

**UNIVERSIDAD DE PANAMA
VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POSTGRADO**

MAESTRIA EN ENTOMOLOGIA MEDICA

**ESPECIES DE LUTZOMYIA PRESENTES EN EL AMBIENTE INTRADOMICILIAR
Y PERIDOMICILIAR EN UN FOCO ENDEMICO DE LEISHMANIASIS CUTANEA
EN PANAMA**

POR

PAULINA FAJARDO ORTIZ

PANAMA, REPUBLICA DE PANAMA

1991

PA.

SEP 11 1991

O.S.S. del Autor

247185

**ESPECIES DE LUTZOMYIA PRESENTES EN EL AMBIENTE INTRADOMICILIAR
Y PERIDOMICILIAR EN UN FOCO ENDEMICO DE LEISHMANIASIS CUTANEA
EN PANAMA**

TESIS

**Sometida para optar el titulo de Maestro en Ciencias con
especializacion en Entomologia Médica.**

**VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POSTGRADO
DIRECCION DE POSTGRADO**

**Permiso para su publicación y reproducción total
o parcial, debe ser obtenido en la Vicerrectoría
de Investigación y Postgrado.**

UNIVERSIDAD DE PANAMA
SEP 11 1991

Aprobado:

<u><i>[Signature]</i></u>	ASESOR
<u><i>[Signature]</i></u>	COMITE
<u><i>[Signature]</i></u>	COMITE

INDICE GENERAL

SEP 11 1991

	Página
RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCION	3
REVISION DE LA LITERATURA	
1. Agentes etiológicos de leishmaniasis cutanea en Panamá.	6
2. Vectores de leishmaniasis cutánea en Panamá	7
3. Ecología de los adultos de <i>Lutzomyia</i> en Panamá	10
4. Detección de infección con <i>Leishmania</i> en el vector	13
5. Epidemiología de la leishmaniasis cutanea en Panamá	15
MATERIALES Y METODOS	
1. Area de estudio	18
2. Colectas con trampa de luz	20
3. Colectas con cebo animal	21
4. Identificación de <i>Lutzomyia</i>	22
5. Colectas con cebo humano	23
6. Colectas en sitios de reposo	24
7. Variación estacional	25
8. Búsqueda de promastigotes de <i>Leishmania</i> por disección	25
9. Detección de promastigotes de <i>Leishmania</i> por inmunofluorescencia indirecta	25
10. Preparación de muestras de <i>Lutzomyia</i> para detección de <i>Leishmania</i> por hibridización de kADN	26

11. Información meteorológica	27
12. Procesamiento de datos	27
RESULTADOS Y DISCUSION	
1. Resultados generales	28
2. Especies de Phlebotominae presentes	29
3. Especies de Phlebotominae presentes por ambiente	30
4. Espectro de captura de los métodos de muestreo.	
a) Trampa CDC	32
b) Trampa Disney	33
c) Capturas con cebo humano	35
5. Variación estacional	38
a) <i>Lutzomyia trapidoi</i>	38
b) <i>Lutzomyia gomezi</i>	40
c) <i>Lutzomyia sanguinaria</i>	40
6. Actividad horaria de picadura	42
7. Búsqueda de sitios de reposo	44
8. Búsqueda de infección con <i>Leishmania</i>	49
9. Otros microorganismos presentes en <i>Lutzomyia</i>	56
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	60
LITERATURA CITADA	61
APENDICE	

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro I - Total de Phlebotominae capturados por ambiente y tipo de muestreo	28
Cuadro II - Especies de Phlebotominae presentes	30
Cuadro III - Especies de Phlebotominae por ambiente	31
Cuadro IV - Especies de Phlebotominae por tipo de muestreo y proporción de sexos.	34
Cuadro V - Especies de Phlebotominae por tipo de muestreo en cada ambiente	35
Cuadro VI - Actividad horaria de <i>Lutzomyia</i> en capturas con cebo humano.	44
Cuadro VII - Especies de <i>Lutzomyia</i> en reposo por ambiente y por sexo	45
Cuadro VIII- Búsqueda de infección con promastigotes de <i>Leishmania</i>	51

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ubicación geográfica del Corregimiento de Chiguirí Arriba	19
Figura 2. Ubicación del sitio específico de muestreo	20
Figura 3. Trampa CDC en el peridomicilio	21
Figura 4. Trampa Disney en el peridomicilio.	22
Figura 5. Capturas con cebo humano en el bosque	23
Figura 6. Fluctuación de la pluviosidad acumulada en 45 días.	39
Figura 7. Fluctuación poblacional de tres especies de <i>Lutzomyia</i> antropofilicas	41
Figura 8. Sitio de reposo en el hueco de un árbol en el peridomicilio	46
Figura 9. Sitio de reposo en un hueco entre dos piedras en el peridomicilio.	47
Figura 10. Sitio de reposo en un árbol caído y en el tronco de un árbol de laurel en el peridomicilio.	48
Figura 11. Promastigotes en disección de <i>Lutzomyia trapidoi</i>	50
Figura 12. Promastigotes en disección de <i>Lutzomyia trapidoi</i>	50
Figura 13. Hongos en ovarios de <i>Lutzomyia</i>	56
Figura 14. Gregarinas en ovarios de <i>Lutzomyia cruciata</i>	57
Figura 15. Bacterias en intestino posterior de <i>Lutzomyia cruciata</i> .	57

AGRADECIMIENTOS

Al dar por concluido mi trabajo de tesis, quiero dejar constancia de mis mas sinceros agradecimientos a las personas y entidades que hicieron posible su realización:

Dra. Paulina de Carreira, por su permanente apoyo, su invaluable colaboración y ante todo, por su amistad.

Dr. Octavio Sousa, por su valioso tiempo y decidido apoyo.

Dr. Cheslavo Korytkowski, por su infinita paciencia y sus múltiples enseñanzas

Dr. Michael Nelson, por sus acertados comentarios y correcciones al texto del trabajo.

Sr. Roberto Rojas, un agradecimiento muy especial por su colaboración a través del trabajo de campo y de laboratorio y por enseñarme de las *Lutzomyias* lo que no está escrito en los libros.

Dra. Cecilia Quiroz, señores Cecilio Gil y Florentino Florez, del Servicio de Salud de Penonome por su valiosa ayuda en la realización del trabajo de campo.

Señor Homobomo Martinez, en cuya vivienda se realizó el estudio

y a la comunidad de Chiguirí Arriba, por su amable acogida y la colaboración que me brindaron durante el trabajo de campo.

INSTITUCIONES

Organización Panamericana de la Salud por haber financiado mis estudios.

Universidad Surcolombiana por concederme el permiso necesario para tomar el programa de Maestría.

A todos ellos, muchas gracias.

DEDICATORIA

A MARIA ESPERANZA mi hija, por dos años de ausencia.

A LAURA mi madre, por toda una vida de amor y dedicación

**ESPECIES DE LUTZOMYIA PRESENTES EN EL AMBIENTE INTRADOMICILIO
Y PERIDOMICILIO EN UN FOCO ENDEMICO DE LEISHMANIASIS CUTANEA
EN PANAMA**

RESUMEN

En el Corregimiento de Chiguiri Arriba, un área rural de Panamá, donde existe un foco de leishmaniasis cutánea y en los últimos años los casos se han registrado en la población infantil, que no visita las áreas de bosque, se planteó la necesidad de identificar las especies de *Lutzomyia* presentes en Chiguiri Arriba; las especies presentes en el ambiente intradomiciliario y peridomiciliario y en el área de bosque cercana; la fluctuación poblacional de las especies antropofílicas; detectar la infección con promastigotes de *Leishmania* en las especies antropofílicas e identificar posibles sitios de reposo para *Lutzomyia* en los tres ambientes. Para ello, de Septiembre de 1990 a Mayo de 1991 se hicieron colectas con trampa CDC, trampa Disney y capturas con cebo humano. Se colectó un total de 5852 ejemplares, de Dieciocho especies de Phlebotominae, que incluyen 16 especies de *Lutzomyia*, una especie de *Brumptomyia* y una especie de *Warileya*. Tres especies antropofílicas constituyen el 95% de las capturas: *Lu. trapidoi* (57.9%), *Lu. sanguinaria* (20%) y *Lu. gomezi* (16.9%). En el bosque se hizo el 66.7% de las capturas en 16 especies, 30% en el peridomicilio en 11 especies y 2% en el intradomicilio en 12 especies. La trampa CDC tiene un mejor espectro de atracción y dió información sobre las especies presentes, la trampa Disney y las capturas con cebo humano dieron igual número de especies, pero el número de capturas con cebo humano fue tres veces mayor. Los promedios del contacto hombre-vector-hora fueron de 0.7, 9.8 y 18.0 ejemplares en el intradomicilio, en el peridomicilio y en el bosque respectivamente. *Lu. trapidoi* fué la especie dominante en la segunda mitad del período lluvioso, en el período seco se dieron aumentos alternados de las poblaciones de las tres especies así: *Lu. trapidoi* en la primera parte, *Lu. gomezi*, en la mitad y *Lu. sanguinaria* al final del período. *Lu. trapidoi* fué la única especie activa en el crepúsculo matutino. Se identificaron sitios de reposo diurno en el peridomicilio y en el bosque. *Lu. trapidoi* y *Lu. gomezi* presentaron una tasa de infección con *Leishmania* de 0.1% cada una y todos los ejemplares infectados fueron capturados en el período seco cuando la densidad de población fué mayor.

SPECIES OF LUTZOMYIA PRESENT IN THE INTRADOMICILIARY AND PERIDOMICILIARY ENVIRONMENTS IN AN ENDEMIC FOCUS OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS IN PANAMA

SUMMARY

In the community of Chiguiri Arriba, a rural area of Panama where there is a focus of cutaneous leishmaniasis with the cases in recent years occurring in the infant population that does not visit the forest areas, the present study was done to identify the species of *Lutzomyia* present in Chiguiri Arriba; the species present in the intradomiciliary and peridomiciliary environments and in the nearby forest; the population fluctuations of the anthropophilic species; the presence of infection with promastigotes of *Leishmania* in the anthropophilic species and the presence of resting sites of *Lutzomyia* in the three environments. From September 1990 until May 1991 collections were made with CDC traps, Disney traps with hamster bait, and human bait. A total of 5852 specimens of eighteen species of Phlebotominae were collected, including 16 species of *Lutzomyia*, one species of *Brumptomyia* and once species of *Warileya*. Three anthropophilic species constituted 95% of the collections: *Lu. trapidoi* (57.9%), *Lu. sanguinaria* (20%) and *Lu. gomezi* (16.9%). In the forest 66.7% of the sand flies were collected, comprising 16 species; in the peridomicile 30% in 11 species and in the intradomicile 2% in 12 species. The CDC trap had a better spectrum of attraction and gave more information about the number of species present. The Disney trap and human bait collections collected the same number of species, but the number of specimens captured with human bait was three times greater. The mean number of flies per man per hour were 0.7, 9.8 and 18.0 in the intradomicile, peridomicile and the forest respectively. *Lu. trapidoi* was the dominant species in the second half of the rainy season. In the dry season there were alternate increases of the populations of the three species: *Lu. trapidoi* in the first part, *Lu. gomezi* in the middle and *Lu. sanguinaria* at the end. *Lu. trapidoi* was the only species active in the early morning. Daytime resting sites were identified in the peridomicile and in the forest. *Lu. trapidoi* and *Lu. gomezi* each had an infection rate with *Leishmania* of 0.1%, and all the infected specimens were captured in the dry season when the population density was greatest.

INTRODUCCION

Las leishmaniasis cutánea incluye un complejo de enfermedades que se caracterizan por producir lesiones ulcerativas en la piel y mucosas conocidas como úlcera oriental en el viejo mundo, uta, espundia y úlcera de los chicleros en el nuevo mundo, picada de bejuco en Panamá.

La enfermedad en el nuevo mundo se presenta en focos muy dispersos en una zona que se extiende desde el sur de los Estados Unidos hasta la Argentina. Aunque la enfermedad se reconoce como un serio problema de salud pública, los registros de su incidencia y prevalencia son escasos y la verdadera extensión del problema es difícil de evaluar por cuanto la afectada es una población rural que habita áreas remotas donde la atención médica es escasa y las comunicaciones pobres. Además, en muchos países la leishmaniasis sólo en los últimos años es una enfermedad de notificación obligatoria.

Según el comité de expertos de la World Health Organization (1990), 350 millones de personas en el mundo están expuestas a adquirir la infección y aproximadamente 12 millones están enfermas. Es probable que el aumento en el número de casos que se ha presentado en los últimos años sea en parte consecuencia de un mejor registro y una mayor cobertura médica, pero es también el resultado de la apertura de nuevas vías de comunicación en las áreas selváticas, de la migración de susceptibles hacia áreas endémicas y de la destrucción de grandes áreas de bosque para el desarrollo agrícola.

Se denominan antropozoonosis aquellas infecciones contraídas accidentalmente por el hombre cuando ingresa a una biocenosis o asociación parasitaria natural. La leishmaniasis cutánea se comporta como una antropozoonosis y cada foco de la enfermedad debe considerarse como un ecosistema donde, por un lado juegan papel importante los factores físicos y climáticos y por otro lado el hombre que altera los ritmos sucesionales

del bosque y rompe la madurez del ecosistema, desbordando sus límites para crear subsistemas que siguen distintas tendencias evolutivas.

Una de las mayores dificultades en el estudio de la ecología de la leishmaniasis es que varios insectos vectores, mamíferos reservorios y especies del parásito pueden ser encontrados en un área pequeña. Los animales reservorios están con frecuencia infectados con una mezcla de flagelados que, pueden o no ser patógenos, e igual cosa sucede con los vectores que se alimentan en ellos.

En la República de Panamá la enfermedad es endémica y está ampliamente distribuida. Según el Ministerio de Salud en 1990 ocurrieron 564 casos, la mayoría de los cuales provenían de las Provincias de Bocas del Toro, Coclé, Colón, Chiriquí y Panamá.

Los estudios sobre la ecología de la leishmaniasis cutánea realizados por el Laboratorio Conmemorativo Gorgas, en las últimas cuatro décadas han suministrado abundante información sobre la fauna de los vectores, los reservorios selváticos, los parásitos y la epidemiología de la enfermedad.

La presión humana sobre las áreas de bosque que se dan en toda Latinoamérica ha llevado a que la enfermedad tenga un patrón epidemiológico cambiante en el que es cada vez más frecuente observar la ruralización y aún la urbanización de la enfermedad en áreas de transición en donde unas pocas especies vectoras se adaptan y sobreviven realizando la transmisión en un grupo de la población en el que la enfermedad no se presentaba sino en muy raras ocasiones, como es la población infantil.

Con la motivación de incrementar los conocimientos sobre la ecología de los vectores de la leishmaniasis cutánea en estos nuevos subsistemas o micro ambientes, creados por el hombre en las áreas de transición bosque-zonas de cultivo, se planteó el estudio sobre las especies de *Lutzomyia* presentes

en el intra y peridomicilio en el Corregimiento de Chiguirí Arriba,

un área rural típica de Panamá en donde existe hace cerca de 40 años un foco endémico de leishmaniasis cutánea y en donde la enfermedad afecta especialmente a niños menores de un año, a pesar de que no visitan las áreas de bosque y cuyo contacto con el vector se sospecha que puede estar dándose en la vivienda humana.

Los objetivos de la presente investigación fueron

PRINCIPALES

1. Identificar las especies de *Lutzomyia* presentes en el Corregimiento de Chiguirí Arriba.
2. Determinar las especies de *Lutzomyia* presentes en el ambiente de bosque, en el intradomicilio y en el peridomicilio.
3. Determinar la fluctuación de la población de las especies antropofílicas de *Lutzomyia* presentes en el área.
4. Identificar la presencia de infección con *Leishmania* en las especies de *Lutzomyia* antropofílicas.

COMPLEMENTARIOS

1. Identificar el espectro de captura de las especies de *Lutzomyia* colectadas con trampa de luz CDC, trampa Disney y con cebo humano en los tres ambientes.
2. Determinar la actividad horaria del contacto hombre-vector de las especies de *Lutzomyia* antropofílicas.
3. Identificar posibles sitios de reposo para *Lutzomyia* en los tres ambientes.

REVISION DE LA LITERATURA

En el nuevo mundo, la leishmaniasis cutánea es una zoonosis causada por varias especies y subespecies del género *Leishmania* Ross 1903 (Protozoa: Trypanosomatidae). Las leishmanias son organismos unicelulares, parásitos obligados de macrófagos de vertebrados, transmitidos de un huésped a otro por varias especies de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae). Parasitan gran variedad de huéspedes todos mamíferos vertebrados: caninos, roedores, marsupiales, edentados y Primates, incluyendo al hombre, que dentro de la cadena de transmisión es solo un huésped accidental.

La leishmaniasis cutánea en el hombre es una enfermedad ulcerativa de curso crónico cuyas características clínicas tienden a diferir entre y dentro de las regiones geográficas, reflejando las diferentes especies del parásito, el tipo de ciclo enzootico relacionado, la competencia inmunológica del huésped y aún su estado nutricional (Grimaldi et al., 1989).

