

ARTÍCULO ORIGINAL

Flebótomos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), presentes en una zona endémica de leishmaniasis cutánea en el occidente de Boyacá, Colombia

Sandfly (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) present in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in West Boyacá, Colombia

David Camilo Martínez^{1,2}  Julián Leonardo Ávila^{2,3}  and Fredy Molano¹ 

1 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Laboratorio de Entomología, Museo de Historia Natural "Luis Gonzalo Andrade", Grupo de Investigación Sistemática Biológica-SisBio. Tunja, Colombia, 2 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad de Ciencias Básicas, Estudiante de Maestría en Ciencia Biológicas. Tunja, Colombia., 3 Gobernación de Boyacá, S
*martinezd.camilo@gmail.com

Resumen

Introducción:

Los flebótomos, son conocidos por tener especies vectoras de la enfermedad tropical Leishmaniasis, enfermedad que se presenta con carácter endémico en el occidente del departamento de Boyacá, donde el municipio de Otanche es uno de los principales focos de leishmaniasis cutánea.

Objetivo:

Identificar las especies de flebótomos presentes en una zona endémica de leishmaniasis cutánea en el occidente del Boyacá.

Métodos:

La búsqueda y recolección de los flebótomos se realizó con trampas CDC durante doce horas (18:00- 06:00), tomando como referencia viviendas con antecedentes de personas que hubieran tenido la enfermedad, ubicándolas en el intra, peri y extradomicilio. La identificación se realizó por medio de revisión del órgano genital de machos y hembras al microscopio.

Resultados:

Se colectaron 361 individuos (252 hembras y 109 machos), pertenecientes a 9 géneros y 16 especies, de las cuales, el 60% de toda la flebótomofauna recolectada está representada por *Nyssomyia yuilli* y *Nyssomyia trapidoi*. Otras especies colectadas y con importancia por antecedentes vectoriales son *Lutzomyia hartmanni*, *Psychodopygus panamensis*, *Lutzomyia gomezi* y *Psychodopygus carrerai*.

Conclusión:

Se estableció, que por sus altas abundancias y por sus antecedentes vectoriales para el país y para la zona de estudio, *Nyssomyia yuilli* y *Nyssomyia trapidoi*, constituyen las especies de flebótomos que pueden estar implicadas en la transmisión de leishmaniasis cutánea en la zona de estudio



ACCESO ABIERTO

Citación: Martínez DC, Ávila JL and Molano F. Sandfly (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) present in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in West Boyacá, Colombia. *Colomb Med (Cali)*. 2019; 50(3): 192-200. <http://dx.org/1025100/cm.v50i3.3051>

Recibido: 31 Mar 2017

Revisado: 17 Sep 2017

Aceptado: 16 Dic 2018

Palabras clave:

Diptera, Psychodidae, Phlebotominae, Lutzomyia, Vector, Leishmania, Leishmaniasis cutánea, Colombia.

Keywords:

Diptera, Psychodidae, Phlebotominae, Lutzomyia, Vector, Leishmania, Leishmaniasis cutánea, Colombia.

Copyright: © 2019. Universidad del Valle.

Conflicto de intereses:



No se presentan ningún conflicto de interés por parte de los autores.

Financiación:

Financiación: El proyecto estuvo dentro del marco del estudio de Foco: Estudio Entomológico para Vigilancia de Leishmaniasis - Municipio de Otanche Centro Poblado Betania. Secretaria Departamental de Salud-Gobernación de Boyacá

Agradecimientos:

Al laboratorio de la Secretaria de Salud de la Gobernación de Boyacá, en especial al grupo de Entomología y al grupo de Enfermedades Transmitidas por Vectores (ETV), por la colaboración en la parte logística durante las salidas de campo y la parte de laboratorio. A los técnicos de los municipios de Otanche y Pauna por su colaboración en la fase de campo. A la comunidad de la Vereda El Carmen del municipio de Otanche, por su amabilidad y disposición para los permisos de muestreos en las viviendas.

Abstract

Introducción:

Sandfly are known for having vector species for the tropical disease known as leishmaniasis, endemic to West Boyacá; the municipality of Otanche displays one of the main focus for cutaneous leishmaniasis.

Objetivo:

To identify the species of sandfly present in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in West Boyacá.

Métodos:

The search and collection of sandflies was carried out using CDC gravid traps, over a period of twelve hours (18:00- 06:00). Identification was carried out by revising the genitalia on both male and female samples under a microscope. The distribution took as reference households with a history of people infected with this disease, locating them intra, peri and extra domicile.

Resultados:

361 individuals were recollected (252 females and 109 male), belonging to 9 genres and 16 species. 60% of all recollected phlebotominae consists of *Nyssomyia yuilli* and *Nyssomyia trapidoi*. Other species recollected and relevant, due to vector precedent, are *Lutzomyia hartmanni*, *Psychodopygus panamensis*, *Lutzomyia gomezi* and *Psychodopygus carrerai*.

