

# FLEBOTOMINOS EN DOS FOCOS ENDÉMICOS DE LEISHMANIASIS VISCERAL AMERICANA EN EL MUNICIPIO TORRES, ESTADO LARA, VENEZUELA.

## Phlebotomine Sand Flies in Two Endemic Foci of American Visceral Leishmaniasis at Torres Municipality, Lara State, Venezuela.

**Rafael Bonfante-Garrido, Rafael Urdaneta, Iván Urdaneta, Ricardo Rodríguez y Rosa Perdomo**

Unidad de Parasitología Médica, Decanato de Medicina, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, estado Lara, Venezuela. E-mail: rbonfant@hotmail.com; bonfagar@cantv.net

### RESUMEN

Se realizó un estudio entomológico con el fin de conocer las especies flebotominas presentes en dos focos endémicos de leishmaniasis visceral americana (LVA) del estado Lara, Venezuela. Las capturas de flebotominos se realizaron, de enero 1998 a marzo 2000, en dos áreas endémicas localizadas en el municipio Torres: La Rinconada (10° 15' N-69° 57' W) y San Esteban (10° 54' N-69° 55' W). Para ello se colocó la trampa de luz Shannon, entre las 19: 00 y 22: 00 h, y 4 trampas de luz CDC durante toda la noche en el peridomicilio y, además, se realizó la búsqueda activa manual en sus refugios naturales. En La Rinconada se capturaron 7.488 ejemplares, pertenecientes a ocho especies flebotominas, de los cuales 6.782 fueron hembras y 706, machos. *Lutzomyia pseudolongipalpis* fue la especie predominante (94,59%). En San Esteban fueron capturados 1.032 ejemplares, de los cuales 842 fueron hembras y 190 machos. El 97,96% de los ejemplares fueron identificados como *L. pseudolongipalpis*. Ninguna de las hembras capturadas en las localidades endémicas estudiadas mostró la presencia de promastigotes de *Leishmania* spp. en su tracto digestivo. Debido al marcado predominio de *L. pseudolongipalpis* y la escasa presencia de *L. evansi* en estas áreas endémicas, *L. pseudolongipalpis* pudiera tener un rol importante en la transmisión de la leishmaniasis visceral en las localidades estudiadas.

**Palabras clave:** Leishmaniasis visceral americana, *Lutzomyia pseudolongipalpis*, estado Lara, Venezuela.

### ABSTRACT

An entomological study was undertaken to know the presence of phlebotomine species in two endemic foci of American Vis-

ceral Leishmaniasis (AVL) at Lara State, Venezuela. The captures of phlebotomine sand flies were carried out, from January 1998 to March 2000, in two endemic areas localized at the Torres municipality: La Rinconada (10° 15' N-69° 57' W) and San Esteban (10° 54' N-69° 55' W). For this purpose the Shannon light trap was used, between 19: 00 and 22: 00 h, and 4 CDC light traps left overnight at the peridomicily and, besides, active manual searches in its natural refuges was carried out. At La Rinconada, 7,488 specimens of eight phlebotomine species were caught out of which 6,782 were females and 706, males. *Lutzomyia pseudolongipalpis* was the predominant species (94.59%). At San Esteban 1,032 specimens were captured of which 842 were females and 190 males. The 97.96% of the specimens were identified as *L. pseudolongipalpis*. None of the females captured at the endemic localities that were studied showed the presence of *Leishmania* spp. promastigotes in their digestive tract. Due to the predominance of *L. pseudolongipalpis* and the low presence of *L. evansi* at these endemic areas, *L. pseudolongipalpis* should be regarded as having an important role in the transmission of American visceral leishmaniasis in the localities that were studied.

**Key words:** American visceral leishmaniasis, *Lutzomyia pseudolongipalpis*, Lara state, Venezuela.

### INTRODUCCIÓN

Existen pocos estudios sobre la epidemiología de la leishmaniasis visceral americana (LVA) en Venezuela. En 1941, Martínez-Niochet y Pons [15] publicaron el primer caso de LVA en el país proveniente de Las Mercedes, estado Guárico. A partir de ese momento comenzaron las investigaciones de campo relacionadas con el estudio de la LVA en el país. El segundo caso fue descrito por Potenza y Anduze, en el estado Bolívar [21]. El primer caso de LVA en perros, en Venezuela