En la República de Panamá la enfermedad es endémica y está ampliamente distribuida. En 1990 ocurrieron 564 casos, la mayoría de los cuales provenían de las Provincias de Bocas del Toro, Coclé, Colón, Chiriquí y Panamá (Ministerio de Salud, 1991).

1. Agentes etiológicos de leishmaniasis cutánea en Panamá

Leishmania braziliensis panamensis Lainson y Shaw 1974 (= *Leishmania (Viannia) panamensis* Lainson y Shaw 1979) es el principal agente causal de leishmaniasis cutánea en humanos en Panamá, al igual que en Costa Rica, Nicaragua, Honduras y las regiones de la costa Pacífica de Colombia y Ecuador (Grimaldi et al., 1989).

En 1965 se reportó una nueva especie *Leishmania hertigi hertigi* Herrzer 1971, aislada de la piel de un puerco espín *Coendou rothschildi*, parece que este animal es su huésped específico, ya que nunca fué aislada de otras especies de

animales. En 1968 se aisló *Leishmania mexicana aristedesi* Lainson y Shaw 1979, de una rata arrocera *Oryzomys capito* en Sardi, territorio de San Blas, estas dos especies de *Leishmania*, hasta el momento, no han sido aisladas de humanos (Christensen, et al., 1972), (Herrer et al., 1973).

Un caso de leishmaniasis cutánea causada por *Leishmania mexicana amazonensis* Lainson y Shaw 1979, en un paciente proveniente de Darien fue publicado recientemente (Petersen et al., 1988).

2. Vectores de leishmaniasis cutánea en Panamá

La subfamilia Phlebotominae incluye alrededor de 600 especies distribuidas en todas las zonas geográficas del mundo (Molyneux y Ashford, 1983); de éstas solo cerca de 70 han probado ser vectoras de la enfermedad (Organización Mundial de la Salud, OMS, 1984). En el nuevo mundo todas las especies vectoras de Leishmaniasis pertenecen al género *Lutzomyia*.

En Panamá se han descrito 78 especies de Phlebotominae, cinco del género *Brumptomyia*, tres del género *Warileya* y 70 del género *Lutzomyia* (Young, 1979). Aunque 22 especies de *Lutzomyia* han sido identificadas en capturas con cebo humano, solamente 4 especies: *Lutzomyia trapidoi*, *Lu. gomezi*, *Lu. ylephiletor* y *Lu. panamensis*, son consideradas antropofílicas y han sido incriminadas como vectoras de *Le. b. panamensis* (Christensen et al., 1983).

Lutzomyia trapidoi pertenece al subgénero *Nyssomyia* y fué descrita por Fairchild y Hertig en 1952. Presenta una amplia distribución geográfica; además de Panamá ha sido informada en Costa Rica, Nicaragua y Honduras (Zeledon, 1985), en los focos de leishmaniasis de El Bajo Calima y Tumaco en Colombia (Loyola et al., 1988), (Travi et al., 1988) y en la costa Pacífica de Ecuador (Hashiguchi et al., 1985).

Le. b. panamensis ha sido aislada de *Lu. trapidoi* en Panamá (Christensen et al., 1983), en Costa Rica (Zeledon et al., 1985), en Colombia (Corredor et al., 1998), (Travi et

al., 1988), y en Ecuador (Hashiguchi, et al., 1988). Esta especie tiene actividad nocturna especialmente en la copa de los árboles y se alimenta de un amplio rango de hospederos, incluyendo animales reservorios de *Le. b. panamensis* como el perezoso de dos uñas *Choloepus hoffmanni*. Durante el día desciende a nivel del suelo y reposa en el tronco de los árboles, bajo los arbustos y en la hojarasca del suelo (Chaniotis et al., 1974), (Christensen y Herrer, 1980b).

Lutzomyia gomezi pertenece al subgénero *Lutzomyia*, fue descrita por Nitzulescu en 1931. Su distribución geográfica incluye Panama, Costa Rica, Honduras, Nicaragua, El Salvador, Colombia, Ecuador, Venezuela y el sur de Brasil (Young, 1979). Fue encontrada infectada en Panamá con *Le. b. panamensis* (Johnson et al., 1962) y en Colombia (Travi et al., 1988). Fue infectada experimentalmente con *Le. mexicana* por Christensen y Herrer, (1980a) y una cepa colombiana de esta especie fué utilizada por Walters et al., (1989) para estudiar la biología ultraestructural y la asociación huésped parásito con *Le. b. panamensis*

Lutzomyia panamensis fué descrita por Shannon en 1926, pertenece al subgénero *Psychodopygus*. Su distribución incluye Mexico, America Central, Colombia, Ecuador, Perú, Brasil, Venezuela (Young, 1979). En Panamá ha sido la especie mas frecuentemente colectada durante 30 años de investigaciones entomológicas del Laboratorio Conmemorativo Gorgas (LCG.) (Christensen, et al., 1983). Tiene preferencia por reposar en el piso del bosque y es igualmente abundante tanto en el periodo seco como en el periodo lluvioso. Aunque es considerada antropofílica, se alimenta en varios huéspedes prefiriendo roedores (Chaniotis, et al., 1972). (Christensen y Herrer, 1980b).

En Panamá, Christensen y Herrer, (1980a) encontraron un ejemplar infectado con *Le. b. panamensis* en 1300 disecciones de esta especie.

Lutzomyia ylephiletor (= *Lutzomyia ylephiletrix*) fue descrita por Fairchild y Hertig en 1952, pertenece al subgénero *Nyssomyia*. Se encuentra ampliamente distribuida en Mexico, Guatemala, Belize, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá y Colombia (Young, 1979). Se ha encontrado reposando en el follaje de los árboles y junto con *Lu. trapidoi* mostró marcada preferencia por alimentarse en los perezosos. (Christensen, et al., 1983). Un ejemplar fué encontrado infectado con *Le. b. panamensis* en 1128 disecciones de esta especie (Christensen y Herrer, 1980a). En Guatemala Porter et al., (1987) encontraron dos ejemplares infectados con *Leishmania mexicana mexicana* en 814 disecciones.

Los vectores de *Leishmania mexicana* pertenecen al complejo *Flaviscutellata* del subgénero *Nyssomyia*. *Lu. flaviscutellata* es el vector de *Le. m. amazonensis* en la cuenca Amazonica del Brasil y *Lu. olmeca olmeca* es el vector de *Le. m. mexicana* en el sur de Mexico y América Central. Ninguna de estas dos especies ha sido informadas en Panamá.

Lu. olmeca bicolor, descrita por Fairchild y Theodor de Panamá en 1971, es la única especie del complejo *Flaviscutellata* encontrada en el país; se ha colectado en las provincias de Chiriqui, Colón, Darién en San Blas y en el este del país. También ha sido informada en Costa Rica, Colombia y Ecuador. Se sospecha que esta especie está incriminada en la transmisión de *Le. m. amazonensis* al hombre en Panamá, pero esto no ha sido demostrado.

Con base en evidencias epidemiológicas, *Lu. olmeca bicolor* fue implicada como el vector de *Le. m. aristedesi*. El vector de *Le. hertigi hertigi* aún se desconoce, aunque se sospecha que pueden serlo *Lu. shannoni*, *Lu. abonnenci* y *Lu. ylephiletor* que se alimentan con frecuencia en el puerco espín, el único reservorio conocido hasta el momento (Christensen et al., 1983).

3. Ecología de los adultos de *Lutzomyia* en Panamá

Las *Lutzomyia* de Panamá son las mejor estudiadas en el hemisferio Occidental gracias al cuidadoso y extenso trabajo de taxonomía, ecología y capacidad vectorial realizado durante 40 años por el grupo de investigadores del Laboratorio Conmemorativo Gorgas. Tales trabajos permiten entender mejor la historia natural de la enfermedad.

Las fluctuaciones anuales de pluviosidad y temperatura afectan a las poblaciones de flebotomos y a las poblaciones de los vertebrados reservorios. Chaniotis, Neely et al., (1971), estudiaron la dinámica de población de los flebotomos en la estación de El Limbo. El bosque maduro fue un habitat mas productivo de especímenes que el bosque secundario, pero en ambos las *Lutzomyia* fueron perennes con marcadas fluctuaciones estacionales relacionadas con la cantidad y distribución de los patrones de precipitación.

La desecación o la inundación del piso del bosque causada por la falta o exceso de precipitación se correlacionó con una disminución en la densidad de adultos. Las especies antropofílicas, las cuales tienen sus criaderos en el colchón de hojas secas producido por los árboles deciduosos en la época seca, parecen ser las mas afectadas por esta falta o exceso de humedad (Johnson y Hertig, 1961). El pico de actividad fue obtenido en la primera semana de Agosto con un segundo pico durante la primera mitad de Enero.

El promedio de temperatura y humedad relativa varió poco a través del año en la estación de El limbo y su rango permaneció dentro de los límites de tolerancia conocidos para unas pocas especies de *Lutzomyia* (Chaniotis y Anderson, 1968).

Los sitios de reposo de los adultos incluyen el tronco de los grandes árboles, arbustos, huecos en los árboles, cuevas de animales y la hojarasca en el piso del bosque. Una específica asociación con los sitios de reposo diurno en el bosque tropical fue establecida por Chaniotis et al., (1972) para un buen número de especies de *Lutzomyia* en Panamá.

La copa de los árboles fue el habitat de *Lu. rorotaensis* y *Lu. micropyga*. Las especies antropofilicas, en la estación lluviosa reposan en las partes bajas del tronco de los árboles, protegiéndose de la lluvia, en tanto que en la estación seca seleccionan sitios alrededor de los troncos cerca al suelo y entre las hojas secas.

Las *Lutzomyia* son dípteros primitivos de vuelo débil lo que les da un limitado rango de dispersión. Según Christensen y Herrer (1980b), sus cortos vuelos sobre el piso del bosque y los troncos de los árboles incrementan su capacidad de encontrar huéspedes.

Estudios de los movimientos horizontales y verticales de las *Lutzomyia* en un bosque de Panamá, realizados por Chaniotis et al., (1974) y los estudios de dispersión de Alexander, (1987) en una plantación de café en Colombia demuestran la tendencia de estos dípteros a permanecer localizados moviéndose a un radio de 57 m. y con un desplazamiento máximo de 200 m.

Aunque algunas especies de *Lutzomyia* presentan autogenia (Johnson y Hertig, 1961), en la mayoría de las especies, las hembras son hematófagas y necesitan tomar de una a dos alimentaciones sanguíneas para completar el ciclo ovariano.

Los estudios de la atracción de los vectores a un huésped determinado como fuente de alimentación permiten establecer el grado de asociación de algunas especies con un reservorio conocido o probable. Thatcher y Hertig, (1966), usando diferentes animales de los grupos Marsupialia, Chiroptera, Primates, Edentata, Rodentia, Carnivora, Aves, Reptilia y Anfibia establecieron la asociación entre algunas especies de *Lutzomyia* y sus huéspedes. *Lu. vespertilionis* mostró una marcada preferencia por murciélagos en tanto que *Lu. panamensis*, *Lu. olmeca bicolor* y *Lu. sanguinaria* fueron mas atraídas por roedores. *Lu. olmeca bicolor*, un medianamente antropofilico vector de *Le. mexicana* fue dominante en las colecciones con roedores centinelas en Panama (Christensen y

Herrer, 1973). Escobar, (1989) confirmó la atracción de *Lu. olmeca bicolor* y *Lu. panamensis* por los roedores en un bosque de Gamboa y señaló que la actividad rodentofílica es mayor para ambas especies entre las 18 - 20 horas, siendo la primera más activa a 0.15 m y la segunda a 0.5 m.

El contacto entre el hombre y los vectores ha sido señalado como el primer criterio para implicar a una especie de *Lutzomyia* como vector de *Leishmaniasis*. Se ha observado que las hembras de *Lutzomyia* no detectan al hombre a distancias mayores de 10 m. (OMS, 1984), es importante entonces establecer el sitio donde ocurre el contacto hombre-vector.

En la estación de El Limbo, Chaniotis et al., (1971) establecieron la variación diaria y estacional del contacto hombre-vector para siete especies antropofílicas durante un año. El contacto fue marcadamente crepuscular y nocturno, estableciéndose que *Lu. olmeca bicolor* y *Lu. panamensis* estaban activas a nivel del suelo, mientras que *Lu. trapidoi*, *Lu. gomezi*, *Lu. sanguinaria* y *Lu. ylephiletor* lo estaban en la copa de los árboles.

La mayoría de las especies de flebotomos panameños parecen ser exofílicos y solo raras veces han sido colectados en la habitación humana; las pocas especies que entran en las casas responden a la atracción de la luz o a la búsqueda de huéspedes, más que a la búsqueda de sitios de reposo (Christensen, et al., 1983).

Las trampas de luz del tipo CDC han sido usadas con éxito en diferentes estudios observándose que atraen un gran número de especímenes dando una adecuada información de la composición de especies de una población de flebotomos en un área estudiada. Colocando este tipo de trampas a diferentes alturas, Chaniotis, Neely et al., (1971), establecieron que a menos de un metro del suelo el número de especímenes obtenido es tres veces más, que a mayor altura.

Las trampas de aceite Disney con cebo animal han sido efectivas y ampliamente usadas en la captura de *Lutzomyia*.

Christensen y Herrer (1980b), observaron que las especies atraídas eran capaces de detectar al huésped a una distancia hasta de 1.5 m. del suelo.

4. Detección de infección con *Leishmania* en el vector

La probable historia evolutiva de las *Leishmania*, de un parásito de insectos a uno de mamíferos implica que los mosquitos infectados son los huéspedes primarios, aunque por conveniencia se han denominado vectores.

El ciclo de vida de todas las especies de *Leishmania* de mamíferos termina con la migración del parásito a la proboscis del vector y la transmisión ocurre cuando las formas infectivas del parásito son inoculadas en la piel durante la alimentación. En la mayoría de las especies de *Leishmania*, este ciclo se completa dentro de un solo ciclo ovariano del vector y los parásitos por lo tanto son transmitidos en la primera alimentación sanguínea, después de la alimentación infectiva.

Los parásitos del grupo *braziliensis* (*sensu* Lainson y Shaw, 1979) únicamente colonizan el piloro y el íleon del vector, antes de extenderse a la válvula esofageal, faringe y partes bucales. En el esófago, faringe y cibarium todas las especies de *Leishmania* aparecen como pequeños flagelados redondeados y sésiles (paramastigotes), los cuales no son vistos fácilmente en preparaciones frescas; presencia de infección en estos sitios es fuerte evidencia de que un espécimen capturado en el campo es un vector (Killick-Kendrick, 1978).

Walters et al., (1989) realizaron la primera infección experimental de *Le. b. panamensis* en un huésped natural, *Lu. gomezi*. Ocho distintas formas morfológicas fueron observadas en el ciclo de vida del parásito en el insecto. Paramastigotes y promastigotes colonizaron el esófago y faringe y se unieron al intestino anterior por hemidesmosomas flagelares. Ambas

formas representan estadios infectivos del parásito, pero no fueron detectadas en el cibarium y la proboscis.

La presencia de promastigotes de *Leishmania* en el intestino del vector no necesariamente significa que es capaz de transmitir el parásito. El ciclo de vida del parásito en un vector no adecuado puede ser detenido por varias razones: El parásito puede fallar en la multiplicación inicial que se realiza en la alimentación sanguínea; los parásitos pueden ser digeridos al pasar por el intestino; a pesar de desarrollarse bien en el intestino, los parásitos no pasan a la válvula esofageal o los que llegan no avanzan hasta las piezas bucales. Al examinar especímenes capturados en el campo, valiosa información se pierde si las cabezas de los ejemplares no son disectadas y examinadas (OMS, 1984).

En el pasado, muchas publicaciones sugiriendo la habilidad vectorial de numerosas especies de *Lutzomyia* se basaron en evidencias no convincentes. Flagelados diferentes de *Leishmania* son comúnmente encontrados en estos insectos. *Trypanosoma* y *Crithidia* son generalmente distinguibles morfológicamente de promastigotes de *Leishmania*, pero *Endotrypanum* nó (Williams y Coelho, 1978).

Las tasas de infección de *Lutzomyia* con *Leishmania* son generalmente bajas y el tiempo que toma evaluar la tasa de infección puede ser reducido realizando el estudio al final de la estación lluviosa (Killick-Kendrick y Ward, 1981) o separando las nuliparas, las cuales no han tomado una alimentación sanguínea y no pueden estar infectadas.

Williams y Coelho, (1978) sugieren que la tasa de infección debe ser expresada en términos de hembras pàridas únicamente. Sin embargo, para detectar hembras pàridas es necesario hacer disección de ovarios para establecer el número de ciclos gonotròficos realizados, esto es difícil y requiere larga práctica. Un método rápido para reconocer a las hembras pàridas es el uso de la presencia de residuos de sangre en las glàndulas accesorias, pero se sabe que este método tiene valor

limitado (Killick-Kendrick, 1978). Una complicación adicional es la autogenia que ocurre en algunas especies, esto significa que algunas hembras pàridas no se han alimentado con sangre.

En la práctica no hay un método realmente rápido de estimar la edad y el estado de paridad de las *Lutzomyia*. La disección de ovarios es difícil, lenta y de poco valor cuando se examinan gran número de capturas de campo (Ready et al., 1984).