Conclusión:

It was established that, due to its abundance and vector precedent for the country and the area under study, *Nyssomyia yuilli* and *Nyssomyia trapidoi* constitute the species of phlebotominae which may be involved in the transmission of cutaneous Leishmaniasis in the region.

Remark

1) Por que se realizó este estudio?

De acuerdo con los antecedentes epidemiológicos proporcionados por el Sistema de Vigilancia de Salud Pública (SIVIGILA), hubo un aumento esporádico en los casos de leishmaniasis cutánea en el municipio de Otanche para 2013 y 2014. Afecta principalmente a las personas en el área rural, especialmente en los caseríos de El Carmen y Camilo. Debido a este aumento en los casos, fue necesario realizar un estudio para tomar medidas preventivas para evitar la propagación de esta enfermedad. Fue necesario un estudio entomológico de las lutzomyias para determinar los posibles vectores.

2) Cuales fueron los resultados relevantes del estudio?

Siguiendo las normas del Instituto Nacional de Salud y el Protocolo de Vigilancia de la leishmaniasis (2014), se realizó un estudio entomológico con el objetivo de identificar las especies de lutzomyias y su relación con las viviendas. Se recolectaron 361 insectos (252 hembras y 109 machos) representadas en 9 géneros y 16 especies. El 32.8% corresponden a *Nyssomyia yuilli* y el 27.5% a *Nyssomyia trapidoi*. Otras especies encontradas fueron *Lu. Hartmanni*, *Ps. Panamensis*, *Lu. Gomezi* y *Ps. Carrerai*. todas representan una abundancia por debajo del 5%.

3) Que aportan estos resultados?

La especie *N. yuilli* puede estar involucradas en el ciclo de transmisión domestica dentro del área de estudio. Mientras la especie *N. trapidoi* es sospechosa en el ciclo de transmisión silvestre. Además, el riesgo de contraer la enfermedad debido a la picadura es el mismo en cualquier parte en el pueblo, debido a la ausencia de diferencias significativas entre la abundancia y riqueza de las especies de flebotomos en las áreas intra, peri y extra domiciliarias.

Introducción

La leishmaniasis constituye un problema de salud pública debido a su morbilidad, amplia distribución geográfica y complejo ciclo de transmisión comprendiendo diferentes especies de parásitos, reservorios y vectores ¹, a esto se le suma que la transmisión de esta enfermedad se agudiza por escasos y ocasionales estudios que completen y actualicen el conocimiento sobre la bionomía de los insectos transmisores o vectores del agente etiológico, ya que cambios en variables ambientales como la temperatura y precipitación y procesos graduales de domiciliación de los flebótomos, originan cambios en el número de especies, en sus abundancias, en su distribución geográfica y en su comportamiento, convirtiéndolos en el principal factor de riesgo para la transmisión de esta enfermedad ²⁻⁵.

A nivel mundial, se presentan más de 12 millones de personas infectadas de leishmaniasis cutánea, y 350 millones están en riesgo de contraer esta enfermedad ⁶. En latinoamérica, Colombia se presenta como uno de los países endémicos con una categoría de RIESGO ALTO de transmisión, uno de los cuatro países con más casos reportados, solo superado por Brasil ⁷. Desde el año 2000, la leishmaniasis cutánea se presenta en el occidente de Boyacá con carácter epidémico ⁴, y desde el 2011, según el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública del Departamento de Boyacá (SIVIGILA), se ha presentado un aumento esporádico de casos, especialmente en el municipio de Otanche, presentándose como uno de los 25 municipios que más casos de leishmaniasis cutánea reportaron a nivel nacional en el año 2014, afectando principalmente a los habitantes del área rural ⁸.

Teniendo en cuenta lo anterior, y que los flebótomos representan un riesgo para la población humana como vectores de *Leishmania* sp. (agente etiológico de la enfermedad tropical leishmaniasis) ^{5,9,10}, y que el riesgo epidemiológico está determinado por la existencia y comportamiento de estos insectos ^{2,3,5}, el objetivo de este estudio fue identificar las especies de flebótomos presentes en un área endémica de leishmaniasis cutánea al occidente del departamento de Boyacá (Colombia).

Materiales y Métodos

Área de estudio

Por el gran número de casos positivos de leishmaniasis cutánea reportados durante los años 2013 y 2014 (Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública, Departamento de Boyacá-SIVIGILA), el muestreo se realizó en la Vereda El Carmen dentro del municipio de Otanche (altitud promedio de 1,050 m.s.n.m, y ecosistemas característicos de bosque húmedo tropical) ^{11,12}.

Técnicas de muestreo

Se siguió la metodología para levantamiento de adultos de flebótomos, propuesta por el Instituto Nacional de Salud en la Guía: Protocolo para la Vigilancia en Salud Pública de Leishmaniasis ¹³.

