjunto pero que esta asociación se diluya o no exista cuando se realiza en cada

^h La zooprofilaxis es el uso de animales como estrategia preventiva para evitar la transmisión de un patógeno a los humanos.

ⁱ El efecto de dilución parasitaria se refiere a cuando un patógeno puede ser diseminado o amplificado debido a la introducción de hospederos no infectados en nuevas áreas geográficas.

chacra por separado, podría ser explicado por las diferencias en el manejo ambiental y en la aplicación de insecticida entre las chacras (observación personal). De esta manera, aún si las estrategias de zooprofilaxis son efectivas, deberían considerarse de manera integrada con otras medidas, para impedir un aumento de contacto vector-humano.

La abundancia de *Mg. migonei* también tiene importancia desde el punto de vista epidemiológico, tanto en el ciclo de LT como en el de la LV. En el caso del ciclo de la LT, fue incriminada como vector en Brasil y Argentina [34] [91]. Se propuso que esta especie, abundante en corrales de animales, podría ser el nexo entre los ciclos zoonótico y antropozoonótico de LT [112]. En el caso del ciclo de transmisión de la LV, *Mg. migonei* fue propuesta como vector putativo de esta enfermedad [27] [113] [114]. Este último antecedente es de especial interés en el área de estudio, ya que en el casco urbano de la ciudad de Puerto Iguazú, se encuentra circulando *Leishmania infantum* (*syn chagasi*), agente etiológico de la LV, donde su vector primario es *Lu. longipalpis* [88].

En relación al resto de la comunidad de flebotomos encontrada en el área de estudio, se encontraron las mismas especies que las descritas por Salomón y col. [12], exceptuando a *Pi. misionensis* que no se encontró en este estudio, y se incorporaron como nuevos registros para el área de estudio (nuevos registros para Argentina), *Mi. oswaldoi*, *Pi. bianchigelatae*, *Ex. firmatoi* y *Pi. damascenoi* [115].

La asociación encontrada entre la abundancia de *Ny. whitmani* y *Mg. migonei* y las variables de temperatura, sin retraso (tiempo 0), podría estar relacionada con un incremento del metabolismo de los adultos y la actividad de vuelo en busca de comida. La asociación con estas mismas variables, a tiempos de 31 – 47 días de retraso podría deberse al aumento del metabolismo en todos los estadios del ciclo biológico de los flebotomos, asociando a un aumento del tamaño de población por incremento de la tasa de desarrollo y reproducción. La relación con la precipitación estaría relacionada 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 [116]. De acuerdo a los resultados obtenidos, las variables de temperatura explicarían mejor que la precipitación los cambios observados en la abundancia a los 31 días de retraso (tiempo al cual se observa la máxima asociación con la precipitación), y esto se debe posiblemente a que la precipitación es relativamente abundante a lo largo de todo el año en el área de estudio (clima subtropical sin estación seca) [117], no siendo un factor limitante. Debido a que los datos climáticos procedieron de una estación meteorológica ubicada a 12 kilómetros del área de estudio, esta conclusión podrá enriquecerse estudiando las relaciones

existentes entre la abundancia de flebótomos y las variables de temperatura y precipitación, relevadas a nivel de micro-escala.

El hecho de haber encontrado a *Ny. whitmani* durante todo el año, concuerda con lo descrito por la bibliografía en relación a las variaciones anuales, sobre todo para el área sur de su distribución y en el ambiente del peridomicilio [91]. Aun en aquellas regiones donde esta especie es más abundante durante los períodos fríos, se encuentra presente todo el año y se ha propuesto que su abundancia se encuentra modulada por la precipitación, la temperatura y los vientos [93] [95] [98].

En conclusión, *Ny. whitmani*, la especie más abundante en el área de estudio, estuvo presente a lo largo de todo el año, en los ambientes de domicilio y peridomicilio, así como también las hembras grávidas. Esta especie se encuentra bien adaptada a los ambientes modificados por el hombre, donde encuentra condiciones ambientales a nivel de micro escala que le permiten sobrevivir a condiciones climáticas adversas (por ejemplo, en los corrales de animales). De esta manera se genera un prolongado período del riesgo de transmisión de LT para los humanos, que se extiende prácticamente sin interrupciones a lo largo del año, con un aumento de la probabilidad de encuentro hombre-vector durante los meses cálidos. De este trabajo surge la recomendación de maximizar las medidas de protección personal durante los períodos cálidos y por lo menos hasta 45 días posteriores, y la advertencia de que aún dentro de los períodos fríos pueden darse las condiciones óptimas para el vector, hecho que debería ser tenido en cuenta al momento de aplicar protección personal.

2.4. Variaciones estacionales en la abundancia de flebótomos en el ambiente peridoméstico y bordes de parches de vegetación remanente.

El objetivo de este trabajo es estudiar las variaciones estacionales en la comunidad de flebótomos en los corrales de animales (peridomicilio) y en los bordes de parches de vegetación remanente lindantes con las chacras de la zona sur de Puerto Iguazú, y estudiar su asociación con variables ambientales relevadas en esos sitios. Adicionalmente se estudiaron las variaciones estacionales y entre ambientes de las especies dominantes de la comunidad discriminadas por sexo.

2.4.1. Materiales y Métodos.

Muestreo de flebótomos

Se llevaron a cabo muestreos estacionales de flebótomos (invierno 2009 a otoño 2010) en dos ambientes dentro de las chacras pertenecientes a la zona de 2000ha: corrales de animales (en el peridomicilio de las viviendas, “corral”) y monte lindante con áreas antropizadas (parches de vegetación -primaria o secundaria-remanente, “monte”). Para ello, se colocaron 2 minitrampas de luz tipo mini-CDC siguiendo la misma metodología descrita para la sección 2.3.1, en 6 chacras, una en el corral de animales (gallinero ó chiquero-gallinero) y otra en el monte más cercano al peridomicilio (la distancia entre ambientes fue de 10 a 50 metros, según la chacra). Las trampas funcionaron desde el atardecer hasta el amanecer de 2 a 3 noches consecutivas por estación.

La conservación y determinación de los ejemplares se realizó de la misma manera que la descrita en la sección 2.3.1.

Registro de variables ambientales

Se registraron variables ambientales, seleccionadas en base a la biología de los flebótomos y características que favorecerían a los mismos como ser temperatura, humedad, sitios de cría, alimentación, fuentes de sangre [92] [118] (Tabla 2.4.1.1).

En el sitio de colocación de la trampa se relevaron la temperatura máxima y mínima y la humedad relativa máxima y mínima registrada durante el período de colocación de la trampa (a partir de termohigrómetros digitales). Adicionalmente se colocaron “*data logger*”, para registrar la temperatura y la humedad relativa con intervalos de 10 minutos en ambos ambientes de una de las chacras (número de

noches registradas en invierno=3; en primavera= 1; en verano=1; en otoño=2) y en el monte de otra chacra durante la primavera y otoño.

En el ambiente de monte, se registró la cobertura vegetal (número de estratos y cobertura porcentual por estrato) a partir de un cuadrante de 4 x 4 metros definido desde el sitio de colocación de la trampa.

A nivel de la chacra, se registraron las distancias entre el corral de animales y el monte y entre la vivienda y el monte, y la cantidad de animales presentes: número de chanchos, gallinas, perros y otros animales de gran porte -bueyes, terneros, caballos- y otros animales de pequeño porte -patos, gansos, cría de gallinas,-pollitos-), y el número de habitantes.

Análisis de datos

Se contabilizó el número total de flebótomos y el promedio por estación del año y por ambiente como número de ejemplares capturados por trampa-noche, discriminando por especie y sexo. Se comparó la abundancia total de flebótomos en el corral de animales y en el monte utilizando una prueba de Wilcoxon.

Para estudiar las diferencias en la composición de la comunidad de flebótomos entre el ambiente de corral de animales y el monte, se realizó una prueba de independencia, contabilizando a todas las especies representadas por menos de 15 ejemplares en una única categoría. Para evaluar la similitud entre ambas comunidades se calculó el índice de similitud de Sørensen con la misma metodología descrita en la sección anterior.

Para estudiar la relación entre la abundancia de hembras y la abundancia de machos, se realizó un análisis de correlación de Pearson entre los valores de la abundancia de hembras y de machos obtenidos en cada trampa, discriminadas por ambiente, para las especies dominantes de la comunidad de flebótomos.

Se calculó la riqueza específica y la diversidad (índice de Simpson) con sus respectivos intervalos de confianza (95%, método "bootstrap") para las cuatro estaciones del año en ambos ambientes a partir del valor de abundancia relativa de cada especie obtenido para cada ambiente en cada una de las chacras.

Se estudió la asociación entre las especies y las variables ambientales antes descritas, para cada ambiente, mediante un análisis de redundancia (RDA) [119]. Para este análisis se agregaron como variables ambientales relevadas a nivel de chacra, medidas de abundancia relativa de micromamíferos (Índices de densidad relativa, IDR) obtenidos con trampas Sherman (IDRsherman), jaula (IDRjaula) y total (IDRtotal) en cada una de las chacras (Tabla 2.4.1.1, para una mejor descripción de esta variable ver sección 2.5). Para hacer este análisis y favorecer su interpretación, las especies de

flebótomos con baja frecuencia se agruparon bajo una única categoría (“otras”). Se realizó una selección manual del mejor modelo, descartando aquellas variables que no superaran el valor de carga de +/-0.40 en alguno de los ejes.

Tabla 2.4.1.1. Variables ambientales relevadas en chacras y en sitios de colocación de las trampas que fueron consideradas para el análisis de redundancia. Se presenta el valor promedio y el rango de variación.

Abreviatura	Variable	Promedio, Rango
Relevadas en chacras		
Dcor-mon	Distancia corral de animales –vegetación	26,67 (10:50)
Dviv-mon	Distancia vivienda – monte	31,67 (10:55)
Nºchanchos	Nº de chanchos	4,08 (0:16)
Nºgal	Nº de gallinas	32,67 (10:80)
Nºgra	Nº de animales grandes (bueyes, terneros, caballos)	0,38 (0:3)
Nºpeq	Nº de otros animales pequeños (patos, cría de gallinas, etc).	17,58 (0:77)
Nºper	Nº de perros	3,46 (1:7)
IDRsh	Índice de densidad relativa de micromamíferos obtenido con las trampas Sherman (ver sección 2.5)	2,72 (0:9,64)
IDRjau	Índice de densidad relativa de micromamíferos obtenido con las trampas jaulas (ver sección 2.5)	3,89 (0:16,66)
IDRtotal	Índice de densidad relativa de micromamíferos obtenido con ambos tipos de trampas (ver sección 2.5)	2,87 (0:10,32)
Relevadas en sitios de colocación de la trampa		
Tº min	Temperatura mínima diaria (°C)	17,38 (7,5:24,80)
Tº máx	Temperatura máxima diaria (°C)	30,24 (16:42)
Hmin	Humedad relativa mínima diaria (%)	51,19 (32:90)
Hmáx	Humedad relativa máxima diaria (%)	96,53 (83,90:99)
Relevadas sólo en parches de vegetación		
Nest	Nº de estratos presentes	2,58 (2:4)
coberturaE1	Cobertura vegetal en el estrato 1 (hasta 20 cm)	81,88 (20:100)
coberturaE2	Cobertura vegetal en el estrato 2 (hasta 8 m)	49,58 (0:100)
coberturaE3	Cobertura vegetal en el estrato 3 (mayor a 8 m y menor a 15 m)	36,46 (0:90)

2.4.2. Resultados

Se capturaron un total de 4533 flebótomos en el ambiente del monte y 8804 flebótomos en los corrales de animales (esfuerzo de captura: 51 trampas-noche monte; 50 trampas-noche corral de animales), siendo más del 95% de los ejemplares de las especies *Ny. whitmani* y *Mg. migonei* (Tabla 2.4.2.1). La diferencia en la abundancia total de flebótomos obtenida entre el ambiente de monte y corral de animales resultó significativa ($p=0.0004$).

En relación con la composición de la comunidad, las especies no se encontraron igualmente distribuidas entre ambos ambientes ($p < 0.001$). *Brumptomyia* sp. resultó más abundante que lo esperado en el ambiente monte y *Mg. migonei* más abundante que lo esperado en el ambiente del corral de animales ($p < 0.05$ en ambos casos). Las demás especies y las hembras grávidas de *Ny. whitmani* no mostraron diferencias respecto a lo esperado en su distribución entre ambientes ($p > 0.05$ en todos los casos). La similitud entre ambas comunidades resultó alta (índice de Sörensen 0,88).

Tabla 2.4.2.1. Abundancia de flebotomos capturados por ambiente, discriminados por especie y sexo en los ambientes de monte y corral de animales. "2000ha", Puerto Iguazú, invierno de 2009 a otoño de 2010.

	Monte		Corral de animales		Total %
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	
<i>Ny. whitmani</i>	1855	2273	5082	2819	90,1724
<i>Mg. migonei</i>	103	98	257	372	6,2219
<i>Pa. shannoni</i>	20	2	36	53	0,8321
<i>Ny. neivai</i>	1	0	1	1	0,0225
<i>Pi. fischeri</i>	59	26	93	24	1,5142
<i>Pi. pessoai</i>	12	5	27	17	0,4573
<i>Pi. monticola</i>	10	0	0	0	0,0750
<i>Ev. cortelezzi/sallesii</i>	1	0	2	0	0,0225
<i>Pi. bianchigalatae</i>	1	0	1	0	0,0150
<i>Ex. firmatoi</i>	1	0	8	4	0,0975
<i>Sc. sordelli</i>	0	1	0	0	0,0075
<i>Brumptomyia</i> sp.	23	45	5	2	0,5622
	2086	2450	5512	3292	100

Tanto para *Ny. whitmani* como para *Mg. migonei*, hubo una correlación positiva entre la abundancia de hembras y machos obtenida en cada trampa en ambos ambientes (*Ny. whitmani* $r_{\text{corral de animales}}=0,97$ y $r_{\text{monte}}=0,83$, $p < 0.05$ en ambos casos; *Mg. migonei* $r_{\text{corral de animales}}=0,93$ y $r_{\text{monte}}=0,86$, $p < 0.05$ en ambos casos).

Ny. whitmani se registró en todos los muestreos en ambos ambientes, con mayor abundancia en primavera y verano. El ambiente del corral de animales presentó mayor abundancia de hembras durante todas las estaciones, mientras que en el monte la relación de la abundancia hembras:machos fue similar en todas las estaciones menos en la primavera, donde los machos presentaron mayores valores de abundancia. *Mg. migonei* no presentó un patrón claro de la relación hembras:machos a lo largo de las estaciones, sin embargo durante el invierno la abundancia de machos fue mayor a la de hembras en el corral de animales, mientras que en el ambiente de vegetación remanente ambos estuvieron prácticamente ausentes. El resto de las especies se capturaron casi exclusivamente durante la primavera y el verano, siempre

con mayor abundancia de hembras (Figura 2.4.2.1). Para todas las especies, en ambos ambientes existió alta variabilidad en las capturas obtenidas (variabilidad entre chacras), a excepción del otoño, estación en la cual se recolectaron ningún o muy pocos flebótomos (Figura 2.4.2.1., barras de error).

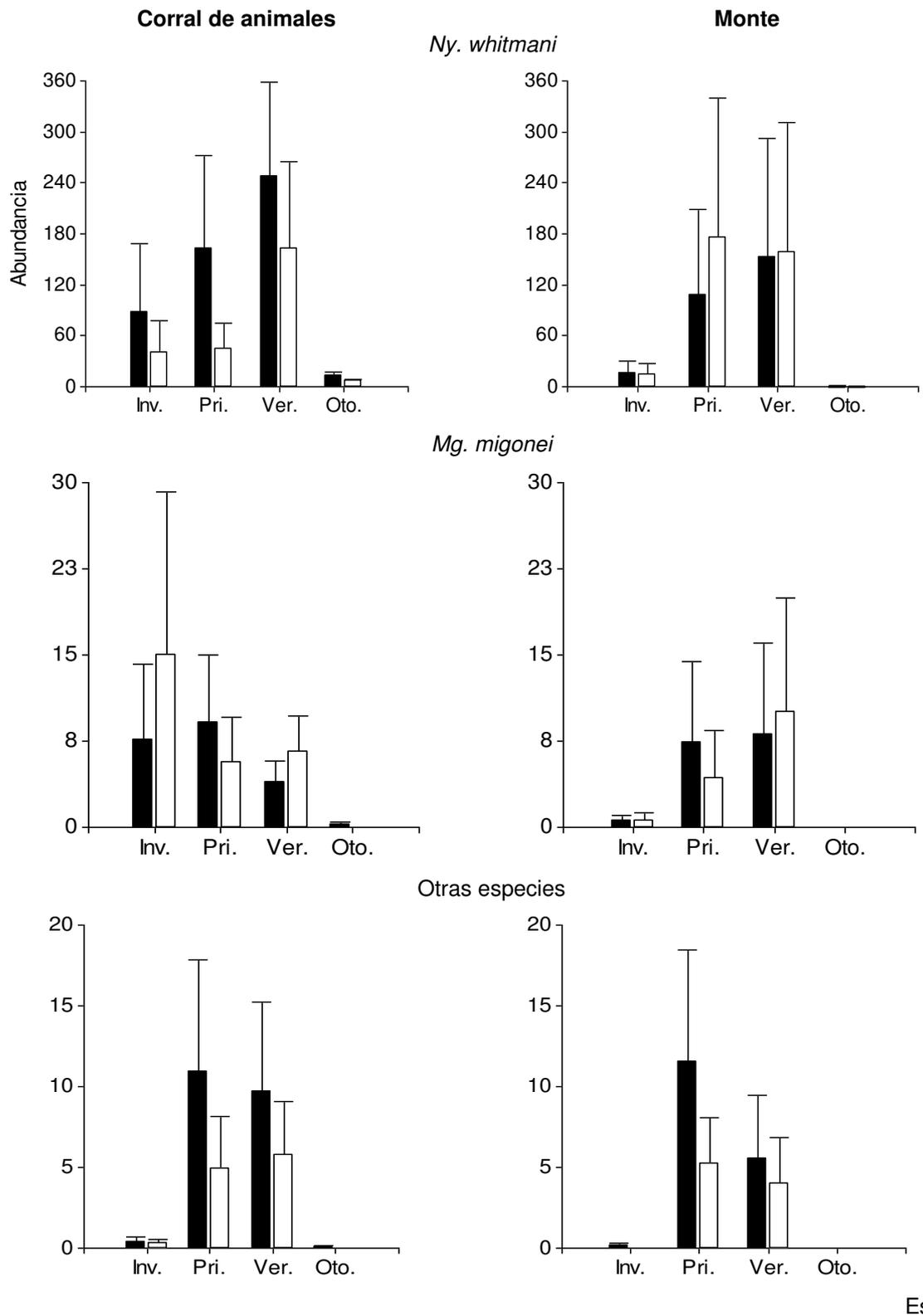


Figura 2.4.2.1. Variación de la abundancia promedio (número de individuos por trampa-noche) de *Ny. whitmani*, *Mg. migonei* y todas las demás especies agrupadas en la categoría "otras especies", discriminadas por sexo, hembras (barras negras), machos (barras blancas), en los ambientes de parches de vegetación remanente y corrales de animales. Inv.: invierno; Pri: primavera; Ver.: verano y Oto.: otoño. (barras de error: error estándar). "2000ha", Puerto Iguazú, invierno de 2009 a otoño de 2010.

En el corral de animales sólo se encontraron hembras grávidas de *Ny. whitmani* y *Mg. migonei*. Las estaciones con mayor presencia (y abundancia) de capturas de hembras grávidas fueron primavera y verano. En el monte se registró presencia de hembras grávidas de otras especies representadas con menor número de ejemplares en la comunidad (Tabla 2.4.2.2.).

Tabla 2.4.2.2. Abundancia de hembras grávidas y porcentaje respecto al total de hembras capturadas para la especie (Abundancia (%total)), discriminadas por especies y presencia de las mismas (signos +) en las distintas estaciones del año. "2000ha", Puerto Iguazú, invierno de 2009 a otoño 2010.

Especie	Abundancia (%total)	Presencia			
		Invierno	Primavera	Verano	Otoño
Corrales de animales					
<i>Ny. whitmani</i>	48 (0,94)	+	+	+	+
<i>Mg. migonei</i>	3 (1,16)	+	+	-	-
Monte					
<i>Ny. whitmani</i>	31 (1,67)	+	+	+	-
<i>Mg. migonei</i>	3 (2,91)	-	+	+	-
<i>Pi. fischeri</i>	3 (5,08)	-	+	+	-
<i>Pi. pessoai</i>	2 (16,66)	-	+	-	-
<i>Pa. shannoni</i>	1 (5,00)	-	+	-	-
<i>Ny. neivai</i>	1 (100)	-	-	+	-
<i>Pi. bianchigalatae</i>	1 (100)	-	+	-	-

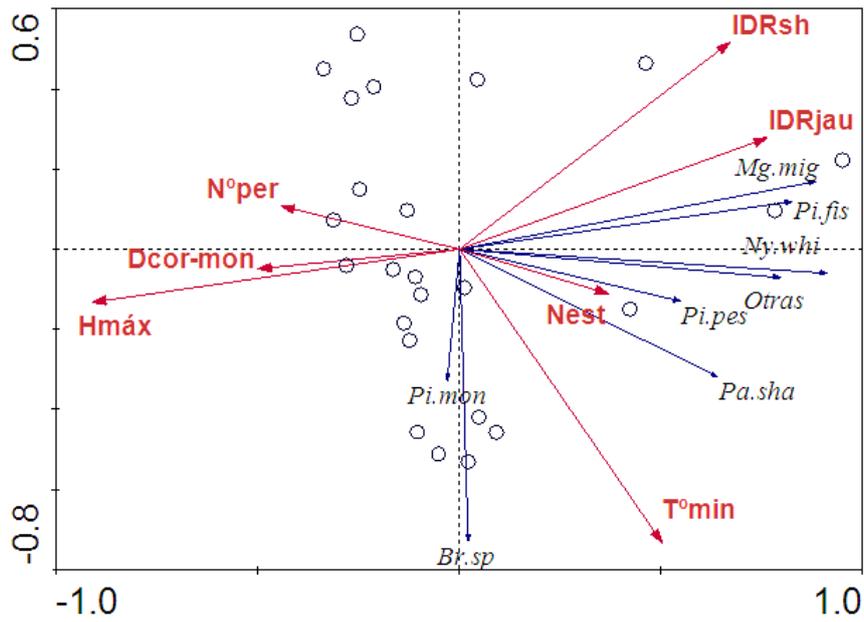
Para ambos ambientes, el análisis de redundancia resultó significativo para los primeros cuatro ejes (Permutaciones de Montecarlo, $p=0.002$), lo cual indica que las variables ambientales que ingresaron al modelo explicaron las diferencias en la composición de la comunidad de flebótomos en las distintas chacras en las diferentes estaciones.

Para el análisis llevado a cabo con los datos obtenidos en el ambiente monte, el primer eje canónico explicó el 70,5 % de la varianza total explicada con el análisis y el porcentaje acumulado hasta el cuarto eje fue de 78,4%. Los sitios con mayor captura de flebótomos de todas las especies se caracterizaron por poseer altos valores de temperatura mínima y altos valores de los índices de abundancia relativa para las capturas de micromamíferos en trampas tipo Sherman y tipo jaula. Por otro lado, estos sitios se caracterizaron por valores bajos de humedad relativa, poca distancia de separación entre el monte y el corral de animales, pocos perros en la chacra y alto número de estratos vegetales en el monte (aunque con estas tres últimas variables las asociaciones resultaron más débiles). *Brumptomyia* sp. y *Pi. monticola* se diferenciaron del conjunto de todas las especies de flebótomos. *Brumptomyia* sp. se

encontró particularmente asociada con valores altos de temperatura mínima y en menor medida con valores bajos del índice de densidad relativa de micromamíferos en trampas tipo Sherman. *Pi. monticola* mostró el mismo patrón, pero con asociaciones más débiles y además se encontró inversamente asociada con la distancia al corral de animales de la chacra. (Figura 2.4.2.2a, Tablas 2.4.2.3a y 2.4.2.4a).