5. Epidemiología de la leishmaniasis cutanea en Panama

Segun Herrer y Christensen (1976a) el curso de la infección con *Leishmania* en Panamá varía considerablemente. Los patrones epidemiológicos de transmisión están influenciados por factores tales como el número, composición y costumbres de la gente, el uso de las áreas boscosas, las especies de reservorios, vectores y parásitos.

Típicamente la enfermedad aparece cuando un grupo de personas susceptibles entra al bosque, inicia un nuevo asentamiento, e invade un foco enzootico. Pequeñas epidemias pueden presentarse en personas de cualquier edad y sexo; la enfermedad persiste endémicamente por algún tiempo, eventualmente, desaparece cuando el bosque es aclarado, se da un cambio en las condiciones medio ambientales y los reservorios silvestres emigran.

Una variante de este patrón se presenta cuando el foco enzootico persiste en el bosque circundante pero no en el asentamiento mismo. Los casos se presentan entonces esporádicamente entre hombres adultos y perros que periódicamente entran en las áreas de bosque (Herrer et al., 1976).

Un tercer patrón epidemiológico se presenta cuando parte del bosque es preservado cerca del asentamiento y en él persisten los reservorios silvestres y una abundante población de vectores. La enfermedad permanece por muchos años en el

área y se presenta en la población infantil puesto que los adultos adquieren inmunidad a las reinfecciones (Herrer y Christensen, 1976b). Estos patrones de transmisión se han descrito en Panamá pero también se observan en Costa Rica y probablemente en Honduras y Nicaragua (Zeledon, 1985).

En los focos donde la transmisión al hombre parece ser peridoméstica, es importante determinar si el vector es, o no endófilo y si después de alimentarse permanece reposando en la vivienda, porque esto haría posible su control mediante el rociado intradomiciliario. Actividad de reposo intradomiciliar de *Lu. gomezi* y *Lu. panamensis* fué observada por Aguilar et al., (1984) en un foco de *Le. b. panamensis* en un área rural del Estado de Cojedes en Venezuela. En Costa Rica y en el foco de Tumaco en Colombia, donde *Le. b. panamensis* ha sido aislada de *Lu. trapidoi*, adultos de ésta y de otras especies se han encontrado alrededor de las casas sugiriendo la posibilidad de una transmisión domiciliar (Zeledon, 1985), (Travi et al., 1988).

Dentro de la epidemiología de la enfermedad no es claro hasta el momento el proceso selectivo que puede estar ocurriendo en las poblaciones de Phlebotominae por la continua alteración en las áreas de bosque devastadas debido a las actividades de naturaleza agrícola y al establecimiento de nuevos asentamientos humanos. Gomez y Bianchi (1987) sugieren que en Brasil, donde iguales procesos de alteración de los bosques se están presentando, el ciclo enzootico podría continuar dándose en las manchas de bosque secundario, por la selección de las especies de vectores más aptas para ocupar nichos ecológicos vacíos o creados por la actividad humana, lo que se reflejaría en una persistencia endémica, cada vez mayor, de la enfermedad.

En Panamá, el Corregimiento de Chiguirí Arriba en la Provincia de Coclé, donde existe un foco endémico de leishmaniasis cutánea, es un área rural típica de las montañas bajas de la costa Pacífica en los países de Centro América,

Colombia y Ecuador, en donde, después de la explotación maderera, la transición de un bosque secundario a un ambiente agrícola está modificando paulatinamente el microhabitat de las poblaciones de vectores de leishmaniasis y se hace necesario determinar la forma como esas alteraciones se reflejan en los patrones de transmisión de la enfermedad.

MATERIALES Y METODOS

1. Area de estudio

El corregimiento de Chiguirí Arriba (08° 40'N, 80° 11'W) pertenece a la Provincia de Coclé distante 45 K de la ciudad de Penonomé (Fig. 1). Se encuentra a 180 msnm., presenta una precipitación anual promedio en 19 años (1967 a 1986) de 340.4 cm., la temperatura promedio es de 25.4°C y la humedad relativa promedio de 84% (Inst. Geog. Nal. Tommy Guardia, 1988).

De acuerdo con la clasificación de zonas de vida de Holdridge, la región se define como un Bosque Muy Húmedo Premontano (BMHPM), con un relieve de montañas medias y bajas y una vegetación que incluye áreas de cultivos, pastizales y parches de bosque secundario altamente intervenido. El área está irrigada por el Río Chiguirí, al cual desembocan varios afluentes.

El clima es marcadamente estacional, con una estación seca (verano) que comienza a mediados de Diciembre y finaliza en Abril o Mayo. Las lluvias durante la estación seca fluctúan entre 57 y 140 mm., cuando el suelo arcilloso se agrieta, la mayoría de los árboles pierden sus hojas y se observa la presencia de fuertes corrientes de aire que se inician en horas de la tarde y se acentúan durante la noche.

El núcleo poblado está constituido por alrededor de 70 viviendas construidas a lo largo o cerca de la carretera que da acceso a Penonomé y por algunas casas dispersas en el área montañosa circundante. Los parches de bosque secundario se hallan en los márgenes de las corrientes de agua, en ellos no existen árboles de gran tamaño y se observan numerosos caminos que los moradores y aún niños en edad escolar recorren libremente.

Aunque algunas viviendas están construidas con bloques de cemento y techos de zinc, predominan las paredes de barro y caña blanca y los techos de palma. Los habitantes, 700 aproximadamente, se dedican a la explotación de sus pequeñas

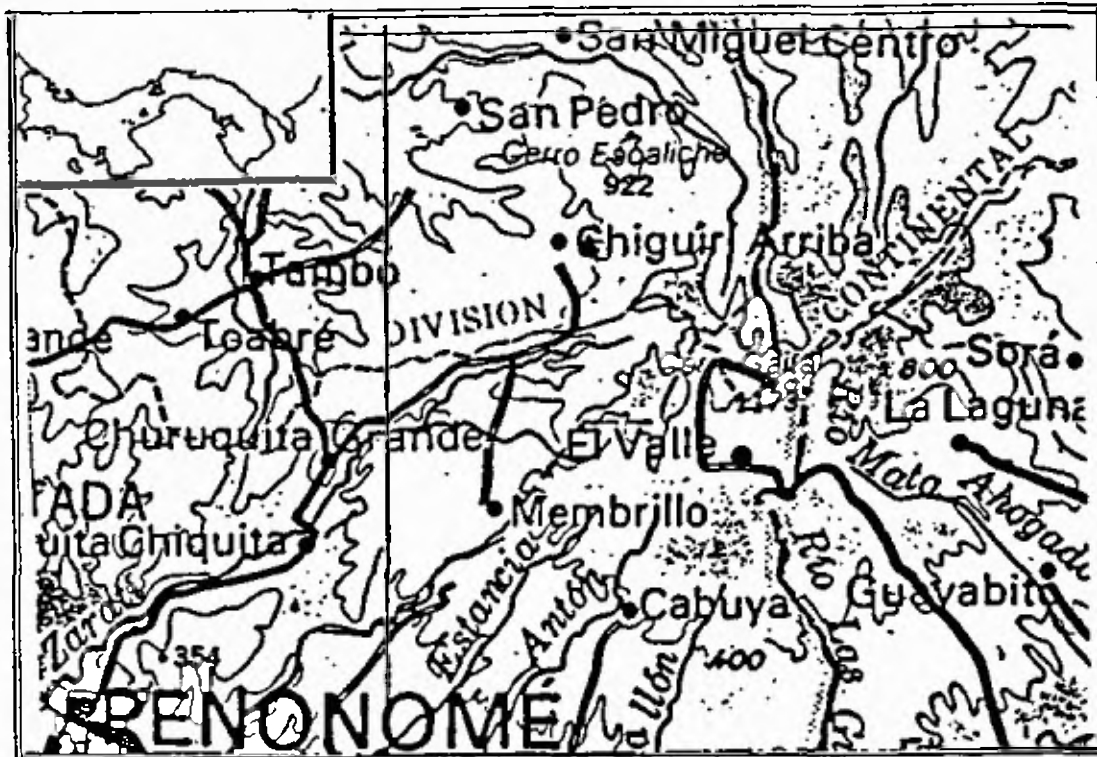


Fig. 1. Ubicación geográfica del corregimiento de Chiquirí Arriba

parcelas observándose cultivos con cosechas secuenciales de naranja, café, arroz y banano

Se seleccionó como área específica de muestreo una vivienda situada a 60 m. del bosque secundario (Fig. 2), en donde a principios de 1990 se presentó en caso de leishmaniasis cutánea en un niño de 18 mses. En el peridomicilio de dicha vivienda, existen cultivos de naranja, plátano, yuca, maíz, otoo, caña y coco enano entre otros; la cobertura del bosque cercano se usa como sombra para pequeños cultivos de café. La vivienda es una construcción de bloques de cemento y zinc con tres habitaciones sin puertas, una sala sin paredes y la cocina de caña blanca y techo de palma separada unos 5 m. de la casa principal



Fig. 2. Ubicación del área específica de muestreo

En el área específica de muestreo se definieron tres ambientes así:

El Intradomicilio: Una habitación con paredes y techo.

El Peridomicilio: Un radio de 50 m. alrededor de la vivienda.

El bosque: Area de bosque secundario a 60 m. o más de la vivienda

3. Colectas con trampa de luz

En cada ambiente se instaló una trampa de luz, CDC miniatura con una batería recargable de 12 voltios como fuente de energía. Las trampas se colgaron a 0.80 m. del suelo (Fig. 3) y funcionaban desde las 18:00 a las 06:30 horas del día siguiente. El material colectado se sometió a enfriamiento en hielo seco (-20°C), se pasó a frascos plásticos y se transportó al laboratorio de entomología donde se procedió a extraer los ejemplares de Phlebotominae capturados con la ayuda de un estereoscopio (10-100x)



Fig. 3. Ubicación de la trampa de luz CDC en el peridomicilio

3. Colectas con cebo animal

Se hicieron con Trampa Disney acondicionadas y modificadas por Escobar (1989), usando como cebo un cobayo y aceite de ricino para retener los flebotomos (Fig. 4). Las trampas se instalaron a 0.35 m. del suelo para tratar de no cortar la vegetación debajo de ellas. En total se instalaron seis trampas así:

Una en el intradomicilio

Dos en el peridomicilio a 15 y 30 m. de la vivienda.

Tres en el bosque a 60, 65 y 70 m. de la vivienda.

Las trampas se instalaban a las 18:00 horas y se recogían a las 06:30 horas del día siguiente. El material se retiró de las bandejas con pincel, se colocó sobre papel filtro para absorber el aceite, cada tira de papel se conservó en un frasco plástico y así era transportada al laboratorio.



Fig. 4. Ubicación de la trampa Disney en el peridomicilio

4. Identificación de *Lutzomyia*

Todo el material colectado en las trampas CDC y Disney se

colocó en fenol saturado para aclaración y limpieza y se hicieron preparados permanentes con bálsamo de Canada. Para la identificación se utilizaron las claves de Chaniotis (1974) y Young (1979). La identificación se hizo en el laboratorio de Entomología de la Universidad de Panamá y los ejemplares procesados se guardaron en la colección de insectos del Programa de Entomología de la Universidad de Panamá.

5. Colectas con cebo humano

Esta colecta fué realizada simultaneamente por tres personas, una en el intradomicilio, otra en el peridomicilio a 15 m. de la vivienda y la tercera en el bosque a 60 m. de la vivienda. Dos de los colectores eran personas que presentaron cuadros de leishmaniasis cutanea en años anteriores y que se hallan clinicamente curados. Cada colector descubria sus piernas hasta la rodilla y capturaba con un aspirador bucal todo ejemplar que se posaba intentando picar (Fig. 5). Los ejemplares capturados eran colocados en frascos de vidrio de 50 ml. con sus paredes internas recubiertas con yeso para brindar oscuridad y una superficie porosa donde el mosquito pudiese posarse sin ser maltratado. Las colectas se realizaron en dos horarios así:

En la mañana de 05:30 a 06:30 horas

En la noche de 18:00 a 20:00 y de 20:00 a 22:00 horas

Al final de cada colecta el material fué sometido a enfriamiento en hielo seco (-20°C) durante 10 minutos, rápidamente se pasaba a viales de 5 ml. y se transportaba en hielo seco al Centro de Investigación y diagnóstico de enfermedades parasitarias (CIDEP) de la Facultad de Medicina, donde se conservaron en un congelador Revco (-70°C).

6. Colectas en sitios de reposo

Durante las capturas con cebo humano se buscaron ejemplares reposando en sitios cercanos (troncos y follaje de los árboles, vegetación arbustiva, etc.). Durante el día se



Fig. 5. Capturas con cebo humano en el bosque

buscaron ejemplares en sitios posibles de reposo como troncos caídos, tallos de árboles, piedras y arbustos. Durante el período seco se realizó búsqueda en arbustos pequeños y en la hojarasca que se acumula en el suelo por el cambio de hojas de los árboles deciduosos. Se utilizó para ello la trampa descrita por Chaniotis et al., (1972), la cual consiste en una jaula triangular de madera de 0.50 m. por cada lado, forrada con tela muy fina que permite ver los ejemplares. La parte inferior que es abierta, se coloca suavemente sobre el piso del bosque, por una abertura lateral se sacude con una varilla

la hojarasca o la vegetación cubierta por la jaula; se observa y captura con aspirador los flebotomos que han quedado encerrados y se pegan a la malla.

Se consideró como sitio de reposo, cualquier superficie en la que se encontrara un ejemplar posado, independientemente de la actividad que estuviera realizando.

7. Variación Estacional

En agosto de 1990 se realizaron dos muestreos de reconocimiento del área y selección de los sitios de colecta. De Septiembre 8 de 1990 a Mayo 4 de 1991 se realizaron 13 visitas al área, aproximadamente cada 15 días. En cada visita se hicieron colectas durante dos noches consecutivas y el amanecer del tercer día. De esta manera se hicieron 14 muestreos en el período de lluvias y 16 en el período seco

8. Búsqueda de Promastigotes de *Leishmania* por disección

Se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina. Se utilizó el material conservado en viales a -70°C y que provenía de ejemplares colectados vivos con cebo humano y en reposo. Cada vial se sacó individualmente y se conservó en un vaso con hielo (-4°C) durante el tiempo de disección. El material fué identificado con la clave rápida de Chaniotis (1974).

Para la disección cada ejemplar se colocó en una gota de solución salina isotónica y bajo el estereoscopio (10-100X) con pinzas de disección se separó la cabeza y los dos últimos segmentos abdominales obteniéndose el tracto digestivo completo de cada ejemplar. La cabeza se utilizó para pruebas de inmunofluorescencia.

Al tracto digestivo ya separado se le colocó un cubreobjeto y se observó bajo el microscopio (250x) en busca de flagelados en fresco. Cada muestra en la que se observaba la presencia de organismos que por su forma y motilidad hacían

presumir que se trataba de flagelados, fué fijada con metanol y coloreada con giemsa para hacer una segunda búsqueda de formas del parásito.

9. Detección de Promastigotes de *Leishmania* por inmunofluorescencia (IFA) directa.

La técnica utilizada es una adaptación del método descrito por Williams et al. (1986). Las cabezas de *Lutzomyia* obtenidas por disección fueron levemente maceradas y dispensadas en hoyos de placas de Inmunofluorescencia, las cuales se dejaron secar a temperatura ambiente.

Para la inmunofluorescencia se utilizó un suero policlonal obtenido de un caso clínico confirmado de leishmaniasis del área de Chiquiri Arriba. Este suero posee un título de IFA de 1:1024. A cada hoyo de IFA se añadió 20 microlitros de suero diluido 1:50. La muestra se incubó por 60 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente. Las láminas fueron lavadas dos veces, 5 minutos por lavado con PBS a 4°C.

Como conjugado se utilizó IgG, IgM e IgA anti-humano obtenido en conejo, el cual contenía acoplado isotiocianato de fluoresceína como marcador; este antisuero se obtuvo comercialmente de la DAKO. A cada hoyo se añadieron 20 microlitros del conjugado diluido 1:100 en Evans Blue y se incubó por 60 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente. Las láminas fueron lavadas dos veces, 5 minutos por lavado con PBS a 4°C y se montaron en glicerol tamponado para microscopia. Como criterio de positividad se utilizó la presencia de organismos definidos por un patrón de fluorescencia de membrana y de flagelo.

10. Preparación de muestras de *Lutzomyia* para detección de *Leishmania* por hibridización de kADN

Para esta prueba se utilizaron ejemplares de las capturas con cebo humano en el intra y peridomicilio que fueron conservados en congelador Revco a -70°C. Las muestras fueron

preparados de acuerdo al método descrito por Rogers et al., (1988).

Después de ser identificados los ejemplares fueron disectados para obtener el tracto digestivo. Cada muestra se colocó en una cámara de filtración de Bio-Dot la cual contenía una membrana de nitrocelulosa; se dispensó en la cámara 50 microlitros de una solución de 50 mM tris, pH 8.0; 25 mM EDTA, 0.1%; Triton X-100 y 1 mg/ml pronasa E. Se incubaron por dos horas a 37°C y posteriormente se sometieron a vacío para retener y fijar las muestras a la membrana de nitrocelulosa. Las membranas se dejaron secar a temperatura ambiente y posteriormente se guardaron en presencia de agentes desecantes para análisis posterior.

