

**EVALUATION OF AN EXPERIMENTAL SYSTEM TO DETERMINE THE EFFECTIVENESS OF LARVICIDAL ACTIVE PRINCIPLES ON IMMATURE STAGES OF LUZTOMYIA LONGIPALPIS (LUTZ & NEIVA, 1912) (DIPTERA: PSYCHODIDAE)****EVALUACION DE UN SISTEMA EXPERIMENTAL PARA DETERMINACIÓN DE EFECTIVIDAD DE PRINCIPIOS ACTIVOS LARVICIDAS SOBRE ESTADIOS INMADUROS DE LUZTOMYIA LONGIPALPIS (LUTZ & NEIVA, 1912) (DIPTERA: PSYCHODIDAE)****Emilia A. Seccacini¹; Matias Pettersen⁴; Eduardo N. Zerba^{1,3}; Rigoberto Fimia-Duarte^{5,6}; José Iannacone^{7,8} & Laura W. Juan^{1,2,*}**

¹ Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas, UNIDEF, CITEDEF, CONICET, CIPEIN, J.B. de la Salle 4397, Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina. E-mail: eseccacini@gmail.com

² Instituto de Investigación sobre Producción Agropecuaria, Ambiente y Salud (IIPAAS) de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina. E-mail: laurawjuan@gmail.com

³ Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional de San Martín, Buenos Aires, Argentina. E-mail: ezerba@live.com.ar

⁴ Instituto Municipal de Vigilancia y Control de Vectores, Municipalidad de Posadas, Misiones, Argentina. E-mail: matiaspettersen22@gmail.com

⁵ Facultad de Tecnología de la Salud y Enfermería (FTSE), Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara.

⁶ Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Villa Clara, Cuba. E-mail: rigoberto.fimia66@gmail.com

⁷ Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA). Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas (FCNNM). Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). Lima, Perú.

⁸Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP). Lima, Perú. E-mail: joseiannacone@gmail.com

* Author for correspondence: laurawjuan@gmail.com

ABSTRACT

Leishmaniosis is a disease caused by a protozoon of the *Leishmania* genus, transmitted by Phlebotominae insects' bite. *Leishmania infantum* Nicolle, 1908

(syn. *L. chagasi*) is the etiologic agent of visceral leishmaniasis in Argentina, and the phlebotomine *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) is the main vector. The objective of this work was to evaluate an experimental laboratory designed to determine the effectiveness of active principles in juvenile stages of *Lu. longipalpis* -used in this case- is an insect growth regulator as the active principle, the pyriproxyfen. The work was carried out at the Municipal Institute of Vector Surveillance and Control of Posadas, province of Misiones, Argentina. For this work, we impregnated paper filter with acetone: silicone solution (1:1) just for the control group, and the treated groups were impregnated with acetone: silicone solution (1:1) and pyriproxyfen in 5 mg·m² concentration (Treated Group A) and 50 mg·m² (Treated Group B). We placed the filter paper (control or treated) 10 second instar larvae of *Lu. longipalpis*, which were fed by breeding food. All the pots got to an advanced stage of larva III, especially the control pots, while for the treated pots getting to the same state took longer. It was observed that the design requires modifications, since the larvae were placed under the filter papers without being able to reach the top again; hence they were attacked by fungi.

Key words: Leishmaniosis – *Lutzomyia longipalpis* – Pyriproxyfen – Vector

RESUMEN

La leishmaniosis es una enfermedad causada por un protozoo del género *Leishmania*, transmitido por la picadura de insectos Phlebotominae. *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 (syn. *L. chagasi*) es el agente etiológico de la leishmaniosis visceral en Argentina, y el flebótomo *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) es su vector principal. El objetivo de este trabajo fue evaluar un diseño experimental de laboratorio para determinación de efectividad de principios activos en estadios juveniles de *Lu. longipalpis*, utilizando como principio activo en este caso un regulador de crecimiento de insectos, el piriproxifeno. El trabajo se realizó en el Instituto Municipal de Vigilancia y Control de Vectores del Municipio de Posadas, provincia de Misiones, Argentina. Para este trabajo, se impregnaron discos de papel filtro con solución de acetona: silicona (1: 1) solo para el grupo de control y los grupos tratados se impregnaron con solución de acetona: silicona (1: 1) y piriproxifeno en una concentración de 5 mg·m² (Grupo Tratado A) y 50 mg·m² (Grupo Tratado B). Se colocaron sobre el papel filtro (control o tratado) 10 larvas del segundo estadio de *Lu. longipalpis* que se alimentaron con el medio de cría. Todos los potes alcanzaron un estadio de larva III avanzada, sobre todo los potes del control, mientras que en los tratados se vio más demorado su alcance. Se observó que el diseño requiere de modificaciones, debido a que las larvas se colocaban por debajo de los papeles filtro, sin poder subir nuevamente y eran atacadas por hongos.