Durante el mes de agosto del año 2014, se seleccionaron un total de 41 viviendas que tuvieran habitantes con úlceras activas o cicatrices características de leishmaniasis cutánea, que evidenciaron haber padecido de la enfermedad recientemente y/o habitar la vivienda en la misma época de contagio. En cada una de las viviendas se instalaron tres trampas CDC por noche: en el extradomicilio (más allá de cincuenta metros de la vivienda) especialmente en las zonas boscosas; peridomicilio (parte exterior de la vivienda) en gallineros, establos o porquerizas; e intradomicilio (interior de la vivienda). Las trampas se dejaron activas durante 12 horas seguidas, desde las 18:00 horas hasta las 06:00 horas del día siguiente.

El material colectado en cada una de las trampas fue separado cuidadosamente, y los flebótomos encontrados se guardaron en viales de 10 ml de capacidad, en alcohol al 70% para su conservación y posterior identificación en el Laboratorio de Entomología de la Secretaría de Salud del Departamento de Boyacá.

Identificación taxonómica de los Flebótomos

Los individuos colectados fueron aclarados cubriéndolos con KOH (Hidróxido de potasio) al 10%, dejándolo actuar por 12 horas, pasado este tiempo se retiró el KOH y se lavó el material con alcohol al 70% (por una hora), luego se retiró el alcohol, y los ejemplares se vertieron en capsulas con solución de Fenol-alcohol absoluto (1:1) por 72 horas, para detener el proceso de transparentación, conservar el material, y agregar contraste a las estructuras internas para facilitar la identificación¹⁴.

Con el material entomológico aclarado se procedió a la determinación de las especies por medio de la revisión de genitalitas de hembras y machos, con ayuda de las claves taxonómicas de Young y Duncan¹⁵ y Galati¹⁶. Además, cada una de las especies fueron corroboradas por el programa de Control de Calidad del Instituto Nacional de Salud.

El montaje permanente se hizo en placas portaobjeto con bálsamo de Canadá al fenol¹⁴, y se incluyeron a la Colección de referencia de Flebótomos de la Unidad de Entomología de Laboratorio Departamental de Salud Pública de Boyacá.

Análisis de datos

La riqueza fue determinada por el número de individuos de cada especie colectada, y la abundancia relativa se obtuvo al dividir el número de individuos colectados de cada especie sobre el número total de individuos capturados¹⁷.

El déficit de cobertura será calculado por medio de restar el valor de cobertura de muestra a la unidad (1), análisis que representa la probabilidad que el próximo individuo encontrado pertenezca a una nueva especie no registrada previamente, además, se usaron intervalos de confianza del 95% para la interpolación y extrapolación utilizando el método Bootstrap¹⁸. Los anteriores análisis fueron hechos por medio del programa iNEXT disponible en línea¹⁹.

Se hizo un conteo de individuos colectados en cada sitio muestreado: intradomicilio, peridomicilio y extradomicilio, tomando como unidad de muestreo cada una de las viviendas seleccionadas, siendo esta la forma habitual de identificar especies antropófilas^{20,21}. Se realizó un análisis de ANOVA para determinar si existen diferencias significativas entre el número de especies en cada uno de los sitios muestreados, y las abundancias relativas en cada uno de los estos. Todos los análisis se hicieron por medio del software Statistica 12²².

Consideraciones éticas

El proyecto tuvo el aval de la secretaria de la Secretaria Departamental de Salud de Boyacá, como parte del levantamiento entomológico en un estudio de foco de leishmaniasis cutánea.

Resultados

Se recolectaron 361 flebótomos (252 hembras y 109 machos) representadas en 9 géneros y 16 especies, de los cuales el 32.8% y 27.5% corresponden a *Nyssomyia yuilli* y *Nyssomyia trapidoi* respectivamente; con una amplia diferencia les siguen *Trichopygomyia triramula*, *Psathyromyia barrettoii majuscula*, *Lutzomyia hartmanni*, *Lutzomyia* sp. de *pichinde*, *Evandromyia dubitans*, *Evandromyia walkeri*, *Evandromyia saulensis* y *Lutzomyia gomezi*. Las otras 6 especies fueron escasas, representando menos del 1% del total ([Tabla 1](#)).

En cuanto a la representatividad del muestreo, con un total de 912 horas/trampa CDC distribuidas en 15 noches, los análisis de la curva de rarefacción y extrapolación muestran que se puede esperar que el número de especies aumente (Fig. 1). Sin embargo, por medio del análisis de cobertura de muestra se estima que las especies recolectadas representan el 99% de las que se pueden encontrar, por lo que existe una probabilidad del 1% (deficit de cobertura) de encontrar una nueva especie conforme se aumenta el esfuerzo de muestreo (Fig. 2).

Se demostró que no existe diferencia significativa en cuanto a riqueza ($p=0.949$; $p>0.05$) y abundancia ($p=0.994$; $p>0.05$) de la flebótomofauna colectada entre los tres sitios de muestreo (Fig. 3).

