

Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) collected in rural area from San Bernardo del Viento (Córdoba, Colombia)

Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) colectados en área rural de San Bernardo del Viento (Córdoba Colombia)

Angie Toro-Cantillo¹ B.Sc, María Atencia-Pineda¹ B.Sc, Richard Hoyos-López^{1*} M.Sc.

¹Universidad del Sinú, Facultad de Ciencias de la Salud, Grupo de investigación en Enfermedades Tropicales y Resistencia Bacteriana. Carrera 1w Nro. 38-153, Montería, Colombia. Correspondence: rhoyoslopez@gmail.com

Received: August 2016; Accepted: January 2017.

ABSTRACT

Objective. Our aim was evaluate the presence of phlebotomine sandflies in an important rural area with eco-epidemiological interest in San Bernardo del Viento (Córdoba, Colombia). **Materials and Methods.** The insects identified were collected using CDC-traps and manual aspirator in closed trees between May to August 2015. The specimens were conserved and fragmented for clarification of internal structures and identification of morphological keys. **Results.** Three species of phlebotomine sand flies were identified: *Lutzomyia gomezi* (Nitzulescu 1931), *Pintomyia rangeliana* (Ortiz 1952) y *Micropygomyia cayennensis* (Floch & Abonnenc 1941). **Conclusions.** The presence of *L. gomezi*, main vector of cutaneous leishmaniasis in Colombia, is a risk factor for rural people from the zone.

Keywords: *Lutzomyia*, Leishmaniasis, Medical Entomology (Source: MESH, CAB).

RESUMEN

Objetivo. Evaluar la presencia de flebotomíneos en un área rural de interés eco-epidemiológico perteneciente al municipio de San Bernardo del Viento (Córdoba, Colombia). **Materiales y métodos.** Los insectos identificados fueron colectados mediante trampas CDC y aspirador manual en arboles cercanos en el periodo de Mayo - Agosto (2015). Los especímenes fueron conservados secos y luego fragmentados para aclaración de estructuras e identificación mediante claves morfológicas. **Resultados.** Tres especies de flebotomíneos fueron identificadas: *Lutzomyia gomezi* (Nitzulescu 1931), *Lutzomyia rangeliana* (Ortiz 1952) y *Lutzomyia cayennensis* (Floch & Abonnenc 1941). **Conclusiones.** La presencia de *L. gomezi*, principal vector de leishmaniasis cutánea en Colombia, constituye un factor de riesgo para habitantes rurales de la zona.

Palabras clave: *Lutzomyia*, Leishmaniasis, Entomología médica, (Fuentes: CAB, MESH).

INTRODUCTION

Sandflies are small blood-feeding dipterous belonging mainly to Phlebotominae subfamily (Diptera: Psychodidae) – genus *Lutzomyia* in the new world, and containing approximately >400 species, of which 153 have been found in Colombia (1,2). These hematophagous insects are primary vectors of protozoa from genus *Leishmania* (Ross, 1903), causative agents of leishmaniasis, an infectious disease with high prevalence in Colombia, registering >17.000 annual cases (3). The visceral and cutaneous leishmaniasis cases reported at the Cordoba Department were 229 cases until 52th week of 2015 (4). This high prevalence of leishmaniasis is due to convergence reservoirs, vectors and susceptible humans host among a geographic zone that cross the departments of Cordoba, Bolívar and Sucre called "Montes de María" (5). The fauna of sand flies in Cordoba is poorly known and 13 species have been recorded in last studies (2,7). However, these registers were performed in endemic focus of leishmaniasis in municipalities as San Andres de Sotavento, Cereté, Chinú and Sahagún (1,6,7); highlighting the presence of the vectors of visceral leishmaniasis, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva 1912) and *Pintomyia evansi* (Nuñez-Tovar 1924).

However, further studies should be performed because they are necessary to establish the presence of phlebotomine sand flies species in other regions of Cordoba department. Even though these regions do not appear to be epidemiologically important for active disease.