Palabras clave: Leishmaniosis – *Lutzomyia longipalpis* – piriproxifeno – Vector

INTRODUCCIÓN

La leishmaniosis es una enfermedad causada por un complejo grupo de protozoos del género *Leishmania*, transmitida por la picadura de insectos Phlebotominae (Salomón *et al.*, 2012a; Sánchez-Romero *et al.*, 2020; Molina-Avila *et al.*, 2020).

En América, las leishmaniosis presentan un amplio rango de síntomas clínicos que dan lugar en humanos a dos expresiones principales: leishmaniosis tegumentaria americana (LTA) y leishmaniosis visceral (LV). En la Argentina, la LTA es endémica, mientras que la LV es urbana. Esta última es más severa porque puede afectar órganos internos con alta letalidad (Salomón *et al.*, 2012b; Blanco *et al.*, 2014; Casas, 2017).

La LV tiene como agente etiológico a *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 (syn. *L. chagasi*) (WHO, 2003, 2015). El perro *Canis lupus familiaris* Linnaeus, 1758 es su reservorio urbano (Acardi *et al.*, 2010), y el flebótomo *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) como el vector más común (Lainson & Rangel, 2005; Salomón *et al.*, 2012b; Rodríguez & Isaza, 2018).

El primer caso autóctono de LV registrado en Argentina, ocurrió en el año 2006 (Salomon *et al.*, 2008) en la ciudad de Posadas, Misiones con presencia de *Lu. longipalpis* y LV canina, y la mayoría de los casos reportados desde entonces han ocurrido en la provincia de Misiones, con solo unos pocos reportados en las provincias de Corrientes, Santiago del Estero y Salta (Salomón *et al.*,

2012a); a partir de allí es un fenómeno emergente de mayor importancia como problema de salud pública.

Los flebótomos son insectos con metamorfosis completa (cuatro estados del desarrollo: huevo, larva (cuatro estadios), pupa y adulto). Las hembras adultas oviponen entre 15 y 80 huevos en hábitats ricos en materia orgánica, que proveen la protección, nutrición y humedad necesarias para las larvas emergentes. La eclosión es muy dependiente de la temperatura, y el desarrollo larval subsiguiente generalmente es lento (Volf & Volfova, 2011). Las larvas tienen forma de oruga, y se desplazan poco a partir del sitio de oviposición. Las pupas se asemejan a pequeñas crisálidas en las que la muda del cuarto estadio larval está adherida a un sustrato sólido desde uno de los extremos. Los adultos son pequeños y rara vez sobrepasan los 3,5 mm de longitud (Molyneux & Ashford, 1983; Galati, 2014; Rodríguez & Isaza, 2018).

Tanto los machos como las hembras se alimentan del azúcar de las plantas, o de la melaza producida por áfidos homópteros (Hemiptera: Aphidoidea). Las hembras presentan una estructura bucal que les permite alimentarse de sangre, y necesitan hacerlo al menos una vez para completar el desarrollo de los huevos (Cameron *et al.*, 1995; Sharma & Singh, 2008). Las hembras pueden ingerir sangre tanto de animales domésticos y salvajes (gatos, perros, diversos roedores, ganado, aves y lagartos), como de humanos (Morrison *et al.*, 1995; Sharma & Singh, 2008).

Este amplio comportamiento de alimentación conduce a la presencia de reservorios de la enfermedad en zonas urbanas (Salomón *et al.*, 2015; Juan *et al.*, 2016). A diferencia de los mosquitos, atacan silenciosamente a sus hospedadores, y los adultos están activos principalmente al atardecer, a la noche y temprano en la mañana, aunque pueden picar durante el día si son molestados.