Tabla 1. Riqueza y abundancia relativa de Flebótomos colectados en la Vereda El Carmen, Municipio de Otanche (Boyacá- Colombia)

Género	Especie	♂	♀	Total	Abundancia relativa
Nyssomyia	yuilli	83	35	118	0.327
Nyssomyia	trapidoi	78	21	99	0.274
Trichopygomyia	triramula	22	26	48	0.133
Psathyromyia	barrettoii	12	10	22	0.061
Lutzomyia	hartmanni	8	7	15	0.042
Lutzomyia	sp. de pichinde	9	4	13	0.036
Evandromyia	dubitans	13	0	13	0.036
Evandromyia	walkeri	9	3	12	0.033
Evandromyia	saulensis	7	0	7	0.019
Lutzomyia	gomezi	5	0	5	0.014
Pressatia	camposi	2	0	2	0.006
Psychodopygus	panamensis	2	0	2	0.006
Psychodopygus	carrerae	0	2	2	0.006
Pintomyia	serrana	1	0	1	0.003
Lutzomyia	strictivila	1	0	1	0.003
Brumptomyia	leopoldi		1	1	0.003
Total		252	109	361	

Discusión

La curva de rarefacción y extrapolación describe un inventario incompleto de flebótomos. La línea presenta un punto de incremento¹⁸, a pesar de esto, se presenta una aproximación a la flebótomofauna presente en la zona de estudio debido a la falta de registros, evidenciado con las especies reportadas por Santamaría *et al.*⁽⁴⁾, para el occidente del departamento de Boyacá, y que no fueron colectadas en este estudio: *Micropygomyia trinidadensis*, *Pintomyia ovallesi*, *Psathyromyia shannoni* y *Sciopemyia sordelli*. Estos cambios a través de tiempo en la comunidad de flebótomos, probablemente se debió al aprovechamiento de los cambios en los factores abióticos, como la humedad relativa, la temperatura y la precipitación. Factores que tienen una repercusión directa en la dinámica poblacional de estos insectos^{23,24}. Además, la densidad de estos vectores y la aparición o desaparición de nuevas especies, pueden estar relacionadas con los factores climáticos y también con el comportamiento de las poblaciones humanas, como actividades culturales y labores socio-económicas y también por las transformaciones de los hábitats²⁵⁻²⁹. Actividades evidentes en la zona por los cambios ocasionados en las coberturas vegetales naturales para aprovechamiento de cultivos de cacao y café, extracción de madera y construcción de viviendas^{11,12}.

Las especies relevantes por sus antecedentes vectoriales y de abundancias son *N. yuilli* y *N. trapidoi*³⁰, ya que representan el 60% de toda la flebótomofauna colectada. Otras especies con antecedentes vectoriales son *Lu. hartmanni*, *Ps. panamensis*, *Lu. gomezi* y *Ps. Carrerae*^{4,26-28,30-33}, pero representadas con abundancias inferiores al 5%.

La especie *N. yuilli* fue más abundante en el intra y peridomicilio, lo que sugiere una adaptación a los ambientes modificados por la colonización humana⁴. Ha sido hallada infectada naturalmente con flagelados no identificados en Brasil y en el municipio de Leticia (Colombia)^{9,31,32}. Para Colombia, Ferro y Morales³⁴, encontraron especies con flagelados

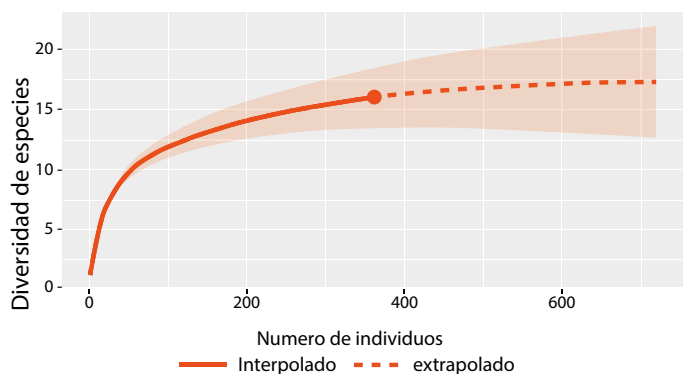


Figura 1. Curva de rarefacción y extrapolación basada en el tamaño de la muestra (línea continua) y extrapolación (línea discontinua) para las especies de Flebótomos recolectados en la Vereda El Carmen, Municipio de Otanche (Boyacá- Colombia).

