

Estudio Epidemiológico de Leishmaniasis Visceral en El Limón, al norte del Estado Lara, Venezuela.

Ersi J. Vargas-Díaz¹, Néstor Áñez², Agustina Rojas², Gladys Crisante² & José Yancarlos Yépez¹

El Limón es una comunidad rural ubicada en el Municipio Urdaneta, al Norte del Estado Lara, que limita al Norte con el Municipio Unión, Estado Falcón, Venezuela, una conocida área endémica de leishmaniasis visceral. Debido a su proximidad y tratándose ecológicamente de la misma zona de vida, se realizó en este caserío un estudio epidemiológico, con el objeto de determinar la seroprevalencia a *Leishmania* sp. humana y canina; e identificar la flebotomofauna de la zona. Se seleccionó una muestra probabilística por azar simple de 71 humanos y 18 caninos, que fueron evaluados por tres métodos serológicos (TAD, IFI, ELISA) para detectar infección por *Leishmania* sp., encontrándose una seropositividad de 21% y 89% respectivamente. Se realizaron capturas quincenales en refugios naturales y con trampa de Shannon, que revelaron la presencia de *Lutzomyia evansi* en el área estudiada. La alta seroprevalencia humana y canina observada y la presencia de una especie incriminada en otras áreas como vectora de *Leishmania*, sugieren que el caserío El Limón es un foco endémico para leishmaniasis visceral.

Palabras claves: *Leishmaniasis visceral*, seroprevalencia, Estado Lara, Venezuela, estudio epidemiológico.

INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis visceral (LV) es la forma clínica más grave de las leishmaniasis, que puede ser fatal sino se realiza diagnóstico precoz y se administra tratamiento oportunamente (OPS/OMS, 2002). En América se calcula una incidencia anual de 16.000 casos, y una población en riesgo de infección en el orden de $1,5 \times 10^6$ personas y los países que reportan mayor prevalencia son Brasil, Colombia y Venezuela (Ashford *et al*, 1992; WHO, 2000; TDR, 2002).

En Venezuela se han descrito tres principales focos de leishmaniasis visceral (LV): un foco Central

que comprende los estados Aragua, Carabobo, Guárico, Cojedes y Yaracuy; un foco Occidental: conformado por los estados Falcón, Lara, Portuguesa, Trujillo y Zulia y un foco Oriental constituido por los estados Nueva Esparta, Sucre, Anzoátegui y Monagas (Felicíangeli, 1991).

En lo que respecta al foco Occidental, específicamente en el estado Lara, durante el período 1958-1982, se reportaron 37 casos pediátricos de LV, la mayoría de los cuales procedentes del Municipio Urdaneta al Norte del estado. En el lapso 1995-1998 se diagnosticaron otros 18 casos procedentes de la zona; y además Bonfante-Garrido *et al* (1995) identificaron a *Lutzomyia evansi* predominando sobre *Lu. longipalpis* en esta región semiárida (Bonfante-Garrido & Barroeta, 2002).

El estado Falcón también forma parte del foco Occidental de LV. En 1995 Yépez *et al*. diagnosticaron dos (2) casos pediátricos procedentes de municipio Unión al sur del estado, por lo cual realizaron un estudio sero-epidemiológico en las poblaciones humanas y caninas de la zona, encontrando 27,7% (10/36) y 38%

¹ Unidad de Medicina Tropical y Parasitología "J. V. Scorza", adscrita al Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda (UNEFM), C/ Zamora, Complejo Académico Borregales, detrás del Teatro Armonía. Coro, Estado Falcón, Venezuela.
e-mail: ersivargas@hotmail.com, evargas@unefm.edu.ve, yanyeppez@hotmail.com, yyeppez@yahoo.com

² Investigaciones Parasitológicas "J. F. Torrealba", Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

(5/13) de sero-positividad para *Leishmania* sp. respectivamente. Además capturaron e identificaron las siguientes especies flebotominas: *Lu. evansi*, *Lu. panamensis*, *Lu. atroclavata* y *Lu. venezuelensis*.

Monzart & Moron (1995) realizaron un estudio canino en el municipio Unión al sur del estado Falcón y reportaron un 16,6% (5/30) de reactividad serológica.