11. Información meteorológica

En Chiquirí Arriba existe un Pluviómetro instalado por el Instituto de Recursos Hidráulicos y Electrificación (IRHE) con el cual se tomó la precipitación correspondiente al período de estudio. Se entrenó al funcionario del IRHE en el manejo de un termómetro de máxima y mínima y de un Hygrómetro Taylor que consta de un termómetro seco y otro húmedo y permite, mediante una tabla, calcular la Humedad Relativa. De Octubre de 1990 a Junio de 1991 se hicieron dos medidas diarias, a las 06:00 y 18:00 horas, de temperatura máxima, Temperatura mínima, Termómetro seco y termómetro húmedo. Los registros se consignaron en el formulario 1. (Anexo 1).

12. Procesamiento de Datos

Los datos obtenidos con los diferentes métodos de muestreo fueron consignados en el formulario 2. (Anexo 1) y la información fué procesada en un computador ACER IBM PC compatible, para el análisis de datos se utilizó el programa Lotus 1-2-3 Ver. 2.01.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Resultados generales

Para el cumplimiento de los objetivos propuestos se hicieron 32 capturas nocturnas con trampas CDC y Disney. Con cebo humano se hicieron 30 capturas nocturnas con tres colectores trabajando 4 horas por noche para un total de 360 horas/hombre de captura nocturna y 29 capturas de 05:30 a 06:30 con dos cebos, uno en el peridomicilio y otro en el bosque, para un total de 58 horas/hombre de captura en el crepúsculo matutino. Así se obtuvo la tasa de picadura hora/hombre.

En total se capturaron 5852 ejemplares cuya distribución según el ambiente y el tipo de muestreo se observa en el Cuadro I. Adicionalmente se colectaron 221 ejemplares en reposo en los tres ambientes.

De las 78 especies de Phlebotominae registradas para Panamá, en Chiguirí Arriba se encontraron 16 del género *Lutzomyia*, una del género *Brumptomyia* y una del género *Warileya*.

Se hicieron 4614 disecciones de ejemplares de seis especies antropofílicas, encontrándose 3 ejemplares positivos para *Leishmania* por inmunofluorescencia y coloración con giemsa.

Cuadro I. TOTAL DE PHLEBOTOMINAE CAPTURADOS POR AMBIENTE Y TIPO DE MUESTREO

SITIO	TRAMPA CDC	TRAMPA DISNEY	CEBO HUMANO	TOTAL	%
Intradomiclio	66	6	83	155	2.6
Peridomicilio	219	114	1463	1796	30.7
Bosque	108	1099	2694	3901	66.7
TOTAL	393	1219	4240	5852	100
	6.7	20.8	72.5	100	

2. Especies de Phlebotominae presentes

En Chiguirí Arriba están presentes las cuatro especies de *Lutzomyia* señaladas como vectores de *Le. b. panamensis* en Panamá: *Lutzomyia trapidoi*, *Lu. gomezi*, *Lu. panamensis* y *Lu. ylephiletor* (Cuadro II.).

Lutzomyia trapidoi fue la especie mas abundante (57.9%) y junto con *Lu. gomezi* y *Lu. sanguinaria* hacen cerca del 95% del total de los ejemplares capturados con los tres métodos de muestreo en los tres ambientes. *Lu. sanguinaria*, un especie de reconocida antropofilia, y que ha sido infectada experimentalmente en Panamá con *Le. b. panamensis*, y con cepas de humanos y de animales de *Le. mexicana* (Johnson y Hertig, 1961), (Christensen y Herrero, 1980a), fué la segunda especie mas abundante en el área.

Es notable la baja proporción en que se encuentran *Lu. panamensis* y *Lu. ylephiletor*. La primera fué la especie mas abundante en 30 años de capturas con trampa de luz realizadas por los investigadores del Laboratorio Conmemorativo Gorgas y mas recientemente Escobar, (1989) encontró que esta especie constituyó el 48% de las capturas con trampa disney en Gamboa y fue activa todo el año con dos picos muy definidos en Julio y Agosto.

Lu. ylephiletor , aunque menos abundante que *Lu. panamensis* ha presentado en estudios anteriores marcada actividad antropofílica en el follaje de los árboles en el bosque. La baja densidad de población de estas dos especies podría ser debida a la diferencia de habitat, del ambiente de bosque en que se han realizado los estudios anteriores al bosque alternado con cultivos que se observa en Chiguirí Arriba.

En el Cuadro II. se observa además, que especies zoófilas como *Lu. carpenteri*, *Lu. vespertilionis* y *Lu. dysponeta* se hallan circulando lo que indica la presencia, también en el área, de los animales silvestres que les sirven como

reservorios. Probablemente la baja proporción en que se capturaron está reflejando el grado de alteración del bosque ya que se utilizaron métodos de captura con los que se obtuvieron en gran número en estudios anteriores en Panamá.

Cuadro II. ESPECIES DE PHLEBOTOMINAE PRESENTES

ESPECIES	CANTIDAD	%
<i>Lutzomyia trapidoi</i>	3389	57.9
<i>Lutzomyia sanguinaria</i>	1170	20.0
<i>Lutzomyia gomezi</i>	986	16.9
<i>Lutzomyia cruciata</i>	148	2.5
<i>Lutzomyia panamensis</i>	31	0.5
<i>Lutzomyia ylephiletor</i>	22	0.4
<i>Lutzomyia triramula</i>	24	0.3
<i>Lutzomyia aclydifera</i>	20	0.3
<i>Lutzomyia carpenteri</i>	20	0.3
<i>Lutzomyia vespertilionis</i>	5	0.1
<i>Lutzomyia vesicifera</i>	2	< 0.1
<i>Lutzomyia camposi</i>	2	< 0.1
<i>Lutzomyia geniculata</i>	1	< 0.1
<i>Lutzomyia runoides</i>	1	< 0.1
<i>Lutzomyia trinidadensis</i>	1	< 0.1
<i>Lutzomyia nordestina</i>	1	< 0.1
<i>Brumptomyia hammata</i>	2	< 0.1
<i>Warileya rotundipennis</i>	27	0.5
TOTAL	5852	100

3. Especies de Phlebotominae presentes por ambiente

La distribución de las especies según el ambiente se muestra en el Cuadro III.

Con la excepción de *Lu. panamensis*, todas las especies antropofílicas se encontraron en los tres ambientes. Además de las especies antropofílicas, también fueron comunes para los tres ambientes: *Lu. cruciata*, *Lu. carpenteri*, *Lu. triramula* y *Lu. aclydifera*.

El bosque fué el ambiente donde se capturó el mayor número de ejemplares en 16 de las 18 especies presentes, constituyendo el habitat de los vectores. El peridomicilio representa un área de transición entre el bosque y la vivienda

humana. En este ecotono formado por árboles frutales de poca altura (3 m. aproximadamente) y de cultivos caseros se encontraron un poco menos del 50% de las capturas del bosque y un total de 11 especies las cuales podrían estar dispersándose a partir del bosque o estar tratando de colonizar los nichos vacíos de este nuevo ambiente, buscando en ellos el microhabitat para establecer sus sitios de cría y reposo.

Cuadro III. ESPECIES DE PHLEBOTOMINAE POR AMBIENTE

ESPECIE	INTRA	PERI	BOSQUE
<i>Lu. trapidoi</i>	40	890	2459
<i>Lu. sanguinaria</i>	47	383	740
<i>Lu. gomezi</i>	34	423	529
<i>Lu. cruciata</i>	12	48	88
<i>Lu. panamensis</i>	0	9	22
<i>Lu. ylephiletor</i>	1	8	13
<i>Lu. aclydifera</i>	3	11	6
<i>Lu. carpenteri</i>	10	8	2
<i>Lu. vespertilionis</i>	1	0	4
<i>Lu. vesicifera</i>	1	0	1
<i>Lu. triramula</i>	4	10	10
<i>Lu. camposi</i>	0	2	0
<i>Lu. geniculata</i>	0	0	1
<i>Lu. runoides</i>	1	0	0
<i>Lu. trinidadensis</i>	0	0	1
<i>Lu. nordestina</i>	0	0	1
<i>Br. hammata</i>	1	0	1
<i>Wa. rotundipennis</i>	0	4	23
TOTAL	155	1796	3901

Lu. panamensis fue la única especie antropofílica que no se colectó en el intradomicilio en donde se encontraron 155 ejemplares en 12 especies, los cuales se acercan a la vivienda atraídos por la luz de la trampa o en busca de una fuente de alimentación.

Dentro de la epidemiología de la leishmaniasis cutánea es muy importante determinar el sitio de contacto del hombre con el vector. En esta área, si bien 66.7% de la población de vectores ejerce su actividad hematofágica en el bosque, en horas nocturnas, cuando el hombre normalmente no se expone a este ambiente, 33% en su mayoría especies antropofílicas, se hallaron dentro de la vivienda o entre 15 y 30 m., distancias que se encuentran dentro del rango de vuelo de estos vectores.

La presencia de ejemplares de *Lutzomyia* alrededor o dentro de la vivienda humana está siendo sospechada o demostrada ya en otras áreas endémicas de centro y sur América. La actividad intradomiciliar fué sugerida por Travi et al., (1988) para *Lu. trapidoi* y *Lu. gomezi* en el foco de Tumaco en Colombia. La actividad a "corta distancia de la vivienda humana", fué demostrada por Hashiguchi et al., (1985) para estas mismas y otras especies locales en la costa Pacífica de Ecuador. En los Estados de Aragua y Cojedes en Venezuela, Ramirez et al., (1981) y Aguilar et al., (1984) respectivamente, detectaron hematofagia intradomiciliar en *Lu. gomezi* y en *Lu. panamensis*, la única especie antropofílica que no estuvo presente en el intradomicilio en el foco de Chiguirí Arriba.

4. Espectro de captura de los métodos de muestreo utilizados

En los Anexos 2. y 3. se presentan el total de capturas con trampa CDC y trampa Disney y el promedio adultos/ trampa/ noche para cada especie en los 32 muestreos realizados, el promedio del total de muestreos, su desviación estandar y la varianza. En el Anexo 4 se presenta para las capturas con cebo humano los mismos registros, el promedio se dió como ejemplares hora/hombre de captura.

a) Capturas con trampa CDC:

Con trampa de luz se colectaron 393 ejemplares de 18 especies,

siendo *Lu. gomezi* la más abundante (61%), el promedio de captura adultos/ trampa/noche fue de 4.4 (Cuadro IV.). De acuerdo con lo señalado por la literatura, la trampa de luz es el método más exitoso para obtener información sobre las especies de Phlebotominae presentes en un área.

En Sassari, Christensen et al., (1972) con trampa CDC capturaron 1444 especímenes de 19 especies. El promedio adultos/trampa/noche fue de 20.9, lo que está determinado por la diferencia de los ambientes muestreados.

A pesar de ser *Lu. trapidoi* la especie más abundante en el área, muy pocos ejemplares se capturaron con trampa de luz, probablemente por que la altura a la que se colocó las trampas atrajo más especies que ejercen su actividad muy cerca del suelo. A lo largo de los muestreos con este tipo de trampa realizados por el LCG, el mayor porcentaje de capturas de *Lu. gomezi* ocurrió a 0.6 m, en tanto que *Lu. trapidoi* fue más abundante por arriba de los 6 m. (Christensen et al., 1983).

Con trampa CDC, en el intradomicilio se capturaron 66 ejemplares de 12 especies y el mayor número de ejemplares se obtuvo en el peridomicilio, probablemente porque al ser un ambiente abierto, la luz podía ejercer un rango de atracción mayor (Cuadro V.). El hecho de que en el área no haya luz eléctrica que compitiera con la luz de las trampas pudo haber favorecido su espectro de atracción. Sin embargo, es importante señalar que, según Killick-Kendrick, (1987), existe evidencia de que el rango de atracción de la trampa CDC para los flebotominos es menor de 2 m., lo que lleva a considerar que los ejemplares capturados en la vivienda y en el peridomicilio no fueron atraídos a la luz desde el bosque a 60 m.

b) Capturas con trampa Disney:

Se colectaron 1219 ejemplares de solo 8 especies. *Lu. trapidoi* fue la más abundante, 77.6%. El promedio adultos/trampa/noche para todas las especies fue de 6.8 y cerca de la

Cuadro IV. ESPECIES DE PHLEBOTOMINAE POR TIPO DE MUESTREO Y PROPORCION DE SEXOS

ESPECIE	CDC			DISNEY			CEBO HUMANO		
	TOTAL	%	M:H	TOTAL	%	M:H	TOTAL	%	M:H
<i>Lu. trapidoi</i>	19	4.8	1:1.1	946	77.6	1:1.9	2424	57.20	1:1.3
<i>Lu. sanguinaria</i>	9	2.3	1:2.0	142	11.6		1019	24.00	1:1.01
<i>Lu. gomezi</i>	241	61.3	1:4.4	48	3.9	1:1.5	697	16.40	1:0.3
<i>Lu. cruciata</i>	35	8.9		34	2.8	1:1.6	79	1.90	
<i>Lu. panamensis</i>	7	1.8	1:2.5	18	1.5	1:1.0	6	0.14	
<i>Lu. ilephiletor</i>	3	0.8		4	0.3		15	0.40	
<i>Lu. aclydifera</i>	20	5.1	1:1.0	1	0				
<i>Lu. carpenteri</i>	20	5.1	1:4.0						
<i>Lu. vespertilionis</i>	5	1.3							
<i>Lu. vesicifera</i>	2	0.5							
<i>Lu. triramaia</i>	23	5.9	1:4.8						
<i>Lu. camposi</i>	2	0.5							
<i>Lu. geniculata</i>	1	0.3							
<i>Lu. rufooides</i>	1	0.3							
<i>Lu. trinidadensis</i>	1	0.3							
<i>Lu. nordestina</i>	1	0.3							
<i>Br. haemata</i>	2	0.5	1:1.0						
<i>W. rotundipennis</i>	1	0.3		26					
TOTAL	393			1219			4240		
ADULTOS/TRAMPA/NOCHE	4.4			6.0					

mitad fueron machos (Cuadro IV.). Dado que los machos no son hematófagos, probablemente se acercan a las trampas siguiendo a las hembras que buscan una fuente de alimento.

El mayor número de capturas con trampa Disney se realizó en el bosque y solo dos especies *Lu. trapidoi* y *Lu. cruciata* se colectaron en el intradomicilio en número muy reducido (Cuadro V.).

Lu. olmeca bicolor y *Lu. panamensis*, dos especies que tienen marcada preferencia por alimentarse en roedores fueron las especies más abundantes capturadas en trampa Disney por Christensen y Herrero, (1980b) y por Escobar, (1989) quien

Cuadro V. ESPECIES DE PHLEBOTOMINAE POR TIPO DE MUESTREO EN CADA AMBIENTE

ESPECIE	CDC			DISNEY			CEBO HUMANO		
	INT	PERI	BOS	INT	PERI	BOS	INT	PERI	BOS
<i>Lu. trapidoi</i>	8	6	5	4	58	884	28	826	1570
<i>Lu. sanguinaria</i>	1	5	3	0	26	116	46	352	621
<i>Lu. gomezi</i>	30	155	56	0	15	33	4	253	440
<i>Lu. cruciata</i>	5	16	14	2	8	24	5	24	50
<i>Lu. panamensis</i>	0	4	3	0	4	14	0	1	5
<i>Lu. ylephiletor</i>	1	1	1	0	0	4	0	7	8
<i>Lu. aclydifera</i>	3	11	6						
<i>Lu. carpenteri</i>	10	8	2						
<i>Lu. vespertilionis</i>	1	0	4						
<i>Lu. vesicifera</i>	1	0	1						
<i>Lu. triramula</i>	4	10	9			1			
<i>Lu. camposi</i>	0	2	0						
<i>Lu. geniculata</i>	0	0	1						
<i>Lu. runoides</i>	1	0	0						
<i>Lu. trinidadensis</i>	0	0	1						
<i>Lu. nordestina</i>	0	0	1						
<i>Br. hammata</i>	1	0	1						
<i>W. rotundipennis</i>	0	1	0	0	3	23			
TOTAL	66	219	108	6	114	1099	83	1463	2694
ADULTOS/HORA/HOMBRE							0.7	9.8	18.0

encontró un promedio de adultos/trampa/noche de 44.6 y 32.8 respectivamente para estas dos especies.

En el presente trabajo no se colectó *Lu. olmeca bicolor* con ninguno de los métodos de muestreo y la proporción de *Lu. panamensis* fué mínima. Probablemente esto se deba a que la población de roedores silvestres en el área sea muy baja.

c) Capturas con cebo humano:

Se obtuvo 4240 ejemplares que incluyen las cinco especies antropofílicas y a *Lu. cruciata*, la cuál fué mas frecuente que

PANAMA

ECA

Lu. panamensis y *Lu. ylephiletor*. *Lu. trapidoi* fue la especie más abundante (57% del total) y aunque se colectaron algunos machos, a diferencia de la trampa Disney, la proporción fue muy baja (Cuadro IV.).