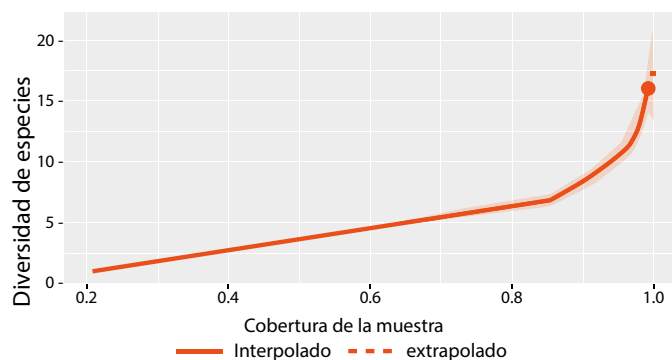


Figura 2. Curva de Cobertura de muestreo basada en rarefacción (línea continua) y extrapolación (línea discontinua) para las especies para Flebótomos recolectadas en la Vereda El Carmen, Municipio de Otanche (Boyacá- Colombia).

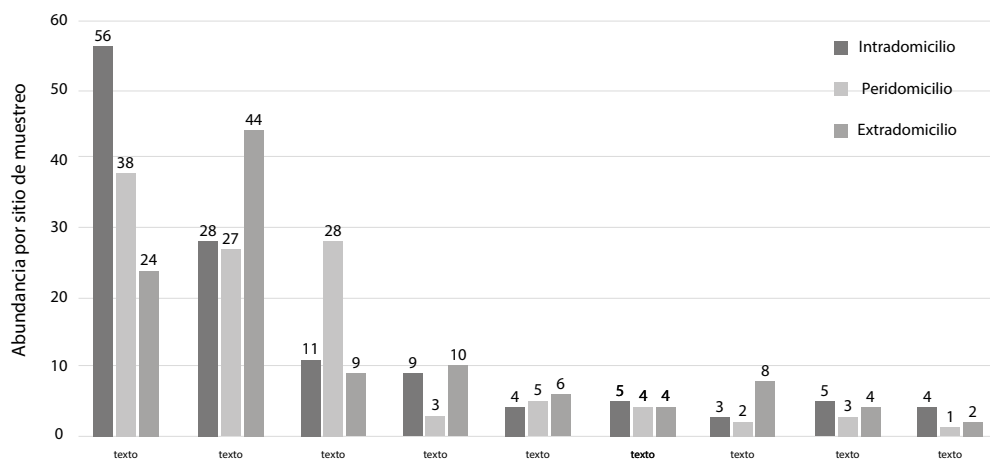


Figura 3. Abundancia de las especies presentes por sitio de muestreo: intradomicilio, peridomicilio y extradomicilio.

sin identificar. El primer reporte de incriminación vectorial positivo para *N. yuilli*, como vector de *Le. panamensis* lo presenta Santamaría *et al.* ⁴, encontrando hembras naturalmente infectadas en los municipios de Otanche y Pauna, en el occidente del departamento de Boyacá, piedemonte del Valle del Magdalena Medio.

N. trapidoi ha sido identificada como vector de *Le. panamensis* en Ecuador ^{35,36}, y en Panamá ³⁷. Para Colombia se le considera a esta especie como vector primario en diferentes localidades, reportada en 12 de los 32 departamentos, de los cuales Nariño, Tolima, Antioquia, y Santander, se le reconoce como un vector de *Le. Panamensis* ^{30,32,33,38-40}, en este último departamento también se encontró infección natural por parásitos de *Leishmania* sp. del complejo *braziliensis* ³⁹. Para Boyacá, en los municipios de Otanche y Pauna, se han encontrado hembras de *N. trapidoi*, con formas flageladas de *Leishmania* sp., sin poder llegar a tener una confirmación de especie ^{4,41}. Por sus antecedentes como vector, y por su mayor abundancia en el extradomicilio, hábitat de tipo boscoso, sugiere que esta especie puede llegar a estar implicada en el ciclo silvestre de transmisión de leishmaniasis cutánea en la zona de estudio.

Ty. triramula, especie que presenta la tercera mayor abundancia, no tiene características antropofílicas marcadas, ni una importancia medica hasta ahora reportada; el alto número de individuos colectados durante el estudio prefiriendo el peridomicilio de las viviendas, puede ser causa de su fototropismo positivo ^{42,43}. Otra especie con antecedentes vectoriales es *Lu. hartmanni*, la cual ha sido implicada como vector de *Le. (Viannia) colombiensis*, parásito reconocido como agente etiológico de leishmaniasis cutánea en Costa Rica, Panamá, Perú, Colombia y Ecuador ^{15,44-46}, para este último, también ha sido encontrada infectada con *Le. (Viannia) equatorensis* ^{36,47,48}. Las demás especies de flebótomos reportadas en este estudio, aparte de tener un interés taxonómico, no tienen importancia hasta ahora probada en el ciclo epidemiológico de la leishmaniasis.

Al no existir diferencias significativas entre ninguno de los sitios de muestreo (intra, peri y extradomicilio), en cuanto a la abundancia y número de especies de flebótomos encontradas, demuestra que la cercanía de las viviendas con las zonas boscosas propicia una situación en la cual, las personas tienen altas probabilidades de entrar en contacto con los vectores, y por ende, de poder contagiarse de leishmaniasis cutánea ⁴⁹, además de esto, se puede presentar un aumento de nuevos casos por intromisión de las personas al hábitat natural de estos insectos, evidenciado en actividades socioculturales como la extracción de plantas, agricultura, tala o el simple hecho de habitar cerca a zonas boscosas ⁵⁰⁻⁵¹, incluso, personas que no tienen actividades en, o cercanas a los bosques como infantes y adultos mayores, podrían ser infectadas o tener riesgo de enfermar ⁵².