Para el análisis llevado a cabo con los datos obtenidos en el ambiente de corral de animales, el primer eje canónico explicó el 67,4 % de la varianza total explicada con el análisis y el porcentaje acumulado hasta el cuarto eje fue de 75,0%. Los corrales de animales con mayor captura de flebótomos de todas las especies se caracterizaron por poseer altos valores de temperatura mínima y valores altos de los índices de abundancia relativa para las capturas de roedores en trampas jaulas y trampas totales colocadas en las chacras. Por otro lado, estos sitios se caracterizaron por valores bajos de humedad relativa respecto a los demás sitios, poca distancia entre el corral de animales y la vivienda y entre el corral de animales y el monte más cercano a la chacra. Algunas especies mostraron además otras asociaciones con variables ambientales, como *Pa. shannoni* que se encontró en mayor abundancia relativa respecto al resto de las especies, en corrales de animales pertenecientes a chacras con pocos animales “pequeños” (gansos, pollitos, patos), *Pi. fischeri* y *Pi. pessoai* se encontraron en mayor abundancia en chacras con alto número de gallinas. Por último, los corrales de animales con mayor captura de *Brumptomyia* sp. presentaron mayores abundancias totales de micromamíferos en la chacra (IDR total) (Figura 2.4.2.2b, Tablas 2.4.2.3b y 2.4.2.4b).

a)



b)

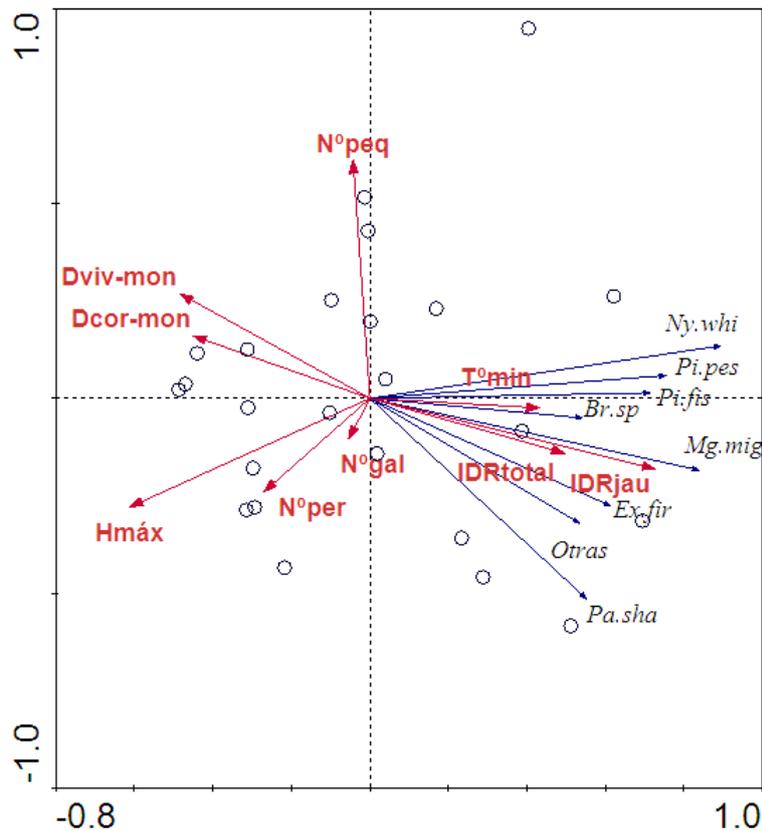


Figura 2.4.2.2 a y b. Triplot donde se ubican los sitios muestreados (**a**: monte; **b**: corral de animales) en función de las variables ambientales que ingresaron en el modelo y las especies de flebótomos capturadas. Ny.whi: *Ny. whitmani*, Mg.mig: *Mg. migonei*; Pi.fis: *Pi. fischeri*, Pi.pes: *Pi. pessoai*, Pa.sha: *Pa. shannoni*, Pi.mon: *Pi. monticola*, Br.sp: *Brumptomyia* sp, Otras : todo el resto de las especies capturadas. Las variables ambientales se encuentran descritas en la **tabla 2.4.1.1**. "2000ha", Puerto Iguazú, invierno 2009 a otoño 2010.

Tabla 2.4.2.3 a y b. Correlaciones Inter.-set ó cargas de las variables ambientales ingresadas al modelo final sobre los ejes canónicos (**a:** monte; **b:** corrales de animales). La descripción de las variables ambientales se encuentra en la tabla 2.4.1.1.

Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3	Eje 4
a)				
T ^o min	0.4658	-0.5790	-0.0385	-0.0257
Hmáx	-0.8454	-0.1041	0.0065	-0.1265
D-cor-mon	-0.4645	-0.0381	0.1451	0.2997
Nest	0.3445	-0.0876	0.5130	0.1388
N ^o per	-0.4111	0.0857	-0.0282	-0.0477
IDRsh	0.6232	0.4087	0.0566	-0.0457
IDRjau	0.7090	0.2200	-0.0570	-0.1261

b)				
T ^o min	0.3911	-0.0216	0.3460	0.0762
Hmáx	-0.5553	-0.2365	-0.0861	0.2503
Dcor-mon	-0.4093	0.1359	0.1702	0.0077
Dviv-mon	-0.4394	0.2272	0.1892	-0.1324
N ^o gal	-0.0492	-0.0898	0.3572	-0.2434
N ^o per	-0.2451	-0.2036	0.0695	0.1233
N ^o peq	-0.0397	0.5193	0.1750	0.0894
IDRjau	0.6592	-0.1539	-0.1779	-0.2823
IDRtotal	0.4505	-0.1197	-0.0681	-0.4870

Tabla 2.4.2.4 a y b. “scores” de las especies sobre los ejes canónicos. (**a:** trampas ubicadas en “monte”; **b:** trampas ubicadas en corrales de animales). Ny.whi: *Ny. whitmani*, Mg.mig: *Mg. migonei*; Pi.fis: *Pi. fischeri*, Pi.pes: *Pi. pessoai*, Pa.sha: *Pa. shannoni*, Pi.mon: *Pi. monticola*, Br.sp: *Brumptomyia* sp, Otras : todo el resto de las especies capturadas.

Especie	Eje 1	Eje 2	Eje 3	Eje 4
a)				
Ny.whi	0.9112	-0.0600	-0.1042	0.0150
Mg.mig	0.8841	0.1702	0.1428	-0.0174
Pa.sha	0.6413	-0.3186	0.0529	-0.3138
Pi.fis	0.8247	0.1189	0.2161	0.0282
Pi.pes	0.5485	-0.1293	0.3616	-0.1086
Pi.mon	-0.0306	-0.3281	-0.1338	-0.4220
Br.sp	0.0218	-0.7281	0.2017	0.1034
Otras	0.7956	-0.0702	-0.0749	0.0207

b)				
Ny.whi	0.8942	0.1346	-0.0750	0.0342
Mg.mig	0.8389	-0.1838	-0.0684	-0.0922
Pa.sha	0.5519	-0.5153	-0.0293	0.1908
Pi.fis	0.7141	0.0146	0.3258	0.1540
Pi.pes	0.7539	0.0586	0.3001	-0.2193
Br.sp	0.5418	-0.0502	0.1060	-0.4505
Ex.fir	0.6141	-0.2761	0.1343	-0.2174
Otras	0.5347	-0.3210	0.1576	-0.2058

A partir de los registros de humedad relativa (HR) y temperatura (T) efectuados de manera continua en un corral de animales y un monte (separados 10 metros entre sí), se observa que el ambiente de monte presenta condiciones de HR mayores a las de corral de animales. La diferencia de temperatura entre ambos ambientes es muy leve (verano y otoño) o prácticamente nula (invierno y primavera) (Figura 2.4.2.3, líneas rojas y verde claro para el corral y monte). Considerando las estaciones del año donde se recolectaron datos de dos montes, en primavera el monte con mayor captura presentó menores valores de HR y mayores valores de T durante la noche, mientras que en el otoño no hubo diferencias en las capturas (sólo una de las dos noches se capturó un ejemplar en el monte de menor HR y mayor T) (Figura 2.4.2.3, b) y d), líneas verde claro y verde oscuro respectivamente).

Los sitios de trampas con captura de flebótomos presentaron valores de temperatura mínima superiores a los 12°C y temperatura máxima superior a los 19,5°C, y valores de humedad relativa mínima inferiores a 88% y humedad relativa máxima de hasta el 96,3%, a excepción de un sitio con valores de temperatura inferiores a los anteriores donde se capturaron 2 flebótomos (Figura 2.4.2.4 a y b).

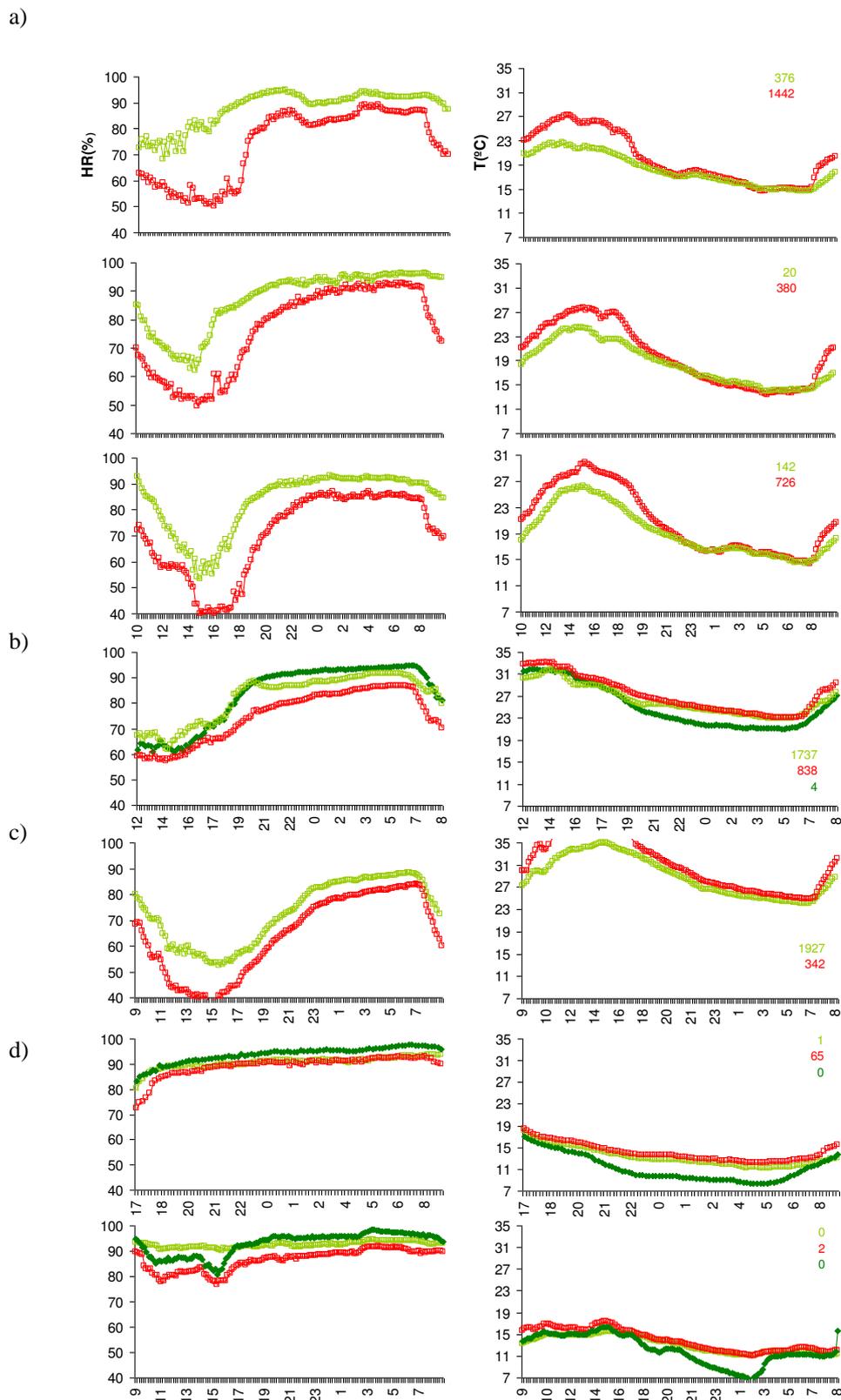


Figura 2.4.2.3. Humedad relativa porcentual –HR(%)– y temperatura en grados centígrados –T(°C)– en función del momento del día (horas, eje x), en el ambiente de corral de animales (líneas rojas, $n_{chacras}=1$) y monte (líneas verdes, en otoño y primavera $n_{chacras}=2$ indicadas con verde claro y oscuro respectivamente). Se muestran los resultados de las cuatro estaciones, a) Invierno (3 noches); b) Primavera (1 noche); c) Verano (1 noche) y d) Otoño (2 noches). En el margen derecho se muestra la abundancia obtenida en cada noche para los distintos ambientes y cada una de las filas representa una noche de muestreo.

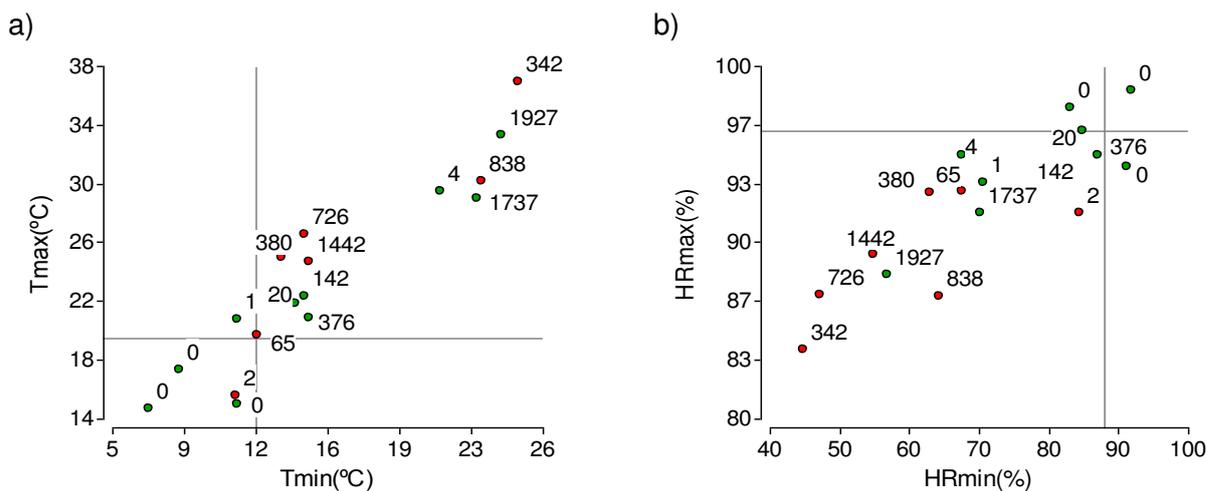


Figura 2.4.2.4. Abundancia total obtenida en las trampas donde se registró de manera continua la temperatura y humedad a lo largo de toda la noche de muestreo para: a) temperatura mínima -Tmin(°C)- vs temperatura máxima -Tmax(°C)- y b) humedad relativa mínima -HRmin(%)- vs la humedad relativa máxima -HRmax(%)-. Los distintos colores indican los ambientes de colocación de las trampas (verde: monte; rojo: corral). Las líneas rectas indican los valores límites de T y HR donde se registraron trampas con capturas de flebotomos. La abundancia de cada trampa se indica sobre el punto en el gráfico.

Los valores de riqueza específica y de diversidad fluctuaron entre estaciones y entre ambientes, encontrándose para la riqueza específica valores máximos en las estaciones de primavera y verano en ambos ambientes y valores máximos de diversidad en invierno y primavera en el corral de animales (tabla 4.7).

Tabla 2.4.2.4. Riqueza específica (r) e índice de diversidad de Simpson (D), calculados para cada ambiente en cada una de las estaciones ($n_{\text{chacras}}=6$). Se presentan los intervalos de confianza del 95% (*bootstrap*).

		r	IC _(95%)		D	IC _(95%)	
			LI	LS		LI	LS
Invierno	Monte	3	1,84	3,87	0,92	0,63	1,08
	Corral	5	1,87	6,44	0,74	0,64	0,82
Primavera	Monte	8	6,37	8,88	0,83	0,44	1,05
	Corral	8	3,34	10,56	0,76	0,68	0,88
Verano	Monte	10	6,38	10,64	0,85	0,67	0,94
	Corral	9	5,56	10,88	0,89	0,84	0,93
Otoño	Monte	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	Corral	3	1,57	3,60	0,97	0,93	1,00

2.4.3. Discusión

El ambiente del corral de animales presentó mayor abundancia total de flebótomos que los parches de vegetación remanente, aunque existió alta variabilidad en la abundancia de flebótomos entre un mismo ambiente en distintas chacras. En ambos ambientes se registraron abundancias altas de *Ny. whitmani*, y esta especie no presentó preferencia por ninguno de los dos hábitats. En el ambiente del corral, las hembras de *Ny. whitmani* se encontraron en mayor abundancia que los machos durante casi todo el año, y la presencia de hembras grávidas se registró en todas las estaciones, pero en los parches de vegetación remanente la abundancia de hembras de esta especie sólo superó a la de los machos durante los meses cálidos y en el otoño no se registraron hembras grávidas. La presencia de más hembras en corral podría sugerir a este ambiente como sitio preferencial de alimentación y refugio durante los meses más fríos, mientras que el monte al tener similar proporción de hembras y machos en parte del año sería sitio de reposo, cópula y cría. Estos datos indicarían que en ambos ambientes existe la probabilidad de contacto hombre-vector [12] [120] [121] pero en el ambiente del corral el riesgo existiría durante todo el año mientras que en el de vegetación remanente esta probabilidad es mayor durante los meses de primavera-verano, aunque no desaparece por completo en los meses más fríos, registrándose presencia de hembras grávidas aún en el invierno.

Mg. migonei estuvo presente en ambos ambientes, con presencia de hembras grávidas, pero con mayor abundancia total en el corral de animales que en el ambiente del monte. Este último resultado concuerda con lo descrito por la bibliografía para esta especie, la cual se encuentra en el bosque primario y secundario, pero también en viviendas y refugios de animales. Mientras ocurre su adaptación a los nuevos ambientes (domésticos y peridomésticos), podría mantener el ciclo enzoótico en la vegetación remanente en el área [91] (ver discusión sección 2.3.3).

El hecho de encontrar hembras grávidas en el corral, tanto de *Ny. whitmani* como de *Mg. migonei*, estaría indicando que ambas especies realizan una segunda ingesta en este ambiente, y esto podría estar indicando que posiblemente los criaderos de estas dos especies se encuentren tanto en los parches de vegetación como en los corrales de animales [122], aunque esto último debería ponerse a prueba a partir de estudios de dispersión de hembras y machos en el área de estudio [122].

Otro dato a tener en cuenta es la gran variabilidad encontrada entre chacras y entre ambientes para la abundancia de las especies dominantes de la comunidad de flebótomos. Este dato estaría de acuerdo con lo descrito por Barata y col. [123], Müller y col. [124] [125] en relación a la distribución heterogénea de los vectores, presentes

en aquellos sitios del ambiente que ofrezcan las características óptimas (temperatura, humedad relativa, fuente de sangre, etc.) para la supervivencia y reproducción.

Las demás especies de flebotomos estuvieron representadas por pocos ejemplares y casi exclusivamente durante la primavera y el verano, con presencia de hembras grávidas. Estas hembras sólo se encontraron presentes en el ambiente de monte, lo cual indicaría que estarían realizando la ingesta de sangre en los parches de vegetación remanente, donde circulan animales silvestres, como posibles fuentes de sangre.

En relación al resto de la comunidad de flebotomos, las especies encontradas se encuentran incluidas en el listado de especies presentes para el área (ver Introducción, sección 2.1) y resulta llamativo que *Ny. neivai* continúe aun estando representada por tan pocos ejemplares, debido a que como se mencionó anteriormente, en el brote de LT registrado a 50 km del área de estudio fue involucrada como vector principal. Tampoco se observó en el área de estudio el reemplazo sugerido de *Ny. whitmani* por *Ny. neivai* en la bibliografía [91].

La abundancia de flebotomos en ambos ambientes estudiados estaría siendo favorecida por valores altos de temperatura mínima y bajos de humedad relativa (teniendo en cuenta las características climáticas de la región [117]), alta abundancia de micromamíferos y poca distancia entre el corral de animales y la vegetación circundante.

Las condiciones de temperatura y humedad relativa determinarían las condiciones climáticas óptimas para los flebotomos. En la sección anterior de este mismo capítulo (sección 2.3), se vio que la abundancia de las especies dominantes de la comunidad estaba asociada de manera positiva con altos valores de temperatura mínima al momento de la captura. Aquí se puede ver que esto se cumpliría para todas las especies de flebotomos de la comunidad, en ambos ambientes estudiados. Los valores altos de humedad relativa (mínima y máxima) interferirían en las capturas de flebotomos [98], lo cual se observó también en este trabajo donde los sitios con mayores abundancias de todas las especies de flebotomos se asociaron con valores de humedad relativa bajos, pero que superan a las descritas para el establecimiento del ciclo de estos insectos [22] [126]. Si bien los resultados obtenidos para los registros continuos de estas variables corresponden a una o dos chacras según el caso, y en algunos casos una única noche por estación, estos resultados preliminares estarían indicando que cada ambiente presenta valores de temperatura y humedad relativa característicos, y que estas condiciones definen sitios propicios para los flebotomos a nivel de micro-escala, independientemente de las condiciones adversas que pudieran registrarse a una escala mayor, como se sugirió en la discusión de la

sección 2.3. Estas condiciones fluctuarían entre ambientes (monte y corral de animales) y entre ambientes similares (montes entre sí), lo cual podría explicar en parte la variación existente en las capturas de flebótomos entre ambientes dentro de una misma chacra y para un mismo ambiente en distintas chacras.

La asociación positiva entre la abundancia de flebótomos y la abundancia de micromamíferos estaría relacionada con la oferta de sangre que los mamíferos proveen para las hembras. Existen evidencias de ingesta de sangre sobre distintas especies de roedores y micromamíferos [127] [128]. Este resultado apoya la idea de involucrar a los micromamíferos en el área de estudio como fuente de sangre para las hembras de flebotominos, independientemente de su potencial rol como reservorios de *Leishmania* spp. (lo cual se discutirá con mayor profundidad en la siguiente sección).

La asociación positiva de la abundancia de flebótomos con la proximidad al borde de monte y el efecto borde ha sido descrita por otros autores [63] [129]. En este estudio, la distancia entre el corral de animales y la ceja de monte aparece también como una variable ambiental que favorece la abundancia de flebótomos, en estos dos ambientes. Este resultado, junto con la asociación encontrada entre la abundancia de flebótomos en el ambiente de corral de animales y en el ambiente de la vivienda (sección 2.3), deben ser tenidos en cuenta al momento de decidir la ubicación (distancia) óptima del corral de animales en relación a la vivienda y a la vegetación primaria o secundaria circundante.

Para el caso de las trampas ubicadas en el monte, los sitios con mayor número de estratos presentes presentaron altas abundancias de flebótomos. Esto estaría relacionado con las condiciones de sombra que proporcionan estos ambientes, generando sitios propicios para la cría de flebótomos [130] [124] [131].

El hecho de que chacras con mayor número de perros presenten menos abundancia de flebótomos, no tendría una explicación *a priori*, pero podría estar indicando una asociación con una tercera variable desconocida que aquí no fue medida, como podría ser el efecto negativo de los perros sobre los mamíferos sinantrópicos. Si bien los cerdos y gallinas han sido descritos en la bibliografía por estar asociados a altas abundancias de flebótomos [105] [123] [132] en este caso sólo se observó una asociación positiva entre la abundancia de *Pi. pessoai* y *Pi. fischeri* y el número de gallinas, especies descritas como oportunistas, acercándose al peridomicilio para la ingesta de sangre.

