

Estudio preliminar de los factores medioambientales que influyen en la abundancia de flebotomos (Diptera: Psychodidae) en el sureste español

C. Muñoz¹, E. Berriatua¹, J. Ortiz¹

¹ Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Campus de Excelencia Internacional Regional "Campus Mare Nostrum", Universidad de Murcia, 30100 Espinardo, Murcia, España.
E-mail: clara.munoz1@um.es

1. Introducción

Los flebotomos (Diptera: Psychodidae) constituyen uno de los grupos de insectos de mayor importancia tanto en Salud Pública como Animal, por su implicación en la transmisión de diferentes enfermedades. Actúan como vectores del protozoo *Leishmania spp.*, agente causal de la leishmaniosis humana y canina (Ready, 2013). En España, se han descrito hasta la fecha 12 especies de flebotomos, aunque solo *Phlebotomus perniciosus* y *P. ariasi* son capaces de transmitir *Leishmania infantum*, la única especie descrita en nuestro país (Aransay, 2004).

La existencia de focos de leishmaniosis viene determinada por la presencia de los vectores transmisores (Maroli, 2013), por lo que es importante conocer los factores medioambientales que afectan al período de actividad y abundancia de los flebotomos. Estos dípteros de reducido tamaño son malos voladores y se desplazan a modo de pequeños saltos. A diferencia de los mosquitos culícidos, sus estadios larvarios no se desarrollan en medio acuático, sino que requieren microhábitats terrestres cálidos, húmedos y ricos en materia orgánica. Sin embargo, estos lugares de cría con las condiciones ideales para el desarrollo de las larvas, son difíciles de localizar en la naturaleza, por lo que las medidas de control se centran solamente en el estado adulto (Felicangeli, 2004).

Con el fin de realizar un mayor control sobre la leishmaniosis, son necesarios más estudios que profundicen en la ecología de estos insectos. Un aspecto importante es valorar los factores medioambientales que pueden influir en la detección de flebotomos en los estudios entomológicos. Con este trabajo se pretende conocer el efecto de la altura a la que se colocan las trampas y la influencia del viento, la temperatura y la humedad relativa, en la presencia y abundancia de flebotomos.

2. Material y métodos

El muestreo se llevó a cabo durante los meses de septiembre y octubre del año 2015 en el exterior de las instalaciones abiertas donde se encuentran alojados 30 perros de raza Beagle de la Granja Docente Veterinaria de la Universidad de Murcia (38°00.501'N, 001°10.656'W), situada a 101 m de altitud. Se pusieron trampas adhesivas de intercepción y trampas de luz de atracción para capturar flebotomos, durante un total de 20 días, desde las 20.00 h hasta las 08.00 h del día siguiente, período de actividad de estos dípteros. Las trampas se colocaron sobre una valla metálica del patio exterior de las instalaciones a tres alturas diferentes (0, 0.75 y 1.50 m sobre el nivel del suelo). Con la ayuda de un

termohigrómetro (LogTag, CiK Solutions) se registró la temperatura y humedad relativa, mientras que la velocidad del viento se midió con tres anemómetros (Skywatch Eole, JDC Electronic), uno en cada altura.

Durante 15 días se emplearon trampas adhesivas, que consisten en láminas de papel A4 (210x297 mm) impregnadas con aceite de ricino. Se colocaron 10 láminas de papel (1.25 m²) en cada altura. En los 5 días restantes del muestreo, se utilizaron trampas de luz CDC junto con cajas con 200 g de hielo seco en su interior para la emisión de CO₂, otro elemento de atracción para incrementar el número de capturas de flebotomos. En cada noche de muestreo se colocaron tres trampas, una en cada altura.

Después de recoger las trampas, tanto los flebotomos capturados con las trampas adhesivas (y separados del aceite de ricino con un pincel mojado en etanol al 70%), como los recogidos con las trampas de luz y CO₂, se almacenaron en viales con etanol al 70% a una temperatura de -20°C, correctamente identificados (fecha, tipo de trampa y altura) hasta su posterior especiación morfológica.

La identificación morfológica de los ejemplares capturados se realizó siguiendo las claves taxonómicas de Gállego-Berenguer (1992) y Martínez-Ortega (1987a). Los machos se identificaron en base a la morfología de la genitalia externa, mientras que la identificación de las hembras se basó en la faringe y cibario (estructuras situadas en la cabeza), y en la morfología de las espermatecas. Para ello, el primer paso consistió en diseccionar y montar el flebotomo en un portaobjetos. De forma resumida, bajo un estereomicroscopio se separó la cabeza y los dos últimos segmentos del abdomen con la ayuda de unas agujas entomológicas. El tórax y resto del abdomen se conservaron en etanol al 70% para realizar técnicas moleculares en caso necesario. En las hembras, fue necesario un paso previo al montaje con el líquido de Hoyer, que consistió en la aclaración del insecto con el uso de ácido acético (solución de Marc-André) durante 15 segundos con calor, para poder observar las estructuras internas necesarias para la identificación.