Lu. sanguinaria y *Lu. trapidoi* fueron las especies más abundantes en las capturas con cebo humano en el intradomicilio, con 46 y 28 ejemplares respectivamente, se capturaron además algunos ejemplares de *Lu. gomezi* y *Lu. cruciata*.

El mayor número de ejemplares se colectó en el bosque (63.5%), sin embargo, 36.5% de la población de vectores se encontró en la vivienda o cerca de ella. Los promedios del contacto hombre-vector/hora fueron de 0.7, 9.8 y 18.0 ejemplares en el intradomicilio, en el peridomicilio y en el bosque respectivamente (Cuadro V.).

Observaciones preliminares sobre el comportamiento de los flebotomíneos en la búsqueda de huésped, señalan que no son capaces de detectar al hombre a distancias mayores de 10 m (OMS, 1984), lo que indica que las especies en el intra y en el peridomicilio no se han desplazado desde el bosque, si no que probablemente tienen su microhabitat establecido en el peridomicilio, observación que fue también evidente en las capturas con trampa de luz y con cebo animal.

En las Américas no es raro el encuentro de flebotomíneos dentro de los domicilios y ha sido bien observado en el caso de *Lu. verrucana* en Perú y *Lu. longipalpis* en Brasil (Forattini, 1973), (Lainson, et al., 1985). Se considera que la presencia de estos vectores en la vivienda humana está determinada por la cercanía del bosque y puede ser frecuente en áreas de reciente colonización. Sin embargo, en la medida en que el hombre altera y modifica el medio ambiente, es posible que se presente un proceso de adaptación por parte de las especies sobrevivientes.

Este proceso ha sido señalado en las regiones forestales del Estado de Sao Paulo en Brasil para *Psychodopygus intermedius* (= *Lutzomyia intermedia*) en donde Gomez et al., (1987) encontraron que esta especie era cuatro veces mas frecuente en el ecotono de la mancha del bosque y el campo abierto, que en el bosque mismo. La situación que se da en el área donde se realizó el presente estudio es un poco diferente, en el sentido de que existe una población que parece estar estableciendo sus criaderos y sitios de reposo en el peridomicilio, independiente de la otra población bien establecida en el bosque.

Lu. trapidoi ha sido descrita en repetidos estudios como una especie marcadamente acrodendrofilica, esto es, que su mayor actividad de picadura se desarrolla en la copa de los árboles, comportamiento que ha sido explicado por la presencia en las partes altas de la floresta de los animales huéspedes, entre ellos el perezoso de dos uñas. En cuanto a *Lu. sanguinaria*, se sabe que ha sido colectada con frecuencia en equinos. Sin embargo, a pesar de que la antropofilia está bien documentada para ambas especies, no han sido encontradas picando dentro, aunque si, cerca del domicilio como se señaló anteriormente.

En realidad no es posible hablar de que un proceso de domesticidad se esté dando en algunas especies de *Lutzomyia*, pero las condiciones de transición de un ambiente de bosque a un ambiente de cultivos que se dan en el área estudiada favorecen la presencia de los vectores en el peridomicilio y en la vivienda en una densidad suficiente para que se tornen importantes desde el punto de vista epidemiológico.

En cuanto a los métodos de muestreo utilizados, en general, las capturas con trampa Disney y cebo humano, dos métodos que se basan en la hematofagia de las hembras, dieron resultados muy similares en el número de especies, pero fué 3.5 veces mayor el número de ejemplares capturados con cebo

humano. Las especies zoófilas y mas concretamente rodentofilicas hacia las que va dirigida la trampa Disney, estuvieron ausentes del área o en muy baja proporción, de ahí que el volumen de las capturas en esa trampa lo dieron tambien las especies antropofilicas.

El espectro de captura de la trampa CDC fué mas amplio que el de la trampa Disney y pone de relieve la importancia de utilizar más de un método de muestreo especialmente en áreas donde se desconoce las especies que están presentes. Esto permite identificar no solo a las especies vectoras de la enfermedad, sino tener una visión de conjunto del número y diversidad de las especies, que es un reflejo de la dinámica y evolución del foco de transmisión.

5. Variación estacional

La variación estacional se evaluó en un periodo de nueve meses, de Septiembre 1990 a Mayo 1991. Para determinarla se utilizaron los promedios de captura hora/hombre, no solo porque el número de capturas con cebo humano fué mayor y por lo tanto reflejan mejor la dinámica poblacional de los flebotominos del área, sino porque esa dinámica se reduce a las fluctuaciones de las tres especies antropofilicas, lo que permite observar si hay una correlación con la estacionalidad de la transmisión.

Durante el estudio, la temperatura máxima y mínima y la Humedad relativa variaron muy poco y se mantuvieron dentro de los limites adecuados para la sobrevivencia de los vectores. La pluviosidad que es el factor que mas parece afectar su dinámica poblacional se calculó como la precipitación acumulada en el área en los 45 días previos y se presenta en la Figura 6.

a) *Lutzomyia trapidoi*

La población de esta especie presentó tres picos mensuales en el período lluvioso, siendo el mas alto en

FLUCTUACION DE LA PLUVIOSIDAD

ACUMULADA EN 45 DIAS

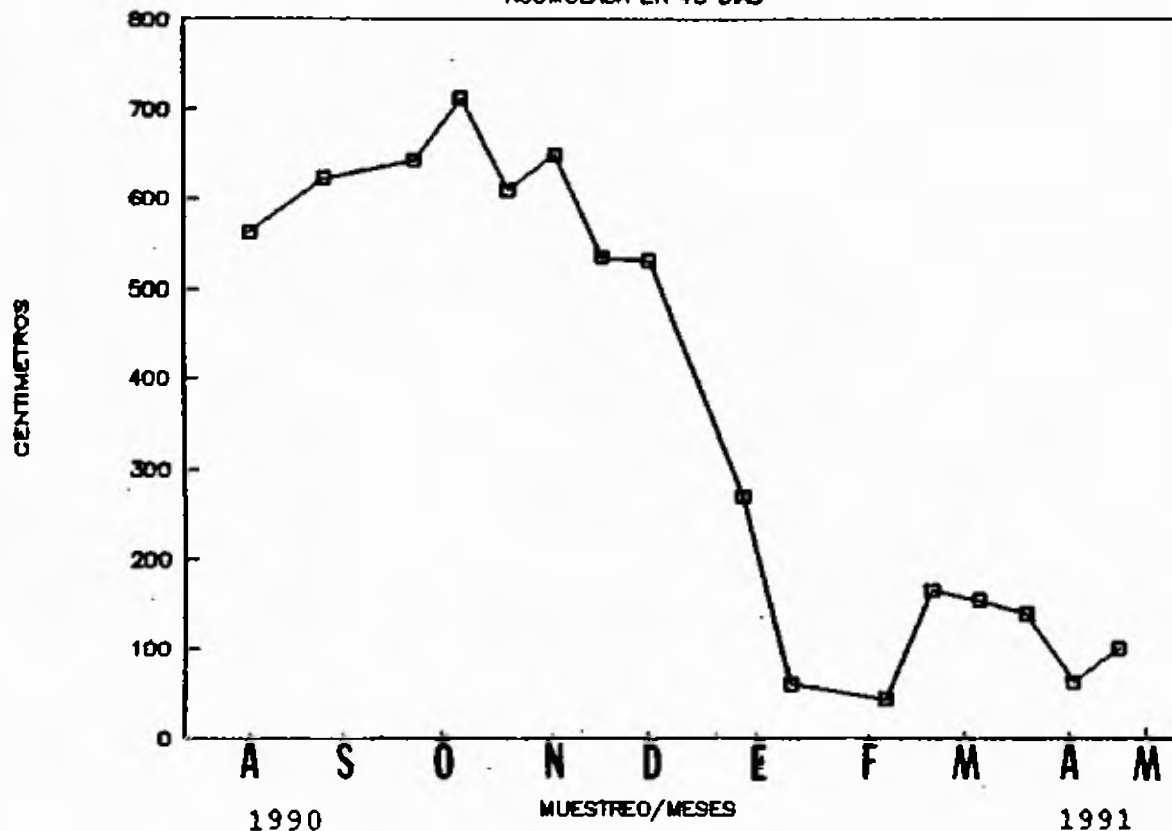


Fig. 6. Fluctuación de la pluviosidad acumulada en 45 días previos a la fecha de muestreo

Noviembre. En el periodo seco se produce el mayor aumento de la población entre Enero y Febrero. A partir de marzo la población desciende rápidamente hasta el final de la época seca cuando no fué posible detectar su actividad en las capturas con cebo humano, pero si en la trampa Disney (Fig. 7).

Christensen y Herrer, (1980b) estudiando la variación en la densidad poblacional de esta especie con trampa de luz en un bosque secundario, encontraron una tendencia similar a la observada en el presente estudio en cuanto a una mayor actividad al final de la época lluviosa y al comienzo del periodo seco.

Chaniotis et al., (1971), en la Estación de El Limbo, en capturas con cebo humano realizadas a 28 m. de altura no

observaron disminución marcada de la población a lo largo del año y el mayor aumento se dió en Julio y Diciembre.

b) *Lutzomyia gomezi*

La densidad de población de esta especie se mantuvo baja en el periodo lluvioso de Septiembre a Diciembre. En el periodo seco empezó a aumentar, haciendo picos en Enero, y Marzo, siendo este último el mas alto y ocurre cuando la población de *Lu. trapidoi* había descendido considerablemente. En Abril la actividad disminuyó y se hizo mínima en mayo (Fig. 7). *Lu. gomezi* se comportó entonces como una especie mas activa en el periodo seco, lo que había sido señalado por Christensen y Herrero, (1980b), quienes observaron igualmente que la población de esta especie se mantiene baja a lo largo de la época de lluvias con dos picos en la época seca (Febrero y Abril).

c) *Lutzomyia sanguinaria*

Su densidad de población en el periodo lluvioso fue mas alta que la de *Lu. gomezi* y aumentó paulatinamente a partir de Noviembre, aunque a bajo nivel y totalmente opacada por las altas densidades de *Lu. trapidoi*. En el periodo seco la población aumentó, alcanzando su punto mas alto en Marzo y Abril, cuando las poblaciones de las otras dos especies se encuentran bajas. Fue casi la única especie presente al final de la época seca (Fig. 7). Christensen y Herrero (1980b), encontraron un comportamiento un poco semejante para esta especie, observando que fue activa en todo el periodo lluvioso y presentó dos picos en Febrero y Abril.

Chaniotis, Neely et al., (1971), señalan la dificultad de estimar bajo condiciones de campo la dinámica estacional de una población de flebotomos, considerando a ésta como el producto de una compleja inter-relación entre el potencial biótico de las diferentes especies y la resistencia del medio.

FLUCTUACION DE POBLACION DE TRES
ESPECIES DE LUTZOMYIA ANTROPOFILICAS

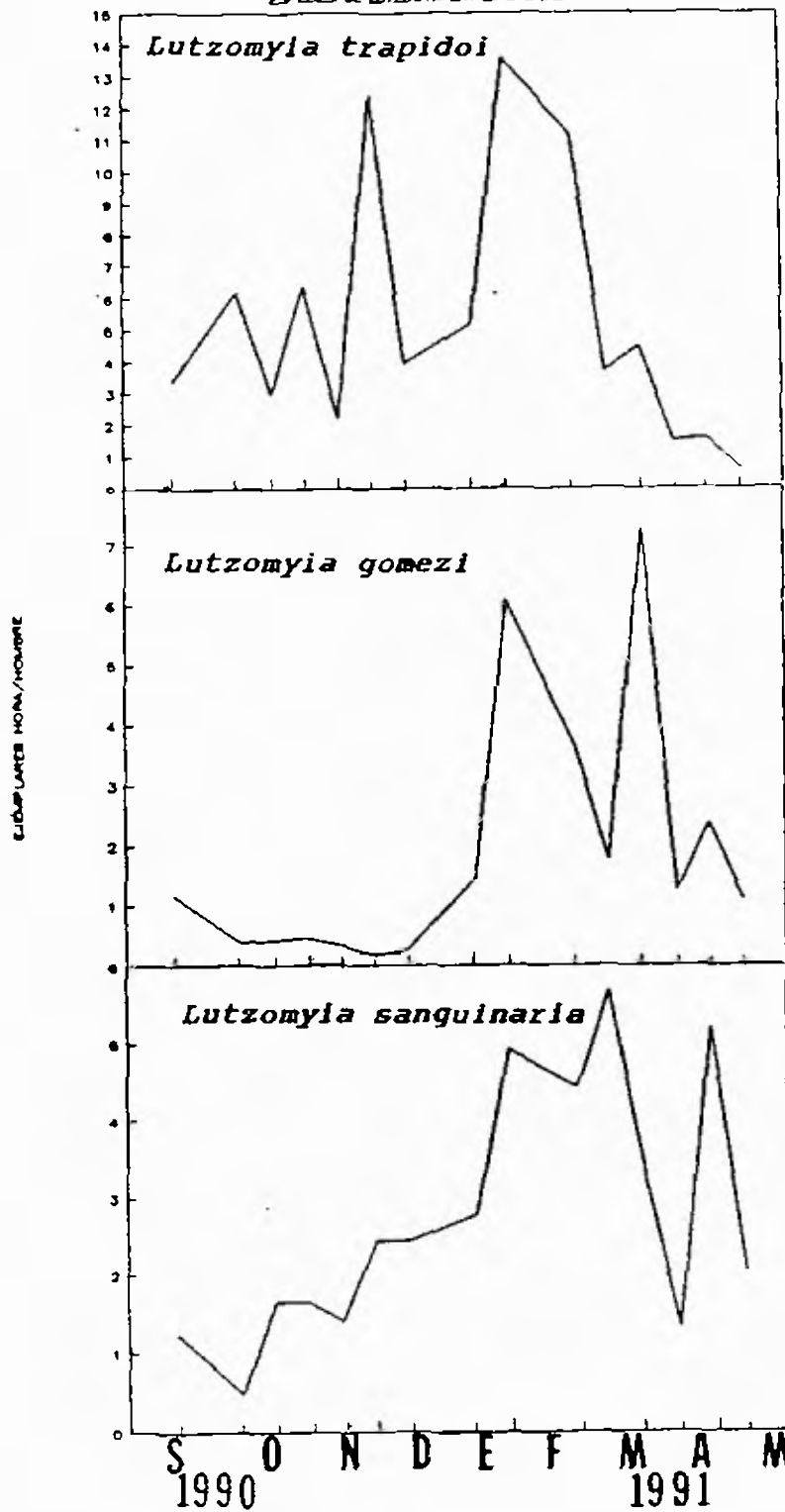


Fig. 7. Fluctuación de la población de tres especies de *Lutzomyia* antropofílicas.

ambiente, determinada por los factores bióticos y abióticos muchos de los cuales actúan tanto en los estados inmaduros como en la etapa adulta.

En el trópico los flebotomos se crían todo el año, ya que los cambios estacionales son menos acentuados que en las zonas templadas y la fluctuación en la densidad de las especies parece estar más asociada con los cambios en la precipitación.

Con las anteriores consideraciones, aunque no se tienen registros de la primera mitad del período lluvioso en conjunto, en cuanto a la variación estacional de la población de las tres especies que constituyen cerca del 95% de las capturas en el área, se puede afirmar que *Lu. trapidoi* fue la especie predominante en la segunda mitad del período lluvioso con un aumento en Noviembre, cuando se logró el mayor número de capturas del período, prácticamente todas fueron de esta especie. En el período seco se dan claramente tres aumentos poblacionales: El primero en Enero y Febrero cuando la pluviosidad acumulada en 45 días en el área está en su nivel más bajo y está dado por las tres especies, con predominancia de *Lu. trapidoi*. El segundo aumento se da en Marzo y está dado por *Lu. gomezi*. Seguidamente la población de los tres vectores alcanza su punto más bajo en Abril, como un reflejo de la falta de lluvia en el área. Con las primeras lluvias de Abril hay un tercer aumento, muy pequeño, debido a *Lu. sanguinaria* y representa el inicio de la recuperación de las tres poblaciones,

6. Actividad horaria de picadura

La actividad horaria de las especies de *Lutzomyia* en las capturas con cebo humano se calculó como el promedio aritmético del número total de capturas, así se obtuvo la tasa de picadura hora/hombre.

El total de capturas por especie para cada período horario y la tasa de picadura hora/hombre se presentan en el

Cuadro VI. No se observó diferencia en la tasa de picadura total ni por especie en los dos horarios nocturnos muestreados, pero si hay una clara diferencia en la tasa de picadura de las especies en el horario matutino, cuando la actividad la realiza, casi totalmente *Lu. trapidoi*.

La tasa de picadura encontrada para *Lu trapidoi* en el presente estudio es baja si se compara con la tasa de 87.6 picaduras hora/hombre, encontrada para la misma especie por Loyola et al., (1988) en El Bajo Calima, Costa Pacífica de Colombia. En el foco de Tumaco, también en la Costa Pacífica Colombiana, Travi et al., (1988) encontraron que la actividad de *Lu. trapidoi* fué inferior a 10 picaduras hora/hombre y observaron la presencia de un aumento en la actividad matutina, sin embargo, la actividad de picadura de *Lu. gomezi*, la especie dominante durante el período de estudio, alcanzó mas de 50 picaduras hora/hombre y la actividad matutina fué baja.

