



TITULO DE LA TESIS

**“ENSAYO DE CONTROL Y DINÁMICA POBLACIONAL DE FLEBÓTOMOS
VECTORES DE LEISHMANIASIS VISCERAL, Y TRAVÉS DEL USO DE
MOSQUITEROS IMPREGNADOS CON DELTAMETRINA, EN SAN MATEO,
MUNICIPIO BOLÍVAR, ESTADO ARAGUA, VENEZUELA”**

Trabajo de grado presentado como requisito final para optar al título de Magister Scientiarum en Entomología en Salud Pública del Instituto de Zoología Agrícola. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay 2012.

KAREM M. FLORES E.

Tutora: MD. DORA FELICIANGELI DE PIÑERO

Asesora: MILENA B. MAZZARRI

Maracay, Abril 2012

TITULO DE LA TESIS

**“ENSAYO DE CONTROL Y DINÁMICA POBLACIONAL DE FLEBÓTOMOS
VECTORES DE LEISHMANIASIS VISCERAL, Y TRAVÉS DEL USO DE
MOSQUITEROS IMPREGNADOS CON DELTAMETRINA, EN SAN MATEO,
MUNICIPIO BOLÍVAR, ESTADO ARAGUA, VENEZUELA”**

Trabajo de grado presentado como requisito final para optar al título de Magister Scientiarum en Entomología en Salud Pública del Instituto de Zoología Agrícola. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay 2012.

DRA. M. DORA FELICIANGELI DE PIÑERO
Tutora

ASESORA: MSC. MILENA B. MAZZARRI
Asesora

AGRADECIMIENTO

A Dios, por su infinita Misericordia

A la Dirección General de Salud Ambiental, dependencia del Ministerio del Poder Popular para la Salud, Institución forjadora de Hombre y Mujeres luchadores por el bienestar de la población Venezolana.

Al Instituto de investigaciones Biomédicas de la Universidad de Carabobo (BIOMED)

A mi Tutora, por su excelente compañía, dedicación y paciencia.

A mi compañera Ing. Milena Mazarri, de quien he aprendido

Al Dr. Carlos Espino, por su gran Don para la enseñanza y capacidad para la solidaridad.

A mis amigos y técnicos que me acompañaron en la realización de este trabajo:

Arturo Bravo, Martín Ledezma, Osvaldo Salas y Delcine.

A la comunidad de El Topo I, quienes se convirtieron en parte de mi vida.

A mi amiga Vilma Savini, siempre pendiente de mis avances y logros.

Esta tesis de MSc en Entomología en Salud Pública ha sido financiada a través del Proyecto Misión Ciencia 2008000911, Sub-proyecto Leishmaniasis MC-200800911-2, por el Ministerio del Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Innovación (MPPCTI) a través del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT).

DEDICATORIA

A Dios Todo Poderoso, por su infinito Amor y brindarnos un mañana pleno de Paz, Armonía entre nosotros semejante.

A mi amada y presente Madre, quien luchó abnegadamente por levantar una familia. Trabajadora incansable, fuerte y llena de esperanza. Desde la diestra del Señor estarás disfrutando este logro.

A mi Padre, quien me enseñó apreciar las diferentes aristas que componen el Cristal de la vida y por su especial amor.

A mis grandes Tesoros, quienes día a día me llenan de orgullo y satisfacción, por su madurez, humildad, sensibilidad y amor, Miguel Eduardo, Fernando Enrique y Juan Pablo, les amo infinitamente y eternamente agradecida por tanta dicha.