fue publicado en 1960 por Medina y col. [17]. A partir de 1961, con las investigaciones de Amaral y col. [3, 4], Torrealba [26], Torrealba y col. [27], Pifano y Romero [19, 20] se ponen en evidencia importantes elementos que conforman la cadena epidemiológica de la LVA y se despierta el interés por su mejor conocimiento. Esta enfermedad es endémica y focal en varios Estados: Anzoátegui, Aragua, Bolívar, Carabobo, Cojedes, Distrito Federal, Falcón, Guárico, Lara, Monagas, Nueva Esparta, Portuguesa y Zulia [9, 30, 35]. Desde 1995 a 2000 se han reportado 242 casos de LVA en humanos, en 12 de esos Estados, con una incidencia de 0,2 casos por 100.000 habitantes; la mayoría de los casos provinieron de la isla de Margarita (26,0%); después de ese período la tasa de incidencia anual osciló de 1,7 a 3,8 casos por 100.000 habitantes [34], lo cual indica que la LVA va en aumento. Otros estudios epidemiológicos realizados en el país, incluyendo una revisión actualizada de Vargas-Díaz y Yépez (2004), revelan la presencia de la LVA en humanos y perros, tanto en áreas urbanas como en rurales [2, 30, 31, 32, 33, 34, 35].

El agente causal conocido de LVA en el Nuevo Mundo es *Leishmania (Leishmania) chagasi*, considerado por la mayoría de los autores una variante geográfica de *L. (L.) infantum*, el agente etiológico de la leishmaniasis visceral en el área del Mediterráneo [16]. En Venezuela los aislados caracterizados han sido identificados como *L. (L.) infantum* [18, 23, 33, 34].

En el estado Lara, la LVA ha sido encontrada en los municipios Urdaneta, Torres, Iribarren, Morán, Crespo y Palavecino, pero la mayoría de los casos provienen de Torres y Urdaneta [12]. Recientemente, aislados de casos humanos de LVA en Carora y Montecristo (municipio Torres) y Las Palmitas (municipio Urdaneta) fueron identificados por técnicas moleculares, como una distinta variedad genotípica de *L. (Viannia) colombiensis* [22].

El objetivo del presente trabajo fue conocer la fauna flebotomínica asociada a dos focos endémicos del municipio Torres, estado Lara, Venezuela, y su posible rol en la transmisión de la LVA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Área de estudio.** La Rinconada (10° 15' N-69° 57' W), ubicada a 640 m. s. n. m. y San Esteban (10° 54' N-69° 55'W), a 200 m. s. n. m. En ambas localidades pertenecientes al municipio Torres, estado Lara, Venezuela, área endémica de LVA la vegetación prevalentente es la xerófila y la principal actividad económica de sus habitantes es la agricultura y la cría de cabras.

**Captura de flebotomos.** La captura de ejemplares flebotominos se realizó entre las 17: 00 y 22: 00 horas, usando la trampa de Shannon y adicionalmente 4 trampas CDC (Communicable Disease Center, EUA) durante toda la noche en el peridomicilio y alrededor de las viviendas donde provinieron casos de LVA.

En La Rinconada, las capturas fueron hechas, dos días consecutivos al mes, en marzo, junio y diciembre de 1999 y de enero a noviembre de 2000, excepto agosto. En San Esteban, sólo en el mes de febrero de 1998, con la misma periodicidad mensual. En ambas localidades, también se realizó búsqueda activa, con capturadores manuales, en refugios naturales. Los flebotomos machos fueron separados de las hembras y conservados en etanol al 70% hasta su identificación posterior. La disección de las hembras se realizó sobre portaobjetos en una gota de solución salina estéril a concentración de 0,9%, con ayuda de agujas de disección estériles. El contenido intestinal fue examinado en busca de promastigotes de *Leishmania* spp. Para la identificación taxonómica de las hembras se realizó la observación de las espermatecas y el cibario con un microscopio óptico (objetivo x400) y se clasificaron de acuerdo a las tablas taxonómicas de Feliciangeli [8]. La determinación de edad fisiológica de las hembras se realizó de acuerdo a los criterios de Magnarelli y col. [14] y Scorza y Oviedo [25], tomando en cuenta las características de los ovarios. Las hembras clasificadas como paridas tenían abundante tejido laxo entre las ovariolas. Las hembras fueron consideradas como nulíparas, cuando tenían ovariolas compactas y poca cantidad de yema refringente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En La Rinconada se capturó un total de 7.488 ejemplares, de los cuales 6.782 fueron hembras y 706 machos, pertenecientes a ocho especies flebotomínicas. *Lutzomyia pseudolongipalpis* [5] fue la especie predominante, representando el 94,59% de los ejemplares capturados (TABLA I). En cuanto a la edad fisiológica 1.115 hembras estaban paridas y 5.292 nulíparas. En San Esteban, se capturó un total de 1.032 ejemplares, de los cuales 842 fueron hembras y 190 machos. A diferencia de lo observado en La Rinconada, los ejemplares colectados en esta localidad taxonómicamente correspondían a sólo dos especies de flebotominos. *Lu. pseudolongipalpis* fue la especie más abundante (97,96%) de los ejemplares capturados (TABLA II). En cuanto a edad fisiológica de las hembras capturadas, 453 estaban paridas y 372 nulíparas. Ninguna de las hembras disectadas, en ambas localidades, estaba infectada con promastigotes.