Las hembras de los flebótomos ponen sus huevos en diferentes lugares, especialmente en ambientes asociados con materia orgánica, calor y humedad, que son necesarios para su desarrollo larval (Casanova *et al.*, 2013). Los sitios de descanso generalmente están cerca de los sitios de cría, y corresponden a micro-hábitat fresco, húmedo y oscuros (Killick-Kendrick, 1999; Cazorla *et al.*, 2014; Almazán, 2019). La actividad estacional de los adultos se ve afectada principalmente por las lluvias y la temperatura.

La medida más práctica de prevención es el control vectorial, especialmente en el contexto doméstico mediante uso de aerosoles insecticidas, mosquiteros impregnados, gestión y manejo del medio, así como la protección personal (OMS, 2020). Una de las medidas fundamentales para reducir la incidencia de la LV es controlar la transmisión vectorial canina mediante tratamientos de perros con formulaciones insecticidas veterinarias (Alexander & Maroli, 2003; Bray *et al.*, 2010; Claborn, 2010). En la actualidad lo insecticidas neurotóxicos utilizados para el control de insectos vectores están siendo muy cuestiona-

dos por su toxicidad en mamíferos, En general, los tratamientos no se dirigen específicamente al control de las larvas de flebótomos, ya que sus criaderos son difíciles de localizar (Casanova *et al.*, 2013). La aplicación de insecticidas en focos urbanos es una importante táctica de control de vectores para reducir la transmisión urbana.

En el presente trabajo se evaluó un sistema experimental para determinación de la efectividad de principios activos larvicidas sobre estadios inmaduros de *Lu. longipalpis*, utilizando el piriproxifeno en este caso, un principio activo conocido como IGR (“Insect Growth Regulator”), que actúa como mímico de la hormona juvenil de los insectos (la neotenina) interrumpiendo la metamorfosis de los estadios inmaduros del flebótomo impidiendo que alcancen el estadio adulto, bajando los niveles poblacionales en forma paulatina. El trabajo aquí descrito es una prueba piloto tanto de la metodología de evaluación, como de la efectividad del principio activo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

La obtención de material biológico, se realizó en la ciudad de Posadas, provincia de Misiones, Argentina (27°22'00" LS; 55°53'49" LO), capturando en campo ejemplares vivos de flebótomos en aquellos sitios que reunían las condiciones donde la captura de estos insectos era probable. Dichos escenarios se caracterizaban por la presencia de sombra, tierra húmeda, detritos orgánicos, proximidad a par-

ches de vegetación densa y accesibilidad a fuentes de ingesta sanguínea (animales de corral, caniles, etc.) sin interferencia de luces externas (Correa-Antonialli *et al.*, 2007). Para la captura se utilizaron trampas de luz del tipo CDC (Center for Disease Control) que utilizaron como atrayente una fuente de luz que está asociada a una hélice cuyo movimiento aspira los insectos hacia un recipiente colector (Almazán, 2019) (Fig. 1). Las trampas fueron colocadas dentro de los gallineros, si había presentes en las viviendas, o en aquellas áreas que

reunían las condiciones anteriormente descritas, entre las 18:00 y las 06:00 h, luego de retiradas se las trasladaron al laboratorio para comenzar con la alimentación y cría de los flebótomos utilizando el protocolo original de cría del Laboratorio de Transmisores de Leishmaniosis - Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – Rio de Janeiro, Brasil) (Souza *et al.*, 1995) y adaptado al laboratorio del Instituto Municipal de Vigilancia y Control de Vectores, Municipalidad de Posadas, Misiones por Pettersen *et al.* (2015).



Figura 1. Captura de flebótomos con trampas de luz en el Posadas, Misiones, Argentina.

Una vez colectados los insectos a campo se enviaban al laboratorio para colocarlos en las jaulas de cría,

constituidas en material acrílico, en forma de cubo de 20x20 cm, presentando dos de sus laterales con

tela mosquitero muy fina que permitía la circulación de aire y un orificio en la parte anterior para introducir los insectos y los recipientes para su alimentación e hidratación. Dicho orificio de 10 cm de diámetro, fue cerrado mediante una media cortada de lycra a fin de evitar que los individuos salgan de las jaulas. Se procedió a la alimentación de las hembras y se esperó a que realicen la cópula (Fig. 2), para luego separar las hembras en

potes individuales hasta la postura de huevos (Fig. 3), eclosión de las larvas y posterior utilización para el ensayo. Una vez que la hembra colocaba los huevos y moría, se procedía a su identificación y determinación taxonómica, mediante observación de sus órganos genitales, y se seleccionaban solamente aquellas larvas que eclosionaban de huevos correspondientes a la especie *Lu. longipalpis* para la realización del ensayo.