A todos los que siempre confiaron en mí, que compartieron mis sueños y derrotas, que me proporcionaron aliento y sin proponérselo contribuyeron con este éxito.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como propósito estudiar la dinámica poblacional y realizar un ensayo de control de flebótomos vectores de leishmaniasis visceral (LV), a través del uso de mosquiteros impregnados con deltametrina, en San Mateo, municipio Bolívar, estado Aragua, Venezuela de Febrero 2009 – Enero 2010. Se determinó la composición específica de la fauna flebotómica y se realizó un estudio longitudinal de la dinámica estacional de la población adulta de flebótomos intradomésticos, y su correlación con variables climáticas: temperatura, humedad relativa y precipitación. Adicionalmente se evaluó el impacto del uso de los mosquiteros impregnados y se realizó un bioensayo en laboratorio para evaluar el poder residual del insecticida deltametrina a 55 mg/m^2 en mosquiteros durante el tiempo de uso y después de 3 lavadas. Se detectó la presencia de cinco especies de flebótomos, de las cuales, las de mayor importancia por su rol vectorial en la transmisión de LV, fueron *Lutzomyia longipalpis* y *Lutzomyia evansi*. *Lutzomyia evansi* fue la especie más abundante en el año de captura en comparación con *Lu. longipalpis*. Se observó que ambas especies presentan dos picos de mayor densidad en los meses de Mayo y Septiembre, mostrando una correlación positiva con el patrón bimodal de precipitación. Se realizó un ensayo sobre la eficacia de los mosquiteros impregnados con deltametrina con este tipo de trampa, comparando el número de flebótomos capturados dentro de casas: sin mosquiteros (SM), con mosquiteros sin insecticida (MNTC) y mosquiteros tratados

(MT). Los resultados obtenidos en los 3 grupos no fueron estadísticamente significativos. Cuando se comparó el número total de flebótomos capturados en todas las casas ubicadas a una distancia entre 0 a 150 m del bosque se registró un número significativamente mayor con relación al grupo ubicado entre 150 a 250 m del bosque. Estos datos mostraron que el mosquitero tratado no fue un factor de protección y que el área de mayor riesgo es la situada a <150 m del bosque. Se observó una mortalidad de los insectos expuestos significativamente mayor a los 10 meses después de tres lavadas del mosquitero con respecto a la mortalidad observada en los insectos expuestos a los 6 meses. Esto indicaría que el poder residual del insecticida se recupera en los mosquiteros con el tiempo, posiblemente debido a las lavadas, ya que con éstas se eliminarían factores inherentes al uso y al tiempo. Todos los resultados obtenidos en la investigación generan información valiosa desde el punto de vista económico y de control para la toma de decisiones en Salud Pública.

Palabras claves: Leishmaniasis visceral, *Lutzomyia longipalpis*, *Lutzomyia*, mosquiteros tratados y bioensayo.

ABSTRACT

The aim of this research was to study the population dynamics and to perform a control trial of sandfly vectors of visceral leishmaniasis, through the use of long lasting nets impregnated with deltamethrin at San Mateo, Bolivar Municipality, Aragua, Venezuela, and February 2009-January 2010. We determined the species-specific composition of the sandfly fauna and performed a longitudinal study of the seasonal dynamics of indoor sandfly adult population and the correlation with climatic variables as temperature, relative humidity and precipitation. Additionally, we evaluated the impact of using long lasting treated mosquito nets on the sandfly population density. A laboratory bioassay was also carried out in order to assess the residual power of the insecticide deltamethrin at $55 \text{ mg} / \text{m}^2$ during the time of observation and after 3 washes. Five species of sandflies were identified, among which *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia evansi*, vectors of visceral leishmaniasis. *Lutzomyia evansi* was the most abundant species. It was observed that both species showed two peaks of high density in May and September, with a positive correlation with the bimodal pattern of precipitation. The effectiveness of long lasting nets (LLN) impregnated with deltamethrin was tested comparing the number of sand flies caught indoors vs those collected in the houses without nets (NoN) and vs those caught indoors with untreated nets (UN). The results obtained in the 3 groups were not statistically significant.

When comparing the total number of sand flies captured in all the houses a significantly higher number of sandflies were caught in the houses from 0 to 150 m of distance from the woodland vs. those collected in those at 150-250 m. The mortality was significantly higher at 10 months, after 3 washes vs. the mortality observed in insects exposed after 6 months. This result would indicate that, possibly due to washes, the residual effect of the insecticide is recovered in the nets along the time, independently of the use and time. This research generated valuable information from the economic point of view and control for decision making in public health.