Dos especies flebotomínicas han sido incriminadas como transmisoras de LVA en el Nuevo Mundo. *Lu. longipalpis* s.l. es considerado el principal vector de *L. (L.) chagasi* en el Nuevo Mundo como ha sido demostrado en algunos países de Sur América, tales como Brasil [7,24], Bolivia [13] y Venezuela [9]. *L. evansi* también ha sido señalado como vector secundario de LVA en el Nuevo Mundo y ha sido encontrada naturalmente infectada con *L. (L.) chagasi* en la costa atlántica de Colombia [28] y con *Leishmania* spp., en los estados Aragua [10] y Carabobo [2], Venezuela.

*L. infantum* se ha descrito como un grupo polimórfico de parásitos, que pueden causar leishmaniasis visceral y cutánea. En

**TABLA I**  
**ESPECIES DE *LUTZOMYIA* CAPTURADAS EN LA RINCONADA MUNICIPIO TORRES, ESTADO LARA, VENEZUELA/**  
***LUTZOMYIA* SPECIES CAPTURED AT LA RINCONADA, TORRES MUNICIPALITY, LARA STATE, VENEZUELA.**

Especies de <i>Lutzomyia</i>	Hembras		Machos		Total	
	Número	%	Número	%	Número	%
<i>L. pseudolongipalpis</i>	6.407	94,47	676	95,75	7.083	94,59
<i>L. evansi</i>	66	0,97	0	0,00	66	0,88
<i>L. cayennensis</i>	158	2,32	15	2,12	173	2,31
<i>L. trinidadensis</i>	54	0,79	3	0,42	57	0,76
<i>L. dubitans</i>	22	0,32	0	0,00	22	0,29
<i>L. gomezi</i>	54	0,79	7	0,99	61	0,81
<i>L. lichyi</i>	2	0,02	0	0,00	2	0,02
<i>L. atroclavata</i>	19	0,28	5	0,70	24	0,32
Total	6.782	100,0	706	100,0	7.488	100,00

**TABLA II**  
**ESPECIES DE *LUTZOMYIA* CAPTURADAS EN SAN ESTEBAN, MUNICIPIO TORRES, ESTADO LARA, VENEZUELA/**  
***LUTZOMYIA* SPECIES CAPTURED AT SAN ESTEBAN, TORRES MUNICIPALITY, LARA STATE, VENEZUELA.**

Especies	Hembras	%	Machos	%	Total	%
<i>L. pseudolongipalpis</i>	825	97,98	186	97,89	1.011	97,96
<i>L. trinidadensis</i>	17	2,01	4	2,10	21	2,03
Total	842	100,00	190	100,00	1.032	100,00

un estudio llevado a cabo por Rodríguez y col. [23], en áreas endémicas de LVA del estado Nueva Esparta, empleando técnicas moleculares para el diagnóstico demostraron la homogeneidad que existe entre los aislados obtenidos de humanos, perros y flebotomíinos, a los cuales identificaron como *L. (L.) infantum* [23]. Igualmente, en un estudio prospectivo realizado en la localidad de El Brazilar, Curarigua, estado Lara, Venezuela, fue aislado de perros un parásito que fue identificado como *Leishmania chagasi infantum*, mediante la reacción en cadena de la polimerasa, basada en secuencia telomérica [11].

El aislamiento en el estado Lara de *Leishmania chagasi infantum* y *L. (Viannia) colombiensis* [11, 22] sugiere que pueden haber otros agentes causales de LVA.