Cordero *et al*, (1998) encontraron otros 8 casos durante el período 1990-1996 procedentes del sur del estado Falcón, detectando 28,07% (32/114) de sero-actividad humana a *Leishmania* e identificando a *Lu. evansi* como especie flebotomina dominante.

Recientemente, Vargas-Díaz & Yépez (2004) hicieron una revisión de la casuística de LV para el estado Falcón durante el periodo 1990-2003, encontrando un total de 15 casos, procediendo el 47% (7/15) de los casos, del Municipio Unión, el cual limita con el Municipio Urdaneta del estado Lara.

Todo lo antes expresado y tomando en cuenta que existe una sub-notificación de casos de LV y que el número de personas expuestas a la infección o infectadas que no tienen signos ni síntomas es mucho mayor que el número de casos clínicos de esta entidad

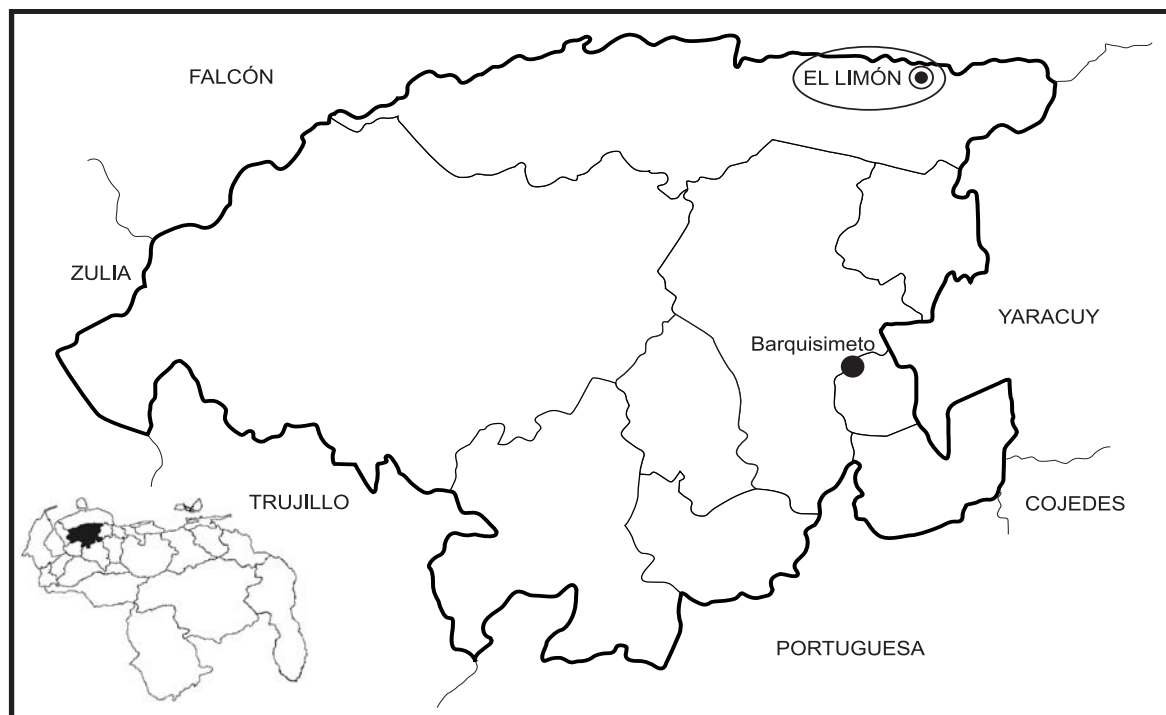
nosológica, nos estimuló a continuar realizando estudios de esta endemia, profundizar en su diagnóstico y en su dinámica de transmisión en la región Nor-Occidental del Estado Lara, que limita con el Municipio Unión del Estado Falcón, con características climático-ambientales similares. Por lo cual se plantea como objetivos del presente trabajo investigar la situación de la leishmaniasis visceral humana y canina e identificar la fauna flebotómica en el caserío El Limón.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