Chanlotis et al., (1971), observaron para esta especie que la tasa de picadura en el bosque a 28 m. de altura fue alta entre las 21:00 y las 06:00 horas con un aumento entre la 03:00-04:00 horas. A nivel del suelo, la actividad de picadura sigue la misma tendencia pero con menor intensidad. *Lu. gomezi* en el mismo estudio, mantuvo una actividad baja desde el crepúsculo vespertino y no presentó actividad matutina.

Es muy importante resaltar la antropofilia que en el área de estudio presentó *Lu. cruciata*, una especie que ha sido encontrada picando al hombre en Panamá, pero que el LCG en 40 años de captura sólo colectó 341 especímenes. En Belize, esta especie ha mostrado una marcada antropofilia diurna y experimentalmente realizó la transmisión de *Le. (m.) mexicana* de un hamster a humano (Williams, 1970).

Aunque hay variación en la tasa de picadura de *Lu. trapidoi* y *Lu. gomezi* en los diferentes sitios donde ha sido

Cuadro VI ACTIVIDAD HORARIA DE LUTZOMYIA POR ESPECIE EN CAPTURAS CON CEBB HUMANO

ESPECIE	HORA						TOTAL	H/H
	18:00-20:00	H/H	20:00-22:00	H/H	05:30-06:30	H/H		
<i>L. trapidoi</i>	819	4.6	975	5.4	457	7.9	2251	5.4
<i>L. sanguinaria</i>	506	2.8	479	2.7	34	0.6	1019	2.4
<i>L. gomezi</i>	322	1.8	277	1.5	23	0.5	622	1.5
<i>L. cruciata</i>	46	0.3	30	0.2	3	0.1	79	0.2
<i>L. panamensis</i>	4		1		1		6	
<i>L. ylephiletor</i>	8		6		1		15	
TOTAL	1705	9.5	1768	9.8	519	8.9	3992	9.5

evaluada, probablemente no solo por diferencia el medio ambiente, sino tambien por diferencia en la forma como ha sido calculada, promedio aritmético en unos casos, promedio logaritmico de William's en otros, si parece claro, que en los focos de transmisión donde estas dos especies estan presentes, la actividad de picadura matutina está dada por *Lu trapidoi*.

Es probable además que la fluctuación de la población y la tasa de picadura encontradas durante el estudio no reflejen realmente la variación de estos parámetros en el área, por cuanto fueron calculados a partir de los muestreos realizados en una sola vivienda y en un área de no mas de 100 m². Es importante para tener una mejor idea de la validez de estos registros realizar muestreos en un mayor número de viviendas representativas del área.

7. Búsqueda de sitios de reposo para *Lutzomyia*

El Cuadro VII presenta el número de ejemplares por especie encontrados reposando en cada ambiente.

En el intradomicilio durante las capturas con cebo humano se encontró un macho de *Lu. trapidoi* posado en una silla y una hembra de *Lu. sanguinaria* sobre una mesa a 0.50 y 0.80 m. del

Cuadro VII. ESPECIES DE LUTZONYIA EN REPOSO POR AMBIENTE Y POR SEXO

	INTRA	PERIDOM	BOSQUE	M	H	T	%
<i>Lu. trapidoi</i>	1	147	3	115	36	151	68.3
<i>Lu. sanguinaria</i>	1	7	0	0	8	8	3.6
<i>Lu. gomezi</i>	0	59	0	56	3	59	26.7
<i>Lu. cruciata</i>	0	1	0	0	1	1	0.4
<i>Lu. panamensis</i>	0	1	0	1	0	1	0.4
<i>Lu. yiephiletor</i>	0	1	0	0	1	1	0.4
TOTAL	2	216	3	172	49	221	

suelo respectivamente. Es posible sospechar que la hembra podría estar desplazándose en busca de un huésped, dado que fué ésta la especie mas abundante en las capturas con cebo humano en el intradomicilio; no es claro si el macho seguía a una hembra o trataba de escapar del fuerte viento que sopló durante el período seco.

En el peridomicilio, a 15 m de la vivienda se encontró durante el día una hembra de *Lu. sanguinaria* y a un macho de *Lu. trapidoi* reposando en el hueco de un árbol, muy cerca del sitio donde se hacían las capturas con cebo humano (Fig. 8); también en el peridomicilio, a 20 m de la vivienda se encontró entre dos grandes piedras un hueco en donde se colectaron, en dos oportunidades, un total de tres machos de *Lu. trapidoi*, un macho de *Lu. gomezi*, una hembra de *Lu. sanguinaria* y una hembra de *Lu. cruciata* con restos de alimentación sanguínea (Fig. 9)..

En el peridomicilio, durante las capturas con cebo humano se obtuvo el mayor número de ejemplares en reposo, en un árbol caído y en el tronco de un árbol de laurel de 5 m. de alto aproximadamente (Fig. 10). En total en ese sitio se colectaron 210 ejemplares, de los cuales 109 fueron machos de *Lu. trapidoi* y 55 machos de *Lu. gomezi*. Coincidiendo con lo



Fig. 8. Sitio de reposo en el hueco de un árbol en el peridomicilio.

observado en las capturas con cebo humano, *Lu. trapidoi* fué la única especie colectada reposando en el crepúsculo matutino.

En el bosque se encontraron durante el día tres hembras de *Lu. trapidoi* reposando en la hojarasca y un macho de *Lu. trapidoi* en el suelo entre dos pequeñas piedras. No se colectaron ejemplares reposando en el bosque durante las capturas con cebo humano y el número de ejemplares capturados durante el día fue muy bajo, probablemente porque el reposo se hizo entre la hojarasca donde es mas difícil su observación. La capa de de hojas en el piso del bosque es, según Chaniotis et al., (1972) el habitat mas extenso, utilizado por los flebotomos como sitio de reposo diurno.



Fig. 9. Sitio de reposo entre dos piedras en el peridomicilio

Los patrones de lluvia modifican las condiciones de los criaderos. La lluvia es benéfica cuando ocurre en condiciones moderadas pero es perjudicial cuando inunda el suelo. Las especies antropofílicas que según Johnson y Hertig, (1961) se crían en el suelo son entonces las más afectadas por el exceso o la falta de lluvia.

En el período lluvioso fue frecuente observar durante las capturas con cebo humano en el peridomicilio, filas de machos que subían dando pequeños saltos por el tronco de un árbol. La presencia de machos en las colectas con cebo humano ha sido



Fig. 10. Sitio de reposo debajo de un árbol caído y en el tronco de un árbol de laurel en el peridomicilio

señalada por varios autores; éstos probablemente esperaban allí la presencia de las hembras que se acercan en busca de alimentación sanguínea o simplemente trataban de escapar del suelo inundado hacia un sitio seco.

Como se observó en la variación estacional, la reducción de la población de adultos en la época seca es el resultado de las pobres condiciones en los criaderos, se da entonces una reducción pero no una desaparición total de los adultos, indicando que en unos pocos sitios bien protegidos los criaderos continúan activos. En el bosque, el cambio de hojas de los árboles forma sobre el suelo una capa que lo protege de la desecación excesiva. En el peridomicilio, los huecos en los árboles y las cuevas entre las piedras probablemente sean los sitios protegidos donde los criaderos se mantienen activos.

8. Búsqueda de infección con *Leishmania*

El Cuadro VIII presenta las pruebas realizadas para establecer la presencia de infección con *Leishmania*. En total se disectaron 4614 ejemplares de las 6 especies capturadas con cebo humano y en reposo.

En 388 coloraciones con giemsa realizadas, cuatro ejemplares de *Lu trapidoi* y un ejemplar de *Lu. gomezi* fueron encontrados positivos para flagelados morfológicamente compatibles con *Leishmania*. Se tomó como criterio morfológico, caracteres del Orden Kinetoplastida que incluyen, la presencia de núcleo definido, citoplasma ligeramente vacuolado y la presencia de cinetoplasto cerca del núcleo. En la mayoría de las formas del parásito observadas el flagelo no estuvo presente. No fué posible establecer la posición de los organismos en el tubo digestivo por cuanto se encontraban sueltos en el medio de disección (Figs. 11 y 12).

La tasa de paridad fue registrada en un buen número de ejemplares de cada especie (Cuadro VIII). Como criterio de paridad se utilizó la presencia de granulaciones en las glándulas accesorias del aparato genital, criterio que fué propuesto por Adler y Theodor (1957); estas granulaciones aparecen después de la alimentación sanguínea y la subsiguiente oviposición.

De acuerdo a este criterio, más del 60% de los ejemplares examinados fueron hembras pàridas y no se observaron cambios en la tasa de paridad que probablemente deben ocurrir periódicamente por la emergencia en los criaderos de hembras nulíparas. Una posible explicación es que las hembras nulíparas tomen su primera alimentación sanguínea en un huésped animal y que solo se acercan al cebo humano después de la primera ovipostura. Es posible también que ante la ausencia de un método más preciso para estimar la edad de los ejemplares disectados, se diera una estimación subjetiva de la



Fig. 11. Promastigotes en disección de *Lutzomyia trapidoi*



Fig. 12. Promastigotes en disección de *Lutzomyia trapidoi*

Cuadro VIII. BUSQUEDA DE INFECCION CON PROMASTIGOTES DE LEISHMANIA

ESPECIE	DISECCIONES	% PARIDAS	GIEMSA	POSITI GIEMSA	IFA	POSITI IFA	POSITI GIM/IFA	SONDA AON
<i>Lu. trapidoi</i>	2667	70 (1125)*	200	4	2487	2	2	369
<i>Lu. sanguinaria</i>	1117	70 (521)	93		1071	2		131
<i>Lu. gomezi</i>	726	70 (511)	75	1	711	1	1	24
<i>Lu. cruciata</i>	80	60 (41)	20		80			4
<i>Lu. panamensis</i>	8	100 (5)			7			1
<i>Lu. ylephiletor</i>	16	100 (4)			15			3
TOTAL	4614		388	5	4371	5	3	532

* Entre parentesis el numero de ejemplares examinados

tasa de paridad, al usar un criterio que Killick-Kendrick (1978) señala como poco confiable.

Las cabezas de los ejemplares disectados fueron usadas para realizar pruebas de inmunofluorescencia. Los ejemplares se agruparon por especie, día, hora y sitio de captura; cada grupo tenía de 1 a 10 ejemplares como máximo. En total se realizaron 770 pruebas con 4.371 ejemplares. Dos grupos de 10 ejemplares cada uno de *Lu. trapidoi*, dos grupos de 10 y cuatro ejemplares de *Lutzomyia sanguinaria* y un grupo de siete ejemplares de *Lu. gomezi* fueron positivos para *Leishmania* por inmunofluorescencia con un título de 1:1024. Dos ejemplares de *Lu trapidoi* y un ejemplar de *Lu. gomezi* fueron positivos tanto por coloración con giemsa como por inmunofluorescencia.

Se disectaron además los estómagos de 532 ejemplares para establecer la presencia del parásito mediante el uso de sondas de ADN. Este material que provenia casi en su totalidad de las colectas en el intra y peridomicilio, fue agrupado en 129 muestras de acuerdo a los criterios citados antes. Estas pruebas serán realizadas posteriormente.

El desarrollo de *Le. b. panamensis* en su huésped natural *Lu gomezi* fue estudiado a nivel ultraestructural por Walters

et al., (1989). Además de confirmar el desarrollo hipopilórico que ya ha sido señalado para esta especie, encontraron que el parásito presenta varias formas de desarrollo durante su ciclo en el vector; la forma que se adhiere a la pared del intestino posterior, fase de haptomona, presenta un flagelo extremadamente corto y su unión se hace por hemidesmosomas, es probable que las formas sin flagelo que se observaron en este estudio hayan estado en esa fase.

Tanto *Le. mexicana* como *Le. braziliensis*, después de un desarrollo inicial en el intestino anterior, la primera y en el intestino posterior, la segunda, alcanzan el esófago, la faringe, el cibariúm y las piezas bucales, la presencia de promastigotes en estos sitios es una fuerte evidencia de infección (Killick-Kendrick, 1978).

Aunque está bien establecido que el hallazgo de flagelados en el intestino de un flebotomo no es prueba concluyente de su infección ya que *Endotrypanum*, según Williams y Coelho (1978), no puede ser diferenciado morfológicamente de *Leishmania*, el hallazgo de cinco grupos positivos por inmunofluorescencia en pruebas realizadas con las cabezas de los especímenes, permiten señalar la presencia de infección con *Leishmania*, ya que se usó como fuente de anticuerpos un suero policlonal de un caso confirmado del área de Chiguirí y reacciones cruzadas entre *Le. braziliensis* y *Le. mexicana* pueden presentarse.

Lu. trapidoi y *Lu. gomezi* han sido señaladas en repetidas oportunidades como vectores de *Le. b. panamensis* la especie que causa la mayoría de los casos de la enfermedad en Panamá. Sin embargo, una confirmación definitiva de que fué ésta la especie encontrada solo podrá ser dada mediante el uso de técnicas mas sensibles como los anticuerpos monoclonales, el análisis de isoenzimas o las sondas de ADN.

El hecho de que solo tres de los cinco ejemplares positivos por giemsa fueran confirmados como positivos por

inmunofluorescencia, pudo ser dado por la presencia de infecciones muy iniciales que todavía se hallaban a nivel de intestino y no habían alcanzado las piezas bucales. Igualmente, el hecho de que dos grupos de *Lu. sanguinaria* hubieran sido positivos por inmunofluorescencia pero no se detectara su infección por giemsa puede indicar una infección en una etapa muy avanzada

Killick-Kendrick et al., (1977), observaron que ejemplares de *Lu. longipalpis*, infectados experimentalmente con *Le. mexicana amazonensis*, tenían dificultad para tomar una segunda y tercera alimentación sanguínea realizando pruebas repetidas y tomando en cada una solo pequeñas cantidades de sangre. Molyneux y Jefferies (1986), sugieren que cada prueba de estas constituye un nuevo contacto infectivo produciéndose infecciones múltiples.

Algunas infecciones múltiples con *Leishmania* observadas en el área (Carreira, 1991)² que tradicionalmente han sido consideradas como debidas a metástasis por vía hemática a partir de una lesión inicial, podrían ser explicadas por múltiples picaduras de un solo mosquito infectado y explicaría también, porqué la transmisión se mantiene activa con una tasa de infección tan baja en los vectores.

Investigadores del LCG encontraron que tanto para *Lu. trapidoi* como para *Lu. gomezi*, la tasa de infección fué de 0.11% (Christensen et al., 1983). En Colombia Morales et al., (1981) encontraron una tasa de infección semejante para *Lu. trapidoi*. Travi et al, (1988), encontraron para esta especie una tasa de 0.1% en Tumaco y de 1,9% en El Bajo Calima. Para *Lu. gomezi* la tasa de infección en el Bajo calima fué de 0.2%. Sin embargo, la tasa de infección mas alta para esta especie fué informada por Hashiguchi et al., (1988) en Ocaña Ecuador,

²Carreira, P. 1991. Comunicación personal

entre 4.2 y 10.5% , quienes observaron además asociación entre la hora de picadura y la tasa de infección, siendo la tasa mas alta 10.5%, a las 20:00 horas.

En el presente estudio las tasas de infección con *Leishmania*, confirmadas por giemsa y por inmunofluorescencia, son bajas tanto para *Lu. trapidoi* (0.1%) como para *Lu. gomezi* (0.1%) para ser ejemplares provenientes de una zona endémica donde hay transmisión activa en humanos. En estos resultados probablemente pudo influir el largo periodo de congelación (4 a 8 meses) a que se sometieron las muestras antes de ser disectadas.

Los dos ejemplares de *Lu. trapidoi* y un ejemplar de *Lu. gomezi* positivos por ambas pruebas, se obtuvieron en una misma colecta realizada en el bosque al final del periodo seco (muestreo 25), cuando las poblaciones de estas dos especies se hallaban bajas. Esto tiene significado epidemiológico si se considera que probablemente el aumento de las tres poblaciones de vectores en los meses de Enero y Febrero representan una gran emergencia de hembras nulíparas, por las condiciones óptimas de los criaderos al final del período lluvioso. Las poblaciones de Marzo son entonces hembras multiparas que han vivido el tiempo suficiente para ser infectivas. Esto guarda relación con la sugerencia de Killick-Kendrick y Ward (1981) de que las disecciones se hagan al final de los periodos.

En ese mismo periodo se registró la presencia en el área de ejemplares del perezoso de dos uñas (*Choloepus hoffmanni*), el reservorio mas importante de *Le. b. panamensis*. Uno de estos ejemplares pudo ser capturado y fotografiado. Aunque la transmisión de la enfermedad se registra todo el año en Panamá, es también la época seca cuando se dan el mayor número de casos (Christensen et al., 1983).

Es interesante señalar además, que los dos grupos de *Lu. sanguinaria* que fueron positivos para *Leishmania* por inmunofluorescencia fueron capturados también al final del

período seco, en Abril y Mayo, (muestréos 31 y 32). Teniendo en cuenta, que el mayor número de capturas con cebo humano se realizó en el período seco (2.760 ejemplares) y que los ejemplares infectados se encontraron al final del mismo período, se podría entonces recomendar a la población del área tomar, durante el período seco, algunas medidas de protección para reducir el contacto con el vector, como serían:

- Hacer limpieza de la vegetación (maleza), especialmente en el peridomicilio, para controlar los sitios de cría y reposo diurno; en otros focos de la enfermedad se ha observado que esta medida reduce la población del vector (Travi et al., 1988), mas aún si se ejecuta cuando la población está en su nivel mas bajo.