Las variaciones observadas en la riqueza específica y la diversidad estarían describiendo los cambios en la composición de la comunidad de flebótomos a lo largo del año: en primavera-verano, aumentan las capturas de las especies no dominantes, pero en el verano la abundancia de *Ny. whitmani* toma su máximo valor, por lo tanto la

combinación de mayor riqueza y mayor diversidad, se observa durante la primavera. Si bien en el área de estudio el único vector involucrado en la transmisión del parásito que produce LT por evidencias moleculares y ecológicas es *Ny. whitmani*, se ha discutido el papel de *Mg. migonei*, *Ny. neivai*, *Pi. fischeri*, *Pi. pessoai* y *Ev. cortelezzii/sallesi* como potenciales vectores en otras regiones de la Argentina o Brasil [28] [91]. Los resultados obtenidos para la zona, indicarían un potencial riesgo de transmisión de LT por un vector diferente a *Ny. whitmani* en el ambiente de monte, durante la primavera y el verano, donde se capturaron hembras grávidas de *Pi. fischeri*, *Pi. pessoai* y *Ny. neivai*.

En resumen, con este estudio se pudo observar el patrón de variación anual de la comunidad de flebótomos (de manera estacional) en el ambiente del peridomicilio y parches de vegetación circundante, concluyendo que el riesgo por probabilidad de contacto hombre-vector es alto durante todo el año en el primer ambiente y aumenta hacia los meses cálidos en el segundo. Tanto *Ny. whitmani* como *Mg. migonei* son más frecuentes en corral que cerca de la vivienda, mostrando una preferencia por accesibilidad, abundancia o calidad de oferta de sangre, encontrándose próximos a animales domésticos antes que a las personas (sección 2.3). El resto de las especies sólo estarían ingiriendo sangre en los parches de vegetación remanente utilizando como fuente de alimento a animales silvestres. Sin embargo, especies como *Pi. fischeri* y *Pa. shannoni* se acercan al peridomicilio, aunque no se han encontrado hembras grávidas en este trabajo para estas especies en este ambiente. En los parches de vegetación remanente y en los corrales de animales, los flebótomos de las distintas especies de la comunidad estarían encontrando condiciones micro ambientales propicias para su establecimiento, aunque estas condiciones estarían variando entre sitios y en el tiempo, generando alta variabilidad en la captura de los mismos.

2.5. Estudio de la comunidad de micromamíferos como potenciales reservorios de *Leishmania* spp.

EL objetivo de este trabajo es evaluar el papel de los micromamíferos presentes en el área de estudio como potenciales reservorios de *Leishmania* spp., estudiando la composición de la comunidad, la co-ocurrencia en espacio y tiempo de micromamíferos y vectores e informar la prevalencia de infección por *Leishmania* spp. en los micromamíferos a partir de análisis moleculares.

2.5.1. Materiales y Métodos

Muestreo estacional

Con el objetivo de estudiar la prevalencia de infección por *Leishmania* spp. en los micromamíferos presentes en la zona, se realizaron muestreos estacionales de micromamíferos. La prevalencia de infección se estudió a partir de búsqueda de lesiones compatibles por inspección ocular y análisis de muestras de tejido con técnica de PCR-RFLP.

Los muestreos (8 muestreos en total) se llevaron a cabo cada tres meses en chacras de la zona de 2000ha durante 2 años (verano 2007 a primavera 2008). A partir del muestreo del invierno de 2008 se incluyó un predio ubicado en las 2000ha perteneciente al Ejército Nacional donde se realizan ejercicios militares y en la primavera de 2008 se incluyeron áreas pertenecientes al Parque Nacional Iguazú, todos estos ambientes caracterizados por poseer menor intervención antrópica que las chacras de las 2000ha (ver Área de estudio, sección 2.2).

Los ambientes de colocación de las trampas se clasificaron según características de la cobertura vegetal y del uso de la tierra. En las chacras de la zona de 2000ha se identificaron los siguientes ambientes: domicilio y peridomicilio, áreas desmontadas, cultivos de mandioca y maíz, cañaverales y pastizales, montes (vegetación primaria y/o secundaria) y ambientes de transición (“bordes” entre áreas desmontadas y monte). En el domicilio y peridomicilio (DyP) se ubican las construcciones de la vivienda, los gallineros, chiqueros, depósitos alimenticios y otros depósitos. Las áreas desmontadas (desmonte) son áreas que rodean al domicilio y peridomicilio y tienen nula o escasa cobertura vegetal. Los cultivos de mandioca y maíz (cultivo) se encuentran usualmente continuos al peridomicilio y poseen extensiones generalmente menores a una hectárea. El ambiente de monte se caracteriza por la presencia de parches de vegetación típicos de la selva paranaense; y en este estudio se agruparon las capturas realizadas en estos parches junto con las

del predio del Ejército y las del Parque Nacional Iguazú, por poseer características similares en relación a la cobertura vegetal y uso de la tierra. Los ambientes de transición están caracterizados por bordes de vegetación densa (herbácea, arbórea y arbustiva), con cobertura superior al 90%, que separan al ambiente de monte con el desmonte o cultivo. Por último, los cañaverales y pastizales tuvieron una cobertura de herbáceas de más de 50 cm de altura, un porcentaje de cobertura del 100% y se encontraron limitando con el ambiente de desmonte.

Se colocaron transectas de 15 trampas para micromamíferos por ambiente, con un mínimo de 3 transectas por ambiente, en las distintas chacras y zonas de monte que comprendían el área de estudio. Las mismas se colocaron al azar dentro de las posibilidades operativas de acceso a los diferentes ambientes presentes en cada chacra y área de monte. El esfuerzo de captura promedio por muestreo fue de 681 trampas Sherman-noche y 39 trampas jaulas-noche. Las trampas funcionaron durante 3 noches consecutivas, y fueron revisadas durante las mañanas. Las trampas Sherman fueron colocadas en todos los ambientes presentes, mientras que las trampas jaulas se colocaron sólo en los ambientes de domicilio y peridomicilio y en el monte. Las trampas Sherman fueron cebadas con una mezcla de pasta de maní, avena y grasa, y las trampas jaulas con carne y zanahoria.

Los ejemplares fueron eutanasiados para la obtención de muestras de tejido (bazo y piel) para análisis por PCR-RFLP de *Leishmania* spp., y para la separación de muestras de tejido (hígado) y cráneo para confirmar la determinación sistemática llevada a cabo en campo, por encontrarse crípticas algunas especies de la zona. Las muestras de bazo y piel fueron remitidas para ser analizadas mediante la técnica de PCR-RFLP al Laboratorio de Biología Molecular Aplicada de la Universidad Nacional de Misiones. Se empleó el protocolo de PCR-RFLP para detección y tipificación de *Leishmania* spp. sugerido por Marfurt y col. [90] con blanco en la regiones conservadas y variables del gen Mini-exón, el cual se presenta en tándem de 100 a 200 copias en todas las especies del género *Leishmania*. El mismo genera productos de diferente longitud dependiendo del subgénero al que pertenezcan las especies encontradas, siendo estas tipificadas posteriormente por el ensayo de RFLP (análisis efectuados por Soraya Acardi, Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Universidad Nacional de Misiones). La determinación sistemática de los micromamíferos se llevó a cabo en colaboración con el Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", donde se encuentran depositados los ejemplares capturados.

Muestreos de co-ocurrencia

Para evaluar la co-ocurrencia en tiempo y espacio de los micromamíferos y vectores, se realizaron dos muestreos simultáneos de micromamíferos y flebótomos, durante los meses de mayo (otoño) y agosto (invierno) de 2009, el primero a modo de muestreo piloto y el segundo por ser el período en el cual se había capturado mayor cantidad de roedores los dos años previos al muestreo.

Para poder asociar las capturas en tiempo y espacio de micromamíferos y vectores, se colocaron trampas de luz y de micromamíferos de manera simultánea en los mismos ambientes.

En el muestreo piloto (mayo de 2009), se colocaron 780 trampas Sherman-noche y 51 trampas jaula-noche en 3 chacras de las 2000ha, en los ambientes descritos anteriormente y en 3 ambientes de monte dentro del "predio ejército". En el ambiente de monte (3 montes correspondientes a las chacras y 3 montes al predio ejército) se armó una grilla de 2 trampas tipo Sherman y 2 trampas tipo jaula colocándose en el centro una trampa de luz tipo mini-CDC medio metro por encima del suelo.

Para el muestreo de invierno de 2009, esta metodología se ajustó, colocándose 615 trampas tipo Sherman-noche y 63 trampas jaula-noche en 5 chacras de las 2000ha, también en los ambientes presentes en la zona anteriormente descritos. Se armó la misma grilla de trampas para micromamíferos y vectores que la descrita para el muestreo piloto, pero esta vez se colocó en el ambiente de monte y de corral de animales y se agregaron 2 trampas tipo Sherman en cada grilla.

En ambos muestreos, la metodología para la recolección de flebótomos fue la descrita anteriormente (sección 2.3.1) y para la colección y procesado de mamíferos se procedió de la misma forma que se describió en la sección "muestreo estacional". La cantidad de trampas de micromamíferos colocadas debajo de las trampas de luz, se estableció de manera de poder asociar ambas trampas (flebótomos y micromamíferos) al mismo microambiente.

Para estudiar si la abundancia de vectores se asocia positivamente con la abundancia de micromamíferos, se realizó un análisis de regresión lineal para el índice de densidad relativa del flebótomo *Ny. whitmani* (especie más abundante de la comunidad e incriminada como vector) obtenido en el ambiente del corral de animales en función del índice de densidad relativa de micromamíferos, utilizando los datos recolectados durante el muestreo de invierno de 2009 en las 5 chacras muestreadas.

2.5.3. Resultados

Muestreo estacional

Se capturaron un total de 99 ejemplares de micromamíferos: *Akodon* sp. (n=46); *Mus musculus* (n=28); *Rattus rattus* (n=11); *Oligoryzomys nigripes* (n=4); *Didelphis albiventris* (n=3); *Didelphis aurita* (n=2) y *Oryzomys russatus* (n=1). En el caso de *Akodon* sp. sólo se pudo llegar a nivel de género porque las especies presentes en la zona, *A. montensis* y *A. paranaensis*, son especies crípticas ([133]). Los resultados de determinación específica se podrán complementar en el futuro con las muestras de tejido (hígado) obtenidas.

Todas las muestras de micromamíferos resultaron negativas para *Leishmania* spp. a partir del análisis por PCR-RFLP. Sin embargo, 3 ejemplares presentaron lesiones compatibles con infecciones por *Leishmania* sp, 2 *Rattus rattus* (18,2%) y 1 *Akodon* sp (1,6%). Los dos ejemplares de *Rattus rattus* presentaron lesiones en el hocico, compatibles con la lesión típica descrita en humanos o animales infectados con *L. braziliensis*: úlcera redondeada de bordes elevados y netos, con piso eritomatoso limpio, no supurante.

Las especies de micromamíferos se distribuyen diferencialmente entre ambientes (figura 2.5.2.1). *Rattus rattus* se capturó en el ambiente de domicilio y peridomicilio y sólo en una ocasión en el desmonte, en las inmediaciones de la vivienda. *Akodon* sp. predominó en los ambientes de transición, monte y cañaveral y pastizal. *Mus musculus* estuvo presente en todos los ambientes menos en el monte. *Oligoryzomys nigripes*, representado por pocos ejemplares, estuvo presente en ambientes de monte, desmonte y transición. Se excluyen del gráfico las especies que sólo fueron capturadas una única vez en un único ambiente: *Didelphis albiventris* y *Oryzomys russatus*, que se capturaron en el verano de 2008 en el ambiente de transición entre el monte y el desmonte y en un pastizal respectivamente y *Didelphis aurita* que sólo se capturó en el invierno de 2008 en el ambiente de monte.

El invierno fue la estación del año con mayor abundancia y riqueza específica de micromamíferos, en ambos años de muestreo. Los picos de abundancia estuvieron dados por el incremento en la captura de especies silvestres, especialmente *Akodon* sp. (Figura 2.5.2.1).

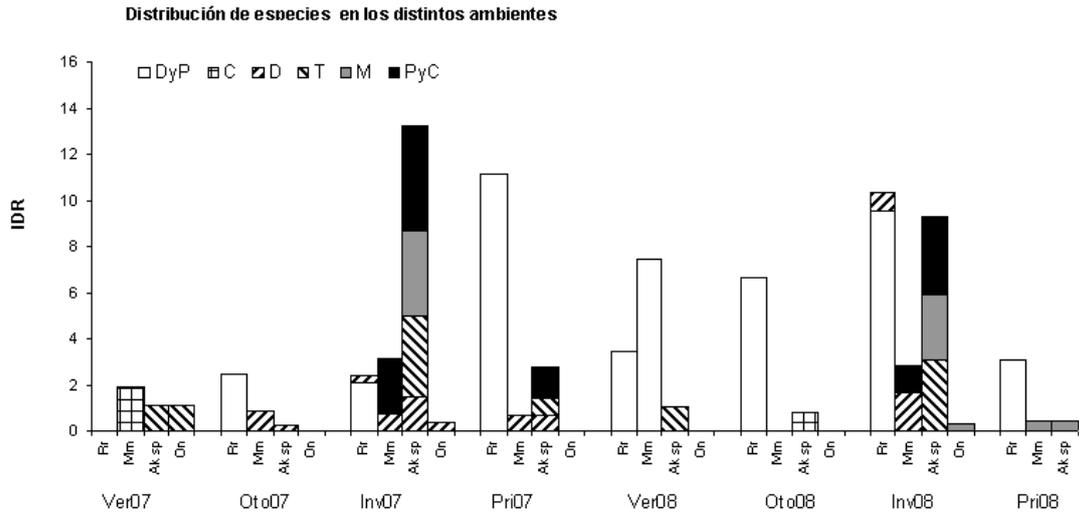


Figura 2.5.2.1. Variaciones estacionales en la abundancia de micromamíferos en los ambientes estudiados. IDR: índice de densidad relativa, calculado como número de ejemplares capturados / número de trampas-noche. DyP: domicilio y Peridomicilio, C: cultivo, D: desmonte, T: transición, M: monte y PyC: Pastizal y cañaveral. La descripción de los ambientes se realiza en el texto. Ver: verano, Oto: otoño, Inv: invierno, Pri: primavera; 07: año 2007, 08: año 2008. "2000ha", Puerto Iguazú, verano de 2007 a primavera de 2008.

Muestreos de co-ocurrencia

Se capturaron flebótomos y micromamíferos de manera simultánea en cuatro de las grillas colocadas, dos colocadas en el ambiente de monte y dos en el ambiente de corral de animales (peridomicilio). Del total de los flebótomos capturados en ambos muestreos (2378 flebótomos, tabla 2.5.2.1a), el 97,1% se capturó en las trampas de luz colocadas en las grillas donde se obtuvo captura de micromamíferos (tabla 2.5.2.1b), la mayoría pertenecientes a la especie *Ny. whitmani* (n=2130) así como el total de hembras grávidas de esta especie. Los micromamíferos capturados en esas grillas fueron 4: *Akodon* sp. (un ejemplar, muestreo de otoño, ambiente de monte), *Didelphis albiventris* (un ejemplar, muestreo de invierno, ambiente de monte) y *Rattus rattus* (dos ejemplares, muestreo de invierno, en peridomicilio), presentando estos últimos tres ejemplares lesiones compatibles con infección por *Leishmania* spp. como las descritas anteriormente.

En el muestreo de otoño no se registraron hembras grávidas y en el muestreo de invierno se registraron 21 hembras grávidas de *Ny. whitmani*, 12 en el ambiente de monte y 9 en los corrales de animales, todas ellas capturadas en las grillas con captura de micromamíferos.

En las transectas adicionales colocadas en los distintos ambientes durante estos muestreos se capturaron micromamíferos pertenecientes a las especies *Mus*

musculus ($n_{\text{otoño}}=2$; $n_{\text{invierno}}=9$), *Akodon* sp. ($n_{\text{otoño}}=1$, $n_{\text{invierno}}=7$), *Rattus rattus* ($n_{\text{otoño}}=1$) y resta determinar un ejemplar (otoño). Estos roedores fueron capturados en los ambientes de domicilio y peridomicilio (*Mus musculus* y *Rattus rattus*), cañaverales y pastizales (*Mus musculus* y *Akodon* sp), borde de monte (*Akodon* sp.), y monte (*Akodon* sp., y *Mus musculus*).

Todas las muestras de bazo, piel y lesiones tomadas resultaron negativas para *Leishmania* spp. por PCR-RFLP y en total (grillas y transectas adicionales) cinco ejemplares presentaron lesiones compatibles con infecciones por *Leishmania* sp, 3 *Rattus rattus* (domicilio y peridomicilio), 1 *Akodon* sp. (cañaveral y pastizal) y 1 *Didelphis albiventris* (Monte).

Tabla 2.5.2.1. a) Abundancia de flebótomos por ambiente de captura y muestreo, discriminada por sexo. "2000ha" y "predio ejército", Puerto Iguazú, otoño e invierno de 2009.

Otoño 2009	Monte	
	Hembras	Machos
<i>Ny. whitmani</i>	15	1
<i>Pa. shannoni</i>	2	1
<i>Sc. sordelli</i>	2	0
<i>Pi. monticola</i>	4	1
<i>Pa. lanei</i>	0	2
<i>Brumptomyia spp</i>	3	1

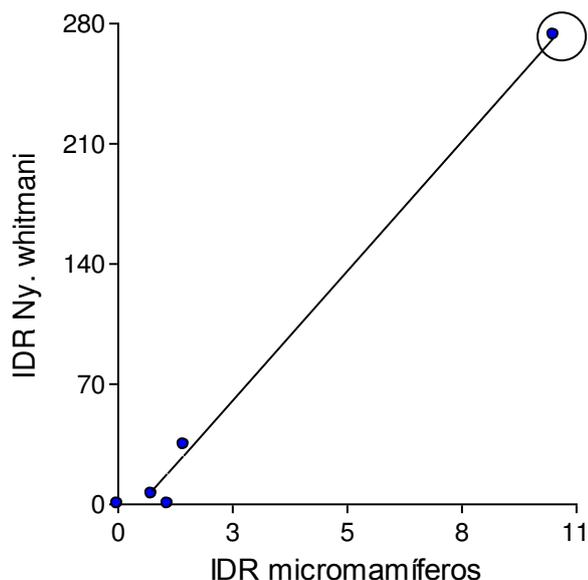
Invierno 2009	Monte		Corral de animales	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
<i>Ny. whitmani</i>	762	407	767	175
<i>Mg. migonei</i>	36	38	33	33
<i>Pa. shannoni</i>	2	1	5	4
<i>Pi. pessoai</i>	0	1	0	1
<i>Ny. neivai</i>	0	1	0	0
<i>Pi. monticola</i>	4	1	0	1

Tabla 2.5.2.1 b) Capturas conjuntas de micromamíferos y flebótomos en el ambiente de monte y peridomicilio. "2000ha" y "predio ejército", Puerto Iguazú, otoño e invierno de 2009.

	Monte	Peridomicilio
Micromamíferos	<i>D. albiventris</i> <i>Akodon</i> sp	<i>R. rattus</i> ($n=2$)
Flebótomos	903	1407
Hembras grávidas de <i>Ny. whitmani</i>	12	9

El IDR de *Ny. whitmani* en el ambiente de corral de animales estuvo asociado positivamente con el IDR de capturas de micromamíferos ($F_{1,3}= 293.4$, $p=0.004$, invierno de 2009, figura 2.5.2.2).

Figura 2.5.2.2. Relación entre el Índice de densidad relativa de *Ny. whitmani* (IDR *Ny. whitmani*) en función del Índice de densidad relativa de micromamíferos (IDR micromamíferos) (Análisis de regresión lineal). Los datos corresponden al muestreo de invierno de 2009 ($n_{\text{chacras}}=5$, $F_{1,3}=293,4$, $p=0,0004$). Notar que la fuerza de la asociación está dada principalmente por una chacra (marcada con círculo), de excluirse ese punto la relación resulta ns ($p>0,05$).



2.5.3. Discusión

Con estos resultados, hasta el momento ninguna de las especies capturadas podría ser incriminada como potencial reservorio de *Leishmania* spp. en el área de estudio. Sin embargo, las lesiones sospechosas que se detectaron en ejemplares de *Rattus rattus*, *Akodon* sp. y *Didelphis albiventris*, indicarían que los roedores de la zona podrían contraer la infección. Debido a que la expresión clínica de leishmaniasis (la úlcera) está asociada con la respuesta del organismo hospedador a la infección parasitaria, la misma puede persistir una vez que el parásito ha desaparecido, lo cual resultaría en un resultado negativo al análisis de PCR. También la lesión puede curarse aun cuando el parásito permanezca en el organismo, lo cual implica que en el equilibrio hospedador-parásito puede existir una lesión y haberse eliminado los parásitos ó puede haber desaparecido la lesión y estar presente el parásito. En otros trabajos, se encontraron muestras de *Rattus rattus*, *Akodon* sp. y *Didelphis albiventris* positivas al análisis de PCR, pero el número de ejemplares analizados era mayor al del presente trabajo. Por ejemplo, Oliveira y col. [42] encontraron 7 *Rattus rattus* positivas de un total de 21 analizadas, mientras que De Lima, encontró una prevalencia de 25% para esta especie [47]. En otro estudio, Brandão Filho y col. [48] encontraron valores más bajos de prevalencia, (16%). Para los roedores del género *Akodon*, Brandão Filho y col. [48] encontraron en *Akodon arviculoides* una prevalencia de 4%. En relación a otras especies capturadas en estos muestreos, se han descrito

como positivas al análisis de PCR, *Oryzomys russatus* [1] [45] [134] y de *Didelphis albiventris*, con una prevalencia de 5/37 [48].

En base a la prevalencia promedio obtenida en distintos trabajos previos, para el tamaño de muestra de este estudio se esperaba encontrar entre 3 y 4 ejemplares de *R. rattus*, entre 2 y 3 ejemplares de *Akodon* sp. y hasta 1 ejemplar de *Didelphis albiventris* positivos por PCR. Aunque la infección por PCR-RFLP no se ha detectado, el número de ejemplares capturados con lesiones sospechosas sí coincide con lo esperado. Si bien durante el período estudiado hubo casos humanos aislados (45 casos registrados en todo el departamento de Iguazú), la incidencia fue muy baja aún para el canal endémico, y a pesar de la alta abundancia de vectores –secciones 2.3 y 2.4-, la circulación parasitaria debe haber sido baja, y concentrada en “puntos calientes” que pueden no haber coincidido con los sitios de captura.

El hecho de haber encontrado asociación positiva entre la abundancia del vector involucrado, *Ny. whitmani* y la abundancia de micromamíferos, podría sugerir que estos últimos podrían estar actuando como fuente de alimento para las hembras de *Ny. whitmani* cumpliendo así un papel en el ciclo de la LT en el área de estudio y haber capturado todas las hembras grávidas de *Ny. whitmani* en trampas de luz asociadas a capturas de micromamíferos en la misma grilla, refuerza esta hipótesis. Además, los micromamíferos estarían compartiendo el hábitat con los vectores, requisito necesario (pero no suficiente) para ser involucrado como reservorio primario o secundario.

En función de estos resultados y asumiendo que las lesiones encontradas en los micromamíferos serían debidas a infecciones previas por *Leishmania* spp. no detectadas por el protocolo de PCR-RFLP empleado, potencialmente la infección en roedores estaría circulando tanto en el ambiente silvestre y ambientes de transición (capturas de *Akodon* sp. y *Didelphis albiventris*) como en el ambiente doméstico y peridoméstico (capturas de *Rattus rattus*), aunque esta hipótesis debe confirmarse en el futuro con tamaños de muestra mayores para estas especies y protocolos de PCR-RFLP más sensibles frente a este y a otros tipos de muestras, como el recientemente puesto a punto en el laboratorio de referencia [135] [136]. Además, dadas las características del área (endémica para LT), es aconsejable repetir el estudio en periodos donde la incidencia no sea tan baja, en situaciones de mayor circulación parasitaria.

Capítulo 3. Distribución espacial y variación temporal de *Lutzomyia longipalpis* en el ambiente urbano, ciudad de Posadas, Misiones.

El objetivo de este capítulo es describir el patrón de distribución de la abundancia de *Lu. longipalpis* en un ambiente urbano, su relación con variables ambientales y sociodemográficas y su variación temporal a dos años de registrarse los primeros casos humanos.