Estudios de flebotomofauna realizados por Bonfante-Garrido y cols. [6], en focos endémicos del estado Lara, utilizando los mismos métodos de captura empleados en el presente estudio, muestran la presencia de especies flebotomíinas consideradas transmisoras de leishmaniasis cutánea americana (LCA) y LVA en los municipios Urdaneta, Crespo, Iribarren y Palavecino, donde las dos enfermedades coexisten. La mayoría de ellas son especies antropofílicas [6].

*L. pseudolongipalpis* es la especie más abundante, tanto en La Rinconada como en San Esteban. Al inicio de este estudio se había identificado esta especie como *L. longipalpis* s.l. Luego de la descripción taxonómica de esta especie por Arrivillaga y Feliciangeli [5], se ha hecho recientemente una revisión de las

hembras conservadas y se observó para ver el estatus taxonómico real, tomando en cuenta las características morfológicas señaladas por estas autoras. En ambas localidades estudiadas los ejemplares capturados fueron idénticos a *L. pseudolongipalpis*.

La abundancia de *L. pseudolongipalpis* en La Rinconada permanece estable durante la estación seca (enero-marzo), luego declina al inicio de lluvias, en mayo, y se eleva notablemente en octubre y noviembre, cuando comienzan a declinar las precipitaciones pluviales del año. Estos datos concuerdan en parte con los obtenidos por Traviezo y col., en la misma localidad [29].

*L. pseudolongipalpis* es el vector putativo de la LVA en La Rinconada, el animal más atractivo fue el perro, mientras que las cabras, cerdos, humanos, gallinas, ratones, equinos y bovinos eran poco atractivos [1]. *L. evansi* fue hallado sólo en La Rinconada en abundancia exigua en noviembre.

Sobre la base de la abundancia de *L. pseudolongipalpis* tanto en La Rinconada (94,4%) como en San Esteban (98,0%), su relativa antropofilia y el hallazgo de *L. evansi* en bajo porcentaje, sugiere que *L. pseudolongipalpis* es la especie más importante de la transmisión de la LVA en el municipio Torres.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Debido a la abundancia de *L. pseudolongipalpis* en La Rinconada y San Esteban, focos endémicos de LVA en el es-

tado Lara y su relativa antropofilia, esta especie flebotomina puede ser considerada como probable transmisora de la leishmaniasis visceral americana en el municipio Torres, estado Lara, Venezuela. Se recomienda hacer una revisión de la fauna flebotomínica, especialmente en aquellos focos de LVA, donde se ha encontrado *Lu. longipalpis s.l.*. Continuar con el estudio de la epidemiología de esta enfermedad para poder aplicar adecuadas medidas de control. Ampliar los estudios sobre la biología de *Lu. pseudolongipalpis*, su dinámica poblacional en otros focos del estado Lara e investigar su infección natural y susceptibilidad a *L. infantum/chagasi* y/ o *L. (V.) colombiensis*, lo cual permita establecer su competencia como vector y capacidad vectorial.