- Evitar penetrar al bosque o permanecer en el peridomicilio después del crepúsculo.

- El uso del mosquitero al menos en la población infantil susceptible.

- El uso doméstico de insecticidas de acción fumigante.

Independientemente de la tasa de infección que puede variar de un área a otra por múltiples factores, *Lu. trapidoi* y *Lu. gomezi* pueden ser considerados, de acuerdo a la escala de 1 a 6, propuesta por Killick-Kendrick y Ward (1981), como vectores de *Leishmania* grado 2 por cuanto, su distribución geográfica coincide con la distribución de la enfermedad, porque presentaron marcada antropofilia en el área endémica y porque están presentes en número suficiente para mantener la transmisión.

A pesar que dos ejemplares de *Lu. sanguinaria* fueron también encontrados positivos para *Leishmania* por inmunofluorecencia, de la alta antropofilia de esta especie y de haber sido infectada experimentalmente con *Le. mexicana* (Johnson y Hertig, 1962), su papel como vector debe ser evaluado con mas cuidado.

9. Otros microorganismos presentes en *Lutzomyia*

Durante las disecciones se observaron otros microorganismos cuya presencia ya ha sido registrada en los flebotomos de Panama (McConnell y Correa, 1964). Los mas frecuentes fueron hongos y gregarinas en los ovarios de algunos ejemplares. Se desconoce como puede estar afectando su presencia la capacidad reproductiva de la hembra. Fueron tambien frecuentes las bacterias que generalmente eran abundantes en el intestino posterior y sobre la glándula rectal (Figs. 13, 14 y 15). No se observaron formas de *Trypanosoma*, probablemente por que las especies disectadas son antropofilicas y no tienen entre sus huéspedes a los murciélagos y reptiles (Geko) que son los reservorios mas frecuentes de *Trypanosoma vespertilionis* y *T. thecadactyli*.



Fig. 13. Hongos en ovarios de *Lutzomyia*



Fig. 14. Gregarinas en ovarios de *Lutzomyia cruciata*

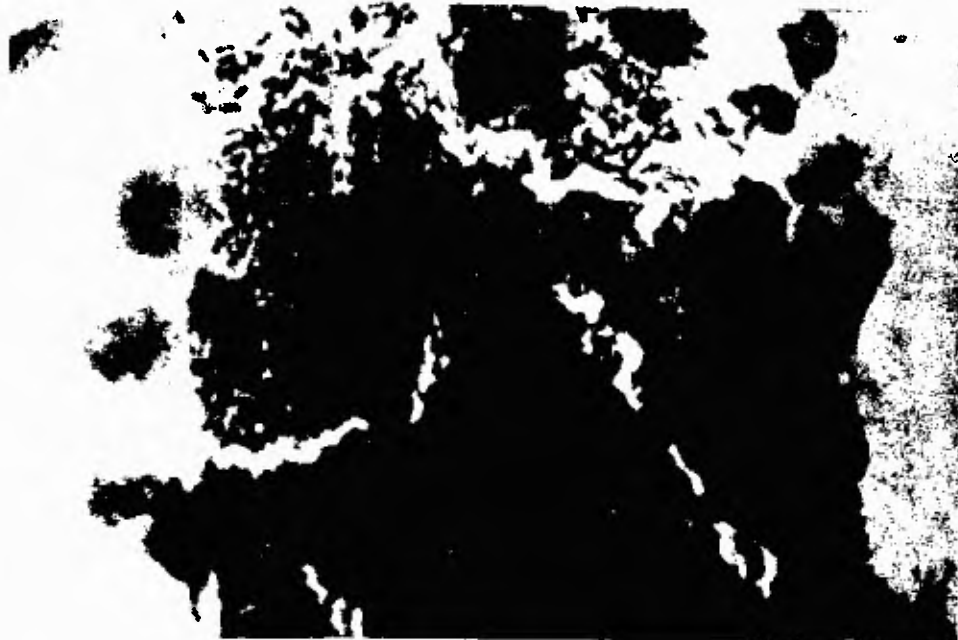


Fig. 15. Bacterias en intestino posterior de *Lutzomyia cruciata*

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones y limitaciones del presente estudio se puede concluir que:

1. En el área de Chiquiri Arriba se encontraron 18 especies de Phlebotominae: *Lutzomyia trapidoi*, *Lu. sanguinaria*, *Lu. gomezi*, *Lu. cruciata*, *Lu. panamensis*, *Lu. ylephiletor*, *Lu. aclydifera*, *Lu. carpenteri*, *Lu. vespertilinois*, *Lus. vesicifera*, *Lu. tiramula*, *Lu. camposi*, *Lu. geniculata*, *Lu. runoides*, *Lu. trinidadensis*, *Lu. nordestina*, *Brumptomyia hammata* y *Warileya rotundipennis*.
2. Tres especies antropofilicas constituyeron el 95% de las capturas: *Lutzomyia trapidoi* (57.9%), *Lu. sanguinaria* (20%) y *Lu. gomezi* (16.9%).
3. El bosque fué el sitio donde se hizo el mayor número de capturas (66.7 %) en 16 especies y constituye el ambiente natural del vector. En el peridomicilio se obtuvo el 30.% de las capturas en 11 especies y en el intradomicilio el 2.6% en 12 especies.
4. La trampa CDC tiene mejor espectro de captura que la trampa Disney y permite obtener información sobre las especies presentes en un área. La trampa Disney y las capturas con cebo humano dieron resultados similares en cuanto al número de especies colectadas, pero el número de ejemplares en capturas con cebo humano fué tres veces mayor.
5. El mayor número de ejemplares con cebo humano se capturó en el bosque, pero el 36.5% de la población de vectores se encontró en la vivienda o cerca de ella. Los promedios

del contacto hombre/vector/hora fueron de 0.7, 9.8 y 18.0 ejemplares en el intradomicilio, en el peridomicilio y en el bosque respectivamente

6. *Lu. trapidoi* se comportó como la especie dominante durante la segunda parte del período lluvioso. En el período seco se dieron aumentos alternados de las poblaciones así: *Lu. trapidoi* en la primera parte, *Lu. gomezi* en la mitad y *Lu. sanguinaria* al final del período seco.
7. No hubo diferencia en la tasa de picadura total ni por especie en los dos horarios nocturnos muestreados, pero sí en el crepúsculo matutino cuando *Lu. trapidoi* fué la única especie activa.
8. Se capturaron ejemplares de *Lutzomyia* reposando en los tres ambientes durante la noche, pero los sitios de reposo diurno se encontraron en el bosque y en el peridomicilio.
9. Dos ejemplares de *Lu. trapidoi* y un ejemplar de *Lu. gomezi* fueron positivos para infección con *Leishmania* por coloración con giemsa y por inmunofluorescencia.

RECOMENDACIONES

1. Determinar las especies de vectores presentes en otros focos de transmisión donde se observe transmisión rural de leishmaniasis, para evaluar los cambios, que en la epidemiología de la enfermedad se están presentando
2. Incluir en este tipo de estudios mayor número de casas que sirvan como unidades de muestreo y extender las capturas nocturnas a toda la noche.
3. Al hacer disecciones para búsqueda de infección con *Leishmania*, si el número de ejemplares a disectar es muy grande, tomar un pequeño porcentaje de cada período para mediante disección de ovarios establecer el número de ciclos gonotróficos realizados, lo que da una mejor idea de la edad de la población de los vectores.
4. Realizar las disecciones de ser posible en material fresco o en el menor tiempo posible, evitando el largo período de congelación que puede matar al parásito.
5. La inmunofluorescencia es una buena técnica confirmativa de infección con *Leishmania*, pero de ser posible, se debe disponer de anticuerpos monoclonales que permitan hacer una identificación a nivel de especie.
6. Dar a los Promotores y Asistentes de salud en las áreas rurales, algunas recomendaciones prácticas que ellos puedan divulgar en su comunidad, sobre cómo reducir el contacto con los vectores de leishmaniasis en los períodos de mayor riesgo de transmisión.

LITERATURA CITADA

- ADLER, S and THEODOR, O. 1957. Transmission of disease agents by Phlebotomine sandflies. *Ann. Rev. Ent.* 2:203-6.
- AGUILAR, C.M., FERNANDEZ, E., DE FERNANDEZ, R. and DEANE, L.M. 1984. Study of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in Venezuela. The role of domestic animals. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro.* 79(2): 181-195.
- ALEXANDER, B.J. 1987. Dispersal of Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a Colombian coffee plantation. *J. Med. Ent.* 24: 552-558.
- CHANIOTIS, B.N. 1974. Use of external characters for rapid identification of Phlebotominae sandflies in vector studies. *J. Med. Ent.* 11: 501.
- CHANIOTIS, B.N. and ANDERSON, J.R. 1968. Age structure, population dynamics and vector potential of *Phlebotomus* in northern California Part. II. Field population dynamics and natural flagellate infections in parous females. *J. Med. Ent.* 5: 273-92
- CHANIOTIS, B.N., CORREA, M.A., TESH, R.B. and JOHNSON, K.M. 1971. Daily and seasonal man-biting activity of Phlebotomine sandflies in Panama. *J. Med. Ent.* 8(4): 415-440.
- CHANIOTIS, B.N., CORREA, M.A., TESH, R.B. and JOHNSON, K.M. 1974. Horizontal and vertical movements of Phlebotomine sandflies in a Panamanian rain forest. *J. Med. Ent.* 11: 369-375.
- CHANIOTIS, B.N., TESH, R.B., CORREA, M.A. and JOHNSON, K.M. 1972. Diurnal resting sites of Phlebotominae sandflies in a Panamanian Tropical Forest. *J. Med. Ent.* 9: 91-98.
- CHANIOTIS, B.N., NEELY, J.M., CORREA, M.A., TESH, R.B. and JOHNSON, K.M. 1971. Natural population dynamics of Phlebotomine sandflies in Panama. *J. Med. Ent.* 8: 339-352.
- CHRISTENSEN, H.A. and HERRER, A. 1973. Attractiveness of sentinel animals to vectors of leishmaniasis in Panama. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 22(5): 578-584.
- CHRISTENSEN, H.A. and HERRER, A. 1980a. Development of a Panamanian strain of *Leishmania mexicana* in co-indigenous *Lutzomyia sanguinaria* and *Lu. gomezi* (Diptera: Psychodidae). *J. Med. Ent.* 17: 188-189.

- CHRISTENSEN, H.A. and HERRER, A. 1980b. Panamanian *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) host attraction profiles. *J. Med. Ent.* 17: 522-528
- CHRISTENSEN, H.A., HERRER, A. and TELFORD, R.S. Jr. 1972. Enzootic cutaneous leishmaniasis in eastern Panama. II. Entomological investigations. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 66(1): 55-66.
- CHRISTENSEN, H.A., FAIRCHILD, G.B., HERRER, A., JOHNSON, C.M., YOUNG, D.G. and DE VASQUEZ, A.M. 1983. The ecology of cutaneous leishmaniasis in the Republic of Panama. *J. Med. Ent.* 20(5): 463-484.
- CORREDOR, A., KREUTZER, R.D., TESH, R.B., BOSHELL, J., PALAU, M.T., CACERES, E., DUQUE, S., PELAEZ, D., RODRIGUEZ, J., NICHOLS, S., HERNANDEZ, C.A., MORALES, A., YOUNG, D. and DE CARRASQUILLA, C. 1990. Distribution and etiology of leishmaniasis in Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 42(3): 206-214.
- ESCOBAR, J.P. 1989. Variación estacional, distribución vertical y actividad rodentofílica de *Lutzomyia olmeca bicolor* y *Lu. panamensis* (Diptera: Psychodidae), Gamboa-Panamá. Tesis M.S., Universidad de Panamá. Panamá, República de Panamá. 59 pp.
- FORATTINI, O.P. 1973. Entomologia Medica IV. Psychodidae. Phlebotominae. Leishmanioses. Bartonelose. Edgar Blucher, Edit. S. Paulo. 658 p.
- GOMEZ, A. de C. & BIANCHI, E.A. 1987. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 5. Estratificação da atividade espacial estacional de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) em áreas de cultura agrícola da região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* Rio de Janeiro, 82(4): 467-473.
- GRIMALDI, G. JR., TESH, R.B. and McMAHON-PRATT, D. 1989. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 41(6): 687-725.
- HASHIGUCHI, Y., GOMEZ, E.A., DE CORONEL, V., MIMORI, T. and KAWABATA, M. 1985. Natural infections with promastigotes in man-biting species of sand flies in leishmaniasis-endemic areas of Ecuador. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 34(3): 440-446.

- HERRER, A. and CHRISTENSEN, H.A. 1976a. Epidemiological patterns of cutaneous leishmaniasis in Panama. I. Epidemics among small groups of settlers. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 70(1): 59-65.
- HERRER, A. and CHRISTENSEN, H.A. 1976b. Epidemiological patterns of cutaneous leishmaniasis in Panama. III. Endemic persistence of the disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 25(1): 54-63.
- HERRER, A., CHRISTENSEN, H.A. and BEUMER, R.J. 1973. Reservoir host of cutaneous leishmaniasis among Panamanian forest mammals. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 22(5): 585-591.
- HERRER, A., CHRISTENSEN, H.A. and BEUMER, R.J. 1976. Epidemiological patterns of cutaneous leishmaniasis in Panama. II. Incidental occurrence of cases in non-endemic settlements. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 70(1): 67-71
- INSTITUTO GEOGRAFICO NACIONAL TOMMY GUARDIA. 1988. Atlas Nacional de la República de Panama, 222 pp.
- JOHNSON, P.T. and HERTIG, M. 1961. The rearing of *Phlebotomus* Sandflies (Diptera: Phlebotomidae). II. Development and behavior of Panamanian sandflies in laboratory culture. *Ann. Ent. Soc. Am.* 54(6): 764-776.
- JOHNSON, P.T., MCCONELL, E. and HERTIG, M. 1962. Natural and experimental infections of leptomonal flagellates in Panamanian *Phlebotomus* sand flies. *J. parasitol.* 48: 158.
- KILLICK-KENDRICK, R. 1978. Recent advances and outstanding problems in the biology of Phlebotomine sandflies. *Acta Tropica* 35, 297-313
- KILLICK-KENDRICK, R. 1987. Methods for the study of Phlebotomine sandflies. In: Peters W. and Killick-Kencrick, R. Eds. *The leishmaniasis in Biology and Medicine*. Academic Press. London, I: 473-497.
- KILLICK-KENDRICK, R. and WARD, R.D. 1981. Ecology of *Leishmania*. *Parasitology* 82: 143-152.
- KILLICK-KENDRICK, R., LEANEY, A.J., READY, P.D. and MOLYNEUX, D.H. 1977. *Leishmania* in phlebotomid sandflies. IV. The transmission of *Leishmania mexicana amazonensis* to hamsters by the bite of experimentally infected *Lutzomyia longipalpis*. *Proc. R. Soc. London.* 196: 105-15.

- LAINSON, R., SHAW, J.J., RYAN, L., RIBEIRO, R.S.M. and SILVEIRA, F.T. 1985. Leishmaniasis en Brasil. XXI. Visceral leishmaniasis in the Amazon Region and further observations on the role of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva 1912) as the vector. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 79: 223-226.
- LOYOLA, E.G., ALZATE, A., SANCHEZ, A. and GONZALEZ, A. 1988. Epidemiology of a natural focus of *Leishmania braziliensis* in the Pacific lowlands of Colombia. III. Natural infections in wild mammals. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 82, 406-407.
- McCONNELL, E. and CORREA, M. 1964. Trypanosomes and other microorganisms from Panamanian *Phlebotomus* sandflies. *J. Parasitol.* 50(4): 523-528.
- MINISTERIO DE SALUD. 1991. Boletín Epidemiológico. División de Epidemiología XIV(3) 4 pp., Panamá.
- MOLYNEUX, D.H. and ASHPORD, R.W. 1983. The biology of *Trypanosoma* and *Leishmania* Taylor and Francis Edit., London pp. 85-93
- MOLYNEUX, D.H. and JEFFERIES, D. 1986. Feeding behaviour of pathogen-infected vectors. *Parasitology.* 92: 721-736.
- MORALES, A., CORREDOR, A., CACERES, E., IBAGOS, A.L. y DE RODRIGUEZ C. 1981. Aislamiento de tres cepas de *Leishmania* a partir de *Lutzomyia trapidoi* en Colombia. *Biomédica*, 5: 129-138.
- ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). 1984. Las leishmaniasis. Serie de informes técnicos. 701.
- PETERSEN, J., JOHNSON, C.M., DE VASQUEZ, A.M. y SAENZ, R. 1988. Leishmaniasis cutanea causada por *Leishmania mexicana amazonensis* en Panama. *Rev. Med. Panamá.* 12: 158-164.
- PORTER, C.H., STEURER, F.J. and KREUTZER, R.D. 1987. Isolation of *Leishmania mexicana mexicana* from *Lutzomyia ylephiletor* in Guatemala. *Trans. Roy. Trop. Med. Hyg.* 81: 929 - 930.
- RAMIREZ-PEREZ, J., CONVIT, J., RODRIGUEZ, O. & MENDEZ, L.E. 1981. Estudios de los grupos de edad en las poblaciones de *Lutzomyia panamensis* (Shannon, 1926), y *Lu. gomezi* (Nitzulescu, 1931), vectores de la leishmaniasis tegumentaria en Venezuela. *Bol. Dir. Malar. San. amb. (Venezuela)*, 21: 114-128.