Keywords: visceral leishmaniasis, *Lutzomyia longipalpis*, *Lutzomyia evansi*, treated nets and bioassay.

TABLA DE CONTENIDOS

Título.....	i
Nota de Presentación.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Dedicatoria.....	v
Resumen.....	vi
Abstract.....	viii
Tabla de Contenido.....	x
Índice de Cuadros.....	xii
Índice de Figuras.....	xiii
Índice de Gráficos.....	xiv
Índice de Anexos.....	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo	
General.....	5
1.2 Objetivos	
Específicos.....	5
1.3 Hipótesis.....	6
1.4 Revisión de la	
Bibliografía.....	7
II. MATERIALES Y	
MÉTODOS.....	16
2.1 Localización del	
Estudio.....	16
2.2 Definición de la población y	
muestra.....	19
2.3 Mosquiteros.....	21
2.4 Características de los mosquiteros.....	21

2.5 Trabajo de Campo.....	21
2.6 Evaluación.....	22
2.7 Insectos de Campo.....	24
2.8 Insectos de la colonia.....	24
2.9 Procesamiento e identificación de los flebótomos.....	26
2.10 Bioensayo para evaluación biológica residual en mosquiteros Tratados.....	26
2.11 Bioensayo.....	26
2.12 Procedimiento para el lavado de los mosquiteros.....	30
2.13 Análisis de los resultados.....	30
III. RESULTADO.....	32
3.1 Composición específica y abundancia relativa de las especies de flebótomos.....	32
3.2 Dinámica estacional de la población de flebótomos en intradomicilio y su correlación con variables climáticas: temperatura, humedad relativa y precipitación.....	34
3.3 Evaluación del impacto del uso de los mosquiteros impregnados con deltametrina sobre la densidad intradoméstica de los flebótomos.....	36
3.4 Evaluación del poder residual del insecticida en los mosquiteros tratados durante el período de estudio (6-10 meses).....	40
IV. DISCUSIÓN.....	44
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	55
VI. ANEXOS.....	57
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Abundancia y Composición Especifica de la fauna de Flebótomos en el intradomicilio, en el sector El Topo I, San Mateo, Estado Aragua Febrero 2009-Enero 2010.	33
2	Fluctuación estacional de <i>Lu. longipalpis</i> <i>Lu. evansi</i> capturados en el Topo I, San Mateo, Estado Aragua (trampa cdc intradomicilio) y su relación con las variables climáticas: temperatura, humedad relativa y precipitación durante febrero 2009- enero 2010.	35
3	Total de flebótomos conectados por tipo de intervención y distancia del bosque.	38
4	Total de flebótomos colectados a diferente distancia del bosque.	39
5	Porcentaje de mortalidad de flebótomos a las 24 horas de exposición sobre cinco mosquiteros tratados con deltametrina a 55 mg /m ² durante tres períodos de tiempo de uso.	42

INDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Mapa Geopolítico del estado Aragua.	16
2	Croquis del municipio Bolívar, estado Aragua.	17
3	Imagen satelital de la localidad en estudio señalando la ubicación de las casas y el tipo de intervención.	20
4	Mosquiteros tratados colocados en las viviendas seleccionadas.	22
5	Montaje de trampas CDC dentro de viviendas seleccionadas.	23
6	Captura con trampa de Shannon usando la técnica de aspirado directo, capturadores de boca.	25
7	Equipo utilizado para el traslado de flebótomos capturados en el campo con trampa de Shannon.	25
8	Preparación de MT con deltametrina para bioensayos de residuabilidad (el punto 1 fue ignorado ya que puede haber sido sometido a abrasión excesiva y es la parte que se supone va debajo del colchón) WHO (2009).	27
9	Exposición de los flebótomos al mosquitero tratado.	28
10	Equipo de recuperación de los flebótomos para su recuperación luego de la exposición al mosquitero tratado.	30