3.1. Introducción

Lutzomyia longipalpis ha sido involucrado por evidencias moleculares y ecológicas como el vector principal de *Leishmania infantum* (*syn chagasi*) en el primer brote de leishmaniasis visceral reportado en la Argentina [14],

El objetivo de este capítulo es conocer la distribución de la abundancia del vector y su disposición en el espacio y el tiempo, debido a la importancia que tiene conocer estas características sobre los riesgos de brotes urbanos de LV. Por un lado, la alta abundancia de *Lu. longipalpis* fue propuesta como un factor de riesgo para la transmisión de LV en ambientes urbanos [80] y por otro, la estructura espacial de los individuos y el ambiente están relacionados con la dinámica poblacional del vector y su persistencia en el tiempo, como lo es para otras tantas poblaciones animales [137] [138]. En este aspecto, Werneck [82] sugiere aproximaciones para estudiar la LV que tengan en cuenta tanto la heterogeneidad en la distribución del vector, como la que presenta el ambiente urbano.

Muchas variables ambientales fueron propuestas como factores que aumentan el riesgo de LV, favoreciendo la abundancia de *Lu. longipalpis*, como ser variables relacionadas con la urbanización no planificada y con la alta densidad poblacional de personas [1] [80] [139] [140]. También chiqueros, gallineros, animales domésticos, árboles frutales, malas condiciones sanitarias, y baja condición socio-económica, fueron características asociadas con la colonización y establecimiento de sitios de cría para *Lu. longipalpis* [141] [142] [143] [144] [145].

De esta manera, la abundancia del vector y sus variaciones en tiempo y espacio constituyen rasgos eco-epidemiológicos de la LV que permiten definir áreas con mayor probabilidad de riesgo por contacto hombre-vector y conocer los factores ambientales asociados al patrón de distribución espacial. Este conocimiento podría ser utilizado al momento de sugerir medidas de control (p.e. medidas de saneamiento ambiental).

En esta parte de la tesis se describe en una primera instancia (sección 3.3) el patrón de distribución de la abundancia de *Lu. longipalpis* en la ciudad de Posadas y una pequeña zona de la ciudad de Garupá, a partir de un muestreo transversal extensivo realizado en el verano de 2007 cuando cuatro casos humanos de LV habían sido detectados. Se relaciona la abundancia de *Lu. longipalpis* con las variables ambientales obtenidas a partir de datos censales y sensores remotos principalmente. La construcción de un mapa de distribución de *Lu. longipalpis* en una etapa temprana del brote registrado en el área de estudio se realizó para conocer su distribución y para poder ser utilizado para priorizar medidas de vigilancia y control (para aplicación de intervenciones con insecticida, saneamiento ambiental, definición de áreas de alta abundancia y baja abundancia).

Con el objetivo de evaluar si la distribución espacial observada en el año 2007 se modificaba a lo largo del tiempo se realizó un nuevo muestreo transversal en la ciudad de Posadas en el verano de 2009 luego de 2 años del comienzo de la epidemia, cuando los casos humanos se incrementaron a 32 (Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud). Para este último muestreo se realizó también un análisis de asociación de la abundancia de *Lu. longipalpis* con variables ambientales, pero en esta oportunidad se trabajó mayoritariamente con datos relevados a micro-escala (vivienda) y se comparó el modelo ambiental con el construido para el año 2007.

3.2. Área de estudio

La ciudad de Posadas (27°23'S; 55°53'W, 120 msnm) es la capital de la Provincia de Misiones (Noreste Argentina, Figura 3.2.1). Es una ciudad limítrofe con Paraguay, separada por el río Paraná. La ciudad pertenece a la región fitogeográfica de la selva paranaense [76], con una temperatura media anual de 22,2°C y precipitación media anual de 1699 mm (años 2003 a 2007, Instituto Nacional de estadísticas y Censos, 2009). Es la ciudad más poblada de la provincia, con más de 250.000 habitantes (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2001). En el muestreo del año 2007 se incluyó una parte de Garupá, una pequeña ciudad contigua hacia el borde sureste de Posadas, con 27.000 habitantes (Figura 3.2.2). En el año 2009 no se incluyó esta última ciudad debido a las posibilidades operacionales con que se contaba.

 <p>Mapa de Sudamérica que muestra la ubicación de Argentina y la ciudad de Posadas. Un triángulo apunta hacia el norte con la letra 'N'.</p>	<p>Figura 3.2.1. Ubicación de la Ciudad de Posadas en Argentina y Sudamérica.</p>
 <p>Imagen satelital que muestra la ciudad de Posadas (Argentina) y la ciudad de Garupá (Paraguay) separadas por el río Paraná. El río está etiquetado como 'Río Paraná'. Las ciudades están etiquetadas como 'Posadas' y 'Garupá'. El país 'Argentina' está etiquetado en rojo. Una línea amarilla indica la frontera. Incluye una escala de 4.59 km y metadatos de Google Earth.</p>	<p>Figura 3.2.2. Ciudades de Posadas y Garupá, en la frontera entre Argentina y Paraguay, separados por el río Paraná.</p>

3.3. Distribución espacial de *Lutzomyia longipalpis* en un foco urbano de leishmaniasis visceral y su relación con variables ambientales.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la autocorrelación espacial de la abundancia de *Lu. longipalpis*, establecer sitios con distintos valores de abundancia asociados a diferentes riesgos epidemiológicos de transmisión de leishmaniasis visceral y relacionar la abundancia del vector con variables ambientales.

3.3.1. Materiales y Métodos.

Muestreo de flebótomos

Se realizaron capturas en 305 sitios distribuidos en la ciudad de Posadas y parte de la ciudad de Garupá con trampas de luz tipo mini-CDC las cuales funcionaron durante toda la noche [97]. Para el muestreo, se dividió a la ciudad en áreas de 400 x 400 m, y se colocó una trampa en el peridomicilio de las viviendas seleccionadas (una por sector) con el criterio de "peor escenario" definido como el ambiente más propenso a tener flebótomos^j [129] [146]. El muestreo se realizó luego de la temporada de lluvias y una única noche por sitio de manera de poder cubrir la mayor parte de la ciudad en la menor cantidad de tiempo y trabajar con condiciones de temperaturas que fuesen lo más homogéneas posibles durante todo el muestreo (desde el 1 de febrero al 31 de marzo 2007, 12 sitios muestreados por noche de muestreo). Cuando no se registraron flebótomos en ninguna trampa colocada durante una noche, se descartaron los registros y se repitió el muestreo en esos sitios la noche siguiente por considerarse que las condiciones climáticas (viento, lluvia) pudieron haber interferido con la captura. Todos los sitios se georeferenciaron con un GPS y se ubicaron en mapas de las ciudades de Posadas y Garupá (ArcView 3.2a, 1999).

Para la conservación e identificación de los flebótomos capturados se procedió de la manera descrita en la sección 2.3.1. Para cada vivienda, la abundancia de *Lu. longipalpis* se estimó mediante el número de individuos de *Lu. longipalpis* capturados por trampa-noche.

^j "Peor escenario" es una definición operativa correspondiente al sitio, dentro del área de estudio, con mayor probabilidad de encontrar flebótomos, debido a las condiciones de hábitat y por ello con mayor significado biológico que el centro geométrico. Los "peores escenarios" se caracterizan por la presencia de sombra vegetal, tierra húmeda, detritos orgánicos, proximidad a parches de vegetación densa, densidad, calidad y accesibilidad de oferta de fuentes de ingesta sanguínea y no interferencia de luces externas.

Análisis espacial

Para estudiar la autocorrelación espacial de la abundancia de *Lu. longipalpis* se realizó un semivariograma, utilizando la extensión espacial del SPLUS 6.0 (2002). Se consideró una distancia mínima entre puntos de 350 m, de esta forma todos los valores de abundancia obtenidos en el mapa interpolado se estimaron a partir de al menos 50 puntos, considerándose cuatro direcciones de isotropía: 0°, 45°, 90° y 135°. Para estimar el rango, *nugget* y *sill* (parámetros del semivariograma), se ajustó el semivariograma utilizando la función esférica. Luego se interpoló la abundancia de *Lu. longipalpis* para toda el área de estudio a partir de los puntos de muestreo, utilizando un procedimiento de *Krigging* común, con el fin de establecer valores de abundancia de *Lu. longipalpis* en todo el espacio muestreado y evaluar la existencia de “parches” y “lagunas” con diferentes valores de abundancias en el espacio [147] [148] [149] [150].

Variables ambientales.

Se seleccionaron un total de 35 variables ambientales (Tabla 3.3.1) para las 305 viviendas muestreadas, y se evaluó su posible papel indicador de la abundancia de *Lu. longipalpis* (ver *análisis de datos*). Estas variables se seleccionaron en base a la biología del vector y a las variables asociadas con el riesgo de contraer LV citadas en la literatura [40] [81] [139] [140] [143].

Las variables ambientales consideradas provinieron de 3 fuentes distintas: a) datos de clasificación de cobertura de tierra e información cartográfica provista por el “Ente Binacional Yaciretá”, b) El Censo Nacional de Personas y Hogares, 2001 (Instituto Nacional de estadísticas y censos, 2001) y c) datos relevados a campo de manera simultánea con el muestreo entomológico.

La cobertura de la tierra se agrupó en 3 clases diferentes basada en una clasificación supervisada sobre una imagen Ikonos obtenida el 2 de octubre de 2007. Las tres clases fueron: 1. vegetación herbácea, 2. árboles y arbustos y 3. “no vegetal” (techos, pavimentos, caminos, pisos, etc.). Para estimar los valores de cobertura de cada una de las categorías se dibujaron círculos concéntricos de 50,100 y 200 metros de radio alrededor de cada vivienda muestreada (áreas *buffer*). Para cada círculo se calculó el porcentaje ocupado por cada categoría de clasificación. La variable *distancia a la fuente de agua* (WSD) se cuantificó siempre que fuera menos a 500 metros, si era mayor se consideró como una categoría única superior a 500m.

Las características de las viviendas se obtuvieron a partir de los datos del Censo Nacional de Personas y Hogares, 2001. Se descartaron a priori las variables que no mostraban variación en la escala de análisis. Se seleccionaron 24 variables socio-económicas para el estudio (Tabla 3.3.1), desagregadas a nivel de radio censal

(267 radios censales totales para las ciudades de Posadas y Garupá). Estas variables se incorporaron al análisis como porcentaje de hogares con las características seleccionadas en el radio censal y el valor obtenido para cada radio censal fue el asignado a cada vivienda muestreada, utilizando el programa ArcView GIS 3.2a.

Adicionalmente, de manera simultánea con el muestreo entomológico, se registró para cada vivienda la presencia o ausencia de gallinas.

Análisis de datos

Para evaluar que variables ambientales estaban relacionadas con la abundancia de *Lu. longipalpis*, se realizó un análisis de correlación univariado (correlación de Pearson). Se consideraron como variables fuertemente asociadas con la abundancia de *Lu. longipalpis* a aquellas que presentaron valores de p menores a 0,05 y marginalmente asociadas aquellas que presentaron valores de p menores a 0,10. Para descartar multicolinealidad entre las variables explicativas e identificar grupos de variables asociadas se realizó un análisis de componentes principales (ACP), basado en los coeficientes de correlación de Pearson. En este análisis, para las variables relacionadas con la cobertura de la tierra, sólo se consideraron aquellas obtenidas a 50 metros del punto de muestreo debido a la alta correlación que presentaban las variables de cobertura medidas a distintas distancias (50, 100 y 200 metros del punto de muestreo, $p < 0,05$ en los análisis de correlación entre ellas en todos los casos). Por esta misma razón se incluyó sólo el indicador “Necesidades básicas insatisfechas” (NBI) y se descartaron los indicadores desagregados (NBI₁₋₅).

Se realizaron dos pruebas de independencia (CHI-Cuadrado), para la presencia de gallinas en viviendas con y sin flebótomos, en una considerando todas las viviendas con presencia de al menos un flebótomo como positivas mientras que en la segunda sólo se seleccionaron como viviendas positivas a aquellas con abundancia media (entre 30 y 60 flebótomos) y alta (>60 flebótomos). Esta última clasificación se realizó considerando que mayor abundancia de *Lu. longipalpis* implica mayor riesgo de contraer LV.

Con el objetivo de analizar la asociación de *Lu. longipalpis* con las variables ambientales se realizó un análisis de regresión múltiple por pasos hacia adelante (*stepwise forward* [151]), utilizando modelos lineales generalizados (GLM) [152] [153]. Debido a que la variable respuesta, número de individuos de *Lu. longipalpis*, consistía en una variable de conteo, se utilizó una distribución de Poisson con link log y u^2 como función de varianza, dado que fue el mejor estimador de la varianza para el conjunto de datos. Para tener en cuenta la sobre dispersión de los datos, el modelo se re escaló y sus parámetros se estimaron con el criterio de máxima verosimilitud [153] [154]. Se

trabajó con el programa SPLUS 6.0 (2002). Se realizó una prueba de t a dos colas para cada parámetro [155] y se incluyeron en el modelo las variables explicativas que resultaron significativas a un nivel del 1%. El orden en que cada variable explicativa ingresó al modelo resultó del porcentaje de devianza que explicaba de manera individual. En primer lugar, se incluyó la variable que mayor porcentaje de la devianza total explicaba y luego se incluyeron de manera sucesiva las demás variables en orden decreciente de porcentaje de devianza explicada, siempre que resultasen significativas. Para cada variable ingresada al modelo, se descartaron aquellas cuyo coeficiente de correlación de Pearson superase el valor de 0,45, de esta manera se garantizaba retener en el modelo la variable que explicaba el mayor porcentaje de devianza y excluir del análisis las variables correlacionadas entre sí. Se agregaron términos de interacción al modelo para evaluar si esta contribuía a un mejor ajuste del mismo. Cuando el modelo no pudo ser mejorado por la incorporación de variables o términos de interacción, se agregaron las coordenadas geográficas como variables explicativas para evaluar una posible dependencia espacial [156]. Para finalizar, se remuestrearon los parámetros con el método de *bootstrap* y se verificó que el intervalo de confianza del 95% obtenido para los mismos no contuviera al 0. Por último, con el modelo final se analizó la autocorrelación de los residuos obtenidos en el GLM descrito.

Tabla 3.3.1.1. Variables ambientales consideradas para explicar la abundancia de *Lu. longipalpis* referidas a la vivienda muestreada o al radio censal que incluye la vivienda muestreada. Todas las variables a excepción de las dos primeras se expresaron como porcentaje de la superficie o de hogares en el radio censal.

Nombre de la variable	Significado
CP ^a	Presencia de gallinas en el hogar, Si o NO
WSD ^b	Distancia a la fuente de agua (Ríos, arroyos), en metros si ≤ 500 m categoría si >500 m
P50/100/200 ^b	Superficie cubierta por vegetación herbácea a 50/100/200 m
A50/100/200 ^b	Superficie cubierta por árboles y arbustos a 50/100/200 m
NV50/100/200 ^b	Superficie cubierta por no vegetación a 50/100/200 m
S / W ^c	Hogares sin cloacas / red de agua potable
E / SL ^c	Hogares sin energía eléctrica / luminarias en las calles
P / GC ^c	Hogares en manzanas sin al menos una calle pavimentada / Sin recolección de basura mayor a 2 veces por semana
PT / T ^c	Hogares sin acceso a transporte público en menos de 300m / sin teléfono público en menos de 300 m
DS / PRS / US ^c	Hogares con servicios domiciliarios / vía pública / urbanos insuficientes
OQ / CMQ ^c	Hogares con calidad ocupacional insuficiente / sin materiales de construcción resistentes en al menos uno de sus componentes
NBI ^c	Hogares con al menos una necesidad básica insatisfecha (NBI ₁₋₅)
NBI _{1,2,3,4,5} ^c	1: Indicador NBI hacinamiento, Hogares con más de 3 personas por habitación; 2: Indicador NBI de vivienda: hogares en una vivienda de tipo inconveniente (pieza de inquilinato, pieza de hotel o pensión, casilla, local no construido para habitación o vivienda móvil); 3: Indicador NBI de condiciones sanitarias: no tienen ningún tipo de retrete; 4: Indicador NBI de asistencia escolar: tienen al menos un niño en edad escolar (6 a 12 años) que no asiste a la escuela; 5: Indicador NBI de capacidad de subsistencia: tienen cuatro o más personas por miembro ocupado, cuyo jefe no haya completado el tercer grado de escolaridad primaria.
MP ^c	Hogares con privaciones materiales y económicas: identifica a los hogares según su situación respecto a la privación material en cuanto a dos dimensiones: recursos corrientes y patrimonial.
Ov / Ms / Ad / D ^c	Hogares con más de 2 personas por habitación / Hogares con niños menores de 12 años/ Hogares con adultos mayores de 65 años / Densidad habitacional, por hectárea.

Fuentes: ^a Datos obtenidos en terreno de manera simultánea con el muestreo entomológico ^b Información obtenida a partir de clasificación de cobertura de la tierra y cartografía, ^c Censo Nacional de Personas y Hogares (Instituto Nacional de estadísticas y censos, 2001).

3.3.2. Resultados

Lutzomyia longipalpis se encontró distribuida en toda el área de estudio (Figura 3.3.2.1). Se capturaron un total de 2.428 individuos en el 42% de los sitios muestreados (relación machos/hembras: 3,5). También se capturaron 8 ejemplares de *Ev. cortelezzii*, 3 de *Ny. neivai* y 1 de *Ny. whitmani*. La abundancia promedio de *Lu. longipalpis* fue de 8,29 individuos/trampa (desvío estándar 39,84; Rango 0:498).

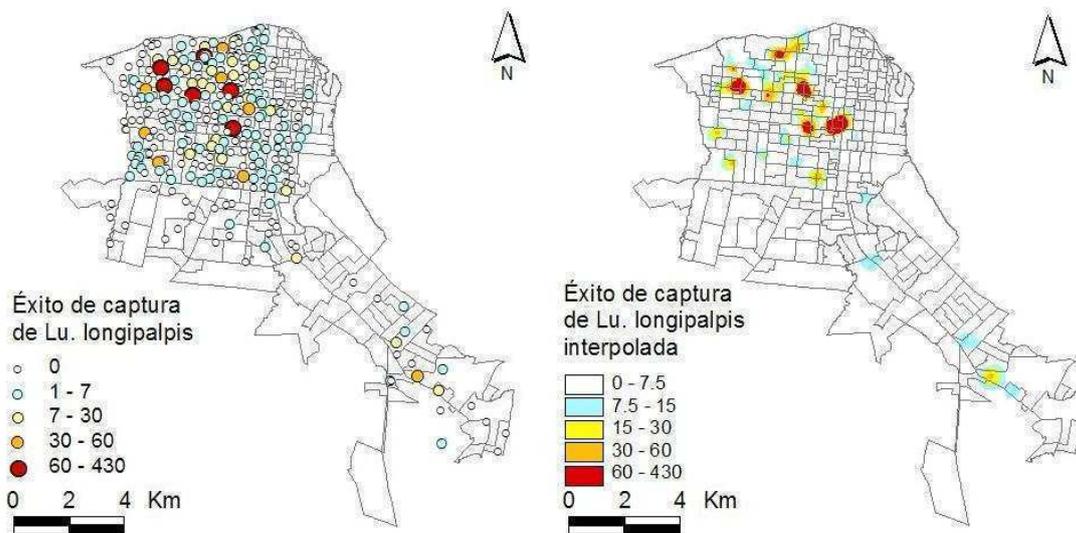
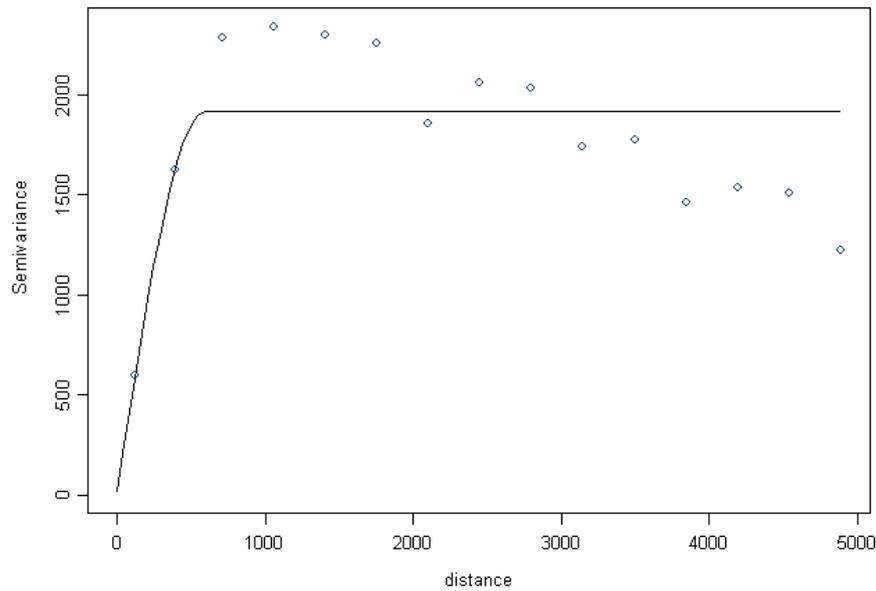


Figura 3.3.2.1. Distribución espacial de *Lu. longipalpis* en Posadas y Garupá. a) Éxito de captura y b) Abundancia predicha por el método de Interpolación de *Kriging* común. Escala en kilómetros. Posadas y Garupá, Argentina, verano 2007.

Lutzomyia longipalpis mostró autocorrelación espacial entre sitios de acuerdo con el semivariograma. El rango estimado para esta autocorrelación fue de 590 metros (con un *nugget* de 21 mts y un *sill* –semivarianza máxima- de 1893). Estos parámetros no mostraron variación cuando se realizaron los 4 semivariogramas para las diferentes direcciones, mostrando de esta manera isotropía (Fig. 3.3.2.2).

a)



b)

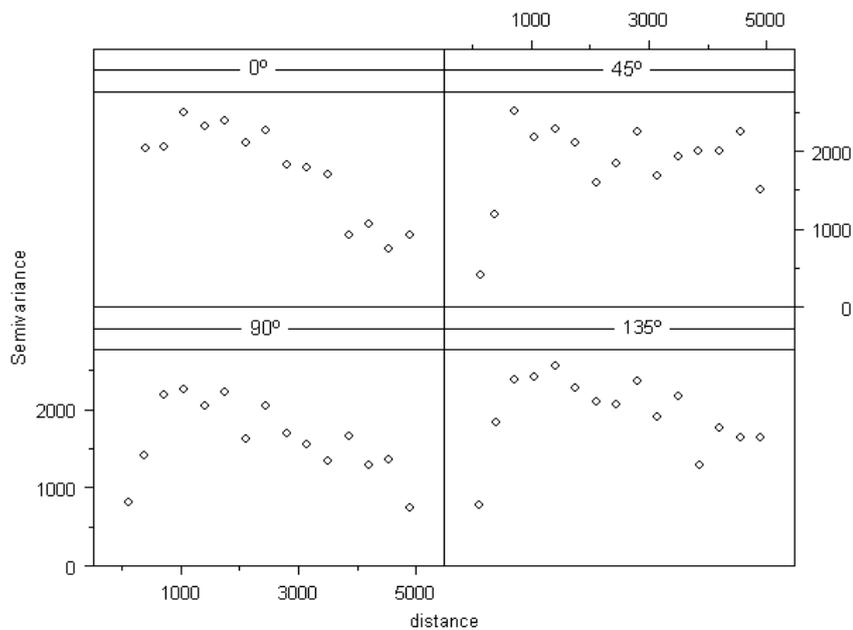


Figura 3.3.2.2. a) Semivariograma obtenido para la distribución espacial de la abundancia de *Lu. longipalpis* y **b)** Semivariograma en 4 direcciones: 0°; 45°; 90° y 135° (Tolerancia 45°). Ambas figuras se refieren a las ciudades de Posadas y Garupá y la distancia está medida en metros.

El patrón de distribución para la abundancia de *Lu. longipalpis* obtenido a partir de la interpolación mostró un incremento de la abundancia hacia el centro de la ciudad de Posadas, con seis “islas” de alta abundancia (> 60 individuos) y otros puntos de abundancia media (entre 30 y 50 individuos) (Figura 3.3.2.1).