Figura 2. Jaulas para cría de flebótomos (a la izquierda se observan hembras alimentadas con el abdomen rojo y a la derecha hembra y macho copulando).



Figura 3. Hembras de *Lutzomyia longipalpis* separadas en pots individuales hasta la postura de huevos.

Diseño experimental

Para el presente trabajo se impregnaron en forma homogénea mediante el uso de una pipeta de 5 mL y en forma espiralada hacia el centro, discos de pa-

pel de filtro cualitativo Whatman® N° 1 de 7 cm de diámetro con solución de acetona: silicona (1:1) solamente para el Grupo Control y los tratados fueron impregnados con solución de acetona: si-

licona (1:1) y el principio activo piriproxifeno, (2- [1-metil-2- (4-fenoxifenoxi) etoxi] piridina; grado técnico 97,8%; China Kelinon Agrochemical Co. Ltd., Shanghai, China) en concentración de $5 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$ (Grupo tratado A) y $50 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$ (Grupo tratado B). Luego de la impregnación se dejaron secar por 24 h para evaporación de la acetona.

Se prepararon potes descartables de plástico de 250 g de capacidad con una base de yeso de aproximadamente 0,5 cm, sobre la cual se colocó un papel filtro por pote (el correspondiente a cada tratamiento) una vez que la base de yeso se encontraba seca, se colocaron sobre dicho papel (control o tratado) 10 larvas del segundo estadio de *Lu. longipalpis* a las cuales se les suministró el alimento de cría, esto se realizó por triplicado. Todos los potes fueron mantenidos en condiciones idénticas a las que habitualmente se utilizan para la cría de flebótomos ($T = 27^\circ\text{C} \pm 1$; Humedad relativa alta, superior al 70% y oscuridad).

RESULTADOS

Como resultados del ensayo, se

observó que el 60% de las larvas de flebótomos del Control alcanzaron el estadio de larva III avanzado, mientras que en el Grupo A (con concentración de $5 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$) y el Grupo B (con concentración de $50 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$) solo el 30% y 40% de las larvas respectivamente, pudieron alcanzar dicho estadio III (Fig. 5), pudiéndose observar también algunos efectos del piriproxifeno en las larvas de los grupos tratados (Fig. 6). Posteriormente de alcanzar el estado de larva III, en donde comienzan a ser más activas y se desplazan ágilmente, muchos individuos se ubicaron por debajo del papel filtro sin poder volver a subir, lo cual ha disminuido considerablemente la población en estudio ya que no podían acceder al alimento y otras por causa de los hongos que proliferaban debajo del papel de filtro en donde quedaban retenidas y se morían, lamentablemente esto fue observado en todos los potes evaluados, tanto los del grupo control como los de los grupos tratados con la solución con piriproxifeno lo cual impidió continuar con la evaluación.

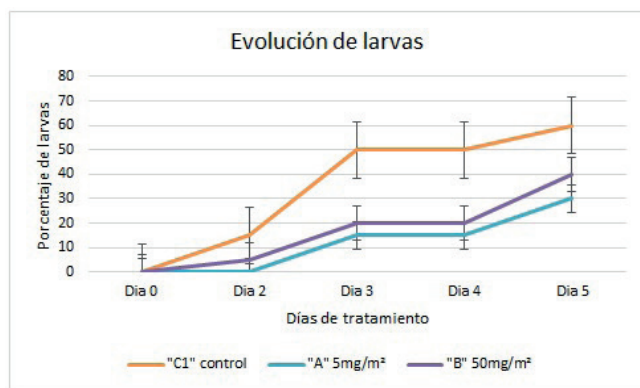


Figura 5. Evolución de larvas de *Lutzomyia Longipalpis* del estadio II a III.



Figura 6. Larvas de *Lutzomyia longipalpis* afectadas por el piriproxifeno en el Tratamiento B ($50 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$).

DISCUSIÓN

Como se puede observar en el trabajo, se realizó un gran esfuerzo para la realización del ensayo, ya que se ha partido de material biológico capturado a campo en la ciudad de Posadas, provincia de Misiones, Argentina, el cual fue acondicionado y adaptado a condiciones de laboratorio para luego establecer, de cero, la cría de flebótomos en el mismo.