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico	Título	Página
1	Frecuencia mensual de <i>Lu. longipalpis</i> y <i>Lu. evansi</i> capturados en el intradomicilio con trampas CDC en El Topo I, San Mateo, Estado Aragua y su relación con las variables climáticas: temperatura, humedad relativa y precipitación (2009-2010).	36
2	Comparación del número de flebótomos colectado en los tres grupos de casas con diferente tipo de intervención.	37
3	Comparación del número de flebótomos colectado en los dos grupos de casas ubicadas a diferente distancia del bosque.	40
4	Porcentajes de mortalidad de flebótomos a las 24 horas de exposición sobre cinco mosquiteros tratados con deltametrina a 55 mg /m ² durante el periodo de uso.	43

INDICE DE ANEXOS

Anexos	Título	Página
1	Croquis de la localidad El Topo I, San Mateo, estado Aragua.	58
2	Formato para recopilar la información relacionada con el tipo de vivienda.	59-60
3	Consentimiento Informado entregado a los habitantes que participaron en el ensayo.	61-62
4	Mosquitero PermaNet® 2.0 suministrado por Vestergar Frandsen S.A. utilizados en el estudio.	64
5	Tipo de malla del mosquitero.	65
6	Formato para el reporte de funcionamiento de las trampas CDC.	66
7	Ficha de recolección y reporte de insecto.	67-68

I. INTRODUCCIÓN

La Leishmaniasis visceral (LV) constituye un problema de Salud Pública, en especial debido a su “dramaticidad” ya que, si no es diagnosticada y tratada oportunamente, en un 90% de los casos puede llegar a producir la muerte del individuo afectado. El tratamiento específico es de difícil administración, antimonio de meglumina (Glucantime), y produce efectos colaterales importantes. Por otro lado, a pesar de un aumento creciente del conocimiento sobre aspectos bioquímicos, inmunológicos y moleculares de su agente etiológico, hasta el momento no se dispone todavía de una vacuna.

En Venezuela el Programa de Control se ha fundamentado en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad y no se ha intentado ni implementado hasta el momento un programa de control de los vectores que transmiten esta enfermedad, debido principalmente a la escasez de trabajos entomológicos dirigidos al conocimiento de la bionomía (antropofilia, endofilia, actividad, estacionalidad, etc.) y al desarrollo de ensayos de control a gran escala. Por otro lado, el cuestionamiento en años recientes sobre el uso de insecticidas de acción residual por su costo y dificultad en cuanto a sustentabilidad hacen necesario ensayar métodos alternos de control.

Las razones antes expuestas sustentaron la motivación para esta investigación.

El programa de control de la LV en Venezuela se ha basado clásicamente en el diagnóstico y tratamiento de los casos, por considerarse dificultoso el control de los vectores. Sin embargo, igual que en la India, como efecto secundario por el rociamiento del “DDT” contra *Anopheles culicifacies*, el vector de la Malaria, entre 1945 y los 90's, la incidencia de la LV disminuyó considerablemente ya que el vector *Phlebotomus argentipes* fue controlado eficazmente en las áreas rociadas. Efectos similares se observaron en los programas de control de la Malaria en Bangladesh, Siria. En Brasil (Alencar, 1961) donde se considera que la Campaña de Control de la malaria ha contribuido al control de los vectores de la LV, lo cual se ha demostrado por el aumento de los registros posterior a la interrupción de esos programas.

Con base en estos antecedentes se podría extrapolar que, también en Venezuela, la campaña de control contra la malaria haya contribuido al control de los flebótomos y por lo tanto de la LV. En efecto, solo recientemente se han adelantado algunos estudios específicos sobre el efecto del uso de los insecticidas contra los flebótomos vectores. Después de ensayos preliminares para la determinación de la susceptibilidad de la especie *Lutzomyia pseudolongipalpis* (= *L. longipalpis*) en el caserío La Rinconada, Curarigua, Estado Lara (Mazzarri, *et al.* 1997) a los insecticidas fenitrotión, pirimiphos metyl, permetrina, susceptibilidad a deltametrina, lambdacialotrina, propoxur y malatión. Se realizó un ensayo del efecto del rociamiento del piretroide lambdacialotrina y

fumigaciones peridomiciliarias con insecticida organofosforado fenitrotión en la Isla de Margarita, un importante foco endémico de LV (Feliciangeli, *et al.*, 2003).