Finalmente, con base en los datos obtenidos en el presente estudio se puede establecer que por sus altas abundancias y por sus antecedentes vectoriales para el país y para la zona de estudio, *N. yuilli* y *N. trapidoi*, constituyen las especies vectoras sospechosas de transmitir leishmaniasis cutánea en la zona de estudio, la primera pudiendo estar implicada en el ciclo de

transmisión doméstico y la segunda en el ciclo de transmisión silvestre. Además, el riesgo de poder llegar a contraer la enfermedad por la picadura de flebótomos, es el mismo en cualquier parte de la vereda: dentro de las viviendas, alrededor de ellas y en zonas boscosas.

Con el fin de poder entender mejor la epidemiología de la enfermedad en la zona, y proponer programas efectivos de prevención y control, se hacen necesarios estudios más detallados de la ecología de la población de flebótomos como preferencias alimenticias, comportamiento de picadura y reposo, incluyendo también, estudios a través del tiempo en diferentes épocas del año con mayores tiempo de muestreo, pero sobretodo, realizar análisis de infección natural para poder incriminar con mayor certeza una especie potencial de ser vectora de leishmaniasis cutánea, y poder llegar a identificar la especie de parásito causante de la enfermedad.

Referencias

1. Pan America Health Organization. Leishmaniasis: Epidemiological Report of the Americas. Report Leishmaniasis N° 1; 2013 Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=21608&Itemid=. Accessed 2018 December 7. PAHO . Leishmaniasis: Epidemiological Report of the Americas. 2013. [2018 December 7]. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=21608&Itemid= [Google Scholar]
2. Travi B, Montoya J, Gallego J, Jaramillo C, Llano R, Vélez ID. Bionomics of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) vector of visceral leishmaniasis in northern Colombia. *J Med Entomol.* 1996;33:278-85. DOI: 10.1093/jmedent/33.3.278
3. Davies CR, Reithinger R, Campbell-Lendrum D, Feliciangeli D, Borges R, Rodriguez N. The epidemiology and control of leishmaniasis in Andean countries. *Cad Saúde Pública.* 2000;16(4):925-50. DOI: 10.1590/s0102-311x2000000400013
4. 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 calle del Magdalena Medio. *Biomédica.* 2006;26(Supl 1):82-94. DOI: 10.7705/biomedica.v26i1.1503
5. Molina JA, Ortiz MI, Guhl F. Seasonality of *Lutzomyia fairtigi* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), a species endemic to Eastern Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008;103(5):477-782. DOI: 10.1590/S0074-02762008000500012
6. WHO. Leishmaniasis: Epidemiological situation; 2018. Available from: <https://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>. Accessed 2018 October 15.
7. OPS; OMS. Leishmaniasis. Informe Epidemiológico de las Américas. Informe de Leishmaniasis N° 6; 2018. Available from: http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/34858/LeishReport6_spa.pdf?sequence=5&isAllowed=y. Accessed 2018 November 15.
8. Instituto Nacional de Salud. Boletín Epidemiológico Semanal: Semana Epidemiológica Número 10 de 2014. Available from: <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiologico/2014%20Boletin%20epidemiologico%20semana%2010.pdf>. Accessed 2017 January 17.
9. Lainson RR, Shaw JJ. Infective stages of *Leishmania* in the sandfly vector and some observations on the mechanism of transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1987;82:421-41. DOI: 10.1590/s0074-02761987000300015
10. Sharma U, Singh S. Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their control. *J Vector Borne Dis.* 2008;45(4):255-72. DOI: 10.1201/9781420088489.ch8S
11. Gobernación de Boyacá. Esquema de Ordenamiento Territorial Otanche-Boyacá 2001. Otanche: Gobernación de Boyacá; 2006. 62 p.
12. Guerrero Vásquez W. Plan Municipal de Desarrollo 2012-2015 "Otanche Vamos Pa' lante". Otanche: Consejo Municipal de Otanche; 2012. 223 p.
13. Instituto Nacional de Salud. Guía: Protocolo para la Vigilancia en Salud Pública de Leishmaniasis; 2006. Available from: <http://www.ins.gov.co/temas-de-interes/Leishmaniasis%20viceral/01%20protocolo%20Leishmaniasis.pdf>. Accessed 2016 July 27.
14. Fuenzalida D. Técnica de clarificación y montaje para determinación de flebótomos. en: actas segunda reunión Red de Investigación de las Leishmaniasis en Argentina. Puerto Iguazú: Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMeT); 2011:p. 34-37.