El Limón es una comunidad rural ubicada en la parroquia Moroturo del Municipio Urdaneta, al norte del estado Lara (10°34'23"N y 69°41'53"W), se encuentra a 120 msnm; es una zona semiárida cuya zona de vida corresponde a un bosque seco espinoso, con una temperatura media anual de 28,3°C y humedad relativa del 70%. Limita por el norte con el río Limón, que lo separa del Municipio Unión del estado Falcón (Ewel *et al*, 1976; FUDECO, 2004). Está constituida por 417 personas, de las cuales 201 (48,2%) corresponden al sexo masculino y 216 (51,8%) al sexo femenino, caracterizándose por ser una población eminentemente joven, ya que el 60,4% (252/417) pertenecen a los

Fig. 1. Ubicación relativa del caserío El Limón, Municipio Urdaneta, Estado Lara



grupos etarios menores de 30 años. Al realizar el censo canino, se encontró un total de 68 perros, distribuidos en 36 machos y 32 hembras.

El cálculo de la muestra para el estudio serológico se realizó utilizando el programa EPI Info 6.04, tomando como prevalencia esperada 27,7%, reportada en la zona limítrofe, Municipio Unión por Yépez *et al* (1995), peor resultado esperado 18,5% y límites de confianza de 95%, lo cual arrojó un total de 75 personas a muestrear, quienes se seleccionarían por azar simple. No obstante la muestra final quedó constituida por 71 humanos, 45 del género femenino y 26 masculino de diferentes grupos etarios. Para la población canina (n=68) se asumió una prevalencia esperada de 38% (Yépez *et al*, 1995), peor resultado esperado 19% y límites de confianza 95%, para un total del 18 perros a muestrear de los cuales 10 fueron machos y 8 hembras.

La población fue previamente informada acerca del estudio a realizar, y en consentimiento escrito manifestaron su acuerdo en participar o bien dieron autorización para la participación de sus representados. Igualmente se obtuvo el consentimiento de los dueños de los perros para que éstos fueran examinados.

Es importante aclarar que en El Limón no se han reportado casos de infecciones por *Trypanosoma cruzi*, ni lesiones de leishmaniasis cutánea. Los individuos muestreados declararon haber vivido siempre en la zona, conocer y ser frecuentemente picados por flebotominos, especialmente durante los meses lluviosos, mientras que negaron conocer los triatominos.

Estudio Clínico y Serológico de Humanos y Caninos

A cada una de las personas y perros, se les realizó un examen físico integral, y se les extrajeron 6 cc de sangre por venopunción periférica, los cuales se almacenaron en tubos de ensayo debidamente rotulados y posteriormente se centrifugaron por 10

minutos para obtener el suero. A cada suero problema se les realizaron las tres pruebas inmuno-diagnósticas recomendadas por la Organización Mundial de la Salud, (OPS/OMS, 2002; TDR, 2002), para la detección de anticuerpos circulantes anti-*Leishmania*. Estos fueron el Test de Aglutinación Directa (TAD), con 2 beta-mercaptoetanol, Inmuno-Fluorescencia Indirecta (IFI), con punto de corte 1:64 y Ensayo Inmuno-Enzimático (ELISA) cuyo punto de corte fue 1:100, con una densidad óptica (DO) mayor de 0,4, siguiendo el protocolo de trabajo previamente estandarizado por Áñez *et al* (2003). El antígeno se preparó con promastigotes de cultivo de *Leishmania donovani* (MHOM/Et/67/HU3). Se consideró seropositivo al individuo con dos o más pruebas positivas.

Estudio de la Fauna Flebotomina

Se realizó una captura de flebotominos mensual durante un año (12 capturas en 12 meses de trabajo), utilizando las técnicas de aspiración directa en refugios naturales y trampa de Shannon con luz fluorescente en el peri-domicilio desde las 19:00 hasta las 21:00 horas. Los ejemplares capturados fueron trasladados al laboratorio en cavas con alta humedad, donde fueron disecados e identificados por medio de las claves taxonómicas de Forattini (1973) y Young & Duncan (1994). Se observaron los tractos digestivos de las hembras disecadas, con el propósito de detectar infección natural.

RESULTADOS

Se determinó 21,13% (15/71) de sero-reactividad para *Leishmania* sp. en los humanos muestreados, correspondiendo diez (10) al sexo femenino y cinco (5) al sexo masculino, y nueve (9) de los seropositivos fueron menores de 15 años. Es importante aclarar que no se evidenciaron signos ni síntomas en las evaluaciones clínicas realizadas a los individuos, ni se demostraron diferencias estadísticamente significativas en la infección por *Leishmania* en cuanto a grupo etario ($\chi^2 = 0,06$; $p = 0,8048$) y género (test de Fisher: $p = 0,5081$).