Our aim was evaluate the presence of phlebotomine sandflies in an important rural area with eco-epidemiological interest in San Bernardo del Viento (Córdoba, Colombia), where there are not records of these insects and human cases of leishmaniasis. The species identified are discussed in the context of leishmaniasis and potential risk of transmission in the studied zone.

MATERIALS AND METHODS

Site estudy. San Bernardo del Viento (Córdoba, Colombia), is a municipality located in the Colombian Caribbean coast (approximate population 32.000) and is two meters above sea level, 30°C mean temperature, and is bordered by delta of Sinú River. The locality of our study is called "Chiquilito" (9°19'59.88"N, 75°58'0.12"W) and consist of rice fields, pastures and mangos; there is a high diversity wildlife, include 296 species of birds (belonging to 61 families, at which 64 species are migratory); reptiles and

INTRODUCCIÓN

Los flebotomíneos son dípteros de pequeño tamaño que se alimentan de sangre, pertenecientes principalmente a la subfamilia Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) – Genero *Lutzomyia* en el nuevo mundo, conteniendo aproximadamente >400 especies, de las cuales 153 han sido halladas en Colombia (1,2). Estos insectos hematófagos son vectores primarios de protozoos del género *Leishmania* (Ross, 1903), agentes causantes de la leishmaniasis, una enfermedad infecciosa de alta prevalencia en Colombia, registrando más de 17.000 casos al año (3). La cifra de casos de leishmaniasis visceral y cutánea reportadas en el departamento de Córdoba fue de 229 casos hasta la semana 52 del 2015 (4). Esta alta prevalencia de leishmaniasis se debe a la convergencia de reservorios, vectores, y huéspedes humanos en una zona geográfica que cruza los departamentos de Córdoba, Bolívar y Sucre, llamada "Montes de María" (5).

La fauna de los flebotomíneos en Córdoba es muy poco conocida y en los últimos estudios se han registrado 13 especies (2,7). Sin embargo, estos registros fueron realizados en focos endémicos de leishmaniasis en los municipios de San Andrés de Sotavento, Cereté, Chinú y Sahagún (1,6,7); resaltando la presencia de leishmaniasis visceral, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva 1912) y *Pintomyia evansi* (Nuñez-Tovar 1924).

Sin embargo, se deben realizar más estudios toda vez que son necesarios para establecer la presencia de especies de flebotomíneos en otras regiones del departamento de Córdoba. Aun cuando estas regiones no parecen ser epidemiológicamente importantes para la enfermedad activa.

Nuestro objetivo era evaluar la presencia de flebotomíneos en un área rural de interés eco-epidemiológico perteneciente al municipio de San Bernardo del Viento (Córdoba, Colombia), donde no hay registros de estos insectos ni de caos de leishmaniasis humana. Las especies identificadas se discuten en el contexto de la leishmaniasis y el riesgo potencial de transmisión en la zona de estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del estudio.

San Bernardo del Viento (Córdoba, Colombia) es un municipio ubicado en la costa caribe colombiana (población aproximada de 32.000) y se halla a dos metros sobre el nivel del mar, con temperatura media de 30°C, y se encuentra bordeada por el