El trabajo aquí presente es netamente descriptivo y novedoso en cuanto a su metodología de evaluación, ya que se realizó mediante la exposición de las larvas a superficies tratadas con el principio activo insecticida,

en este caso piriproxifeno. Si bien hay trabajos en dónde se evalúa en laboratorio la efectividad de distintos principios activos sobre flebótomos, principalmente son realizados incorporando el mismo a la dieta de cría de los mismos, ya sea en estado larval (Coelho *et al.*, 2006) como en adulto (Andrade-Coelho *et al.*, 2014), sin saber con exactitud cuánto es ingerido realmente. El presente trabajo, utiliza una metodología de evaluación realizada mediante la exposición directa de las larvas a una superficie de papel filtro impregnada con una dosis exacta de principio activo, sobre la cual dichos estadios juveniles se mue-

ven tomando contacto estrecho con la superficie tratada y esto se debe a que el piriproxifeno actúa por ingestión, pero también por contacto (Salomón *et al.*, 2012b; Sabtharishi & Shankar-ganesh, 2016).

Si bien los resultados no se han podido analizar estadísticamente, lo que se ha podido observar es de suma importancia para comenzar a evaluar más en profundidad la efectividad del piriproxifeno, gracias a estos resultados y los obtenidos en ensayos anteriores a campo (Juan *et al.*, 2016; Gómez-Bravo *et al.*, 2019) en donde se han aplicado formulaciones, que contenían éste activo, en los peridomicilios con presencia de flebótomos y se han observado disminuciones poblacionales significativas en los mismo durante periodos de tiempo prolongados.

En el presente trabajo se pudo observar que el desarrollo post-embrionario de *Lu. longipalpis* expuesta a piriproxifeno se interrumpe en la etapa de pupa evitando la aparición de insectos adultos. Resultados similares se han obtenido para el díptero *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) utilizando una formulación combinada de piriproxifeno y un piretroide, brindando una acción larvicida y adulticida, respectivamente (Lucia *et al.*, 2009), donde el efecto de la inhibición de pi-

riproxifeno se registró durante las seis semanas posteriores al tratamiento. Martiradonna-Ochipinti *et al.* (2014) realizaron bioensayos en condiciones de laboratorio con una formulación granulada conteniendo piriproxifeno como principio activo y utilizando larvas de *Ae. aegypti* en donde observó una efectividad de control hasta 90 días post-tratamiento. A su vez, Sánchez (2007), evaluó la efectividad del piriproxifeno sobre criaderos naturales de *Ae. aegypti* en condiciones de campo notándose un efecto de control poblacional hasta 15 semanas post-tratamiento.

Si bien es necesario continuar con la evaluación de dicho principio activo, modificando el diseño experimental y variando la forma de administración del mismo, para evitar que las larvas se ubiquen por debajo de los papeles impregnados, se puede estimar que el IGR piriproxifeno es un principio activo promisorio para el control de las formas inmaduras del vector de leishmaniosis *Lu. longipalpis*, bajo un programa de control integrado que combine la pulverización de una formulación larvicida con piriproxifeno, en reemplazo de los principios activos neurotóxicos utilizados actualmente, con métodos de prevención como protección personal, manejo ambiental y educación sanitaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acardi, S.A.; Liotta, D.J.; Santini, M.S.; Romagosa, C.M. & Salomón, O.D. 2010. Detection of *Leishmania infantum* in naturally infected *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and *Canis familiaris* in Misiones, Argentina: the first report of a PCR-RFLP and sequencing-based confirmation assay. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 105: 796-799.