Los datos obtenidos se analizaron con el programa estadístico R-Studio (versión 0.99.878). Se compararon proporciones con las pruebas de Chi-cuadrado o con el test de Fisher y medianas con la prueba de Kruskal-Wallis. Se estudió la relación entre la abundancia de flebotomos y la altura de las trampas junto con los factores medioambientales (temperatura, humedad relativa, y velocidad media del viento durante las noches de muestreo), empleando un modelo de regresión de Poisson con efecto aleatorio.

3. Resultados

Se colocaron un total de 60 trampas, de las que fueron positivas 39 (65%). Se capturaron 282 flebotomos entre los dos tipos de trampas, incluidos 216 con las trampas adhesivas y 66 con las trampas CDC de luz y CO₂. La mediana (rango intercuartil) de flebotomos en las trampas positivas fue 6 (1 - 12) para las adhesivas y 5.5 (3.25 - 8.25) para las luminosas.

Se observó una asociación negativa entre la altura a la que se colocaron las trampas y la presencia y abundancia de flebotomos ($p < 0.05$). El porcentaje de trampas positivas entre las situadas al nivel del suelo, a 0.75m y a 1.25m fue 95%, 75% y 25%, respectivamente ($p < 0.05$). Igualmente, el número de flebotomos capturados fue 241 flebotomos en las

trampas a nivel de suelo, 35 flebotomos en las situadas a 0.75m, y 6 flebotomos en las colocadas a 1.25m ($p < 0.05$).

El modelo de regresión de Poisson confirmó de forma significativa la fuerte asociación entre la abundancia de flebotomos y la altura a la que se colocaron las trampas, y además, puso de manifiesto que dicha abundancia disminuye cuando la velocidad del viento aumenta, y que fue mayor en las noches en las que la humedad relativa fue menor (34-56%) y la temperatura moderada (23-24°C).

Las especies identificadas en base a la morfología se correspondieron con *Phlebotomus papatasi*, *P. perniciosus* y *Sergentomyia minuta*, con abundancias relativas del 70.6%, 18.1% y 10.3%, respectivamente. El 1.1% restante fueron ejemplares que no pudieron ser identificados morfológicamente, debido a que estaban dañados. Con las trampas de luz se capturó un 65.2% de hembras y un 34.8% de machos. Sin embargo, con las trampas adhesivas se capturó un número similar de machos (51.2%) que de hembras (48.8%).

4. Discusión

Las trampas adhesivas y las trampas CDC de luz y CO₂ son métodos apropiados para la recolección de flebotomos adultos durante su período de actividad (Alexander, 2000). A pesar de que las trampas CDC de luz y CO₂ son más efectivas que las trampas adhesivas (Alten, 2015), en este estudio se capturaron un mayor número de flebotomos con las adhesivas. Sin embargo, hay que tener en cuenta que se muestrearon solo 5 días con las trampas de atracción por los 15 días en los que se utilizaron trampas adhesivas. Además, las trampas CDC de luz y CO₂ empezaron a colocarse en fechas más tardías, con más frío, por lo que es comprensible que se recogieran menos flebotomos.

Al igual que en este estudio, las trampas de atracción suelen capturar un mayor número de hembras debido a su mayor fototropismo (Alten, 2015; Signorini, 2013). Tanto los machos como las hembras se alimentan de sustancias azucaradas que les proporcionan energía, y además, las hembras necesitan ingerir sangre para completar la maduración y desarrollo de los huevos (Killick-Kendrick, 1999). La necesidad de las hembras de buscar hospedadores para realizar la toma de sangre explicaría la atracción por el CO₂ y el fototropismo positivo que sienten (Alexander, 2000).

Estudios realizados en el sureste español durante la década de los 80 detectaron que la especie predominante en los muestreos es *P. perniciosus* (Martínez-Ortega, 1986). Sin embargo, en la zona donde se ha realizado el estudio la especie más importante es *P. papatasi*. Esta especie es más abundante en las zonas más áridas, suele ocupar altitudes menores entre 0 y 100 m (Martínez-Ortega, 1987b), y suele capturarse en bajo número debido a que ocupan un número más restringido de hábitats que otras especies. Es probable que la zona de muestreo cumpla las condiciones idóneas para el desarrollo de esta especie, al tratarse de una zona árida y situada a 100 m de altitud aproximadamente. Los flebotomos son pequeños insectos nocturnos que poseen una débil capacidad de vuelo. Dicho vuelo es silencioso y se cree que tienden a desplazarse en vuelos cortos o a modo de pequeños saltos, a poca distancia del suelo, evitando las corrientes de aire (Maroli, 2012, Killick-Kendrick, 1999). La distancia de vuelo suele ser muy corta, pues no suelen alejarse más de 300 m de los lugares de cría. Sin embargo, se han detectado desplazamientos de más de 2 km de *P. ariasi* en Francia (Killick-Kendrick, 1984). Los