De igual modo, fueron evaluados clínicamente y serológicamente 18 perros (*Canis familiaris*) resultando 16/18 (88,8%) sero-positivos a *Leishmania* sp. por TAD, (IFI) y Ensayo Inmuno-Enzimático (ELISA), no obstante, ninguno de los caninos estudiados presentó signos clínicos de leishmaniasis.

Tabla I. Diagnóstico Serológico en Humanos y Perros de El Limón- Norte del estado Lara, Venezuela.

	Nº Positivos (%)	Nº Negativos (%)	Total
Humanos	15 (21,1)	56 (78,9)	71
Perros	16 (88,9)	2 (11,1)	18

En las 12 capturas realizadas durante el año de trabajo, se colectaron 395 ejemplares, lográndose identificar entre otras especies a *Lu. evansi* como especie antropofílica incriminada en la transmisión de LV, predominando en 51,1% (202/395), con trampa de Shannon se capturó el 72% (145/202) y en refugios naturales el 28% (57/202) ejemplares, para un total de 171 (85%) hembras y 31 (15%) machos de *Lu. evansi*.

Se disecaron en solución salina estéril todas las hembras de las diferentes especies capturadas, tanto

Tabla II. Catastro de flebótomos, según especie, género y tipo de captura, El Limón, Estado Lara, Venezuela.

Especie	Refugio Natural		Trampa de Shannon		Total	%
	Machos	Hembras	Machos	Hembras		
<i>Lu. evansi</i>	13	44	18	127	202	51,1
<i>Lu. panamensis</i>	12	11	20	20	63	16
<i>Lu. venezuelensis</i>	40	30	29	31	130	32,9
Total	65	85	67	178	395	100

en refugios naturales como con trampa de Shannon, y los 263 tractos digestivos fueron minuciosamente examinados con microscopio compuesto (400x) para búsqueda de infección natural a *Leishmania* sp., sin embargo en ningún ejemplar se observaron formas flageladas del parásito.

DISCUSIÓN

La LV en Venezuela es de carácter focal, se presenta en forma esporádica o en pequeños brotes epidémicos, se caracteriza por un sub-registro que puede ser hasta 3 veces mayor que la prevalencia oficialmente registrada (Felicangeli, 1991). La localidad El Limón es una zona rural semi-xerófila con características climático-ambientales similares a las descritas por Pifano & Romero (1964; 1973) en el foco ubicado en la Isla de Margarita.

En el presente trabajo, por medio de TAD, IFI y ELISA, las pruebas serológicas recomendadas por la OMS, debido a su sensibilidad y especificidad, se determinó una seroprevalencia anti-*Leishmania* de 21,13% en la población humana evaluada, los cuales fueron clínicamente asintomáticos. Estos hallazgos adquieren relevancia, debido a que El Limón está localizado en el municipio Urdaneta del estado Lara, donde se ha reportado una alta prevalencia de leishmaniasis visceral (Bonfante-Garrido & Barroeta, 2002) y por su proximidad al foco del municipio Unión,

de donde proceden la mayoría de los casos de LV del estado Falcón (Vargas-Díaz & Yépez, 2004). Además en la zona estudiada no se han reportado hasta la actualidad, casos de leishmaniasis cutánea ni de enfermedad de Chagas.

Resultados serológicos similares a los detectados en el presente trabajo fueron reportados por Cordero, *et al* (1998), quienes utilizando las mismas pruebas inmuno-diagnósticas, encontraron 28,07% (32/114) de personas sero-reativas al antígeno de *Leishmania* sp., siendo el 53% (17/32) menores de 15 años de edad. De igual manera, Ferrer, *et al* (1995) utilizando el método de ELISA detectaron anticuerpos anti-*Leishmania* en 17,8% de la población humana evaluada en un foco peri-urbano de LV en Valencia, la capital del Estado Carabobo, correspondiendo el 58% de los individuos sero-positivos a menores de 20 años. En contraste, Zulueta *et al* (1999) encontraron 10,2% (19/187) de sero-positividad en los familiares asintomáticos que viven con los casos previamente reportados en el Estado Anzoátegui, y sólo 3% (5/169) en los demás residentes sanos del área.