Hasta la fecha, no se ha efectuado ningún ensayo del uso de mosquiteros tratados con insecticida (MTI). Esta es una de las estrategias actualmente recomendadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la prevención y control de la Malaria en el Mundo (OMS, 2005; Rubio-Palís, 2005).

El uso de los mosquiteros como una forma de protección contra diferentes especies de insectos vectores data del siglo VI A. C. Mosquiteros, cortinas y ropa impregnada con insecticidas se usaron durante la Segunda Guerra Mundial para protegerse contra la Malaria y otras enfermedades transmitidas por vectores (WHO, 2005), sin embargo, no fue sino hasta la mitad de la década de los 80's cuando su uso comenzó a propagarse como una estrategia para el control de la Malaria, principalmente en el continente africano. Los mosquiteros tratados con insecticida (MTI) no solo actúan como una barrera para prevenir la picadura de los mosquitos, sino también, como insecticida repelente, inhibidor o aniquilador de vectores, y en el Perú como una medida de protección a las mordeduras por vampiros, lo que permite prevenir la transmisión de rabia silvestre en comunidades rurales. Por lo tanto, los MTI proveen protección tanto a los individuos refugiados bajo su protección como a los demás miembros de la comunidad (Llanos Cuentas y Soto Calle, 2005).

Investigaciones basadas en estudios randomizados llevados a cabo en África mostraron que el uso apropiado de los MTI disminuyó en una quinta parte la mortalidad por malaria entre los niños menores de cinco años (Lengeler, 2001).

El impacto de los MTI se extiende a los pobladores que no usan mosquiteros. La protección alcanzada por los no-usuarios es difícil de cuantificar, pero parece extenderse varios cientos de metros. Los estudios que señalan una reducción en la prevalencia de la malaria a largo plazo, como consecuencia del uso de los MTI, demuestran que este efecto se alcanza solo si los mosquiteros se re-tratan regularmente (Smith, *et al.*, 2002). Publicaciones en donde se comparan costos entre los MTI y el rociamiento de insecticidas (RI) a viviendas en áreas endémicas son favorables a los primeros. El reemplazo de los mosquiteros cada cuatro años y su respectivo retratamiento con lambdaialotrina resultó ser una estrategia asombrosamente barata en comparación con aquella que promovía el RI en Tanzania. Estos resultados se alcanzaron siempre y cuando se mantenía la distribución gratuita de los MTI, así como su retratamiento con el insecticida por lo menos una vez por año (Curtis, *et al.*, 1998).

Los resultados de las investigaciones sobre el uso de los MTI han permitido su extensa aceptación, y actualmente es considerada como uno de los tres elementos claves en el control de la Malaria (WHO, 2005; Lengeler, 2001).

Sin embargo, el éxito de la implementación de los MTI depende fundamentalmente del conocimiento preciso de las características socioculturales de la región donde se adoptará la estrategia, de la conducta del vector, del tipo del insecticida usado, de las características de transmisión de la malaria, del patrón de las actividades rutinarias de los pobladores, así como de la disponibilidad de recursos económicos para su obtención y de la capacidad nacional para hacer efectivos los planes en el terreno (Llanos Cuentas y Soto Calle, 2005).

Estas consideraciones justifican la necesidad de un estudio piloto para investigar la posibilidad del uso de los MTI como un método de control de los vectores de la LV en Venezuela.

Objetivo General

Evaluar la efectividad del uso de mosquiteros impregnados con deltametrina, bajo condiciones naturales de uso de los pobladores expuestos a riesgo para el control de la población adulta de flebótomos intradomiciliarios y dinámica poblacional de flebótomos vectores de leishmaniasis visceral.