- READY, P.D., LAINSON, R., WILKES, T.J. and KILLICK-KENDRICK. 1984. On the accuracy of age-grading neotropical phlebotomines by counting follicular dilatations: first laboratory experiments, using colonies of *Lutzomyia flaviscutellata* (Mangabeira) and *L. furcata* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae). *Bull. Ent. Res.* 74: 641-646.
- ROGERS, W.O., BURNHEIM, P.F., and WIRTH, D.F. 1988. Detection of *Leishmania* within sand flies by kinetoplast DNA hybridization. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 39(5): 434-439.
- THATCHER, V.E. and HERTIG, M. 1966. Field studies on the feeding habits and diurnal shelters of some *Phlebotomus* sandflies (Diptera: Psychodidae) in Panama. *Ann. Ent. Soc. Am.* 59(1): 46-52.
- TRAVI, B., MONTOYA, J., SOLARTE, Y., LOZANO, L. and JARAMILLO, C. 1988. Leishmaniasis in Colombia. I. Studies on the Phlebotomine fauna associated with endemic foci in the Pacific Coast Region. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 39(3): 261-266.
- WALTERS, L.L., CHAPLIN, G.L., MODI, G.B. and TESH, R.B. 1989. Ultrastructural biology of *Leishmania* (*Viannia*) *panamensis* (= *Leishmania braziliensis panamensis*) in *Lutzomyia gomezi* (Diptera: Psychodidae): A natural host-parasite association. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 40(1): 19-39.
- WILLIAMS, P. 1970. Phlebotomine sandflies and leishmaniasis in British Honduras Belize. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 64: 317-364.
- WILLIAMS, P. and COELHO, M. 1978. Taxonomy and transmission of *Leishmania*. *Adv. parasit.* 16: 1-42.
- WILLIAMS, K.M., SACCI, J.B. and ANTHONY, R.L. 1986. Identification and recovery of *Leishmania* antigens displayed on the surface membrane of mouse peritoneal macrophages infected in vitro. *J. Immunol.* 136: 1853-1858.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1990. Control of the leishmaniasis. Technical Report Series 793. Geneva. 159 pp.
- YOUNG, D.G. 1979. A Review of the bloodsucking Psychodidae Flies of Colombia (Diptera: Psychodidae). *Univ. Fla. Agric. Exp. Stn. Tech. Bull.* 806: 266 pp.

ZELEDON,R. 1985. Leishmaniasis in North America. Central America and the Caribbean Islands. Elsevier Science Publishers B.V.: 313-351 pp.

ANEXO I. FORMULARIOS UTILIZADOS

FORMULARIO I

IDENTIFICACION Y DISECCION DE LUTZOMYIA

COLECC. N.º _____ METODO COLECCION _____

FECHA: DIA _____ MES _____ AÑO _____

N	ESPECIES	M	H	MULIPARA	MULTIPARA	GRAVIDA	SECA	IFA	SONDA
---	----------	---	---	----------	-----------	---------	------	-----	-------

FORMULARIO 2

CONDICIONES CLIMATICAS

ESTACION DE CHIGUIRI ARRIBA (PENONOME) - MES _____ 199

06:00

10:00

DIA	T. MAX.	T. MIN.	T. SECO	T. HUM.	H.R.	T. MAX	T. MIN.	T. SECO	T. HUM.	H.R.
-----	---------	---------	---------	---------	------	--------	---------	---------	---------	------

Anexo 2. TOTALES Y PROMEDIOS POR MUESTRO DE LAS ESPECIES DE LUTZOMYIA
MAS FRECUENTES EN TRAMPA COC

M	FECHA	L tra		L sng		L pnm		L gaz		L aci		L crp		L trr		L cru	
		T	PM	T	PM	T	PM	T	PM	T	PM	T	PM	T	PM	T	PM
1	90/08/16	0	8.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	8	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
2	90/08/17	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	0.7	0	0.0	2	0.7	0	0.0	0	0.0
3	90/09/07	0	0.0	0	0.0	1	0.3	0	0.0	1	0.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0
4	90/09/08	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
5	90/10/04	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
6	90/10/05	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
7	90/10/18	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
8	90/10/19	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
9	90/11/01	1	0.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
10	90/11/02	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
11	90/11/15	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.3	0	0.0	0	0.0
12	90/11/16	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
13	90/11/29	1	0.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.3	0	0.0
14	90/11/30	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
15	90/12/13	1	0.3	1	0.3	0	0.0	2	0.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
16	90/12/14	0	0.0	1	0.3	0	0.0	2	0.7	1	0.3	1	0.3	0	0.0	0	0.0
17	91/01/10	0	0.0	0	0.0	0	0.0	5	1.7	1	0.3	0	0.0	0	0.0	3	1.0
18	91/01/11	3	1.0	1	0.3	0	0.0	15	5.0	0	0.0	2	0.7	0	0.0	1	0.3
19	91/01/24	4	1.3	0	0.0	2	0.7	11	3.7	2	0.7	1	0.3	0	0.0	2	0.7
20	91/01/25	1	0.3	0	0.0	0	0.0	3	1.0	1	0.3	1	0.3	0	0.0	1	0.3
21	91/02/21	1	0.3	2	0.7	0	0.0	12	4.0	1	0.3	2	0.7	0	0.0	3	1.0
22	91/02/22	1	0.3	0	0.0	1	0.3	18	6.0	2	0.7	0	0.0	1	0.3	2	0.7
23	91/03/07	1	0.3	0	0.0	0	0.0	22	7.3	1	0.3	2	0.7	1	0.3	1	0.3
24	91/03/08	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.3	2	0.7	1	0.3	0	0.0	2	0.7
25	91/03/21	0	0.0	2	0.7	0	0.0	52	17.3	0	0.0	0	0.0	2	0.7	4	1.3
26	91/03/22	3	1.0	0	0.0	2	0.7	37	12.3	3	1.0	0	0.0	0	0.0	7	2.3
27	91/04/04	1	0.3	0	0.0	1	0.3	22	7.3	0	0.0	1	0.3	7	2.3	5	1.7
28	91/04/05	0	0.0	0	0.0	0	0.0	14	4.7	3	1.0	1	0.3	1	0.3	1	0.3
29	91/04/18	1	0.3	2	0.7	0	0.0	4	1.3	2	0.7	3	1.0	8	2.7	0	0.0
30	91/04/19	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	0.7	0	0.0	0	0.0	2	0.7	1	0.3
31	91/05/02	0	0.0	0	0.0	0	0.0	3	1.0	0	0.0	1	0.3	0	0.0	1	0.3
32	91/05/03	0	0.0	0	0.0	0	0.0	14	4.7	0	0.0	1	0.3	0	0.0	1	0.3
TOTAL		19		9		7		241		20		20		23		35	
MEDIA			0.2		0.1		0.1		2.5		0.2		0.2		0.2		0.3
DESV. EST.			0.5		0.3		0.3		5.4		0.4		0.5		0.7		0.8
VARIANZA			0.2		0.1		0.1		28.7		0.2		0.2		0.5		0.6

Anexo 3. TOTALES Y PROMEDIOS POR MUESTRO DE LAS ESPECIES
DE LUTIZONYIA MAS FRECUENTES EN TRAMPA DISNEY

M	FECHA	L trp		L sng		L pne		L gaz		L cru	
		T	PM	T	PM	T	PM	T	PM	T	PM
1	98/08/16	4	0.7	5	8.8	0	0.0	0	0.0	0	0.8
2	90/08/17	2	8.3	3	0.5	0	8.0	0	0.0	0	8.8
3	90/09/07	31	5.2	1	8.2	1	0.2	0	0.0	0	0.8
4	90/89/08	0	8.0	0	0.0	8	0.0	0	0.0	0	0.0
5	90/10/04	204	34.0	12	2.0	3	0.5	0	0.0	0	0.0
6	90/10/05	13	2.2	2	0.3	2	0.3	1	0.2	0	0.0
7	90/10/18	19	3.2	3	0.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0
8	90/10/19	3	0.5	2	0.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0
9	90/11/01	23	3.8	6	1.0	1	0.2	0	0.0	0	0.0
10	90/11/02	20	3.3	3	0.5	3	0.5	0	0.0	0	0.0
11	90/11/15	7	1.2	1	0.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0
12	90/11/16	0	0.0	1	0.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0
13	90/11/29	26	4.3	7	1.2	0	0.0	0	0.8	8	8.0
14	90/12/30	22	3.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.2
15	90/12/13	23	3.8	2	0.3	0	0.0	2	0.3	0	0.0
16	90/12/14	6	1.0	1	0.2	1	0.2	0	0.0	0	0.0
17	91/01/10	68	11.3	10	1.7	2	0.3	3	0.5	0	0.0
18	91/01/11	49	8.2	3	0.5	3	0.2	2	0.3	1	0.2
19	91/01/24	65	10.8	6	1.0	1	0.2	1	0.2	1	0.2
20	91/01/25	17	2.8	3	0.5	0	0.0	2	0.3	1	0.2
21	91/02/21	112	18.7	12	2.0	0	0.0	7	1.2	4	0.7
22	91/02/22	56	9.3	6	1.0	1	0.2	5	0.8	4	0.7
23	91/03/07	62	10.3	14	2.3	0	0.0	5	0.8	6	1.0
24	91/03/08	6	1.0	1	0.2	1	0.2	0	0.0	1	0.2
25	91/03/21	29	4.8	9	1.5	0	0.0	14	2.3	2	0.3
26	91/03/22	10	1.7	3	0.5	0	0.0	2	0.3	3	0.5
27	91/04/04	19	3.2	2	0.3	0	0.0	0	0.0	2	0.3
28	91/04/05	9	1.5	1	0.2	0	0.0	1	0.2	0	0.0
29	91/04/18	25	4.2	9	1.5	0	0.0	2	0.3	5	0.8
30	91/04/19	4	0.7	3	0.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0
31	91/05/02	5	0.8	10	1.7	1	0.2	0	0.0	2	0.3
32	91/05/03	7	1.2	1	0.2	0	0.0	1	0.2	1	0.2
TOTAL		946		142		18		48		34	
MEDIA			4.6		0.7		0.1		0.2		0.2
DES. EST.			10.7		1.4		0.4		0.8		0.5
VARIANZA			114.3		2.1		0.1		0.6		0.3

Anexo 4. TOTALES Y PROMEDIOS POR MUESTRAS DE LAS ESPECIES DE LUTZOMYIA
CAPTURADAS CON CEBO HUMANO

M	FECHA	L trp		L sng		L pnb		L gaz		L cru		L ylp	
		T	H/H	T	H/H	T	H/H	T	H/H	T	H/H	T	H/H
1	90/88/16												
2	98/88/17												
3	90/09/07	57	4.8	18	0.8	0	8.0	3	0.3	8	8.8	8	8.0
4	90/09/08	23	1.9	19	1.6	8	8.8	25	2.1	0	0.8	2	8.2
5	98/18/04	123	18.3	8	0.7	8	8.0	3	0.3	8	8.8	1	8.1
6	90/10/05	25	2.1	3	8.3	8	8.8	6	8.5	8	0.8	8	8.0
7	98/10/18	11	8.9	12	1.8	8	8.8	3	0.3	8	8.8	0	8.8
8	90/10/19	60	5.8	27	2.3	8	8.8	7	8.6	8	8.8	8	8.8
9	90/11/81	33	2.8	17	1.4	8	8.8	5	0.4	8	8.8	1	0.1
18	90/11/82	119	9.9	22	1.8	0	0.0	6	8.5	0	0.0	0	0.0
11	90/11/15	28	1.7	14	1.2	0	0.0	2	0.2	0	0.0	0	0.0
12	90/11/16	32	2.7	19	1.6	8	8.8	6	8.5	0	8.0	3	8.3
13	90/11/29	98	7.5	38	3.2	8	0.8	1	0.1	8	0.8	1	8.1
14	98/12/30	287	17.3	28	1.7	0	8.8	3	8.3	8	8.0	0	8.8
15	90/12/13	17	1.4	27	2.3	1	8.1	1	8.1	1	8.1	8	8.0
16	90/12/14	77	6.4	31	2.6	8	0.0	5	0.4	8	8.0	0	0.8
17	91/01/10	51	4.3	15	1.3	8	0.8	3	8.3	2	0.2	0	8.0
18	91/81/11	73	6.1	51	4.3	0	0.8	31	2.6	1	0.1	0	0.0
19	91/01/24	167	13.9	57	4.8	1	0.1	76	6.3	4	0.3	3	0.3
28	91/01/25	159	13.3	61	5.1	2	0.2	70	5.8	3	0.3	8	0.0
21	91/02/21	121	10.1	61	5.1	8	0.8	23	1.9	3	0.3	0	0.0
22	91/02/22	147	12.3	45	3.8	0	0.0	64	5.3	4	0.3	0	0.0
23	91/83/87	50	4.2	80	6.7	0	0.0	21	1.8	8	0.7	0	0.8
24	91/03/08	38	3.2	56	4.7	8	0.0	21	1.8	4	0.3	0	0.8
25	91/03/21	29	2.4	37	3.1	0	0.8	66	5.5	10	8.8	8	0.8
26	91/83/22	78	6.5	42	3.5	0	0.0	109	9.1	3	0.3	0	0.0
27	91/04/04	29	2.4	25	2.1	0	0.8	28	2.3	5	0.4	1	0.1
28	91/04/05	6	8.5	6	0.5	0	8.0	2	0.2	3	0.3	0	0.0
29	91/04/18	24	2.0	66	5.5	0	0.0	33	2.8	7	0.6	0	0.0
38	91/04/19	13	1.1	59	4.9	0	0.0	24	2.0	7	0.6	2	0.2
31	91/05/02	14	1.2	29	2.4	0	0.0	17	1.4	11	0.9	0	0.8
32	91/05/03	0	0.0	19	1.6	0	0.0	9	0.8	0	0.0	0	0.0
	TOTAL	1093		976		4		673		76		14	
	MEBIA		5.3		2.71		8.0		1.9		0.2		0.0
	BESV. EST.		4.5		1.69		0.0		2.3		0.3		0.1
	VARIANZA		28.3		2.87		8.0		5.1		0.1		0.0

Anexo 5. PROMEDIOS DE TEMPERATURA, HUMEDAD RELATIVA
Y PRECIPITACION, ABBSTB 1998 - MAYB 1991

M	FECHA	86:80			18:00			PR.AC.	PR.AC
		Tmax C	Tmin C	HR %	Tmax C	Tmin C	HR %	15DIAS (cms)	45DIAS (cms)
1	90/08/16							184.5	584.1
	90/08/17							182.7	541.6
3	90/09/07	23	20	88	23	22	80	257.5	622.6
	90/09/08	24	22	78	24	22	79	258.9	623.2
5	90/10/04	23	20	85	23	21	80	162.6	658.1
	90/10/05	24	19	85	31	20	75	158.8	629.2
7	90/10/18	23	18	85	29	21	75	284.4	709.8
	90/10/19	24	19	90	29	20	75	296.5	715.5
9	98/11/01	23	18	91	32	19	83	144.0	614.1
	90/11/02	24	19	91	30	20	91	144.2	606.4
11	90/11/15	23	20	91	30	21	87	198.2	652.5
	90/11/16	24	20	95	28	20	91	192.0	646.5
13	90/11/29	23	18	71	31	18	66	115.5	535.0
	90/11/30	24	17	91	31	18	91	109.5	535.7
15	90/12/13	23	18	91	28	18	83	218.5	524.9
	90/12/14	24	18	95	27	19	91	231.0	537.4
17	91/01/18	23	20	79	29	21	76	18.6	271.8
	91/01/11	24	20	75	28	20	79	16.3	267.7
19	91/01/24	23	19	68	28	20	76	10.2	62.2
	91/01/25	24	19	75	28	19	71	10.5	60.5
21	91/02/21	23	19	79	28	21	79	15.9	44.4
	91/02/22	24	19	79	24	20	79	17.4	45.2
23	91/83/07	23	19	55	29	20	62	134.8	165.1
	91/03/08	24	19	91	29	20	75	134.3	165.1
25	91/83/21	23	20	78	28	21	75	0.0	156.0
	91/03/22	24	20	78	28	21	65	8.8	152.5
27	91/04/04	23	19	85	29	21	53	2.3	138.6
	91/04/85	24	20	85	27	20	79	5.5	141.4
29	91/04/18	23	21	82	29	22	78	47.5	79.0
	91/04/19	24	20	78	31	21	69	47.5	49.8
31	91/05/02	23	20	87	28	21	87	48.3	98.1
	91/85/03	24	20	92	29	20	83	54.7	184.5