15. Young DG, Duncan MA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Gainesville: Memories of the American Entomological Institute; 1994.
16. Galati EAB. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): Classificacao, Morfologia, Terminologia e Identificacao de Adultos. Sao Paulo: Departamento de Epidemiologia. Faculdade de Saude Pública. Universidade de Sao Paulo; 2013.
17. Magurran A. Measuring biological diversity. Australia: Blackwell Science Ltd; 2004.
18. Chao A, Jost L. Coverage-based rarefaction and extrapolation: standardizing samples by completeness rather than size. *Ecology*. 2012; 93(12):2533-2547. doi: 10.1890/11-1952.1
19. iNEXT (iNterpolation and EXTrapolation) Online. Sample Completeness Curve; 2016. Available from: <https://chao.shinyapps.io/iNEXTOnline/>. Accessed 2019 June 4.i
20. Ogusuku E, Paz L, Monje J, Perez JE, Nieto E, Guerra H. El hombre como fuente de sangre para *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae) andinos. Nota científica. *Rev Peruana Entomol*. 1999; 34(1): 56.
21. Organización Mundial de la Salud. Control de las leishmaniasis. Ginebra: OMS Serie de Informes Técnicos 949; 2010.
22. Statsoft. Statistica (data analysis software system and computer program manual). Versión 12. StatSoft Inc. Tulsa, Ok, USA. 2014.
23. Bejarano EE, Sierra D, Vélez ID. Novedades en la distribución geográfica del grupo verrucarum (Diptera: Psychodidae) en Colombia. *Biomédica*. 2003;23:341-50. DOI: 10.7705/biomedica.v23i3.1228
24. Vergara D, Carrillo LM, Vélez ID, Bejarano EE. Primer informe de *Lutzomyia yuilli* Young & Porter, 1972 y *Lutzomyia triramula* (Fairchild & Hertig 1952) (Diptera: Psychodidae) en el departamento de Caldas, Colombia. *Biota Neotropica*. 2008;8(1):251-53. DOI: 10.1590/S1676-06032008000300022.
25. Perruolo GJ. Ecología de los flebótomos (Diptera, Psychodidae) y su influencia sobre la leishmaniasis tegumentaria en zonas endémicas del estado Táchira, Venezuela. *Kasmera*. 1984;12(1-4):74-95.
26. Alexander JB, Agudelo LA, Navarro F, Ruiz F, Molina J, Aguilera G, et al. Phlebotomine sandflies and leishmaniasis risks in Colombian coffee plantations under two systems of cultivation. *Med Vet Entomol*. 2001;15(4):364-73. DOI: 10.1046/j.0269-283x.2001.00322.x
27. Azevedo AC, Souza NA, Meneses CR, Costa WA, Costa SM, Lima JB, Rangel EF. Ecology of sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the north of the state of Mato Grosso, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(4):459-64. DOI: 10.1590/s0074-02762002000400002
28. Barata RA, França da Silva JC, Mayrink W, Costa da Silva J, Prata A, Lorosa ES, et al. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005; 38(5): 421-25. DOI: 10.1590/S0037-86822005000500012
29. Contreras G. *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae) en zonas cafeteras de la región andina colombiana: taxonomía e importancia médica. Medellín: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias; 2013.
30. Travi BL, Montoya J, Solarte Y, Lozano L, Jaramillo C. Leishmaniasis in Colombia. I. Studies on the phlebotomine fauna associated with endemic foci in the Pacific Coast region. *Am J Trop Med Hyg*. 1988; 39(3): 261-266.
31. Arias JR, Miles MA, Naiff RD, Povoá MM, de Freitas RA, Biancardi CB, et al. Flagellate infections of Brazilian sand flies (Diptera: Psychodidae): isolation in vitro and biochemical identification of *Endotrypanum* and *Leishmania*. *Am J Trop Med Hyg*. 1985;34(6):1098-1108. DOI: 10.4269/ajtmh.1985.34.1098
32. Vélez ID, Ospina S, Henao G, Lepape P, Correa M, Wolff M, et al. Epidemiología de la leishmaniasis en San Roque, Antioquia. *Boletín Epidemiológico de Antioquia*. 1987; 12: 354-59.
33. Young DG, Morales A, Kreutzer RD, Alexander JB, Corredor A, Tesh RB. Isolation of *Leishmania braziliensis* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) from cryopreserved Colombian sand flies (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol*. 1987; 24: 587-89. DOI: 10.1093/jmedent/24.5.587
34. Ferro C, Morales A. Flebótomos de Colombia: estudios realizados por el Laboratorio de Entomología 1966-1997. En: Toro G, Hernández CA, Raad J (eds). Instituto Nacional de Salud 1917-1997: una historia, un compromiso. Santa Fé de Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 1998. p. 219-33.
35. Hashiguchi Y, Gomez EA, De Coronel VV, Mimori T, Kawabata M. Biting activity of two antropophilic species of sandflies, *Lutzomyia*, in an endemic area of leishmaniasis in Ecuador. *Ann Trop Med Parasitol*. 1985; 79: 533-38. DOI: 10.1080/00034983.1985.11811959