1.2 Objetivos Específico

- Identificar la fauna de flebótomos presentes en el sector el Topo I de la localidad de San Mateo Municipio Bolívar del Estado Aragua.

- Determinar la conformación específica de la fauna de flebótomos con diferentes métodos de captura en el sector el Topo I, localidad de San Mateo Municipio Bolívar del estado Aragua.
- Realizar durante un año estudio longitudinal de la dinámica estacional de la población adulta de flebótomos intradomésticos, y evaluar su correlación con variables climáticas: temperatura, humedad relativa y precipitación con la finalidad de determinar el periodo más apropiado para la implementación de la medida de control objeto de este ensayo.
- Evaluar el impacto del uso de los mosquiteros impregnados con deltametrina sobre la densidad intradoméstica de los flebótomos en comparación con las densidades registradas con el uso de mosquiteros no tratados o en casas sin uso de mosquiteros.
- Evaluar el poder residual del insecticida deltametrina a 55 mg /m^2 en mosquiteros durante el tiempo de uso antes y lavado doméstico.

1. 3 Hipótesis

Debido a que la mayoría de los individuos afectados en la localidad de estudio en los últimos diez años fueron niños menores de 5 años de edad y que es bien conocido que los flebótomos tienen actividad hematofágica nocturna, es de suponer que la transmisión sea intradomiciliaria y se realice durante las horas de la noche.

El uso de mosquiteros impregnados de insecticidas, utilizados adecuadamente, debería reducir la población de flebótomos intradomiciliarios y reducir / impedir el contacto hombre-vector y por lo tanto contribuir a interrumpir la transmisión de la leishmaniasis visceral.

1.4 Revisión Bibliográfica

Las leishmaniasis son retículo-histiocitosis, superficiales o profundas, cuyos agentes etiológicos son protozoarios parásitos del género *Leishmania spp.* (Orden Kinetoplastida, Flia. Trypanosomatidae). Los reservorios naturales incluyen una amplia gama de mamíferos silvestres y domésticos. Los flebótomos, los vectores, pertenecen a la Clase Insecta, Orden Díptera, Flia *Psychodidae*, Sub-familia *Phlebotominae*. La cadena epidemiológica de la enfermedad es por lo tanto el triángulo: animal parasitado, insecto vector y sujeto susceptible (WHO, 1993.).

El agente causal de la leishmaniasis visceral americana (LVA) es *Leishmania (Leishmania) infantum* (= *L. chagasi*), originaria del área del Mediterráneo (Mauricio, *et al.*, 2000). En Venezuela han sido caracterizados algunos aislados del estado Trujillo (Moreno, *et al.*, 1986), del estado Aragua (Delgado, *et al.*, 1998) y del estado Nueva Esparta (Zerpa, *et al.*, 2002; Zerpa, *et al.*, 2003; Rodríguez, *et al.*, 2005).

Es importante el conocimiento de los ciclos epidemiológicos de la LV para poder entender y aplicar las medidas de control. Se acepta que el ciclo biológico

común presenta distintas modalidades epidemiológicas, dependiendo del tipo de hospedador vertebrado. Esencialmente, las leishmaniasis son zoonosis en las que el hombre se ha introducido, más o menos accidentalmente, en su ciclo biológico. Se establecen tres ciclos epidemiológicos en función del hospedador vertebrado (Garnham,1965): a) ciclo enzoótico o primario, el más primitivo, en el que diversas especies de mamíferos salvajes actúan como hospedadores vertebrados del parásito, con la introducción accidental del hombre en el ciclo bio-ecológico; b) ciclo zooantroponótico o secundario, en el que la desaparición del reservorio salvaje del entorno humano permite la adopción, por parte del parásito, de animales domésticos susceptibles, entre ellos el *Canis canis*, tal y como ocurre en las leishmaniasis por *L. infantum*; c) ciclo antroponótico o terciario, en el que el reservorio animal desaparece y el hombre es el único hospedador vertebrado del parásito.