- Andrade-Coelho, C.; Souza, N.; Silva, V.C.; Souza, A.A.; Gonzalez, M. & Rangel, E. 2014. Effects of azadirachtin on the biology of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) adult female, the main vector of american visceral Leishmaniasis. *Journal of Medical Entomology*, 51: 891-895.
- Alexander, B. & Maroli, M. 2003. Control of phlebotomine sandflies. *Medical and Veterinary Entomology*, 17: 1-18.
- Almazán, M.C. 2019. *Tipificación de las especies de Lutzomyia que actúan como potenciales vectores de Leishmania spp. en la provincia de Salta* (Tesis doctoral). Escuela de Posgrado de la Facultad de Ciencias Naturales-Universidad Nacional de Salta.
- Blanco, J.; Ferro, N.; Gould, I.; Casas, N. & Salomón, O. 2014. Estudio de foco ante el primer caso humano de leishmaniasis visceral en Paso de los Libres, provincia de Corrientes. Diciembre de 2013. *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes*, 9: 53-54.
- Bray, D.; Alves, G.; Dorval, M.E.; Brazil, R.P. & Hamilton, J. 2010. Synthetic sex pheromone attracts the leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* to experimental chicken sheds treated with insecticide. *Parasites & Vectors*, 3: 3-16.
- Cameron, M.M.; Pessoa, F.A.; Vasconcelos, A.W. & Ward, R.D. 1995. Sugar meal sources for the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Ceara State, Brazil. *Medical and veterinary entomology*, 9: 263-272.
- Casanova, C.; Andrighetti, M.T.M.; Sampaio, S.M.P.; Marcoris, M.L.G.; Colla-Jacques, F.E. & Prado, A.P. 2013. Larval breeding sites of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in visceral leishmaniasis endemic urban areas in southeastern Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7: e2443.
- Casas, N. 2017. *Leishmaniasis visceral, enfermedad emergente: triada epidemiológica humana, animal y vectorial en el Nordeste argentino* [Tesis de Maestría]. Universidad Nacional de Lanús. Departamento de Salud Comunitaria.
- Cazorla, D.J.; Nieves, E. & Morales, P. 2014. Patrones de coocurrencia y conducta alimentaria a escala local de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) del estado Falcón, Venezuela. *Revista Peruana de Biología*, 21: 099-104.
- Claborn DM. 2010. The biology and control of leishmaniasis vectors. *Journal of Global Infectious Diseases*, 2: 127-34.
- Coelho, C.A.A.; Araujo, N.S.; Feder, M.D.; Da Silva, C.E.; De Souza, E.G.; Azambuja, P.; Salabert, M.G. & Rangel, E.F. 2006. Effects of azadirachtin on the development and mortality of *Lutzomyia longipalpis* larvae (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Journal of Medical Entomology*, 43: 262-266.
- Correa-Antonialli, S.A.; Torres, T.G.; Paranhos Filho, A.C. & Tolezano, J. E. 2007. Spatial analysis of American visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul state, Central Brazil. *Journal of infection*, 54: 509-514.
- Galati, E. 2014. *Classificação, morfologia, terminologia e identificação de Adultos: Bioecologia e Identificação de Phlebotominae*. Rangel, E. & R. Lainson (Eds.). Rio de Janeiro, Brazil: Fiocruz.

- Gómez-Bravo, A.; Alvarez Costa, A.; Fronza, G.; Abril, M.; Zerba, E. & Juan, L. 2019. High effectiveness of an adulticide-larvicide formulation for field control of sandflies (Diptera: Psychodidae) in the city of Clorinda, Argentina. *Journal Parasite Epidemiology and Control*, 7: e00110.
- Juan, L.W.; Lucia, A.; Alzogaray, R.; Steinhorst, I.; Lopez, K.; Pettersen, M.; Busse, J. & Zerba, E. 2016. Field evaluation of a new strategy to control *Lutzomyia longipalpis*, based on simultaneous application of an adulticide-larvicide mixture. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 32: 224-229.
- Killick-Kendrick, R. 1999. The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology*, 17: 279-289.
- Lainson, R. & Rangel, E.F. 2005. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 100: 811-827.
- Lucia, A.; Harburguer, L.; Licastro, S.; Zerba, E.N. & Masuh, H. 2009. Efficacy of a new combined larvicidal-adulticidal ultra-low volume formulation against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), vector of dengue. *Parasitology Research*, 104: 1101-1107.
- Martiradonna-Ochipinti, G.; Berti, J.; Guerra, L.A.; Salazar, M.; Escobar, C.Z.; Gómez, J. A. 2014. Efecto del regulador de crecimiento pyriproxyfen sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) de La Pedrera, Maracay, estado Aragua, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 54: 208-219.
- Molyneux, D.H. & Ashford, R.W. 1983. The biology of *Trypanosoma* and *Leishmania*, parasites of man and domestic animals. Taylor & Francis. London.
- Molina-Avila, I.J.; Pimentel-Sola, J.M.; García-Bustos, M F.; Pimentel-Sola, J.; Marco-Jorge, D.; Brunetto, G.; Córdoba, M. & Cordero-Torres, K. 2020. Leishmaniasis Mucocutánea con manifestacion oral: Reporte de un caso. *International journal of odontostomatology*, 14: 342-347.
- Morrison, A.C.; Ferro, C.; Pardo, R.; Torres, M.; Devlin, B.; Wilson, M.L. & Tesh, R.B. 1995. Seasonal abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Dipteral Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. *Journal of Medical Entomology*, 32: 538-548.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2020. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
- Pettersen, U. M.; Escobar, I.; Juan, L. W.; Montero, G. O.; Lopez, K.; Steinhorst, I.; Caballero, M.; Tartaglino, L. 2015. *Establecimiento de una colonia de laboratorio de Lutzomyia longipalpis en la ciudad de Posadas, Misiones*. Libro de resúmenes de presentaciones del XII Simposio Internacional sobre enfermedades desatendidas. Organizado por la Fundación Mundo Sano. Buenos Aires, Argentina. p. 34. <https://mundosano.org/download/libro-resumenes.pdf>
- Rodríguez, J. & Isaza, L. 2018. *Generalidades de los flebótomos causantes de la leishmaniasis y factores de riesgo que inciden en la propagación de la enfermedad*. En: Y. Hernández & A.J. Aguilar-Barreto. (Ed.), *La investigación*