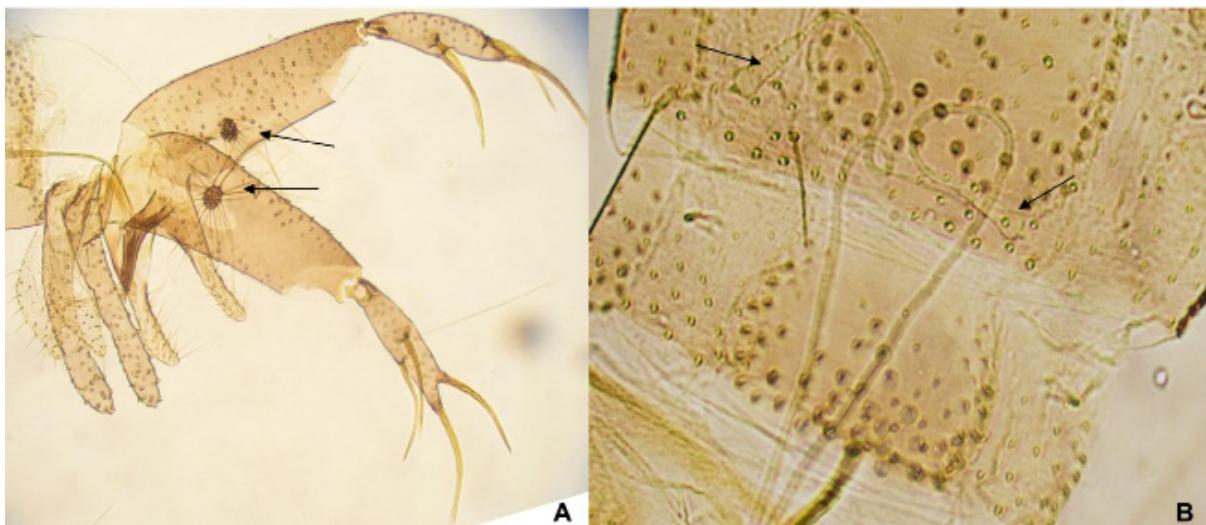


Figure 1. *Lutzomyia gomezi* (Nitzulescu 1931). A. Male Terminalia, showing setal tuft in coxite (arrows). B. Female Spermathecae (arrows).

mammals that include rodents (*Oligoryzomys* spp. and *Zygodontomys* spp.), bats (*Artibeus* spp., *Carollia* spp. and *Sturnira* spp.), sloths (*Bradypus* spp.), opossum (*Didelphis marsupialis*) and primates (*Aotus lemurinus*, *Ateles geoffroyi*, *Cebus albifrons* and *Sanguinus oedipus*) (8). Bovines, chickens, goats, horses and donkeys were the most common peridomestic animals in farm areas closed to area sampled.

Samples collection. Captures were performed in the municipality of San Bernardo del Viento, from May to August 2015. Sandflies were collected in forested areas impacted by the presence of man around residences, and around the rice crops present in the peri-domicile, using CDC light traps during 14-hour (5:00 p.m. to 7:00 a.m.). Manual and manual aspirators were only used in resting sites of sandflies from 6:00 a.m. to 9:00 a.m.

Preparation. Preparation of the sandflies was performed individually using lacto-phenol and were identified to species level using microscopic observation of various internal/external morphological characteristics, using the keys proposed by Young and Duncan (9).

RESULTS

A total of 78 phlebotomine sandflies belonging to three species and *Lutzomyia* genus were identified: *Lutzomyia gomezi* (Nitzulescu 1931) (28♂-11♀) (Figure 1), *Pintomyia rangeliana* (Ortiz 1952) (2♂-15♀) and *Microphygomyia cayennensis* (Floch & Abonnenc 1941) (14♂-8♀). All specimens were collected in a

rio Sinú. La localidad de nuestro estudio se llama "Chiquillito" (9°19' 59.88" N, 75°58' 0.12" W), y sus tierras constan de campos de arroz, pastizales y cultivos de mango; hay gran diversidad de vida silvestre, incluyendo 296 especies de aves (pertenecientes a 61 familias, de las cuales 64 especies son aves migratorias); reptiles y mamíferos que incluyen roedores (*Oligoryzomys* spp. y *Zygodontomys* spp.), murciélagos (*Artibeus* spp., *Carollia* spp. y *Sturnira* spp.), perezosos (*Bradypus* spp.), zarigüeyas (*Didelphis marsupialis*) y primates (*Aotus lemurinus*, *Ateles geoffroyi*, *Cebus albifrons* y *Sanguinus oedipus*) (8). Los animales peridomésticos más comunes en las fincas cercanas al área de muestreo son bovinos, pollos, cabras, caballos y burros.