### AGRADECIMIENTO

Agradecemos el financiamiento otorgado por el Consejo de Desarrollo, Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA) y de FONACIT.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGRELA, I.; SÁNCHEZ, E.; GÓMEZ, B.; FELICIAN- GELI, M.D. *Lutzomyia pseudolongipalpis* (Diptera: Psychodidae) a putative vector of visceral leishmaniasis in Venezuela. **J. Med. Entomol.** 39: 440-445. 2002.
- [2] AGUILAR, C.M.; FERNÁNDEZ, E.; FERNÁNDEZ, R.; CASANOVA, D.C.; FERRER, F.; CABRERA, Z.; SOUZA, W.J.S.; COUTINHO, S.G. Urban visceral leishmaniasis in Venezuela. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 93: 15-16. 1998.
- [3] AMARAL, D.F.; TORREALBA, J.W.; HENRÍQUEZ, C.E.; KOWALENKO, W.; BARRIOS, P.A. *Phlebotomus longipalpis* Lutz & Neiva, 1912, probable transmisor de la leishmaniasis visceral en Venezuela. **Gac. Med. Caracas.** 70: 389-408. 1961.
- [4] AMARAL, A.D.; TORREALBA, J.W., HENRÍQUEZ, C.E.; KOWALENKO, W.; BARRIOS, P.A. Studies on visceral leishmaniasis in Venezuela. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.** 3: 91-98. 1961.
- [5] ARRIVILLAGA, J.C.; FELICIAN- GELI, D. *Lutzomyia pseudolongipalpis*: the first new species within the *longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) complex from La Rinconada, Curarigua, Lara state, Venezuela. **J. Med. Entomol.** 38: 783-790. 2001.
- [6] BONFANTE-GARRIDO, R.; URDANETA, R.; UR- DANETA, I.; ALVARADO, J.; ANZOLA, N.H.; TORRE- ALBA, J.; VALDIVIA, M.E.; CÁRDENAS, E.Y.; COPU- LILLO, E.; MOMEN, H.; GRIMALDI, G. Phlebotomine sand flies in five endemic leishmaniasis foci in Lara State, Venezuela. **Bol. Dir. Malaria. Y San. Amb.** 35 Suppl 1: 53-62. 1995.
- [7] DEAN, M.P.; DEAN, L.M. Infecção natural do *Phlebotomus longipalpis* por leptomonas, provávelmente de *Leishmania donovani* em foco de calazar, no Ceará. **Hospit.** 45: 697-702. 1954.
- [8] FELICIAN- GELI, M.D. The Phlebotomine sand flies (Dip- tera: Psychodidae) of Venezuela. **J. Med. Entomol.** 17: 245-264. 1980.
- [9] FELICIAN- GELI, M.D. Vectors of Leishmaniasis in Vene- zuela. **Parasitol.** 33 (Suppl.): 229-236. 1991.
- [10] FELICIAN- GELI, M.D.; GÓMEZ, B.; DELGADO, O.; GAR- CÍA, L.; BELLO, C. Leishmaniasis visceral en el caserío La Ganadería de Guayabita, estado Aragua, Venezuela. Infección natural de *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodi- dae) con *Leishmania* spp. **Act. Cient. Venez.** 44 (Suppl. I): 262. 1993.
- [11] FELICIAN- GELI, D.; DELGADO, O.; SUÁREZ, B.; CHI- URILLO, M. The burden of *Leishmania chagasi/ infantum* infection in a close rural focus of visceral leishmaniasis in Lara state, west-central Venezuela. **Trop. Med. Int. Health.** 10 (Issue 5): 444. 2005.
- [12] GONZÁLEZ, M.A. Análisis de 37 casos de Kala-azar en menores de 12 años Hospital Central "Antonio María Pi- neda" (1958-1982). **Mem. III Simp. Venez. Leishmania- sis.** Barquisimeto, 16-18 Oct. 1-13pp. 1987.
- [13] LE PONT, F.; DEJEAUX, P. Leishmaniasis in Bolivia. *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) as the vector of visceral leishmaniasis in Los Yungas. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 79: 227-231. 1985.
- [14] MAGNARELLI, L.A.; MODI, G.B.; TESH, R.B. Follicular development and parity in phlebotomine sand flies (Dip- tera: Psychodidae). **J. Med. Entomol.** 21: 681-689. 1984.
- [15] MARTÍNEZ, N.A.; PONS, A.R. Primer caso de Kala-azar en Venezuela. **Gac. Med. Caracas.** 48: 329-332. 1941.
- [16] MAURICIO, L.L.; STOTHARD, J.R.; MILES, M.A. The strange case of *Leishmania chagasi*. **Parasitol. Today.** 16: 188-189. 2000.
- [17] MEDINA, R.; ROMERO, J.; GOLDMAN, C.; ESPIN, J. Comprobación del primer perro infectado con Kala-azar en Venezuela. **Gac. Med. Caracas.** 69: 441-447. 1960.
- [18] MORENO, G.; RIOUX, J.A.; LANNOTE, G.; PRATLONG, F.; SERRES, E. The *Leishmania donovani s.l.* complex. Enzyme analysis and numerical treatment. Characterization of the *Leishmania infantum* complex. Biogeographic and phyletic colloraries. A study of 146 Old and New World strains. In: Rioux JA (Ed.) *Leishmania Taxonomy and Phy- logeny* IMEE, Montpellier. 105-117pp. 1986.
- [19] PIFANO, C.F.; ROMERO, M.J. Comprobación de un nuevo foco de leishmaniasis visceral en Venezuela, valle de Cumanacoa, Estado Sucre. **Gac. Med. Caracas.** 72: 273-479. 1964.