De los análisis de correlación univariados entre la abundancia de *Lu. longipalpis* y las variables ambientales se obtuvo que *Lu. longipalpis* presenta

asociación negativa con: hogares con privaciones materiales (MP, $p < 0,05$), hogares con más de dos personas por habitación (Ov, $p < 0,10$), hogares con calidad ocupacional insuficiente (OQ, $p < 0,10$), hogares con capacidad de subsistencia insuficientes (NBI_5 , $p < 0,10$), y hogares con niños menores de 12 años (Ms, $p < 0,10$). Se observó también una asociación positiva marginal entre la presencia de *Lu. longipalpis* y las gallinas ($p = 0,07$, odd radio: 1,53, IC_{95} : 0,97:2,44). Sin embargo, cuando se consideraron positivas sólo las viviendas con abundancia media o alta (>30 individuos), esta asociación resultó significativa ($p = 0,02$; odds ratio: 3,26, IC_{95} : 1,217:8,77).

Muchas de las variables explicativas estuvieron asociadas entre sí, esto puede visualizarse en el análisis de componentes principales donde los dos primeros ejes explicaron el 52% de la varianza total (Figura 3.3.2.3). El primer eje puede describirse como la capacidad económica de los hogares y la ubicación espacial de los hogares en la periferia o centro de la ciudad, ya que se asocia positivamente con una mayor proporción de viviendas con falta de material de construcción o con las privaciones económicas, más de dos personas por habitación, necesidades básicas insatisfechas, y mayor proporción de hogares con niños menores de 12 años, y está negativamente asociado con alta densidad de habitantes/hectárea, la proporción de viviendas con adultos mayores de 65 años de edad, y una mayor proporción de superficie sin vegetación (DS, GC, T, P, CMQ, Ms, Ov, OQ, NBI y MP positivamente y Ad, NV50 y D, negativamente, Tabla 3.3.1.1 y Figura 3.3.2.3). El segundo eje estaría relacionado con la accesibilidad a los servicios urbanos, ya que se asocia positivamente con la insuficiencia en los servicios públicos urbanos y domésticos: falta de alumbrado público, de agua de red, de cloacas, de recolección de basura, de transporte público y de teléfonos públicos (PRS, SL, US, E, W y DS, Tabla 3.3.1.1 y Figura 3.3.2.3).

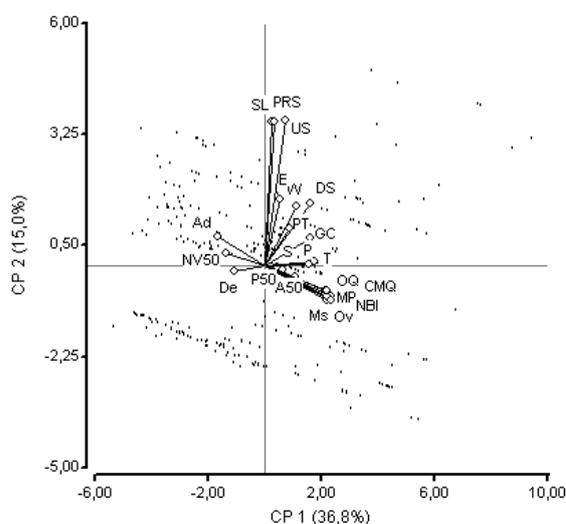


Figura 3.3.2.3. Análisis de componentes principales de todas las variables consideradas para el análisis de regresión. El 52% de la varianza fue explicada por los dos primeros ejes. Las variables se encuentran explicadas en la tabla 1 y la asociación entre ellas se explica en el texto. CP: componente principal, seguido del porcentaje de varianza que explica entre paréntesis.

El mejor modelo lineal generalizado hallado para explicar la abundancia de *Lu. longipalpis* incluye como variables explicativas, en relación inversa, al porcentaje de viviendas con privaciones económicas y materiales (MP) y de manera positiva a porcentaje de la superficie cubierta por árboles y arbustos (%A50) y porcentaje de hogares sin energía eléctrica (E) (Tabla 3.3.2.1). Todos los intervalos de confianza construidos para los parámetros estimados no contuvieron al 0. Cuando la latitud y longitud fueron incluidas en el modelo no se obtuvo una mejora del mismo ($p > 0,01$). El modelo explicó el 31,24% de la devianza total, con 293 grados de libertad.

Los semivariogramas construidos para los residuos del modelo lineal generalizado no mostraron ningún patrón y sólo pudo ser estimado el parámetro del *nugget*, demostrando de esta manera que no existía dependencia espacial para los residuos del modelo construido. Se estudió la anisotropía de estos residuos, confirmando que no se observa ningún patrón espacial en ninguna dirección considerada.

Tabla 3.3.2.1. Resultado del análisis de regresión múltiple, GLM (parámetros estimados y error estándar, EE) para la abundancia de *Lutzomyia longipalpis* como función de las variables ambientales y demográficas. El modelo lineal generalizado se construyó utilizando una distribución de Poisson para el error y 289 grados de libertad. MP: % hogares con privación material (indicador de recursos y de construcción), A50: % superficie cubierta por árboles y arbustos en 50m alrededor del sitio muestreado, E: % porcentaje de hogares sin energía eléctrica. Devianza Nula= 878,82

	Parámetros estimados	EE	Devianza explicada	% devianza explicada
Ordenada al origen	1,9452	0,6116		
MP	-0,0441	0,0104	110,75	12,60
A50	0,0413	0,0116	83,39	9,50
E	0,0886	0,0362	80,38	9,15

3.3.3. Discusión

En este capítulo se muestra la distribución espacial de *Lu. longipalpis* en el ambiente urbano de Posadas y parte de Garupá, a partir de capturas en 305 sitios. *Lu. longipalpis* se encontró presente en casi la mitad de los sitios muestreados, colonizando diferentes parches caracterizados por estar poblados con alta densidad humana, por ende con alto riesgo de transmisión epidémica de *L. infantum* (*syn chagasi*).

Hasta este estudio, el vector se había encontrado cerca de la zona de estudio en dos oportunidades, con un total de 4 ejemplares, en capturas mensuales llevadas a cabo desde 1993 hasta 2000 [84], y otro registro en la Ciudad de Posadas, con 28

flebótomos capturados en el año 2006, en el peridomicilio de la vivienda donde se registró el primer caso de LV humana reportado en la Argentina, donde además se encontraron perros infectados [14]. Cuando se llevó a cabo el muestreo, había 4 casos humanos de LV con más de 800 perros diagnosticados con LV canina [14]. Sin embargo, aunque se trataba de una etapa temprana del brote de LV en las ciudades de Posadas y Garupá, el patrón de dispersión de *Lu. longipalpis* encontrado resultó similar al de otros escenarios de la transmisión de la LV urbana reportados en América del Sur desde la década de 1980 [80] [81] [144] [157].

A pesar que en muchos sitios sólo se capturó un único ejemplar de *Lu. longipalpis*, la distribución espacial de la abundancia de *Lu. longipalpis* mostró una autocorrelación hasta los 600m, con un patrón de "islas" de alta abundancia cerca del centro de Posadas. Estos "puntos calientes" fueron rodeados por parches de abundancia intermedia, también presentes en otras áreas de la ciudad. La distribución urbana heterogénea de los vectores, con casos de LV humana o canina, han sido reportados para muchas ciudades, aunque no se ha estudiado la autocorrelación espacial del vector y en muchos casos suelen utilizarse escalas espaciales de trabajo más amplias [146] [158] [159] [160] [161] [162]. Werneck, en Teresina, Brasil, utilizó casos humanos de LV y los modeló para la construcción de un semivariograma con un modelo esférico, encontrando también dependencia espacial, pero con una correlación entre radios censales que estaban separados por 2 kilómetros entre ellos [149]. Sin embargo, la incidencia de LV en humanos y la prevalencia en perros están relacionadas con la transmisión del pasado y los movimientos culturales, por lo que podría ser datos menos certeros que los datos entomológicos para ser utilizados como indicadores de transmisión de LV [28] [163]. El patrón que se encuentra en este trabajo, con islas de alta abundancia de *Lu. longipalpis* en el centro de la ciudad, calculado a partir de los sitios muestreados separados entre sí por una distancia media de 400 m, podría estar relacionado con la heterogeneidad que presenta el ambiente urbano, propenso a tener sitios con condiciones micro-focales adecuadas para los flebótomos muy cerca de sitios con condiciones inadecuadas para su establecimiento. Por el contrario, las afueras de la ciudad son más homogéneas que el centro y parecerían ofrecer condiciones menos apropiadas para este flebótomo, a diferencia de lo que se encuentra en focos de LV rurales en Venezuela [129]. Por lo tanto, las variaciones en la abundancia de *Lu. longipalpis* observadas podrían estar relacionadas con estos cambios que muestra el paisaje urbano a pequeña escala, ya que la autocorrelación desaparece cuando las variables ambientales son removidas (análisis de correlación de los residuos del modelo ambiental). Este patrón de distribución de la abundancia en islas, también sugiere que si bien el vector puede estar distribuido en

toda la ciudad, el riesgo relacionado con la alta abundancia de vectores estaría concentrado en unas pocas áreas limitadas en el espacio. En relación a la ubicación espacial de los cuatro casos humanos detectados al momento del muestreo, el lugar probable de transmisión de dos de ellos no pudo ser localizado, ya que uno correspondía a una persona sin hogar y la otra persona cambió de domicilio en la ciudad varias veces antes de que se le detecten los signos clínicos de la enfermedad. De los dos restantes, sólo uno tenía residencia en una isla de alta abundancia [14], pero estos datos son insuficientes para establecer conclusiones acerca de la relación entre casos humanos y las capturas de *Lu. longipalpis*, ya que al momento del muestreo entomológico los casos detectados en la ciudad eran pocos. La distribución de casos caninos no se pudo conocer con certeza por no existir un muestreo adecuado de la población canina, y no se pudo disponer de la ubicación espacial e identificación de los casos por veterinarios privados a pesar de ser una enfermedad de denuncia obligatoria (Salomón, comentario personal).

La asociación de *Lu. longipalpis* con variables ambientales explicó en parte la heterogénea distribución del vector en la ciudad. La variable “Hogares con privaciones materiales y económicas” tiene bajos valores en el centro de la ciudad de Posadas, donde se obtuvieron los mayores valores de captura. Sin embargo, en esta área densamente poblada, la capacidad económica es más heterogénea, mientras que los barrios periféricos, menos poblados, tienen menos recursos económicos. La asociación de *Lu. longipalpis* con los hogares sin energía eléctrica podría ser una consecuencia de la atractividad que ejercen las trampas de luz en la oscuridad pero también podría ser un indicador de condiciones de vida humilde dentro de áreas densamente pobladas, ya que esta variable estuvo asociada en el análisis de componentes principales con servicios inadecuados (falta de agua potable, de recolección de basura, de luminarias en la vía pública) variables normalmente asociadas en la literatura con riesgo de LV [40] [81] [139] [140] [143]. La tercera variable que explicó la abundancia del vector fue la cobertura de árboles y arbustos, los cuales en el contexto del área urbana se encuentran de manera intercalada. Esta relación es consistente con las condiciones necesarias para la cría de la especie: disponibilidad de sombra, humedad y materia orgánica en descomposición [40] [129]. *Lu. longipalpis* estuvo asociada a las gallinas en el ambiente peridoméstico, lo que muestra el riesgo de la instalación de gallineros cerca de las viviendas, por la atracción y consiguiente aumento de la abundancia del vector, tal como fue reportado con anterioridad en otros trabajos [142] [144] [164] [165] [166].

Los diferentes análisis mostraron coherencia en relación a la asociación de la abundancia de *Lu. longipalpis* con variables que dan cuenta de la vulnerabilidad socio-

ambiental, (cobertura vegetal de árboles y/o arbustos y servicios públicos deficientes) en el área urbana de la ciudad de Posadas y no en la población suburbana, menos densa y más pobre. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el modelo ambiental sólo explica parcialmente la distribución de la abundancia de *Lu. longipalpis* en el área de estudio. Además, este modelo fue construido con datos de la abundancia del vector obtenidos en los comienzos de la epidemia de LV, por lo tanto no debería descartarse la existencia de factores estocásticos relacionados con etapas tempranas de la colonización de *Lu. longipalpis* en las ciudad de Posadas y Garupá. También hay que tener en cuenta las limitaciones sobre las conclusiones y extrapolaciones que produce tener una única noche de muestreo en cada sitio (debido a la variabilidad observada entre noches dentro de un mismo sitio [167]), pero en este caso fue la única opción operativa posible para obtener en poco tiempo datos para toda el área de estudio. Las variables incluidas en este análisis fueron obtenidas a partir de radios censales que agrupan un gran conjunto de sitios muestreados, posiblemente si las variables hubiesen sido tomadas además a nivel de micro escala (en este caso, la vivienda) las conclusiones se verían enriquecidas. En relación a las islas de alta abundancia, las réplicas en el tiempo ayudarían a concluir acerca de su comportamiento, para saber si las mismas son móviles o fijas en el tiempo, si desaparecen, o tienen otro comportamiento. Estos dos últimos puntos serán abordados en el trabajo planteado en la siguiente sección.

En conclusión, en este foco reciente de LV urbana, *Lu. longipalpis* mostró una distribución espacial heterogénea con el vector concentrado en alta abundancia en áreas limitadas en barrios densamente poblados, y estuvo asociado a la cobertura vegetal y servicios urbanos deficientes. Estos resultados, una vez validados, contribuirán a desarrollar mejores estrategias de control y elaborar mapas de riesgo para establecer prioridades de intervención y estrategias de control en áreas y escalas adecuadas. En relación a las medidas de saneamiento ambiental, debería trabajarse sobre la eliminación de los residuos orgánicos, de los desechos de animales domésticos, la disposición espacial de perros (reservorios principales de LV urbano) y gallinas en el peridomicilio respecto a la distancia al sitio de dormir de las personas, y en el mejoramiento de los servicios públicos. Una vez realizadas estas intervenciones, de manera controlada, debería también evaluarse su impacto sobre la abundancia de vectores y el riesgo asociado a ella de contraer LV. Por último si los "puntos calientes" de abundancia de *Lu. longipalpis* son validados como áreas de "transmisión principales" [168] o "poblaciones fuente" de flebótomos [169], la vigilancia e intervenciones de control allí focalizadas podrán disminuir la incidencia de LV en toda la ciudad.

3.4. Variación temporal de la distribución de la abundancia de *Lutzomyia longipalpis* (años 2007-2009) en la ciudad de Posadas, Misiones.

El objetivo de este trabajo es estudiar el patrón de distribución espacial de la abundancia de *Lu. longipalpis* en la ciudad de Posadas entre los años 2007 y 2009, relacionar la abundancia del vector en este último año con variables ambientales relevadas en el sitio de colocación de la trampa (micro-escala) y comparar el nuevo modelo ambiental con el obtenido para el año 2007.

3.4.1. Materiales y Métodos.

Muestreo entomológico.

Se realizó un muestreo de flebótomos adultos en el verano de 2009 (desde el 21 de enero al 11 de marzo), en los peridomicilios de viviendas separadas en promedio por 400m (misma metodología descrita para el muestreo entomológico del año 2007, sección 3.3.1). Este muestreo sólo se realizó en la ciudad de Posadas y de manera conjunta entre la Municipalidad de Posadas, Secretaría de Calidad de vida y la Red Argentina de Investigación en Leishmaniasis (REDILA).

Los flebótomos capturados fueron conservados e identificados de la manera descrita en la sección 2.3.1. Para cada vivienda, la abundancia de *Lu. longipalpis* se estimó mediante el número individuos de *Lu. longipalpis* capturados por trampa-noche.

Dado que en el año 2007 el muestreo abarcó la ciudad de Posadas y parte de la ciudad de Garupá y que en el año 2009 el muestreo se restringió a la ciudad de Posadas, para el análisis espacial que se realizó en este trabajo sólo se incluyeron los sitios de muestreo que estaban incluidos en el área (grilla) muestreada ambos años y estos fueron 282 para el año 2007 y 310 para el año 2009.

Análisis espacial

Para estudiar la autocorrelación espacial en la abundancia de *Lu. longipalpis* en el año 2009 y comparar el resultado con la obtenida en el año 2007, se construyó el semivariograma y se estimaron sus parámetros. Se interpoló la abundancia del vector utilizando el procedimiento de *Krigging* común, con el fin de localizar parches y lagunas de la abundancia en el espacio [147] [148] [149] [150] y comparar el patrón espacial obtenido en ambos años. La metodología utilizada para estos dos análisis es la descrita en la sección 3.3.1.

Una vez obtenida la interpolación para el año 2009, se construyó un mapa que reflejara los cambios en la abundancia entre el año 2007 y el 2009 en la ciudad de Posadas, utilizando el programa ArcView 3.2.TM. Para esto, se clasificó la abundancia en tres categorías: baja (< a 30 individuos), media (entre 30 y 60 individuos) y alta (> 60 individuos) y se utilizó el módulo de análisis espacial del ArcView. Adicionalmente, a partir de los mapas obtenidos en ambos años, se calculó la superficie ocupada por zonas de abundancia alta y media para cada año.

Variables ambientales y análisis de regresión

Se seleccionaron un total de 35 variables ambientales (Tabla 3.4.1.1) para las viviendas muestreadas, y se evaluó su posible papel indicador de la abundancia de *Lu. longipalpis*. Estas variables se seleccionaron con el criterio descrito en la sección 3.3.1 pero en este caso a diferencia de la mayor parte de las variables incluidas en el modelo ambiental construido en el año 2007, las variables se relevaron a escala de micro-foco, es decir en la vivienda muestreada –lo que antes se definió como micro-escala [28].

Estas variables ambientales provinieron de 3 fuentes distintas: a) datos de uso de la tierra, b) información cartográfica y c) datos relevados en campo de manera simultánea con el muestreo entomológico.

Para los datos de uso de la tierra, se utilizó una clasificación provista por el “Ente Binacional Yacyretá” (obtenida a partir de una fotografía aérea tomada en abril de 2009, con 1,2 metros de resolución). De aquí se obtuvo información de cobertura vegetal, utilizando la misma clasificación y siguiendo la misma metodología que la descrita en la sección 3.3.1). La variable “número de calles sin pavimentar en la manzana” se obtuvo a partir de una imagen satelital de Google EarthTM (fecha: 13/9/2009; Escala: altitud 1,62km).

Se relevaron diecisiete características de las viviendas de manera simultánea con el muestreo entomológico. Estas características estuvieron relacionadas con la vegetación y con las condiciones generales y de mantenimiento del domicilio y peridomicio. Finalmente se construyeron tres índices a partir de la combinación de algunas de las variables relevadas: "índice de vegetación", en el cual cada variable de vegetación relevada contribuyó en una unidad; "índice de vivienda", basado en características de la vivienda y sus alrededores; e "índice de animales", basado en la presencia de gallinas y perros. Los detalles de la construcción de estos índices, así como el detalle de las variables ambientales relevadas se muestran en la Tabla 3.4.1.1.

La asociación de *Lu. longipalpis* con las características ambientales, fue analizada mediante una regresión múltiple por pasos hacia adelante utilizando Modelos Lineales Generalizados, con la misma metodología que la descrita en la sección 3.3.1, utilizando una distribución de Poisson de los errores y u como función de la varianza por ser el mejor estimador de la varianza para este set de datos.

Adicionalmente, se estudió la asociación entre la presencia de *Lu. longipalpis* y la presencia de gallinas y de perros en las viviendas muestreadas, con una prueba de Mantel-Haenszel [170]. Se calcularon los *odd ratios* (ORs) con sus respectivos intervalos de confianza para la presencia de flebótomos en las casas asociadas a la presencia de gallinas, teniendo en cuenta la presencia de perros y viceversa.

Tabla 3.4.1.1. Variables ambientales analizadas para explicar la abundancia de *Lu. longipalpis* referidas a la vivienda muestreada.

Nombre de la variable	Significado y forma unidad de medida
<i>Cobertura vegetal</i>	
P50/100/200 ^b	Superficie cubierta por vegetación herbácea a 50/100/200 m, Porcentaje
A50/100/200 ^b	Superficie cubierta por árboles y arbustos a 50/100/200 m, Porcentaje
NV50/100/200 ^b	Superficie cubierta por no vegetación a 50/100/200 m, Porcentaje
Lim ^a	Presencia de limonero, SI/NO
Man ^a	Presencia de mango, SI/NO
Pa ^a	Presencia de parra, SI/NO
OA ^a	Presencia de otro árbol, SI/NO
Ce ^a	Presencia de césped, SI/NO
Ti ^a	Presencia de tierra en el peridomicilio, SI/NO
<i>Características de la vivienda y el peridomicilio</i>	
Cha ^a	Presencia de "chatarra" (material en desuso), SI/NO
Ba ^a	Presencia de basura (elementos de descarte orgánicos e inorgánicos), SI/NO
AS ^a	Presencia de aguas servidas, SI/NO
Le ^a	Presencia de letrina, SI/NO
Ar ^a	Presencia de arroyo, SI/NO
Cm ^a	Presencia de patio de cemento en peridomicilio, SI/NO
Pa ^a	Mantenimiento del patio, categorías: bueno, regular malo.
Md ^a	Vivienda construida en madera, SI/NO
Mt ^a	Vivienda construida en material, SI/NO
Mx ^a	Vivienda construida con más de un tipo de material, SI/NO
<i>Utilización de insecticida</i>	
K ^a	Utilización de insecticida "K0thrina" (Deltametrina), SI/NO
C ^a	Utilización de insecticida "Creolina", SI/NO
<i>Características del entorno</i>	
CT ^b	Número de calles de tierra en la Manzana de la vivienda (0 a 4).
WSD ^b	Distancia a la fuente de agua (Ríos, arroyos), en metros
<i>Fuentes de alimento</i>	
P ^a	Presencia de perros, SI / NO
CP ^a	Presencia de gallinas, SI / NO
<i>Índices</i>	
IVg ^c	Índice de Vegetación, rango [0:5], suma 1 unidad por presencia de césped, mango, limonero, parra u otro árbol.
IVI ^c	Índice de Vivienda, rango [1:9], suma 1 unidad por presencia de basura, chatarra, aguas servidas, letrina, tierra, vivienda mixta, mantenimiento del patio regular. Suma 2 unidades por mantenimiento del patio malo, vivienda en madera. Resta una unidad por mantenimiento del patio bueno, vivienda en cemento.
IAn ^c	Índice de Animales, rango [0:2], suma 1 unidad por presencia de perro y gallina.

Fuentes: ^a Información obtenida a partir de clasificación de cobertura de la tierra y cartografía, ^b Datos obtenidos en terreno de manera simultánea con el muestreo entomológico ^c Índices construidos en base a la suma de características de las variables relevadas en b.

3.4.2. Resultados

En ambos años, *Lu. longipalpis* se encontró distribuida en toda el área de estudio, con el 41,0% y el 31,0% de los hogares muestreados positivos respectivamente. En el 2009, se capturó un promedio de 22,3 individuos por trampa-noche (desvío estándar 93,2, rango [0:1111], valor que excedió el promedio obtenido en el año 2007 (8,3, desvío estándar 40,6, rango [0:498]).

La autocorrelación espacial obtenida en el año 2009 fue de 688m, distancia que se encontró dentro del mismo orden que la hallada en el año 2007 (590m).

Los sitios clasificados como de abundancia media y alta mostraron un patrón de “islas” inmersos en una matriz de baja abundancia, al igual que lo obtenido para el año 2007. Sin embargo, se observaron algunos cambios en la abundancia interpolada entre los dos años muestreados: tres islas aumentaron de tamaño del 2007 al 2009 y sólo cuatro de ellas mantuvieron su posición. También aparecieron dos islas nuevas, una de mediana y otra de alta abundancia, mientras que algunas islas de mediana abundancia desaparecieron (Figuras 3.4.2.1 y 3.4.2.2).

El área ocupada por zonas de abundancia intermedia y alta se incrementó en seis veces desde el 2007 al 2009 (Figura 3.4.2.3).

En relación a las variables ambientales que mejor explicaron el patrón de abundancia de *Lu. longipalpis*, el mejor modelo encontrado incorporó la proporción de áreas ocupadas por árboles y arbustos en un radio de 100 metros desde el punto de muestreo, la presencia de material fuera de uso acumulado, presencia de patio de cemento en el peridomicilio y de limonero en el peridomicilio (con el 8,12% de la devianza total explicada por el modelo, $p < 0,05$ para todas las variables, Tabla 9.2)

La presencia de gallinas aparece como un factor de riesgo para la presencia de *Lu. longipalpis* (*Odd Ratio*=1,57; $IC_{95}=[1,11:2,22]$), pero no así la presencia de perros (*Odd Ratio*=0,95; $IC_{95}=[0,69:1,31]$).