Recolección de muestras. Las capturas fueron llevadas a cabo en el municipio de San Bernardo del Viento entre mayo y agosto de 2015. Los flebotomíneos se recolectaron en áreas boscosas impactadas por la presencia humana de residencias a su alrededor, y alrededor de los cultivos de arroz presentes en la zona peri-domiciliaria, mediante trampas CDC durante 14 horas (5:00 p.m. a 7:00 a.m.). La recolección manual y el uso de aspiradores se dieron únicamente en áreas de descanso de los flebotomíneos entre las 6:00 a.m. y las 9:00 a.m.

Preparación. La preparación de los flebotomíneos se hizo de manera individual usando lactofenol y se identificaron hasta el nivel de especie por medio de la observación microscópica de diversas características morfológicas internas y externas, con base en las claves propuestas por Young y Duncan (9).

range of <50 m from nearest house. 48 insects were captured in CDC-light traps (*L. gomezi* - 5♂/9♀, *P. rangeliana* - 1♂, 5♀, *M. cayennensis* - 1♂, 5♀) and 30 in resting sites (*L. gomezi* - 23♂/2♀, *P. rangeliana* - 13♂, 3♀, *M. cayennensis* - 13♂/3♀).

DISCUSSION

M. cayennensis was predominant species captured in the area the study. This species is characterized by feeding on rodents and reptiles (9) and its high capacity for exploitation new resources in farm zones. Also, it is collected in areas closed to human houses, domestic animals and forest relicts (5,10-12). For instance, females of this species were collected in Ovejas (Department of Sucre, Colombia) and have been found infected naturally with Trypanosomatidae parasites using polymerase chain reaction for ssRNA (small subunit of RNA ribosomal) (5). Despite its zoophilic behavior, recent authors highlight that those species have high population densities in peaks of activity-bite in the range of 6:00 p.m. – 10:00 p.m., evidencing endophilic preferences and being associated with rural and urban environments in localities of Córdoba, Sucre and Bolívar (10-12).

P. rangeliana was a second species captured in order of abundance; this species has been considered moderately anthropophilic and founded infected with flagellate promastigotes belonging to *Leishmania* sp. identified like as *Leishmania venezuelensis* (Bonfante-Garrido 1980) (13), the etiologic agent of cutaneous leishmaniasis in Venezuela.

In third place, *L. gomezi* is an anthropophilic species with endophilic behavior on human settlements and have been considered probably vector of cutaneous leishmaniasis in several regions of Colombia (2,5,7,10-12). This phlebotomine sand-fly has been detected naturally infected with *Leishmania panamensis* (Lainson & Shawn 1972) in Boyacá (14) and *Leishmania braziliensis* (Viannia 1911) in Venezuela. Also, has been found infected with promastigotes not identified in Panama, Ecuador and Colombia (10). *L. gomezi* is a vector with high adaptive abilities (ecological plasticity) being associated with disturbing environments and low abundances in forest areas, suggesting as species adapted to deforested zones, where is find a diversity of food resources (10-12,15).

The records of species belonging to phlebotomine sandflies in San Bernardo del Viento (Córdoba, Colombia), have an epidemiological relevance

RESULTADOS

Se identificó un total de 78 flebotomíneos pertenecientes a tres especies y al género *Lutzomyia*: *Lutzomyia gomezi* (Nitzulescu 1931) (28♂-11♀) (Figura 1), *Pintomyia rangeliana* (Ortiz 1952) (2♂-15♀) y *Micropygomyia cayennensis* (Floch & Abonnenc 1941) (14♂-8♀). Todos los especímenes fueron recolectados dentro de un rango de no más de 50 metros de distancia de la casa más cercana. Un total de 48 insectos fueron capturados con las trampas CDC (*L. gomezi* - 5♂/9♀, *P. rangeliana* - 1♂, 5♀, *M. cayennensis* - 1♂, 5♀) y 30 en lugares de descanso (*L. gomezi* - 23♂/2♀, *P. rangeliana* - 13♂, 3♀, *M. cayennensis* - 13♂/3♀).