- social: comprendiendo fenómenos en contexto. pp. 128-157. Cúcuta, Colombia: Ediciones Universidad Simón Bolívar.
- Sabtharishi, S. & Shankarganesh, K. 2016. Insect hormones (as pesticides). *Ecofriendly Pest Management for Food Security*, 20: 613-650.
- Salomón, O.; Sinagra, A.; Nevot, M.; Barberian, G.; Paulin, P.; Estevez, J.; Riarte, A. & Estevez, J. 2008. First visceral leishmaniasis focus in Argentina. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 103: 109-111.
- Salomón, O.D.; Quintana, M.G.; Mastrángelo, A.V. & Fernández, M.S. 2012a. Leishmaniasis and climate change-case study: Argentina. *Journal of Tropical Medicine*, 2012: 601242.
- Salomón, O.D.; Mastrángelo, A.V.; Santini, M.S.; Ruvinsky, S.; Orduna, T.; Sinagra, A.; Luna, C.; Riarte, A.; Casas, N. & Amiotti, P. 2012b. Leishmaniasis visceral: senderos que confluyen y se bifurcan. *Salud Colectiva*, 8: 49-63.
- Salomón, O.D.; Feliciangeli, M.D.; Quintana, M.G.; Afonso, M.M. & Rangel, E.F. 2015. *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 110: 831-846.
- Sanchez, R.C. 2007. Efecto y uso del Pyriproxyfen® (Sumilarv 0.5G) para el control vectorial del dengue en criaderos naturales de *Aedes aegypti* (L) comunidad de Villa del Rosario, Norte de Santander, Colombia. *Vector & Pest Magazine*, 1: 11-14.
- Sánchez-Romero, C.; Júnior, H.M.; Matta, V.L.R.; Freitas, L.M.; Soares, C.M.; Mariano, F.V.; de Almeida, O.P. & Nascimento de Aquino, S. 2020. Immunohistochemical and molecular diagnosis of mucocutaneous and mucosal Leishmaniasis. *International Journal of Surgical Pathology*, 8: 138-145.
- Sharma, U. & Singh, S. 2008. Insect vectors of Leishmania: distribution, physiology and their control. *Journal of Vector Borne Diseases*, 45: 255-272.
- Souza, N.A.; Andrade-Coelho, C.A.; Barbosa, A.F.; Vilela, M.L.; Rangel, E.F. & Deane, M.P. 1995. The influence of sugars and amino acids on the blood-feeding behaviour, oviposition and longevity of laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 751-757.
- Volf, P. & Volfova, V. 2011. Establishment and maintenance of sand fly colonies. *Journal of Vector Ecology*, 36 Suppl, 1: S1-S9.
- WHO (World Health Organization). 2003. *Pyriproxyfen in drinking water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water Quality*. Geneva (WHO/SDE/WSH/03-04/ 113) Switzerland.
- WHO (World Health Organization). 2015. *Leishmaniasis*. Fact Sheet 375. WHO, Geneva, Switzerland <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/#>. Accessed date: 27 June 2018.

Received November 27, 2020.

Accepted December 10, 2020.