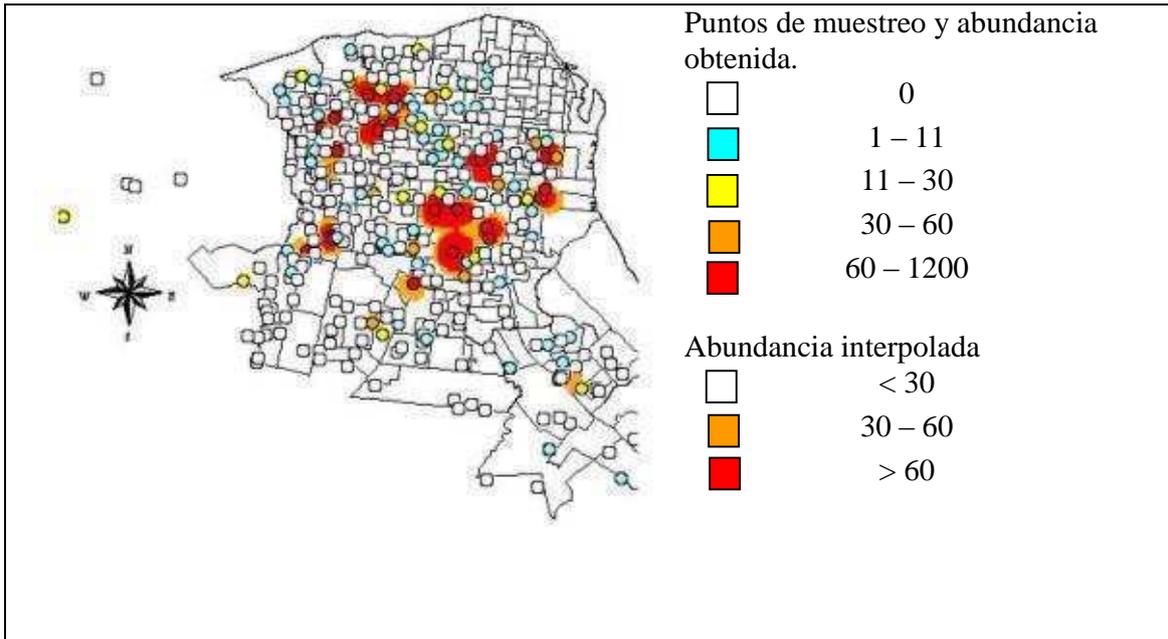


Figura 3.4.2.1. Ubicación de los sitios de muestreo (viviendas) en la ciudad de Posadas, Argentina, en el año 2009. El color de cada punto indica la categoría de la abundancia de *Lu. longipalpis* obtenida ("puntos de muestreo y abundancia obtenida"). Por encima de los puntos se grafica la abundancia interpolada con la técnica de *Krigging* ("abundancia interpolada"), mostrada como áreas de color.

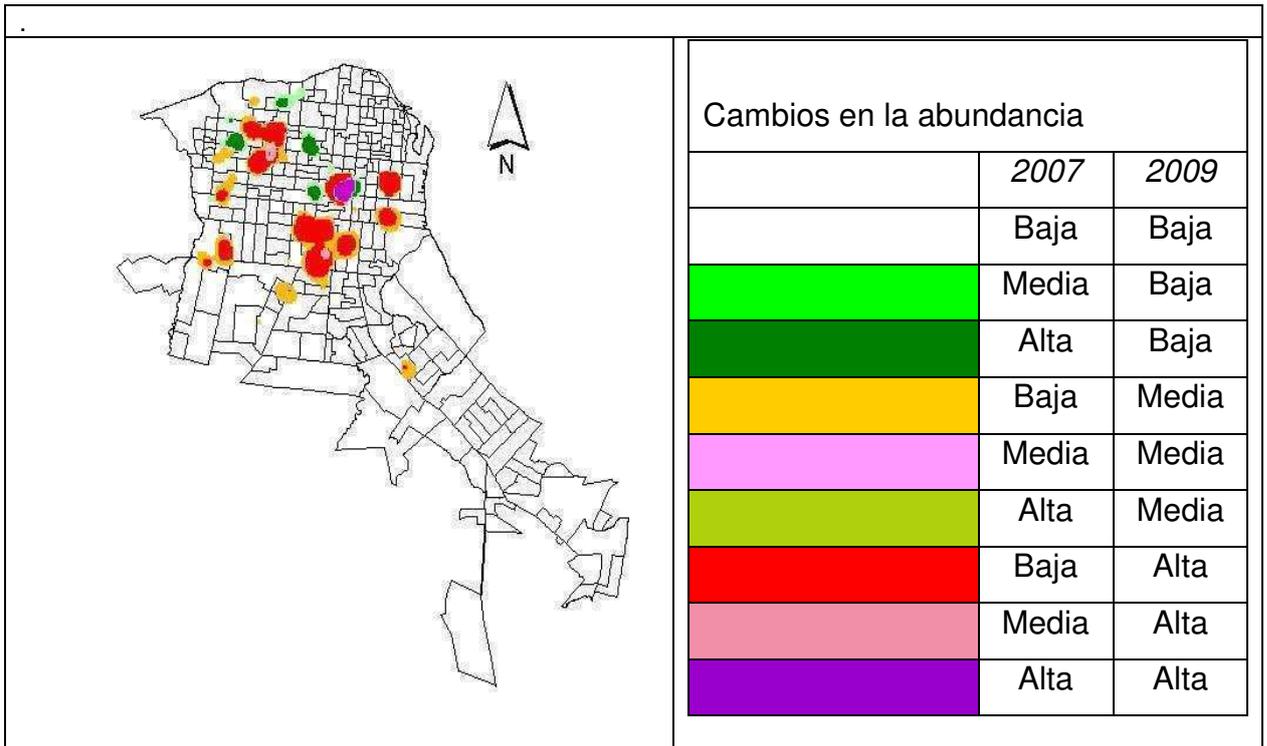


Figura 3.4.2.2. Cambios en la abundancia entre los años 2007 y 2009 en la ciudad de Posadas, Argentina, obtenidos a partir de la comparación espacial del análisis de interpolación de *krigging*. Clasificación de la abundancia: baja (menos de 30 flebotomos), media (entre 30 y 60 flebotomos) y alta (más de 60 flebotomos). Los distintos colores indican los cambios en las categorías de abundancia de la superficie ocurridos entre el 2007 y el 2009.

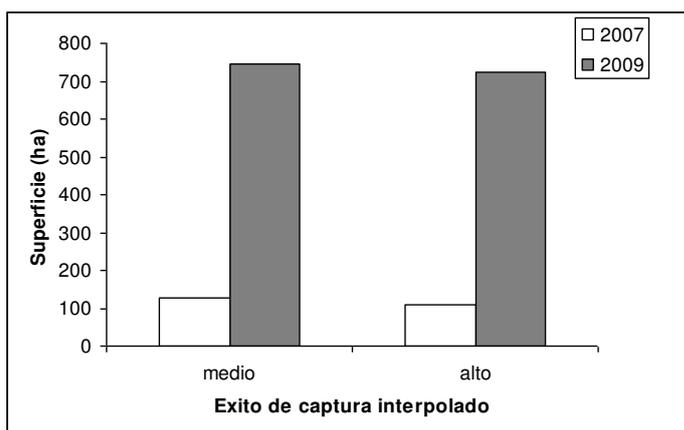


Figura 3.4.2.3. Superficie del área de estudio, ciudad de Posadas, Argentina, ocupadas por áreas con abundancias intermedias (de 30 a 60 ejemplares) de *Lu. longipalpis*, y con abundancias altas (mayores a 60 ejemplares), "Éxito de captura interpolado" para los años 2007 y 2009.

Tabla 3.4.2.1 Resultados del modelo de regresión múltiple, GLM (parámetros estimados y error estándar, EE) para la abundancia de *Lutzomyia longipalpis* en función de las variables ambientales y demográficas. El modelo lineal generalizado se construyó utilizando una distribución de Poisson para el error y 311 grados de libertad. A100: superficie cubierta por árboles en 100 metros alrededor del punto de muestreo, Cha, Lim y Cm: Presencia de "chatarra" (material en desuso acumulado), de árbol limonero y de cemento en peridomicilio. Devianza Nula= 716,3693

	Parámetros estimados	EE	Devianza explicada	% devianza explicada
Ordenada al origen	-1,7792	0,3911		
A100	4,4907	0,9351	28,7374	4,011
Cha	0,2367	0,0691	11,7457	1,7081
Lim	0,1845	0,0626	9,1878	1,3593
Cm	0,1838	0,0640	7,9778	1,1966

3.4.3. Discusión

Cuatro años después del primer caso de la LV registrado en la ciudad de Posadas [14], con 32 casos acumulados al momento del muestreo, el vector continuaba presente con valores de abundancia promedio superiores a la registrada en el año 2007. Por otro lado, el área ocupada por islas de alta y mediana abundancia del vector aumentó en los dos años transcurridos entre muestreos, pese a que existieron medidas de control químico en el peridomicilio del caso y área crítica, implementadas por la coordinación de vectores de la Municipalidad de Posadas (con piretroides). Sin embargo no es posible concluir sobre la efectividad de estas medidas ya que no es posible predecir cuál hubiera sido la abundancia del vector de no haber sido implementadas. Por ejemplo, en Brasil (Teresina) se registraron 59 casos de LV en lo que se considera el primer brote de LV urbano ocurrido en 1981. Al año 2005, los casos de LV en el país ascendieron a 59.129, pasando de tener sólo una ciudad con

más de 100.000 habitantes con más de 10 casos de LV al año, a tener más de 30 ciudades con esta característica [171]. En estudios realizados en la ciudad de Campo Grande, se encontró que la abundancia de *Lu. longipalpis* se incrementó sesenta veces desde los años 1999-2000 a 2004-2005 [172] [173]

El patrón espacial global no se modificó entre años, confirmando la existencia en el ambiente urbano de sitios favorables para el establecimiento del vector a un nivel espacial de micro-escala, consistente con la heterogeneidad espacial que provee el paisaje urbano. El hecho de haber encontrado patrones comparables de distribución del vector en los dos años de muestreo en la ciudad, tiene implicancias en el diseño e implementación de medidas de control, debido a que en ninguno de los dos años el vector se encontró distribuido de manera uniforme a lo largo de toda la ciudad. La definición de islas de alta y mediana abundancia no deben ser consideradas como algo estático en el espacio y en el tiempo, debido a las variaciones encontradas en relación a la ubicación y tamaño de las mismas entre años, como así también por la aparición y desaparición de algunas de estas islas. Por lo tanto, las intervenciones de control deberían estar focalizadas en estas áreas acompañadas por posteriores monitoreos periódicos de la abundancia para evaluar su eficacia.

Este patrón de áreas definidas con alto riesgo de transmisión de LV se observó también en Brasil, en estudios basados en casos humanos y caninos de LV [174] [175]. En ese mismo país, Margonari y col. [158] observaron que en general los sitios con gran cantidad de flebótomos se correspondían con sitios con muchos casos humanos y caninos de LV. El patrón de distribución observado podría estar relacionado con una dinámica de los vectores correspondiente a una estructura metapoblacional. De esta manera, si los vectores son controlados en estas islas de alta abundancia (acciones integradas sobre las condiciones de éxito reproductivo del vector -ambiente-, y uso de insecticidas contra los adultos), esto podría tener un mayor impacto sobre la transmisión parasitaria. Aplicando el principio 80/20 que Woolhouse [168] observó en LV, entre otros patógenos, y aplicándolo también a las áreas de mayor transmisión vectorial, se podría postular que con intervenciones efectivas en el 20% de las áreas con vector (que Woolhouse definió como *core transmitters*, que en este caso serían equivalentes a las “islas de alta abundancia”), se podría impactar en la disminución del 80% de la transmisión, entendiendo también que la proporción 80-20 puede variar según el escenario endéptico-epidémico. Otro punto a tener en cuenta es que debido a los cambios en los factores bióticos y abióticos de los micro-hábitats y en los patrones culturales asociados, se podrían invertir las áreas de alta y baja abundancia en el tiempo. Así, luego de la intervención antivectorial en una isla de alta abundancia, otra de baja abundancia, si adquiere condiciones óptimas de

reproducción vectorial, puede tornarse en una isla de alta abundancia, dispersora y de re-colonización de las zonas intervenidas.

Las gallinas continuaron siendo incriminadas como un factor de riesgo para la presencia del vector, posiblemente debido a la fuerte atracción que poseen sobre el vector, y el consiguiente aumento de la abundancia de éste en el peridomicilio de las viviendas, resultando en un importante amplificador del tamaño poblacional [142] [144] [164] [165] [166]. En este estudio en particular no se encontraron evidencias de que los perros actúen como un factor de riesgo para la abundancia del vector, pero este resultado podría estar influido por un sesgo de muestreo, debido a que las trampas de vectores sólo se instalaron en viviendas que tuvieran perros, gallinas o ambos tipos de animales, siendo la presencia de perros lo más usual en las viviendas. De todas maneras, debido a su papel como reservorio, el perro es considerado un factor de riesgo para la LV humana, por ello, para la misma área de estudio, Santini y col. [58] discuten la importancia de mantener a los perros alejados al menos 5 metros de la vivienda para evitar que los insectos piquen a los humanos.

En relación al mejor modelo ambiental que explica las variaciones en la abundancia de *Lu. longipalpis*, si bien el porcentaje de la devianza explicado por el modelo fue menor que para el modelo construido en el año 2007, ambos fueron coherentes en relación a las variables ambientales asociadas con hábitats favorables para los flebótomos. La abundancia de *Lu. longipalpis* asociada de manera positiva con la presencia de patio de cemento en el peridomicilio de la vivienda, estaría indicando que las viviendas con mayor abundancia de flebótomos se ubican en el área urbana de la ciudad más que en la periferia rural. Por otro lado, la asociación positiva entre la abundancia de flebótomos y la proporción de árboles y arbustos en un radio de 100 metros desde el punto de captura, presencia de limonero y de material en desuso acumulado en el peridomicilio, indicarían que si bien las casas se encuentran en el área urbana de la ciudad, lo hacen por fuera del casco urbano densamente poblado. Estas viviendas presentarían características adecuadas para la reproducción de los vectores como sombra, humedad y materia orgánica en el suelo [176].

Los modelos ambientales construidos para explicar la distribución de la abundancia de *Lu. longipalpis* en la ciudad de Posadas en los años 2007 y 2009 fueron construidos con variables que habían sido relevadas con otros propósitos (en el año 2007 se utilizaron mayoritariamente datos provenientes del Censo Nacional de las personas y Hogares mientras que en el año 2009 los datos provenían de un relevamiento ambiental llevado a cabo por el gobierno local de la Ciudad de Posadas). Esta podría ser una razón por la que los modelos no explicaron un alto porcentaje de la devianza ya que las variables ambientales consideradas no fueron dirigidas

directamente a la biología del vector. Tampoco fueron incluidas en el análisis variables climáticas (a ninguna escala) que podrían haber mejorado el modelo. Sin embargo, la coherencia entre los modelos construidos para los dos años pese a diferir las escalas de relevamiento de las variables ambientales sugiere que estas variables deben ser tenidas en cuenta para la construcción de mapas de riesgo y elaboración de modelos predictivos más precisos. Otra limitación que presenta la metodología utilizada para la construcción de los modelos ambientales (secciones 3.3 y 3.4) es la construcción de un único modelo a partir de un gran número de variables ambientales. En ambos casos al tratarse de estudios observacionales podría utilizarse un abordaje alternativo, como es la construcción de múltiples modelos y comparación entre ellos mediante, por ejemplo, el índice de Akaike. En el futuro y utilizando la información obtenida en estos trabajos en relación con las variables que serían importantes para definir sitios con alta abundancia del vector, podría seleccionarse un conjunto de variables ambientales y utilizarse esta metodología alternativa propuesta.

En conclusión, con el fin de predecir las áreas de alta abundancia de vectores en función de variables ambientales y basar las estrategias de control en la estructura espacial de la población de vectores, se sugiere a partir de los resultados de los años 2007 y 2009, realizar monitoreos de flebotomos de manera regular y estudios ambientales en las dos escalas de trabajo propuestas: meso-escala, considerando a toda la ciudad y sus divisiones en barrios o radios censales y micro-escala, centrada en las viviendas que ajusten a la descripción de "peor escenario" [28].

Capítulo 4. Conclusiones generales y trabajos futuros

Este trabajo se llevó a cabo en el noreste de la Argentina, en la provincia de Misiones, la cual se encuentra dentro de la distribución de área endémica (y epidémica) para la leishmaniasis tegumentaria (LT) y fue donde se detectó el primer brote de leishmaniasis visceral (LV) en el país. Además, Misiones posee el mayor número de registro de especies de flebótomos de todas las provincias [28], incluyendo especies incriminadas como vectores en el país para ambos tipos de leishmaniasis, especies de interés epidemiológico por haber sido incriminadas como vectores en otras áreas de Sudamérica y especies asociadas a ambientes poco degradados, indicadores de grado de intervención antrópica. En esta tesis se trabajó en dos áreas de interés epidemiológico, la primera una zona endémica de LT, con un brote epidémico registrado en los años 2004-2005 que estuvo asociado a un frente de deforestación y la segunda fue un área urbana con transmisión epidémica de LV. En ambos sitios se estudió la eco-epidemiología de los vectores involucrados, con abordajes metodológicos adecuados para cada uno de los escenarios y escalas de trabajo.

En las dos áreas de estudio se encontró que la comunidad de flebótomos estaba dominada por una única especie, en ambos casos previamente incriminadas como vectores por evidencias moleculares y ecológicas, *Ny. whitmani*, vector de *L. braziliensis* en el escenario de transmisión de LT y *Lu. longipalpis*, vector de *L. infantum (syn chagasi)*, en el escenario de transmisión de LV [14]. Ambas especies se encuentran en mayor abundancia en el peridomicilio y su distribución espacial y temporal es heterogénea a nivel de micro y meso escala.

A nivel de micro-escala, ambas especies de vectores se encontraron asociadas con vegetación, tanto arbórea como arbustiva que provee sombra, condición que favorece la presencia de sitios oscuros y húmedos, con materia orgánica en el suelo, como los descritos como sitios de reposo y cría por los flebótomos. Los corrales de animales, gallineros y/o chiqueros fueron los sitios donde se registraron las mayores abundancias de flebótomos, y en este trabajo su presencia y/o cercanía a la vivienda surgen como factor de riesgo para LT y LV, favoreciendo la abundancia de flebótomos y por lo tanto el contacto efectivo humano-vector, implicando esto una mayor probabilidad de que ocurra la infección por *Leishmania* spp. En el caso del escenario de transmisión de LT la cercanía de las viviendas y los corrales de animales a la ceja de monte favorece la abundancia de flebótomos. Por otro lado, en este trabajo se encontró que la abundancia de flebótomos en el peridomicilio es diez veces mayor que la de la vivienda, encontrándose además una asociación positiva entre la abundancia

en peridomicilio y la vivienda. El hecho de estar involucrados los animales domésticos y de cría como factor de riesgo para la transmisión de LT y LV según el caso y el escenario, tiene especial interés en las acciones de control que se basen en el ordenamiento del medio, enfatizando la necesidad de considerar la disposición espacial de los corrales de animales y dormitorios de animales domésticos en relación a la vivienda y a la ceja de monte, y los hábitos culturales de manejo de los mismos. A partir de estos resultados y de trabajos previos [12] [58], en la actualidad se encuentra en curso un estudio experimental para evaluar el impacto de la instalación de gallineros sobre la abundancia y composición de la comunidad de flebótomos (Manteca-Acosta, comunicación personal).

A nivel de meso-escala, los resultados de esta tesis, junto con estudios complementarios de distribución de flebótomos ([12] y Villarquide, comunicación personal), permiten inferir que la distribución espacial de *Ny. whitmani* es heterogénea, encontrándose en este trabajo chacras con más de 1000 ejemplares en el corral de animales mientras que en otras chacras no hubo captura en este mismo ambiente. El mismo patrón de distribución del vector se observó en la ciudad de Posadas, donde *Lu. longipalpis* presentó “islas” de abundancia alta e intermedia inmersas en una matriz de baja abundancia. En ambos casos la distribución heterogénea podría estar respondiendo a la variación en las condiciones ambientales, con ciertos ambientes donde se dan las condiciones óptimas para el establecimiento de los flebótomos. En particular en la ciudad de Posadas, donde se observó que las islas de alta abundancia son móviles en el tiempo y espacio, que podría estar relacionado con la dinámica que presenta el ambiente urbano.

Trabajos previos habían descrito que el pico de abundancia de *Lu. longipalpis* se producía inmediatamente después de la estación lluviosa [6]. Esto se tuvo en cuenta al momento de diseñar el muestreo, el cual se llevó a cabo ambos años (2007 y 2009) en la misma época (Salomón, comentario personal y Santini, comentario personal). Sin embargo, *Ny. whitmani* parece estar adaptada a condiciones climáticas variables, pudiendo ser recolectada durante todo el año, aunque en la bibliografía aparece descrita como más abundante durante el invierno, pero en latitudes con condiciones climáticas diferentes, especialmente en relación a la temporada de lluvias (distinta intensidad y frecuencia que en el área de estudio) [94]. En este trabajo se registraron los mayores valores de abundancia promedio para esta especie en el período de primavera-verano, con el consiguiente aumento de la probabilidad de contagio de LT por tener mayor probabilidad de contacto hombre-vector, pero se observó que en cualquier momento del año en que aparezcan las condiciones climáticas favorables para los mismos, se registrará su presencia e incluso su

abundancia puede llegar a ser alta con presencia de hembras grávidas, indicador de ingesta de sangre, subrogante de riesgo de transmisión. Las medidas dirigidas a fomentar la protección personal en situaciones de riesgo (como ser ingreso a la vegetación primaria o secundaria o al gallinero/chiquero en peridomicilio) deberían reforzarse durante los meses cálidos. Existen evidencias que el contagio en humanos ocurriría durante la época del año de mayor abundancia de los vectores en ambos escenarios, pero debido al ciclo intrínseco de la enfermedad la mayor parte de los casos se reportan en otoño-invierno, aunque la transmisión habría ocurrido en verano-otoño [34].

Por lo expuesto anteriormente, la distribución de los flebótomos estaría determinada por características ambientales que generarían condiciones de temperatura y humedad óptimas entre otras variables. Además, en este trabajo se encontró que los sitios con captura de flebótomos presentaban condiciones de humedad y temperatura particulares, y se encontró que la abundancia de *Ny. whitmani* y *Mg. migonei* aumenta con la temperatura y la precipitación. Trabajos futuros que permitan identificar y validar el rango umbral de temperatura y humedad a partir del cual se registran flebótomos son necesarios en ambos escenarios a nivel de micro y meso-escala, teniendo presente que las variables climáticas que favorecen la abundancia de flebótomos podrían variar entre épocas del año, como describen Fuenzalida y col. [177] para *Ny. neivai* en el noroeste de Argentina.

La región del departamento de Iguazú es de especial interés epidemiológico para el estudio de la eco-epidemiología de ambas manifestaciones de leishmaniasis. En esta región, que comprende un área de más de 2.700 km², se ha encontrado que en diferentes ambientes (urbano, rural, selvático) prevalecen aparentemente distintas especies de flebótomos [12] [88] [109], correspondientes a diferentes riesgos epidemiológicos de transmisión de LT o LV y otras especies no asociados a riesgo epidemiológico, pero de interés por estar asociadas a distintos grados de intervención antrópica. El hecho que circulen en la región tanto *L. braziliensis* como *L. infantum* (*syn chagasi*) debe ser tenido en cuenta cuando se estudia la composición de la comunidad de flebótomos, sus variaciones temporales y espaciales. Por ejemplo, para la comunidad de vectores descrita en este trabajo, *Mg. migonei* resultó ser la segunda especie en dominancia y si bien aquí se encuentra en un contexto de transmisión de LT, en el noroeste del país se la ha involucrado como vector de *L. infantum* (*syn. chagasi*), agente causal de la LV. Además, hay que tener en cuenta que el brote de LT que tuvo lugar en Puerto Esperanza en el año 1998 tuvo a *Ny. neivai* como vector involucrado, el mismo vector de LT que se describió para escenarios de transmisión de LT en el noroeste de la Argentina [16] [32] [63] [178].