DISCUSIÓN

M. cayennensis fue la especie predominante capturada en el área de estudio. Esta especie se caracteriza por alimentarse de roedores y reptiles (9) y por su alta capacidad de explorar nuevos recursos en zonas de fincas. También se recolecta en áreas cercanas a hogares humanos, animales domésticos y relictos de bosques (5,10-12). Por ejemplo, las hembras de esta especie fueron recolectadas en Ovejas (Departamento de Sucre, Colombia) y se descubrió que han sido infectadas naturalmente con parásitos Trypanosomatidae, por medio del uso de reacciones en cadena de polimerasa para el ssRNA (pequeña subunidad del RNA ribosomal) (5). A pesar de su comportamiento zoofílico, los autores recientes resaltan que aquellas especies muestran altas densidades poblacionales en picos de actividad de picadura en el rango de las 6:00 p.m. a las 10:00 p.m., evidenciando así preferencias endofílicas y asociadas a los ambientes rurales y urbanos en las localidades de Córdoba, Sucre y Bolívar (10-12).

P. rangeliana fue la segunda especie capturada en orden de abundancia; esta especie ha sido considerada moderadamente antropófila y se encontró infectada con promastigotes de *Leishmania* sp. Identificados como *Leishmania venezuelensis* (Bonfante-Garrido 1980) (13), el agente etiológico de la leishmaniasis cutánea en Venezuela.

En tercer lugar, *L. gomezi* es una especie antropófila y de comportamiento endofílico en asentamientos humanos, y ha sido considerada como un probable vector de leishmaniasis cutánea en varias regiones de Colombia (2,5,7,10-12). Este flebotomíneo ha sido detectado con infección natural por *Leishmania panamensis* (Lainson & Shawn 1972) en Boyacá (14) y *Leishmania braziliensis* (Viannia 1911) en Venezuela. También se ha encontrado infectado con promastigotes no identificados en Panamá,

from the point of view of leishmaniasis, also provides important information about the geographic distribution and extensive modeling about ecological niche and potential risk of transmission, allowing determine possible active zones and indicate ecological key-factors for presence of leishmaniasis. In this sense, we might to perform a taxonomic inventory more extensive in that municipality because is very probable that biodiversity increases, also is fundamental understand patterns of population fluctuations in species of genus *Lutzomyia/Pintomyia*, and natural infection rates with *Leishmania* parasites.

Acknowledgments

This work was supported by Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación – Colciencias with grant project 111549326198. Richard Hoyos López was recipient of a doctoral fellowship from the "Programa de Doctorados Nacionales – Colciencias" (Convocatoria 528).

Ecuador y Colombia (10). *L. gomezi* es un vector con grandes capacidades adaptativas (plasticidad ecológica) asociada a ambientes perturbados y baja abundancia en áreas boscosas, sugiriendo que la especie se encuentra adaptada a zonas deforestadas donde se halla una diversidad de recursos alimenticios (10-12,15).

Los registros de especies pertenecientes a los flebotomíneos en San Bernardo del Viento (Córdoba, Colombia) tienen importancia epidemiológica desde el punto de vista de la leishmaniasis, y también brindan información importante acerca de la distribución geográfica y el modelamiento amplio acerca del nicho ecológico y el riesgo potencial de transmisión, permitiendo determinar las posibles zonas activas e indicar factores ecológicos clave para la presencia de leishmaniasis. En este sentido, podríamos llevar a cabo un inventario taxonómico más amplio en dicha municipalidad debido a que es muy probable un incremento de la biodiversidad, y también es fundamental comprender los patrones de las fluctuaciones de la población en especies del género *Lutzomyia/Pintomyia*, y las tasas de infección natural con parásitos de *Leishmania*.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación – Colciencias por medio de la subvención para proyectos 111549326198. Richard Hoyos López fue receptor de una beca de doctorado del "Programa de Doctorados Nacionales – Colciencias" (Convocatoria 528).