En lo que respecta a la población canina de El Limón, de los 18 perros examinados ninguno presentó signos clínicos de leishmaniasis, no obstante se determinó una sero-positividad de 88,8% (16/18). Los datos de seroprevalencia en los perros, reservorios domésticos de LV, varían grandemente de un foco a otro. En una muestra mucho mayor, Torrealba (1970) reportó solamente un 2,28% (52/2276) de positividad serológica en perros del estadio Guárico. Aguilar *et al* (1995) reportaron 27,3% (21/77) de sero-positividad por medio de IFI en el Estado Carabobo; luego Delgado *et al* (1998) empleando las pruebas de FG, IFI y Western blot (WB) en 71 perros en el Estado Aragua, determinaron un 5,6% de positividad, la cual aumentó a 15,5% (11/71) al realizar la técnica de contra-inmuno-electroforesis (CIEP). Por otro lado, en la misma muestra, con pruebas moleculares, PCR e hibridación, se detectó 35% de infección a *Leishmania* sp. (Guevara *et al*, 1999), por lo cual los autores concluyeron que pueden existir infecciones inaparentes, sin respuesta inmunológica, que únicamente se detecten con PCR.

Los hallazgos más parecidos a los obtenidos en el presente trabajo son los que reportaron Zulueta *et al* (1999) en el Estado Anzoátegui, quienes evaluaron 6 perros, resultando 83% (5/6) con sero-reatividad por ELISA y 100% por PCR. De igual manera, Zepa *et al* (2000) en la Isla de Margarita encontraron un 40% de

sero-positividad por medio de ELISA utilizando el antígeno rK39 de *L. chagasi*, luego, realizando PCR, resultaron positivos el 79% de los perros estudiados.

En cuanto a las especies de flebotominos capturadas en El Limón, es importante señalar que *Lu. evansi* fue por primera vez incriminado como posible transmisor de LV en la Isla Margarita, Venezuela por Pifano & Romero (1964). Bonfante-Garrido (1995) refiere que en norte del Estado Lara la especie flebotomina predominante es *Lu. evansi*; de igual manera ocurre en algunas localidades del Estado Trujillo, donde Moreno & Oviedo (1995) encontraron a *Lu. evansi* como especie más abundante (99,9%). Una situación similar fue reportada por Aguilar et al. (1995) quienes la encuentran infectada naturalmente a *Leishmania sp.* En el Estado Aragua, Feliciangeli et al (1993, 1999) colectaron 11 especies de flebotominos incluyendo *Lu. evansi* y *Lu. longipalpis*, siendo la especie dominante (86,4%) *Lu. evansi*, la cual fue encontrada naturalmente infectada con *Le. chagasi*, confirmándose el papel vectorial de esta especie.

Tomando en cuenta todo lo antes mencionado, se puede concluir que la localidad El Limón, ubicada al Norte del estado Lara es una zona rural que presenta una elevada seroprevalencia humana (21,13%) y canina (88,8%) a *Leishmania sp.* Además se comprobó la presencia de *Lu. evansi*, por lo cual se sospecha que sea la especie vectora de leishmaniasis visceral en este foco. Se considera que son necesarios estudios consecutivos para la caracterización epidemiológica del foco ubicado en la zona limítrofe Falcón-Lara, con la finalidad de poder diseñar estrategias oportunas para la prevención y el control de la LV en el área occidental del País.

EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF VISCERAL LEISHMANIASIS IN EL LIMÓN, IN THE NORTH OF LARA STATE, VENEZUELA

SUMMARY

El Limón is a rural community located in the Urdaneta Municipality, in the North of Lara State, Venezuela (10°34'23"N y 69°41'53"W), close to the Unión Municipality in Falcón State, where visceral leishmaniasis is well known. Because of the closeness to this endemic area and a similar ecological life zone, we carried out an epidemiological study in El Limón in order to investigate human and canine infection to *Leishmania sp.* and to identify the phlebotomine

sandfly species present in the area. 71 humans and 18 dogs were selected at random and evaluated using three serological methods (DAT, IFI, ELISA). 21% and 89% of humans and dogs, respectively, showed antibodies for *Leishmania sp.* Fortnightly catches of phlebotomine sandflies were carried out in natural refuges and with Shannon traps. *Lutzomyia evansi* was caught by both methods and was the most abundant species. The high seroprevalence detected in both the humans and canines tested, and the presence of a sand fly species incriminated in other areas as a *Leishmania* vector, confirm that El Limón is an endemic focus of visceral leishmaniasis.