Lu. longipalpis incrementó su abundancia y dispersión en la ciudad de Posadas en un período de dos años y trabajos complementarios a esta tesis indicarían el mismo patrón de abundancia en incremento para *Ny. whitmani* al sur de Puerto Iguazú [179]

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo se sugiere realizar monitoreos de vectores para estudiar la dispersión hacia áreas urbanas, rurales y selváticas de los vectores involucrados como principales o putativos de ambos tipos de leishmaniasis y sus variaciones en la abundancia. Se espera en el futuro continuar esta línea de trabajo, estudiando la distribución de la abundancia de las distintas especies de flebotomos presentes en el Departamento Iguazú, sus variaciones espaciales, temporales y características ambientales que expliquen al menos en parte su distribución. Además se prevé realizar un estudio en áreas naturales para describir a la comunidad de flebotomos en ambientes con bajo grado de intervención antrópica y compararla con la comunidad de flebotomos descrita para los parches de vegetación remanente dentro de áreas modificadas. El hecho de haber descrito por primera vez para el país cuatro especies de flebotomos en una misma región refuerza la necesidad de continuar monitoreando cambios en la composición de la comunidad y estudiar el uso de hábitat efectuado por cada una de las especies.

Si bien en este trabajo no se encontraron evidencias para involucrar a ninguna especie de micromamífero como reservorio de *Leishmania* spp. no se descarta en un futuro volver a analizar las muestras obtenidas con técnicas moleculares más sensibles y que se genere evidencia al respecto, al igual que realizar nuevas capturas ante la ocurrencia de eventos de intensificación de la transmisión. Actualmente, Acardi y col., del laboratorio de biología molecular aplicada de la Universidad Nacional de Misiones (Labimap) se encuentran trabajando en esta dirección, y recientemente han desarrollado un método diez órdenes de magnitud más sensible que el utilizado para esta tesis (Acardi, comentario personal), que se está aplicando también a reservorios potenciales de otras áreas del país. Las lesiones encontradas en los micromamíferos y la co-ocurrencia espacio-temporal entre vectores y micromamíferos alientan a seguir estudiando su potencial rol como reservorio, y estudiar si las lesiones en los animales silvestres podrían ser indicadores de infección. En relación al papel de los animales silvestres como fuente de sangre para las hembras de phlebotominae, son necesarios estudios complementarios de análisis de ingesta de sangre (contenido estomacal), para evaluar cuales serían las principales fuentes de alimento para los flebotomos infectados y no infectados en el área de estudio. Actualmente esta línea de trabajo se está desarrollando con la aplicación de herramientas de biología molecular en el Labimap.

En resumen, se sugiere para el futuro continuar monitoreando las comunidades de flebotomos en cada escenario de transmisión particular, para alertar acerca de cambios en las abundancias de las especies vectores, distribución de las mismas y continuar determinando las características ambientales y climáticas (variables explicativas) que favorecen la abundancia de vectores, a distintas escalas, para hacer modelos predictivos y validarlos en terreno. Con esta información, se podrá anticipar la ocurrencia de especies de interés sanitario y alertar a los sistemas de salud (a través del Programa Nacional de Leishmaniasis) en áreas o ciudades donde aún no se han registrado casos humanos o focalizar acciones de control en las que está ocurriendo transmisión, las que deberán mostrar primero su efectividad mediante intervenciones experimentales controladas.

Referencias bibliográficas

- [1] G. Grimaldi and R. Tesh, "Leishmaniasis of the new word: current concepts and implications for future research," *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 6, pp. 230–250, 1993.
- [2] W.H.O., Ed., *Control of the Leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010*. WHO technical report series, 2010, no. 949.
- [3] M. Begon, J. Harper, and C. Townsend, *Ecology: individuals, populations and communities.*, B. Omega, Ed. Blackwell Sci., Oxford, 1996.
- [4] M. Susser and E. Susser, "Choosing a future for epidemiology: li from black box to chinese boxes and eco-epidemiology," *American Journal of Public Health*, vol. 86, pp. 674–677, 1996.
- [5] E. Susser, "Eco-epidemiology: Thinking outside the black box," *Epidemiology*, vol. 15, pp. 519–520, 2004.
- [6] P. D. Ready, "Leishmaniasis emergence and climate change," *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, vol. 27, pp. 399–412, 2008.
- [7] R. Reithinger, J.-C. Dujardin, H. Louzir, C. Pirmez, B. Alexander, and S. Brooker, "Cutaneous leishmaniasis," *Lancet infect Dis*, vol. 7, pp. 581–596, 2007.
- [8] M. Marzochi and K. Marzochi, "Tegumentary and visceral leishmaniasis in brazil - emergin anthroppoosonosis and possibilities for their control," *Cad. Saúde Públ.*, vol. 10, pp. 359–375, 1994.
- [9] C. Cuba, C. Torno, O. Ledesma, E. Visciarelli, S. García, M. Prat, R. Costamagna, L. Barbieri, and D. Evans, "Human cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Santiago del Estero, Argentina: identification of parasites by monoclonal antibodies and isoenzymes." *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, vol. 38, pp. 413–421, 1996.
- [10] F. Frank, M. Fernandez, N. Taranto, S. Cajal, R. Margni, E. Castro, V. Thomaz-Soccol, and E. Malchiodi, "Characterization of human infection by *Leishmania* spp. in the northwest of argentina: immune response, double infection with trypanosoma cruzi and species of leishmania involved," *Parasitology*, vol. 126, no. 1, pp. 31–39, 2003.
- [11] E. Segura, N. Juan, A. Piquin, C. Cuba Cuba, L. Abramo Orrego, D. McMahon-Pratt, E. Montamat, H. Momen, and G. Grimaldi Jr, "Molecular and biologic characterization of leishmania parasites implicated in an epidemic outbreak in northwestern argentina," *Parasitology research*, vol. 86, no. 6, pp. 504–508, 2000.
- [12] O. D. Salomón, S. A. Acardi, D. J. Liotta, M. S. Fernández, E. Lestani, D. López, A. V. Mastrángelo, M. Figueroa, and G. Fattore, "Epidemiological aspects of cutaneous leishmaniasis in the iguazú falls area of argentina," *Acta Tropica*, vol. 109, no. 1, pp. 5 – 11, 2009. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X08002167>
- [13] J. Marco, P. Barroso, M. Calvopiña, H. Kumazawa, M. Furuya, M. Korenaga, S. Cajal, M. Mora, M. Rea, C. Borda *et al.*, "Species assignation of leishmania from human and canine american tegumentary leishmaniasis cases by multilocus enzyme electrophoresis in north argentina," *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 72, no. 5, pp. 606–611, 2005.
- [14] O. Salomon, A. Sinagra, M. Nevot, G. Barberian, P. Paulin, J. Estevez, A. Riarte, and J. Estevez, "First visceral leishmaniasis focus in argentina," *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 103, pp. 109–111, 2008.
- [15] A. Barrio, C. M. Parodi, F. Locatelli, M. C. Mora, M. A. Basombrío, M. Korenaga, Y. Hashiguchi, M. F. G. Bustos, A. Gentile, and J. D. Marco, "*Leishmania infantum* and human visceral leishmaniasis, Argentina," *Emerging Infectious Diseases*, vol. 18, pp. 354–355, 2012.
- [16] E. Cordoba-Lanus, D. Grosso, M. Lizarralde, J. Pinero, B. Valladares, and O. Salomon, "Natural infection of lutzomyia neivai with *Leishmania* spp. in northwestern argentina," *Acta Tropica*, vol. 98, no. 1, pp. 1–5, 2006.
- [17] S. A. Acardi, D. J. Liotta, M. S. Santini, C. M. Romagosa, and O. D. Salomón, "Detection of leishmania infantum in naturally infected lutzomyia longipalpis (diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and canis familiaris in misiones, argentina: the first report of a PCR-RFLP and sequencing-based confirmation assay." *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 105,

- no. 6, pp. 796–799, Sep. 2010. [Online]. Available: <http://view.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20944995>
- [18] A. Sherlock, E. B. Galati, J. Dedet, R. Vignes, E. Rangel, P. Ready, G. M. de Aguiar, W. M. de Medeiros, R. Brazil, B. Brazil, P. Pimenta, N. Secundino, E. N. Blanco, R. Lainson, J. Shaw, A. T. de Rosa, A. de Souza, A. Cruz, and M. Vilela, *Flebotomíneos do Brasil*, E. Rangel and R. Lainson, Eds. Editora Fiocruz, 2003.
- [19] B. C. Kondratieff, C. G. Moore, J. E. Freier, H. H. Hagedorn, W. C. Black, A. A. James, and a. Janet Hemingway, *Biology of Disease Vectors*, W. C. Marquardt, Ed. Elsevier Academic Press, 2005.
- [20] E. Rangel, N. Souza, E. Wermelinger, and A. Barbosa, “Establecimiento de colonia, em laboratorio, de *Lutzomyia intermedia* lutz & neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae), phlebotominae,” *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, vol. 80, pp. 219–226, 1985.
- [21] E. Rangel, N. Souza, E. Wermelinger, A. Barbosa, and C. Andrade, “Biología de *Lutzomyia intermedia* lutz & neiva, 1912 e *Lutzomyia longipalpis* lutz & neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae), em condicoes experimentais. i. aspectos da alimentacao de larvas e adultos,” *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, vol. 81, pp. 431–438, 1986.
- [22] J. Escovar, F. Bello, A. Morales, L. Moncada, and E. Cárdenas, “Life tables and reproductive parameters of *Lutzomyia spinicrassa* (Diptera: Psychodidae) under laboratory conditions,” *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, vol. 99, pp. 603–607, 2004.
- [23] O. Salomón, “Artrópodos de interés médico en argentina,” *Fundación Mundo Sano. Serie Enfermedades Transmisibles. Publicación Monográfica*, vol. 6, 2005.
- [24] P. Ready, “Factors affecting egg production of laboratory-bred *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae).” *J Med Entomol.*, vol. 16, pp. 413–23., 1979.
- [25] P. Volf and J. Peckova, “Sand flies and leishmania: specific versus permissive vectors,” *Trends in parasitology*, vol. 23, no. 3, p. 91, 2007.
- [26] J. Myskova, M. Svobodova, S. Beverley, and P. Volf, “A lipophosphoglycan-independent development of leishmania in permissive sand flies,” *Microbes and infection*, vol. 9, no. 3, pp. 317–324, 2007.
- [27] O. D. Salomón, M. G. Quintana, G. Bezzi, M. L. Morán, E. Betbeder, and D. V. Valdéz, “*Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina,” *Acta Tropica*, vol. 113, no. 1, pp. 84 – 87, 2010. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X0900254X>
- [28] O. Salomón and M. Quintana, *Leishmaniasis y ambiente: uso de sensores remotos y sistemas de información geográfica en Temas de Zoonosis V*, J. Basualdo, R. Cacchione, R. Durlach, P. Martino, and A. Seijo, Eds. Sociedad Argentina de Zoonosis, 2011.
- [29] E. Galati, *Morfología, terminología de adultos e identificación dos táxons da América*, in: *Flebotomíneos do Brasil*, E. Rangel and R. Lainson, Eds. Fiocruz, 2003.
- [30] C. Marcondes, “A proposal of generis and subgeneric abreviations for phlebotomine sandflies (diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the word.” *Entomol. News*, vol. 118, pp. 351–356, 2007.
- [31] E. Cordoba-Lanus, M. L. D. Grosso, J. E. Piaero, B. Valladares, and O. D. Salomón, “Natural infection of *Lutzomyia neivai* with *Leishmania* spp. in northwestern Argentina,” *Acta Tropica*, vol. 98, no. 1, pp. 1 – 5, 2006. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X06000362>
- [32] O. Salomon, M. Zaidenberg, R. Burgos, V. Heredia, and L. Caropresi, “American cutaneous leishmaniasis outbreak, Tartagal city, province of Salta, Argentina, 1993,” *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, vol. 43, pp. 105–108, 2001.
- [33] O. Salomon, M. B. de Pascual, M. Molinari, and V. Verri, “Study of a cutaneous leishmaniasis outbreak in general vedia, province of Chaco, 1996,” *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, vol. 43, pp. 99–104, 2001.
- [34] O. Salomón, M. Quintana, and J. Rosa, “Eco-epidemiología de leishmaniasis cutánea en Argentina.” *Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIICSALUD)*., vol. 16, pp. 514–520, 2008.
- [35] R. Ashford, “Leishmaniasis reservoirs and their significance in control,” *Clinical Dermatology*, vol. 14, pp. 523–532, 1996.
- [36] D. Haydon, S. Cleaveland, L. Taylor, and K. Laurensen, “Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge,” *Emerging Infectious Diseases*, vol. 3, pp. 1468–1472, 2002.
- [37] R. Ashford, “What it takes to be a reservoir host,” *Belg. J. Zool.*, vol. 127, pp. 85–90, 1997.

- [38] L. F. Chaves, M. J. Hernandez, A. P. Dobson, and M. Pascual, "Sources and sinks: revisiting the criteria for identifying reservoirs for american cutaneous leishmaniasis," *Trends in Parasitology*, vol. 23, no. 7, pp. 311 – 316, 2007. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492207001183>
- [39] C. Palatnik-de Sousa, W. dos Santos, J. Franca-Silva, R. da Costa, A. Reis, M. Palatnik, W. Mayrink, and O. Genaro, "Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil." *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 65, no. 5, pp. 510–517, 2001.
- [40] R. Lainson and E. Rangel, "*Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of american visceral leishmaniasis, with particular reference to brazil: a review," *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 100, no. 8, pp. 811–827, 2005.
- [41] R. Lainson, E. Ishikawa, and F. Silveira, "American visceral leishmaniasis: wild animal host," *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 96, pp. 630–631, 2002.
- [42] F. S. Oliveira, C. Pirmez, M. Q. Pires, R. P. Brazil, and R. S. Pacheco, "Pcr-based diagnosis for detection of leishmania in skin and blood of rodents from an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in brazil," *Veterinary Parasitology*, vol. 129, no. 3-4, pp. 219–227, May 2005. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.01.005>
- [43] A. Corredor, J. Gallego, R. Tesh, D. Peláez, A. Díaz, M. Montilla, and M. Paláu, "*Didelphis marsupialis*, an apparent wild reservoir of *Leishmania donovani chagasi* in colombia, south america," *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 83, no. 2, p. 195, 1989.
- [44] H. Schallig, E. Da Silva, W. Van Der Meide, G. Schoone, and C. Gontijo, "*Didelphis marsupialis* (common opossum): a potential reservoir host for zoonotic leishmaniasis in the metropolitan region of belo horizonte (minas gerais, brazil)," *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, vol. 7, no. 3, pp. 387–393, 2007.
- [45] M. Mello and S. Barbosa, "Roedores da regioao neotropica e patogenos de importancia para o homem," *Sao Carlos: UFSCar*, 1985.
- [46] N. V. Wynsberghe, S. Canto-Lara, A. Damián-Centeno, M. Itzá-Ortiz, and F. Andrade-Narváez, "Retention of *Leishmania mexicana* in naturally infected rodents from the state of campeche, mexico," *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 95, pp. 595–600, 2000.
- [47] H. DeLima, Z. DeGuglielmo, A. Rodriguez, J. Convit, and N. Rodriguez, "Cotton rats (*Sigmodon hispidus*) and black rats (*Rattus rattus*) as possible reservoirs of *Leishmania* spp. in Lara state, Venezuela," *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 97, pp. 169–174, 2002.
- [48] S. P. Brandao-Filho, M. E. Brito, F. G. Carvalho, E. A. Ishikawa, E. Cupolillo, L. Floeter-Winter, and J. J. Shaw, "Wild and synanthropic hosts of *Leishmania (viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of amaraji, pernambuco state, brazil." *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 97, no. 3, pp. 291–296, 2003. [Online]. Available: <http://view.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15228244>
- [49] R. Raymond, C. McHugh, L. Witt, and S. Kerr, "Temporal and spatial distribution of *Leishmania mexicana* infections in a population of *Neotoma micropus*," *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 98, pp. 171–180, 2003.
- [50] E. Silva, C. Gontijo, and M. Melo, "Contribution of molecular techniques to the epidemiology of neotropical leishmania species," *Trends in Parasitology*, vol. 21, pp. 550–552, 2005.
- [51] F. Danta-Torres, "Dogs as reservoirs for *Leishmania braziliensis*," *Emerging Infectious Diseases*, vol. 17, pp. 326–327, 2011.
- [52] A. Sousa and R. Pearson, "Drought, smallpox, and emergence of *Leishmania braziliensis* in northeastern brazil." *Emerging Infectious Diseases*, vol. 15, pp. 916–921, 2009.
- [53] R. Reithinger and C. Davies, "Is the domestic dog (*Canis familiaris*) a reservoir host of american cutaneous leishmaniasis? a critical review of the current evidence," *Am J Trop Med Hyg*, vol. 61, pp. 530–541, 1999.
- [54] A. Padilla, J. Marco, P. Diosque, M. Segura, M. Mora, M. Fernandez, E. Malchiodi, and M. Basombrio, "Canine infection and the possible role of dogs in the transmission of american tegumentary leishmaniasis in Salta, Argentina," *Veterinary Parasitology*, vol. 110, pp. 1–10, 2002.
- [55] P. Ready, R. Lainson, and J. Shaw, "Leishmaniasis in brazil: Prevalence of "enzootic rodent leishmaniasis" (*Leishmania mexicana amazonensis*), and apparent absence of "pian bois" (le. *braziliensis guyanensis*), in plantations of introduced tree species and in other non-

climax forests in eastern amazonia." *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 77, pp. 775–785, 1983.

[56] J. Dedet, F. Pratlong, G. Lanotte, and C. Ravel, "Cutaneous leishmaniasis. the parasite," *Clinical Dermatology*, vol. 17, pp. 261–268, 1999.

[57] P. Desjeux, "Leishmaniasis: current situation and new perspectives," *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, vol. 27, no. 5, pp. 305 – 318, 2004.

[58] M. Santini, O. Salomón, S. Acardi, E. Sandoval, and L. Tartaglino, "*Lutzomyia longipalpis* behavior and control at an urban visceral leishmaniasis focus in Argentina," *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, vol. 52, no. 4, pp. 187–191, 2010.

[59] A. Mastrangelo and O. Salomón, "Contribución de la antropología a la comprensión ecoepidemiológica de un brote de leishmaniasis tegumentaria americana en las 2.000 hectáreas, Puerto Iguazú, Argentina," *Revista Argentina*, vol. 1, no. 4, pp. 6–13, 2010.

[60] R. Zell, "Global climate change and the emergence/re-emergence of infectious diseases," *International Journal of Medical Microbiology Supplements*, vol. 293, pp. 16–26, 2004.

[61] O. Salomón, J. Rosa, M. Stein, M. Quintana, M. Fernández, A. Visintin, G. Spinelli, M. Pascual, M. Molinari, M. Morán *et al.*, "Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) fauna in the chaco region and cutaneous leishmaniasis transmission patterns in Argentina," *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 103, no. 6, pp. 578–584, 2008.

[62] O. Salomon, M. Wilson, L. Munstermann, and B. Travi, "Spatial and temporal patterns of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis focus in northern argentina," *Journal of medical entomology*, vol. 41, no. 1, pp. 33–39, 2004.

[63] M. Quintana, O. Salomón, and M. Lizarralde de Grosso, "Distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a primary forest-crop interface, Salta, Argentina," *Journal of medical entomology*, vol. 47, no. 6, pp. 1003–1010, 2010.

[64] A. Peterson and J. Shaw, "*Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in southern brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects," *International Journal for Parasitology*, vol. 33, no. 9, pp. 919–931, 2003.

[65] O. Salomón, P. Orellano, M. Quintana, S. Pérez, S. Sosa Estani, S. Acardi, and M. Lamfri, "Transmisión de la leishmaniasis tegumentaria en la Argentina," *Medicina (Buenos Aires)*, vol. 66, no. 3, pp. 211–219, 2006.

[66] C. Meneses, A. de Azevedo, S. Miranda, W. da Costa, and E. Rangel, "Ecology of american cutaneous leishmaniasis in the state of," *Journal of vector ecology*, 2002.

[67] A. Azevedo, S. Costa, M. Pinto, J. Souza, H. Cruz, J. Vidal, and E. Rangel, "Studies on the sandfly fauna (diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from transmission areas of american cutaneous leishmaniasis in state of acre, brazil," *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 103, no. 8, pp. 760–766, 2008.

[68] E. Luz, N. Membrive, E. Castro, J. Dereure, F. Pratlong, A. Dedet, A. Pandey, and V. Thomaz-Soccol, "*Lutzomyia whitmani* (diptera: Psychodidae) as vector of *Leishmania* (*V.*) *braziliensis* in Paraná state, southern Brazil," *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, vol. 94, no. 6, pp. 623–631, 2000.

[69] K. Mott, P. Desjeux, A. Moncayo, P. Ranque, and P. De Raadt, "Parasitic diseases and urban development." *Bulletin of the World Health Organization*, vol. 68, no. 6, p. 691, 1990.

[70] F. Leonardo and J. Rebelo, "A periurbanizacao de *Lutzomyia whitmani* em area de foco de leishmaniose cutanea, no estado do maranhao, brasil," *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 37, no. 3, pp. 282–284, 2004.

[71] A. Mastrangelo and O. Salomón, "Trabajo forestal y leishmaniasis cutánea. un análisis social centrado en el riesgo para el n de misiones (argentina)." *Talleres*, vol. 12, no. 0, pp. 60–67, 2011.

[72] Lainson, *Demographic changes and their influence on the epidemiology of the american leishmaniases in Demography and Vector-Borne Diseases*, M. SERVICE, Ed. Boca Raton, CRC Press, 1989.

[73] J. Walsh, D. Molyneux, and M. Birley, "Deforestation: effects on vector-borne disease." *Parasitology*, vol. 106, pp. 55–75, 1993.

[74] V. Bernasconi, "Consideraciones sobre el censo de leishmaniosis," *Rev. Soc. Patol. Reg. Norte*, vol. 5, pp. 590–602, 1930.

[75] R. Cedillos and B. Walton, "Leishmaniasis: Special situations in other areas of the americas. in: Research on control strategies for the leishmaniasis," *IDRC CDDI CIID, Report 184e*, pp. 156–161, 1988.