REFERENCES

1. Bejarano E. Lista actualizada de los psicódidos (diptera: psychodidae) de Colombia. Folia Entomol Mex 2006; 45(1):47-56.
2. Contreras-Gutiérrez MA, Vélez ID, Porter C, Uribe SI. Lista actualizada de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) de la región cafetera colombiana. Biomédica 2014; 34(3):483-498.
3. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. PLoS ONE 2012; 7(5):e35671.
4. SIVIGILA. Reports of leishmaniasis cases until epidemiological week 52th. (On line) Bogotá D.C: Instituto Nacional de Salud; 2015. (Accessed Jul 2016). URL available in: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Estadisticas%20SIVIGILA/CASOS%20CONFIRMADOS%20POR%20DEPARTAMENTO%20sem%2028.xlsx>.
5. Cochero S, Anaya Y, Díaz Y, Paternina M, Luna A, Paternina L, et al. Infección natural de *Lutzomyia cayennensis cayennensis* con parásitos tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Los Montes de María, Colombia. Rev Cubana Med Trop 2007; 59(1):35-39.

6. Travi BL, Alder GH, Lozano M, Cadena H, Montoya-Lerma J. Impact of habitat degradation on Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) of tropical dry forest in northern Colombia. *J Med Entomol* 2002; 39:451-456.
7. Vivero R, Salazar L, Cadena H, Alvar-Beltran J, Tovar Catalina, Atencia Claudia, Vélez I. Composition and distribution of medically important phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in the municipalities of Tierralta and Valencia (Córdoba, Colombia). *J Vector Borne Dis* 2017; 54:87-95.
8. Rojas X, Sierra-Correa. Plan de Integral de Manejo DMI Cispatá – La Balsa – Tinajones y sectores aledaños. Santa Marta, Magdalena, Colombia: Corporación Autónoma Regional de los Valles del Sinú y del San Jorge (CVS) e Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (INVEMAR); 2010.
9. Young D, Duncan M. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico the West Indies, Central and South America (Diptera:Psychodidae). *Mem Am Entomol Inst* 1994; 54:1-881.
10. Hoyos R, Vivero R, Contreras M, Uribe S. Phlebotomines sandflies (Diptera: Psychodidae) on a rural area from Santa Fe de Antioquia, Colombia. *Rev Colomb Entomol* 2013; 39(1):51-55.
11. Cortes LA, Fernandez JJ. Especies de *Lutzomyia* en un foco urbano de leishmaniasis visceral y cutánea en El Carmen de Bolívar, Bolívar, Colombia. *Biomédica* 2008; 28(3):423-432.
12. Valderrama A, Tavares M, Dilermando J. Phylogeography of the *Lutzomyia gomezi* (Diptera: Phlebotominae) on the Panama Isthmus. *Parasit Vectors* 2014; 8(7):9.
13. Cazorla, Dalmiro J.; Morales, Pedro Fauna flebotomina (Diptera: Psychodidae) del estado Falcón, Venezuela. *Rev Peru Biol* 2012; 19(1):75-80.
14. Santamaría E, Ponce N, Zipa Y, Ferro C. Presencia en el peridomicilio de vectores infectados con *Leishmania (Viannia) panamensis* en dos focos endémicos en el occidente de Boyacá, piedemonte del valle del Magdalena medio, Colombia. *Biomédica* 2006; 26(1):82-94.
15. Ferro C, López M, Fuya P, Lugo L, Cordovez J, González M. Spatial Distribution of Sand Fly Vectors and Eco-Epidemiology of Cutaneous Leishmaniasis Transmission in Colombia. *PLoS One* 2015; 10(10):e0139391.