Key words: visceral leishmaniasis, seroprevalence, Lara State, Venezuela, sero-epidemiologic study.

AGRADECIMIENTOS

A todos los habitantes de la comunidad El Limón, por su receptividad y cooperación para la realización del presente estudio. A la Dra. Dora Feliciangeli de Piñero por sus sugerencias en la preparación de este manuscrito. Al auxiliar de laboratorio Vicente Medina, por su valioso aporte en el trabajo de campo y de laboratorio.

REFERENCIAS

- Aguilar, C. M., Fernández, R. & Fernández, E. (1995). Leishmaniasis Visceral Periurbana. II. Infección Natural de *Lutzomyia evansi* (Diptera-Psychodidae). En el foco del barrio Los Magallanes. Edo. Carabobo. Venezuela. Acta Cient. Vzlan. **46**: 165.
- Áñez, N., Rojas, A., Crisante, G., Guevara, P. & Ramírez, J. L. (2003). Use of sentinel animals to demonstrate active leishmanial transmisión in an area with low frequency of human lesions in Wertern Venezuela. Rev. Pat. Trop. **32**: 63-72.
- Ashford, R. W., Desjeux, W. P. & de Raadt, P. (1992). Estimation of Population at Risk of Infection and Number of Cases of Leishmaniasis. Parasitol. Today. **8**: 104- 105.
- Bonfante-Garrido, R. & Barroeta, S. (2002). Leishmanias y Leishmaniasis en América con especial referencia a Venezuela. Tipografía y Litografía Horizonte C.A. Barquisimeto- Venezuela. 270 pp.