36. Le Ponti F, Leon R, Guerrini F, Gantier JC, Mouchet J, Echeverría R, et al. Leishmaniasis in Ecuador. 3. *Lutzomyia trapidoi*, vector of *Leishmania panamensis*. *Ann Soc Belg Med Trop*. 1994;74(1):23-28.
37. Christensen HA, Fairchild GB, Herre A, Johnson CM, Young DG, De Vasquez AM. The Ecology of cutaneous leishmaniasis in the Republic of Panama. *J Med Entomol*. 1983;20:463-84. DOI: 10.1093/jmedent/20.5.463
38. Morales A, Corredor A, Cáceres E, Ibagos AL, Rodríguez CI. Aislamiento de tres cepas de *Leishmania* a partir de *Lutzomyia trapidoi* en Colombia. *Biomédica*. 1981;4:37-41. DOI: 10.7705/biomedica.v1i4.1802
39. Loyola EG, Álzate A, Sánchez A, González A. Epidemiology of a natural focus of *Leishmania braziliensis* in the Pacific lowlands of Colombia. III Natural infections in wild mammals. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*. 1988; 82(3): 406-07. DOI: 10.1016/0035-9203(88)90136-8
40. Duque P, Vélez ID, Morales M, Sierra D. Sand flies fauna involved in the transmission of cutaneous leishmaniasis in Afro-Colombian and American communities of Chocó, Pacific coast of Colombia. *Neotrop Entomol*. 2004;33(2):255-64. DOI: 10.1590/S1519-566X2004000200018
41. Molina JA. Determinación de la fauna flebotomínea en el noroccidente de Boyacá. Implicación de *Lutzomyia trapidoi* como especie vectora en el foco de leishmaniasis de la Zambera. Bogotá: Universidad de los Andes; 1995.
42. Chanotis BN, Correa MA. Comparative flying and biting of Panamanian phlebotomine sand flies in mature forest and adjacent open space. *J Med Entomol*. 1974;11:115-16. DOI: 10.1093/jmedent/11.1.115
43. Rutledge LC, Ellenwood DA, Johnston L. An analysis of sandfly light trap collection in the Panama Canal Zone (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol*. 1975;12(2):179-83. DOI: 10.1093/jmedent/12.2.179
44. Kreutzer RD, Corredor A, Grimaldi G. Jr, Grogg M, Rowton ED, Young DG, et al. Characterization of *Leishmania colombiensis* sp. n (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), a new parasite infecting humans, animals, and phlebotomine sand flies in Colombia and Panama. *Am J Trop Med Hyg*. 1991;44(6):662-75. DOI: 10.4269/ajtmh.1991.44.662
45. Agudelo L, Uribe J, Sierra D, Ruiz F, Vélez D. Presence of American cutaneous Leishmaniasis vectors surrounding the city of Medellín, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;95:641-42. DOI: 10.1590/S0074-02762002000500008
46. Pérez A, Bejarano E. tRNAs^{er} (UCN) Mitocondrial de *Lutzomyia hartmanni* predicción de la estructura secundaria del tRNAs^{er} (UCN) mitocondrial del flebotomíneo *Lutzomyia hartmanni* (Diptera: Psychodidae). *Acta Biolo Colomb*. 2011;16:87-94. DOI: 10.15446/abc
47. Corredor A, Kreutzer RD, Tesh RB, Boshell J, Palau MT, Cáceres E, et al. Distribution and etiology of leishmaniasis in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 1990;34:440-46. DOI: 10.4269/ajtmh.1990.42.206
48. Masato F, Motonari S, Yoko A, Tatsuyuki M, Gomez E, Hashiguchi Y. Natural infection of *Lutzomyia hartmanni* with *Leishmania (Viannia) equatorensis* in Ecuador. *Parasitol Int*. 1998;47: 21-26. DOI: 10.1016/S1383-5769(98)00009-9
49. Andrade SL. Leishmaniose tegumentar americana em área de ocupação recente na periferia da Cidade de Manaus, Estado do Amazonas, Brasil. Rio de Janeiro: Departamento de Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz; 1997.
50. Talhari S, Arias JR, Cunha MGS, Naiff RD, Naiff MF, Alves De Freitas R, et al. Leishmaniose no Estado do Amazonas - aspectos epidemiológicos clínicos e terapêuticos. *An Bras Dermatol*. 1988;63:433-38.
51. Guerra JAO, Barros MLB, Guerra MVF, Talhari S, Paes MG. Leishmaniose tegumentar no Município de Manaus - aspectos epidemiológicos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998;31:172. DOI: 10.1590/S0102-311X2007000900029
52. Oliveira JA, Santana JA, Aguiar LI, Vale MG, Gomez M. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar na comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2006;22(11):2319-27. DOI: 10.1590/S0102-311X2006001100006