resultados de este estudio confirman que la mayoría de los flebotomos tienden a permanecer cerca del suelo, y coincide con un estudio en Israel, donde el 87% de los flebotomos fue capturado al nivel del suelo. No obstante, en el mismo estudio compararon la colocación de las trampas en una valla metálica y sobre una pared, y encontraron diferencias significativas, pues en las trampas situadas en la pared a nivel del suelo se capturó el 57% de los flebotomos (Faiman, 2011). Estos resultados sugieren que los flebotomos utilizan la pared o cualquier obstáculo vertical para alcanzar alturas superiores. La actividad y abundancia de los flebotomos, está limitada por una serie de factores medioambientales. De esta forma, en el sur de Europa los flebotomos suelen estar activos desde abril hasta octubre, pasando el invierno en estado de diapausa (Killick-Kendrick, 1999). Los resultados obtenidos sobre la influencia del viento, temperatura y humedad relativa en la detección y abundancia de flebotomos coinciden con otros estudios que también han evaluado el impacto de estos factores medioambientales. En Irak, la actividad de los flebotomos es mayor durante las noches cálidas, despejadas, con poco viento y mínima luz de la luna (Colaccico-Mayhugh, 2011). En 2003, Sawalha observó que la actividad de los flebotomos está más estrechamente relacionada con la velocidad del viento que con otro factor climático, pues éstos fueron más abundantes durante los días con poco viento (normalmente menor de 0.3 m/s).

En conclusión, estos resultados demuestran que tanto la colocación de la trampa como las condiciones medioambientales pueden ser decisivas a la hora de estimar la abundancia de flebotomos y valorar el riesgo de transmisión de la leishmaniosis.

5. Bibliografía

- Alexander, B. (2000). Sampling methods for phlebotomine sandflies. *Medical and Veterinary Entomology*, 14(2), 109–122.
- Alten, B., Ozbel, Y., Ergunay, K., Kasap, O. E., Cull, B., Antoniou, M., Medlock, J. M. (2015). Sampling strategies for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Europe. *Bulletin of Entomological Research*, 105(6), 664–678.
- Aransay, A.M., Testa, J.M., Morillas-Márquez, F., Lucientes, J., & Ready, P.D. (2004). Distribution of sandfly species in relation to canine leishmaniasis from the Ebro Valley to Valencia, northeastern Spain. *Parasitology Research*, 94(6), 416-420.
- Colaccico-Mayhugh, M. G., Grieco, J. P., Putnam, J. L., Burkett, D. A., & Coleman, R. E. (2011). Impact of phlebotomine sand flies on United States military operations at Tallil Air Base, Iraq: 5. Impact of weather on sand fly activity. *Journal of Medical Entomology*, 48(3), 538–545.
- Faiman, R., Kirstein, O., Moncaz, A., Guetta, H., & Warburg, A. (2011). Studies on the flight patterns of foraging sand flies. *Acta Tropica*, 120(1-2), 110–114.
- Feliciangeli, M.D. (2004). Natural breeding places of phlebotomine sandflies. *Medical and Veterinary Entomology*, 18(1), 71-80.

Gállego-Berenguer, J., Botet-Fregola, J., Gállego-Culleré, M., Portús-Vinyeta, M. (1992). Los flebotomos de la España peninsular e Islas Baleares: identificación y corología: comentarios sobre los métodos de captura. *En* Hernández S. *Libro Homenaje al Prof Dr F. Martínez Gómez*. Publicaciones de la Universidad de Córdoba. Córdoba. 581-600.

Killick-Kendrick, R., Rioux, J. A., Bailly, M., Guy, M. W., Wilkes, T. J., Guy, F. M., Guilvard, E. (1984). Ecology of leishmaniasis in the south of France. 20. Dispersal of *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 as a factor in the spread of visceral leishmaniasis in the Cevennes. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 59(6), 555–572.

Killick-Kendrick, R. (1999). The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology*, 17(3), 279–289.

Maroli, M., Feliciangeli, M. D., Bichaud, L., Charrel, R. N., & Gradoni, L. (2013). Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Medical and Veterinary Entomology*, 27(2), 123–147.

Martínez-Ortega, E., & Conesa-Gallego, E. (1987a). Caracteres morfológicos de interés taxonómico de los flebotomos (Diptera, Psychodidae) de la Península Ibérica. *Anales de Biología*, 11 (Biología Animal, 3), 43-53.

Martínez Ortega, E., & Conesa Gallego, E. (1987b). Estructura de las poblaciones de flebotomos (Dipt., Psychodidae) del sureste de la Península Ibérica. *Mediterránea Ser Biol*, 9, 87–99.

Ready, P.D. (2013). Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. *Annual Review of Entomology*, 58, 227-250.

Sawalha, S. S., Shtayeh, M. S., Khanfar, H. M., Warburg, A., & Abdeen, Z. A. (2003). Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of the Palestinian West Bank: potential vectors of leishmaniasis. *Journal of Medical Entomology*, 40(3), 321–328.

Signorini, M., Drigo, M., Marcer, F., di Regalbono, A. F., Gasparini, G., Montarsi, F., ... Cassini, R. (2013). Comparative field study to evaluate the performance of three different traps for collecting sand flies in northeastern Italy. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 38(2), 374–378.