- Bonfante-Garrido, R., Urdaneta, R., Urdaneta, I., Alvarado, J., Anzola, N. H., De Torrealba, J., Saldívia, M. E, Cárdenas, E. Y., Copulillo, E, Momen, H. & Grimaldi, G. (1995). Phlebotomine sand flies in five endemic leishmaniasis foci in Lara state, Venezuela. Bol. Dir. Malariol. San. Amb. 35, Supl. 1: 53-62.
- Cordero, L., Dávila, A., García, H., Torres, A., Trasmonte, A., Cazorla, D. & Yépez, J. Y. (1998). Aspectos Eco-epidemiológicos de las Leishmaniasis en la Parroquia Vegas del Tuy, Municipio Unión, Estado Falcón. Consejo de Investigaciones/Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. V Jornadas de Investigación (Supl. 1). Falcón. Venezuela: 450 pp.
- Delgado, O., Feliciangeli, M. D., Gómez, R., Álvarez, J., García, L. & Bello, C. (1998). The Re-emergence of American Visceral Leishmaniasis in an Old Focus in Venezuela: Present situation on Human and Canine Infections. Parasite. 5: 317- 323.
- Ewell, J. J., Madriz, A. & Tossi, J. A. (1976). Zonas de vida de Venezuela. 2ª Edición. Edit. Sucre. Caracas. 270 pp.
- Feliciangeli, M. D. (1991). Vectors of Leishmaniasis in Venezuela. Parassitologia (Supl. 1), 33: 229-236.
- Feliciangeli, M. D., Gómez, B, Delgado, O., García, L. & Bello, C. (1993). Leishmaniasis visceral en el caserio La Ganadería de Guayabita, estado Aragua, Venezuela. Infección natural de *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) a *Leishmania* spp. Acta Cient. Vzlan. 44: 262.
- Feliciangeli, M. D., Rodríguez N, De Guglielmo Z, & Rodríguez A. (1999). The re-emergence of Visceral leishmaniasis in an Old Focus in Venezuela: Vectors and parasites. Parasite. 6:113-120.
- Ferrer, E., Cannova, D. C., Aguilar, C. M. & Cabrera, Z. (1995). Leishmaniasis Visceral Periurbana. III. Evaluación Serológica por ELISA. Barrio Los Magallanes. Edo. Carabobo. 1993-1994. Acta Cient. Vzlan. 46: 160.
- Forattini, O. P. (1973). Entomología Médica. 4º Volumen. Editorial Edgar Blucher Ltda., São Paulo.
- FUDECO (Fundación para el Desarrollo Centro Occidental). Atlas y Características Ambientales del Estado Lara. Venezuela (2004). 267 pp.
- Guevara, P., Delgado, O., Silva, S., Coraspe, V., Pecile, M., Feliciangeli, M. D. & Ramírez. J. L. (1999). Diagnóstico Molecular e Infecciones Inaparentes por Leishmania: I) El Perro como Reservorio en la Leishmaniasis Visceral Americana. Acta Cient. Vzlan. 50: 338.
- <http://araira.org/venezuela/mapas/larav.jpg>
- Monzart, G. & Moront, L. (1995). Leishmaniasis Visceral Canina en un Foco Endémico del Estado Falcón. Tesis de Grado. Mimeografiado. Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda”, Coro. 71 pp.
- Moreno, G. & Oviedo, M. (1995). Bionomy of Vector of American Visceral Leishmaniasis in Trujillo State, Venezuela. II. Longitudinal Study of *Lutzomyia evansi* in Endemic Situation. Talleres, Publ. Nº 4: 66 ULA/ Consejo de Publicaciones. Mérida- Venezuela
- OPS/OMS (2002). Definición de caso: Leishmaniasis Visceral. Boletín Epidemiológico. 23: 13-14.
- Pifano, F. & Romero, J. (1964). Investigaciones Epidemiológicas sobre la Leishmaniasis Visceral en la Isla de Margarita, Estado Nueva Esparta, Venezuela. Gac. Méd. Caracas. 72: 425- 430.
- Pifano, F. & Romero, J. (1973). Comprobación de un Foco Autóctono de Leishmaniasis Visceral (Kala-azar) en la Isla de Margarita, Estado Nuevo Esparta, Venezuela. Arch. Vzlanos. Med. Trop. y Parasitol. Med. 5: 129- 144.
- TDR (SPECIAL PROGRAMME FOR RESEARCH AND TRAINING IN TROPICAL DISEASE). (2002). Leishmaniasis. www.who.int/tdr: 1- 5.
- Torrealba, J. W. (1970). Observaciones sobre diagnóstico, terapéutica y evolución de la leishmaniasis visceral humana y canina. Tesis doctoral mimeografiada. Facultad de Medicina de la Universidad de Carabobo. Valencia- Venezuela. 367p.
- Vargas-Díaz, E. & Yépez, J. Y. (2004). Aspectos Epidemiológicos de la Leishmaniasis Visceral en Venezuela, con especial referencia al Estado Falcón. Bol. Malariol. Salud Amb. 44: 9-19.
- WHO (2000). Report on Global Surveillance of Epidemia-

- prone Infectious Diseases. WHO/CDS/CSR/ISR/2000. **1**: 121- 127.
- Yépez, J. Y., González, F., Cazorla, D. & Trasmonte, A. (1995). Estudio Epidemiológico de Leishmaniasis Visceral en Morrocoy, Municipio Unión del Estado Falcón. Consejo de Investigaciones/Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. V Jornadas de Investigación (Supl. 1). Falcón. Venezuela: 449 pp.
- Young, D. G. & Duncan, M. A. (1994). Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in México, the West Indies, Central and South America (Díptera: Psychodidae). Memoirs of the American Entomological Institute. 54. Associated Publishers, Gainesville, Florida- USA. 881 pp.
- Zerpa, O., Ulrich, M., Negron, E., Rodríguez, N., Centeno, M., Rodríguez, V., Barrios, R. M., Belisario, D., Reed, S. & Convit, J. (2000). Canine Visceral Leishmaniasis on Margarita Island (Nueva Esparta, Venezuela). Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. **94**: 484- 487.
- Zulueta, A. M., Villarroel, E., Rodríguez, N., Feliciangeli, M. D., Mazzarri, M., Reyes, O., Rodríguez, V., Centeno, N., Barrios, R. M. & Ulrich, M. (1999). Epidemiology Aspect of American Visceral Leishmaniasis in an Endemic Focus in Eastern Venezuela. Am. J. Trop. Med. & Hyg. **6**: 945- 950.
-