- [76] A. Cabrera, "Fitogeografía de la república Argentina," *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, vol. 16, pp. 1–42, 1971.
- [77] S. Sosa-Estani, E. Segura, O. Salomón, A. Gómez, M. Peralta, V. Coutada, and L. Ruiz, "Tegumentary leishmaniasis in northern Argentina: distribution of infection and disease, in three municipalities of salta, 1990-1992," *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 33, no. 6, pp. 573–582, 2000.
- [78] M. Marzochi and K. Marzochi, "Leishmanioses em áreas urbanas," *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 30, no. supl 1, pp. 162–165, 1997.
- [79] E. Galati, V. Nunes, F. Rego Jr, E. Oshiro, and M. Rodrigues Chang, "Estudo de flebotomneos (diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no estado de mato grosso do sul, brasil," *Revista de Saúde Pública*, vol. 31, no. 4, pp. 378–390, 1997.
- [80] E. Rangel and M. Vilela, "*Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil," *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 24, no. 12, pp. 2948–2952, 2008.
- [81] C. Gontijo and M. Melo, "Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas," *Revista Brasileira de Epidemiologia*, vol. 7, no. 3, pp. 338–349, 2004.
- [82] G. Werneck, "Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. introduction," *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 24, no. 12, pp. 2937–2940, 2008.
- [83] B. Cousiño, "Vigilancia y control de la leishmaniasis en el Paraguay," *Informe Final de la Reunión de Expertos OPS/OMS sobre Leishmaniasis Visceral en las Américas, Panafiosa, Rio de Janeiro, Brazil*, pp. 34–36, 2006.
- [84] O. Salomón, S. Sosa Estani, G. Rossi, and G. Spinelli, "Presencia de *Lutzomyia longipalpis* y situación de la leishmaniosis visceral en argentina," *Medicina (Buenos Aires)*, vol. 61, pp. 174–178, 2001.
- [85] O. Salomón and P. Orellano, "*Lutzomyia longipalpis* in clorinda, formosa province, an area of potential visceral leishmaniasis transmission in argentina," *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 100, no. 5, pp. 475–476, 2005.
- [86] J. Rosa, O. Salomon, J. Andrade Filho, G. Carvalho, E. Szelag, M. Stein, E. Tapia, and R. Brazil, "Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of the province of Chaco, Argentina," *Neotropical Entomology*, vol. 39, no. 2, pp. 303–305, 2010.
- [87] O. Salomón, L. Ramos, M. Quintana, S. Acardi, M. Santini, and A. Schneider, "Distribución de vectores de leishmaniasis visceral en la provincia de Corrientes, 2008," *Medicina (Buenos Aires)*, vol. 69, no. 6, pp. 625–630, 2009.
- [88] O. Salomón, M. Fernández, M. Santini, S. Saavedra, N. Montiel, M. Ramos, J. Rosa, E. Szelag, and M. Martínez, "Distribución de *Lutzomyia longipalpis* en la mesopotamia Argentina, 2010," *Medicina (Buenos Aires)*, vol. 71, no. 1, pp. 22–26, 2011.
- [89] O. Salomón, Y. Basmajdian, M. Fernández, and M. Santini, "*Lutzomyia longipalpis* in Uruguay: the first report and the potential of visceral leishmaniasis transmission," *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 106, no. 3, pp. 381–382, 2011.
- [90] J. Marfurt, I. Niederwieser, N. Makia, H. Beck, and I. Felger, "Diagnostic genotyping of old and new world leishmania species by pcr-rflp," *Diagnostic microbiology and infectious disease*, vol. 46, no. 2, pp. 115–124, 2003.
- [91] E. Rangel and R. Lainson, "Proven and putative vectors of american cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence," *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 104, pp. 937–954, 2009.
- [92] P. Zeilhofer, O. Kummer, E. Santos, A. Ribeiro, and N. Missawa, "Spatial modelling of lutzomyia (nyssomyia) whitmani sl (antunes & coutinho, 1939)(diptera: Psychodidae: Phlebotominae) habitat suitability in the state of mato grosso, brazil," *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 103, no. 7, pp. 653–660, 2008.
- [93] N. Souza, C. Andrade-Coelho, M. Vilela, A. Peixoto, and E. Rangel, "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*, vol. 97, no. 6, pp. 759–765, 2002.
- [94] S. Costa, M. Cechinel, V. Bandeira, J. Zannuncio, R. Lainson, and E. Rangel, "*Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* sl.(antunes&coutinho, 1939)(Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): geographical distribution and the epidemiology of american cutaneous leishmaniasis in Brazil mini-review," *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 102, no. 2, pp. 149–153, 2007.

- [95] U. Teodoro, D. Alberton, J. Kuhl, E. Santos, D. Santos, A. Santos, O. Oliveira, T. Silveira, and M. Lonardoni, "Ecology of *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* in an urban area in Brazil," *Revista de Saúde Pública*, vol. 37, no. 5, pp. 651–656, 2003.
- [96] A. Nuñez, "Las "dos mil". crónicas de una ciudadanía mediada por el conflicto: el territorio en disputa. análisis de un caso sobre ocupación de tierras fiscales en el municipio de Puerto Iguazú, Misiones," Tesis de grado, DAS-UNaM, Posadas, Misiones, Argentina, 2009.
- [97] W. Sudia and R. Chamberlain, "Battery operated light trap, an improved model," *Mosquito news*, vol. 22, no. 2, pp. 126–129, 1962.
- [98] C. Alessi, E. Galati, J. Alves, and C. Corbett, "American cutaneous leishmaniasis in the Pontal of Paranapanema-sp, Brazil: ecological and entomological aspects," *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, vol. 51, no. 5, pp. 277–282, 2009.
- [99] E. Lehmann, "L.(1975). nonparametrics: Statistical methods based on ranks."
- [100] G. Quinn and M. Keough, *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge Univ Pr, 2002.
- [101] A. Magurran and A. Magurran, *Ecological diversity and its measurement*. Princeton university press Princeton, NJ, 1988, vol. 179.
- [102] A. Morrison, C. Ferro, R. Pardo, M. Torres, B. Devlin, M. Wilson, and R. Tesh, "Seasonal abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia," *Journal of medical entomology*, vol. 32, no. 4, pp. 538–548, 1995.
- [103] D. Cerino, U. Teodoro, and T. Silveira, "Sand flies (diptera: Psychodidae) in the urban area of the municipality of Cianorte, Paraná state, Brazil," *Neotropical Entomology*, vol. 38, no. 6, pp. 853–858, 2009.
- [104] R. Sampaio, M. de Castro Gonçalves, V. Leite, B. França, G. Santos, M. Carvalho, and P. Tauil, "Estudo da transmissão da leishmaniose tegumentar americana no distrito federal," *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, vol. 42, pp. 686–690, 2009.
- [105] R. Fonteles, G. Vasconcelos, P. Azevedo, G. Lopes, J. Moraes, E. Lorosa, O. Kuppinger, J. Rebelo *et al.*, "Preferencia alimentar sanguínea de *Lutzomyia whitmani* (diptera, psychodidae) em área de transmissão de leishmaniose cutânea americana, no estado do Maranhão, Brasil," *Rev Soc Bras Med Trop*, vol. 42, pp. 647–50, 2009.
- [106] F. Colla-Jacques, C. Casanova, and A. Prado, "Study of sand fly fauna in an endemic area of American cutaneous leishmaniasis and canine visceral leishmaniasis in the municipality of Espírito Santo do Pinhal, São Paulo, Brazil," *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 105, no. 2, pp. 208–215, 2010.
- [107] B. Paiva, A. Oliveira, M. Dorval, E. Galati, and R. Malafronte, "Species-specific identification of leishmania in naturally infected sand flies captured in Mato Grosso do Sul state, Brazil," *Acta Tropica*, vol. 115, no. 1-2, pp. 126–130, 2010.
- [108] J. Rebelo, R. Rocha, J. Moraes, G. Alves, and F. Leonardo, "Distribution of *Lutzomyia whitmani* in phytoregions of the state of Maranhão, northeastern Brazil," *Revista de Saúde Pública*, vol. 43, no. 6, pp. 1070–1074, 2009.
- [109] O. Salomón and S. Sosa Estani, "Brote epidémico de leishmaniasis tegumentaria en Puerto Esperanza, 1998," *Provincia de Misiones*, vol. 61, pp. 385–390, 2001.
- [110] D. Campbell-Lendrum, J. Dujardin, E. Martinez, M. Feliciangeli, J. Perez, L. Silans, and P. Desjeux, "Domestic and peridomestic transmission of American cutaneous leishmaniasis: changing epidemiological patterns present new control opportunities," *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 96, no. 2, pp. 159–162, 2001.
- [111] H. Rodrigues, N. Missawa, L. Costa, G. Lima, S. Ramos, V. Moraes Filho, C. Souza, A. Ribeiro, A. Silva, and I. Barros, "A interferência humana como fator de agravamento ambiental e a domiciliação dos vetores da leishmaniose tegumentar americana no estado de Mato Grosso, no período de 2001 e 2002," *Revista da Abrasco*, vol. 8, p. 414, 2003.
- [112] L. Chaves and N. Anez, "Species co-occurrence and feeding behavior in sand fly transmission of American cutaneous leishmaniasis in western Venezuela," *Acta tropica*, vol. 92, no. 3, pp. 219–224, 2004.
- [113] M. de Carvalho, H. Valença, F. da Silva, D. de Pita-Pereira, T. de Araujo Pereira, C. Britto, R. Brazil *et al.*, "Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (Franca, 1920)(Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco state, Brazil," *Acta tropica*, vol. 116, no. 1, pp. 108–110, 2010.
- [114] M. Carvalho, B. Lima, J. Marinho-Junior, F. Silva, H. Valença, F. Almeida, A. Silva, and S. Brandão-Filho, "Phlebotomine sandfly species from an American visceral leishmaniasis area

- in the northern rainforest region of pernambuco state, Brazil,” *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 23, no. 5, pp. 1227–1232, 2007.
- [115] O. Salomón, J. Andrade Filho, M. Fernández, J. Rosa, E. Szélag, and M. Santini, “Nuevos registros de phlebotominae (Diptera: Psychodidae) para la Argentina,” *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, vol. 69, no. 3-4, pp. 261–265, 2010.
- [116] R. Brazil and B. G. Brazil, “Bionomia. in: Flebotomíneos do Brasil. Rangel e.f. and Lainson r., comp,” *Fiocruz Ed, Rio de Janeiro*, pp. 257–274, 2003.
- [117] IGM, *Atlas geográfico de la República Argentina*. Instituto Geográfico Militar, Buenos Aires, 1998.
- [118] T. Virgens, C. Santos, I. Pinto, K. Silva, F. Leal, and A. Falqueto, “Phlebotomine sand flies (diptera, psychodidae) in an american tegumentary leishmaniasis transmission area in northern espirito santo state, brazil,” *Cad. Saúde Públ.*, vol. 24, no. 12, pp. 2969–2978, 2008.
- [119] J. Leps and P. Smilauer, *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO*. Cambridge Univ Pr, 2003.
- [120] A. Torina, M. Sole, S. Reale, F. Vitale, and S. Caracappa, “Use of phlebotomine sand flies as indicator of leishmania prevalence in an endemic area,” *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1149, no. 1, pp. 355–357, 2008.
- [121] C. Ferro, A. Morrison, M. Torres, R. Pardo, M. Wilson, and R. Tesh, “Age structure, blood-feeding behavior, and *Leishmania chagasi* infection in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia,” *Journal of medical entomology*, vol. 32, no. 5, pp. 618–629, 1995.
- [122] L. Robert, K. Schaefer, and R. Johnson, “Phlebotomie sandflies associated with households of human visceral leishmaniasis cases in baringo district, Kenya,” *Annals of tropical medicine and parasitology*, vol. 88, no. 6, pp. 649–657, 1994.
- [123] R. Barata, G. Paz, M. Bastos, R. Andrade, D. Barros, F. Silva, É. Michalsky, A. Pinheiro, and E. Dias, “Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in governador valadares, a transmission area for american tegumentary leishmaniasis in state of Minas Gerais, Brazil,” *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 44, no. 2, pp. 136–139, 2011.
- [124] G. Müller, V. Kravchenko, L. Rybalov, J. Beier, and Y. Schlein, “Characteristics of resting habitats of adult *Phlebotomus papatasi* in neot hakikar, an oasis south of the dead sea,” *Journal of Vector Ecology*, vol. 36, pp. 179–186, 2011.
- [125] G. Müller, V. Kravchenko, and Y. Schlein, “Seasonal and spatial changes of sand fly species in a canyon in the carmel mountains,” *Journal of Vector Ecology*, vol. 36, pp. S118–S127, 2011.
- [126] O. Cabrera and C. Ferro, “Ciclo de vida de *Lutzomyia spinicrassa*, *L. quasitownsendi* y *L. youngi*, especies del grupo verrucarum (Diptera: Psychodidae),” *Actualidades Biológicas*, vol. 22, pp. 225–232, 2000.
- [127] N. Missawa, E. Lorosa, and E. Dias, “Preferencia alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em area de transmissao de leishmaniose visceral em Mato Grosso,” *Rev Soc Bras Med Trop*, vol. 41, pp. 365–8, 2008.
- [128] M. Svobodová, J. Sádlová, K. Chang, and P. Volf, “Short report: distribution and feeding preference of the sand flies *Phlebotomus sergenti* and p. papatasi in a cutaneous leishmaniasis focus in sanliurfa, turkey,” *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 68, no. 1, pp. 6–9, 2003.
- [129] M. Feliciangeli, O. Delgado, B. Suarez, and A. Bravo, “Leishmania and sand flies: proximity to woodland as a risk factor for infection in a rural focus of visceral leishmaniasis in west central Venezuela,” *Tropical Medicine & International Health*, vol. 11, no. 12, pp. 1785–1791, 2006.
- [130] O. Salomón, M. Quintana, I. Flores, A. Andina, S. Molina, L. Montivero, and I. Rosales, “Phlebotominae sand flies associated with a tegumentary leishmaniasis outbreak, Tucumán province, Argentina,” *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 39, no. 4, pp. 341–346, 2006.
- [131] O. Salomón, M. Quintana, and M. Zaidenberg, “Urban distribution of phlebotominae in a cutaneous leishmaniasis focus, Argentina,” *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 103, no. 3, pp. 282–287, 2008.
- [132] F. Silva, L. Carvalho, F. Cardozo, J. Moraes, and J. Rebêlo, “Sand flies (Diptera: Psychodidae) in a cerrado area of the maranhão state, brazil,” *Neotropical Entomology*, vol. 39, no. 6, pp. 1032–1038, 2010.

- [133] L. Geise, D. Astua, and H. Sebastiao, "Morphometric differentiation and distributional notes of three species of *Akodon* (Muridae, Sigmodontinae, Akodontini) in the atlantic coastal area of Brazil," *Arq. Mus. Nac*, vol. 63, no. 1, pp. 63–74, 2005.
- [134] J. Shaw, R. Lainson, and R. Ward, "Leishmaniasis in brazil: Vii. further observations on the feeding habitats of *Lutzomyia flaviscutellata* (Mangabeira) with particular reference to its biting habits at different heights," *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 66, no. 5, pp. 718–723, 1972.
- [135] J. Roelfsema, N. Nozari, T. Herremans, L. Kortbeek, and E. Pinelli, "Evaluation and improvement of two pcr targets in molecular typing of clinical samples of leishmania patients," *Experimental parasitology*, vol. 127, no. 1, pp. 36–41, 2011.
- [136] G. Schonian, A. Nasereddin, N. Dinse, C. Schweynoch, H. Schallig, W. Presber, and C. Jaffe, "Pcr diagnosis and characterization of leishmania in local and imported clinical samples," *Diagnostic microbiology and infectious disease*, vol. 47, no. 1, pp. 349–358, 2003.
- [137] J. Wiens, N. Chr, B. Van Horne, and R. Ims, "Ecological mechanisms and landscape ecology," *Oikos*, pp. 369–380, 1993.
- [138] S. Ellner, E. McCauley, B. Kendall, C. Briggs, P. Hosseini, S. Wood, A. Janssen, M. Sabelis, P. Turchin, R. Nisbet *et al.*, "Habitat structure and population persistence in an experimental community," *Nature*, vol. 412, no. 6846, pp. 538–543, 2001.
- [139] A. Oliveira, A. Paniago, M. Dorval, E. Oshiro, C. Leal, M. Sanches, R. Cunha, and M. Bóia, "Emergent outbreak of visceral leishmaniasis in Mato Grosso do sul state," *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 39, no. 5, pp. 446–450, 2006.
- [140] G. Mestre and C. Fontes, "A expansao da epidemia da leishmaniose visceral no estado de Mato Grosso, 1998-2005; the spread of the visceral leishmaniasis epidemic in the state of mato grosso, 1998-2005," *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*, vol. 40, no. 1, pp. 42–48, 2007.
- [141] I. Sherlock, "Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil," *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 91, no. 6, pp. 671–683, 1996.
- [142] B. Alexander, R. de Carvalho, H. McCallum, and M. Pereira, "Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in brazil," *Emerging infectious diseases*, vol. 8, no. 12, p. 1480, 2002.
- [143] C. Costa, G. Werneck, L. Rodrigues, M. Santos, I. Araújo, L. Moura, S. Moreira, R. Gomes, and S. Lima, "Household structure and urban services: neglected targets in the control of visceral leishmaniasis," *Annals of tropical medicine and parasitology*, vol. 99, no. 3, pp. 229–236, 2005.
- [144] A. Oliveira, J. Andrade Filho, A. Falcão, and R. Brazil, "Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na zona urbana da cidade de campo grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 1999-2000," *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 19, no. 4, pp. 933–944, 2003.
- [145] C. Oliveira, A. Diez-Roux, C. César, and F. Proietti, "A case-control study of microenvironmental risk factors for urban visceral leishmaniasis in a large city in Brazil, 1999-2000," *Revista Panamericana de Salud Pública*, vol. 20, no. 6, pp. 369–376, 2006.
- [146] S. Correa Antonialli, T. Torres, A. Paranhos Filho, and J. Tolezano, "Spatial analysis of american visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul state, central Brazil," *Journal of Infection*, vol. 54, no. 5, pp. 509–514, 2007.
- [147] T. Bailey and A. Gatrell, *Interactive spatial data analysis*. Longman Scientific & Technical Essex, 1995, vol. 413.
- [148] P. Legendre and L. Legendre, *Numerical ecology*. Elsevier Science & Technology, 1998, vol. 20.
- [149] G. Werneck and J. Maguire, "Spatial modeling using mixed models: an ecologic study of visceral leishmaniasis in Teresina, piau state, Brazil," *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 18, no. 3, pp. 633–637, 2002.
- [150] A. Carbajo, S. Curto, and N. Schweigmann, "Spatial distribution pattern of oviposition in the mosquito *Aedes aegypti* in relation to urbanization in Buenos Aires: southern fringe bionomics of an introduced vector," *Medical and veterinary Entomology*, vol. 20, no. 2, pp. 209–218, 2006.
- [151] J. Donázar, F. Hiraldo, and J. Bustamante, "Factors influencing nest site selection, breeding density and breeding success in the bearded vulture (*Gypaetus barbatus*)," *Journal of Applied Ecology*, pp. 504–514, 1993.
- [152] J. Nelder and R. Wedderburn, "Generalized linear models," *Journal of the Royal Statistical Society. Series A (General)*, pp. 370–384, 1972.
- [153] P. McCullagh and J. Nelder, *Generalized linear models*. Chapman & Hall CRC, 1989.

- [154] W. Venables and B. Ripley, *Modern applied statistics with S*. 2002. Springer, New York, 1999.
- [155] M. Crawley, *GLIM for ecologists*. Blackwell Scientific Publications Oxford, 1993.
- [156] P. Legendre, "Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm?" *Ecology*, vol. 74, no. 6, pp. 1659–1673, 1993.
- [157] A. Maia-Elkhoury, W. Alves, M. Sousa-Gomes, J. Sena, and E. Luna, "Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges," *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 24, no. 12, pp. 2941–2947, 2008.
- [158] C. Margonari, C. Freitas, R. Ribeiro, A. Moura, M. Timbó, A. Gripp, J. Pessanha, and E. Dias, "Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte municipality, state of minas gerais, Brazil," *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 101, no. 1, pp. 31–38, 2006.
- [159] P. Nieto, J. Malone, and M. Bavia, "Ecological niche modeling for visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil, using genetic algorithm for rule-set prediction and growing degree day-water budget analysis," *Geospatial Health*, vol. 1, no. 1, pp. 115–126, 2006.
- [160] E. Araujo, R. Silva, and M. Honer, "Comportamento de *Lutzomyia longipalpis*, vetor principal da leishmaniose visceral americana, em Campo Grande, estado do Mato Grosso do sul," *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 40, no. 4, pp. 420–425, 2007.
- [161] N. Missawa and E. Dias, "Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the municipality of Varzea Grande: an area of transmission of visceral leishmaniasis in the state of Mato Grosso, Brazil," *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 102, no. 8, pp. 913–918, 2007.
- [162] E. Michalsky, J. Francca-Silva, R. Barata, F. Lara e Silva, A. Loureiro, C. Fortes-Dias, and E. Dias, "Phlebotominae distribution in Janaúba, an area of transmission for visceral leishmaniasis in Brazil," *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 104, no. 1, pp. 56–61, 2009.
- [163] O. Salomón, "Vectores de leishmaniasis en las américas," *Gazeta Médica da Bahia*, vol. 79, no. 79, pp. 3–15, 2009.
- [164] F. Dias, E. Lorosa, and J. Rebêlo, "Fonte alimentar sanguínea ea peridomiciliacao de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912)(Psychodidae, Phlebotominae)," *Cad. Saúde Pública*, vol. 19, no. 5, pp. 1373–1380, 2003.
- [165] N. Missawa, G. Maciel, and H. Rodrigues, "Distribuição geográfica de *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) no estado de mato grosso," *Rev Soc Bras Med Trop*, vol. 41, pp. 369–373, 2008.
- [166] M. Sant'Anna, N. Jones, J. Hindley, A. Mendes-Sousa, R. Dillon, R. Cavalcante, B. Alexander, and P. Bates, "Blood meal identification and parasite detection in laboratory-fed and field-captured *Lutzomyia longipalpis* by pcr using fta databasing paper," *Acta tropica*, vol. 107, no. 3, pp. 230–237, 2008.
- [167] M. Santini, M. Fernández, A. Pérez, E. Sandoval, and O. Salomón, "*Lutzomyia longipalpis* abundance in the city of Posadas, northeastern Argentina: variation at different spatial scales," *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, in press.
- [168] M. Woolhouse, C. Dye, J. Etard, T. Smith, J. Charlwood, G. Garnett, P. Hagan, J. Hii, P. Ndhlovu, R. Quinnell *et al.*, "Heterogeneities in the transmission of infectious agents: implications for the design of control programs," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 94, no. 1, p. 338, 1997.
- [169] O. Salomon, M. Wilson, E. Munstermann, and B. Travi, "Spatial and temporal patterns of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis focus in northern Argentina," *Journal of Medical Entomology*, vol. 41, pp. 33–39, 2004.
- [170] N. Mantel and W. Haenszel, "Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease," *The Challenge of Epidemiology: Issues and Selected Readings*, vol. 1, no. 1, pp. 533–553, 2004.
- [171] M. Harhay, P. Olliaro, D. Costa, and C. Costa, "Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil," *Trends in parasitology*, 2011.
- [172] A. de Oliveira, A. Falcao, and R. Brazil, "Primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) na área urbana de Campo Grande, ms, Brasil," *Rev saude publica*, vol. 34, pp. 654–5, 2000.
- [173] A. Oliveira, E. Galati, O. Oliveira, G. Oliveira, I. Espindola, M. Dorval, and R. Brazil, "Abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urban transmission of visceral leishmaniasis in campo grande, state of Mato Grosso do sul, Brazil," *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 101, no. 8, pp. 869–874, 2006.
- [174] D. Carneiro, M. Bavia, W. Rocha, A. Tavares, L. Cardim, and B. Alemayehu, "Application of spatio-temporal scan statistics for the detection of areas with increased risk for

- american visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil,” *Geospatial Health*, vol. 2, no. 1, pp. 113–126, 2007.
- [175] W. Caiaffa, M. Almeida, C. Oliveira, A. Friche, M. Dias, M. Cunha, E. Pessanha, F. Proietti *et al.*, “The urban environment from the health perspective: the case of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil,” *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 21, no. 3, pp. 958–967, 2005.
- [176] M. Feliciangeli, “Natural breeding places of phlebotomine sandflies,” *Medical and veterinary entomology*, vol. 18, no. 1, pp. 71–80, 2004.
- [177] A. Fuenzalida, M. Quintana, O. Salomón, and M. Grosso, “Hourly activity of *Lutzomyia neivai* in the endemic zone of cutaneous leishmaniasis in Tucumán, Argentina: preliminary results,” *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 106, no. 5, pp. 635–638, 2011.
- [178] E. Cordoba Lanus and O. Salomon, “Phlebotominae fauna in the province of Tucumán, Argentina,” *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, vol. 44, no. 1, pp. 23–27, 2002.
- [179] M. Manteca Acosta, M. Villarquide, M. Fernández and O. Salomón, “Estudio de abundancia y riqueza específica de flebótomos en viviendas y gallineros de una zona rural de Puerto Iguazú, Misiones, Argentina,” *Congreso Argentino de Entomología*, vol. <http://dl.dropbox.com/u/30663084/VIII%20CAE%20programa%20extendido.pdf>, 2012.
- [180] S. Cleaveland, M. Laurenson, and L. Taylor, “Disease of humans and their domestic mammals; pathogen characteristics, host range and the risk of emergence,” *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, vol. 356, pp. 991–999, 2001.
- [181] J. Andrade Filho, E. Galati, and A. Falcao, “Redescription of *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae),” *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 98, no. 8, pp. 1059–1065, 2003.