- [20] PIFANO, C.F.; ROMERO, M.J. Investigaciones epidemiológicas sobre la leishmaniasis visceral en la isla de Margarita. Estado Nueva Esparta, Venezuela. **Gac. Med. Caracas**. 72: 425-430. 1964.
- [21] POTENZA, L.; ANDUZE, P. Kala-azar en el estado Bolívar, Venezuela. **Rev. Polic. Caracas**. 11 (67). 1942.
- [22] RODRÍGUEZ-BONFANTE, C.; BONFANTE-GARRIDO, R.; GRIMALDI, G. JR.; MOMEN, H.; COPULILLO, E. Genotypically distinct *Leishmania colombiensis* cause both cutaneous and visceral leishmaniasis in humans. **Infect. Genet. and Evol.** 84: 1-6. 2003.
- [23] RODRÍGUEZ, N.M.; DE GUGLIELMO, Z.; BARRIOS, M.A.; BARRIOS, R.M.; ZERPA, O.; FELICIANGELI, M.D. Genetic homogeneity within *Leishmania (L.) infantum* isolated from human and dogs: The relationship with the sand fly fauna distribution in endemic areas of Nueva Esparta state, Venezuela. **Parasitol.** 130: 611-619. 2005.
- [24] RYAN, L.; BRAZIL, R.P. Leishmania infections in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) on the island of São Luis, Maranhão State, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 79: 383-384. 1984.
- [25] SCORZA, J.V.; OVIEDO, M. Physiological age in *Lutzomyia youngi* (Diptera: Psychodidae) populations from an endemic area for cutaneous leishmaniasis, Venezuela. **Rev. Saud. Publ.** 28: 400-405. 1994.
- [26] TORREALBA, J.W. Consideraciones sobre la Epidemiología de la Leishmaniasis Visceral en Venezuela. **Gac. Med. Caracas**. 72: 99-115. 1964.
- [27] TORREALBA, J.W.; AMARAL, A.D.; HENRÍQUEZ, C.E.; KOWALENKO, W.; BARRIOS, P.A. Observaciones Iniciales sobre el Perro (*Canis familiaris*) como Reservorio de Kala-azar en Venezuela. **Rev. Venez. San. Asist. Soc.** 26: 342-349. 1961.
- [28] TRAVI, B.L.; VÉLEZ, I.D.; BRUTUS, L.; SEGURA, I.; JARAMILLO, C.; MONTOYA, J. *Lutzomyia evansi* an alternate vector of *Leishmania chagasi* in a Colombian focus of visceral leishmaniasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 84: 676-677. 1990.
- [29] TRAVIEZO, L.; DÍAZ, A.; RODRÍGUEZ, R.; URDANETA, R. Características biológicas de *Lutzomyia pseudolongipalpis* (Diptera: Psychodidae), posible vector de leishmaniasis visceral en la población de La Rinconada, estado Lara. **Bol. Med. Postg.** XIX (4): 325-330. 2003.
- [30] VARGAS-DÍAZ, E.; YÉPEZ, J. Aspectos epidemiológicos de la leishmaniasis visceral en Venezuela, con especial referencia al estado Falcón. **Bol. Malariol. Salud Amb.** XLIV (1): 9-19. 2004.
- [31] ZERPA, O.; ULRICH, M.; NEGRÓN, E.; RODRIGUEZ, N.; CENTENO, M.; RODRÍGUEZ, V.; BARRIOS, R.M.; BELIZARIO, D.; REED, S.; CONVIT, J. Canine visceral leishmaniasis on Margarita island (Nueva Esparta, Venezuela). **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 94: 484-487. 2000.
- [32] ZERPA, O.; PRATLONG, F.; ULRICH, M.; CONVIT, J. Isolation of *Leishmania infantum*, Zymodeme MON-1 from canine and human visceral leishmaniasis on Margarita island, Venezuela. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 96: 901-902. 2001.
- [33] ZERPA, O.; ULRICH, M.; BENÍTEZ, M.; AVILA, C.; RODRÍGUEZ, V.; CENTENO, M.; BELIZARIO, D.; REED, S.G.; CONVIT, J. Epidemiological and immunological aspects of human visceral leishmaniasis on Margarita island, Venezuela. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 97: 1079-1083. 2002.
- [34] ZERPA, O.; ULRICH, M.; BORGES; RODRÍGUEZ, V.; CENTENO, M.; NEGRÓN, E.; BELIZARIO, D.; CONVIT, J. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in Venezuela. **Rev. Panam. Sal. Pub.** 13: 239-245. 2003.
- [35] ZULUETA, A.M.; VILLARROEL, E.; FELICIANGELI, M.D.; MAZZARRI, M.; REYES, O.; RODRÍGUEZ, V.; CENTENO, M.; BARRIOS, R.M.; ULRICH, M. Epidemiologic aspects of American visceral leishmaniasis in an endemic focus in eastern Venezuela. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 61: 945-950. 1999.