Dependiendo de su localización y de los órganos afectados, las leishmaniasis se separan clásicamente en leishmaniasis cutánea (LC) y leishmaniasis visceral (LV).

Estas formas clínicas se han registrado en 88 países, distribuidos con excepción de Australia, en todos los otros continentes donde la población a riesgo estimada se eleva a 368 millones de personas, con un total de 14 millones de personas afectadas y una incidencia de unos dos millones de casos nuevos

anuales, de ellos 500.000 viscerales y casi 1.500.000 cutáneos, (WHO, 2003). La mayor parte de los casos viscerales se concentra en el subcontinente Indio y en el este de África, mientras que el 90% de los casos cutáneos aparece en el suroeste de Asia y norte de África (Desjeux, 1991, 1992).

En los últimos 25 años ha habido en el mundo un aumento en la incidencia de la leishmaniasis, con expansión en la extensión geográfica y la aparición de nuevas zonas de endemia por lo que ha sido considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una enfermedad re-emergente, concepto discutido por muchos autores. Pero existe registro en la India donde se estima que de 1977 a 1987 sólo en el estado de Bihar se reportaron un millón de casos de Leishmaniasis visceral (LV), otros brotes epidémicos se presentaron en Bengala Occidental, Nepal y Sudan (WHO/TDR, 2004).

La OMS confiere gran importancia a esta enfermedad, considerándola como una de las prioritarias en su programa especial de investigación y entrenamiento de enfermedades Tropicales y es catalogada por dicho organismo internacional en la Categoría I de las enfermedades infecciosas que son las que se encuentran en situación emergente e incontrolada (Handman, 2001;TDR; News, 2002) incluida dentro de las Enfermedades Tropicales Desatendidas (ETD) u olvidadas (“neglected diseases”), no porque no tienen tratamiento sino porque el

segmento de la población que esta expuesta tiene menor acceso a los servicios de Salud Pública , además son los más pobres.

Como en otros países las leishmaniasis cutánea y visceral antiguamente eran consideradas enfermedades generalmente selváticas y rurales (Scorza, 1985). Recientemente se ha observado cambios epidemiológicos importantes relacionados con las modificaciones del medio ambiente y el desarrollo económico, en especial con los procesos de urbanización, los nuevos proyectos agrícolas, la construcción de presas para cultivos, la deforestación y las migraciones de gentes no inmunes a zonas endémicas. Los niños que cuidan el ganado en Etiopía o Sudán, las familias que viven en pésimas condiciones sanitarias junto a sus animales domésticos en Afganistán o Siria, agricultores de India o Nepal que duermen junto a sus vacas sagradas, trabajadores que deforestan la selva primaria amazónica para abrir nuevas vías de comunicación en Brasil o para realizar prospecciones petrolíferas en Colombia, todos tienen algo en común: están expuestos a la picadura de un flebótomo infectado y al riesgo de contraer una leishmaniasis cutánea o visceral (Desjeux, 1991).

La Leishmaniasis visceral (LV) es la forma más grave de las leishmaniasis, ya que puede causar la muerte si no se administra tratamiento específico. Con frecuencia se producen epidemias letales en focos antroponóticos de leishmaniasis visceral en Bangladesh, la India, Nepal y Sudán, donde se cree que

el ser humano es el único reservorio. La vigilancia epidemiológica es fundamental para determinar el impacto de la enfermedad y evaluar los esfuerzos de control de la transmisión y detección de epidemias (Chin, 2002). Suele afectar a niños, personas en estado de malnutrición y pacientes con algún tipo de inmunodepresión. En el sudeste europeo se calcula que entre el 25-70% de los casos de LV pertenecen a enfermos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Molina *et al.*, 2003; Desjeux & Alvar, 2003).

En el nuevo mundo la LVA se ha reportado desde el oeste de Estados Unidos de Norte América donde han aparecido casos en reservorios domésticos (OPS, 1996), hasta Argentina (Salomón, 2001).

A partir de la década de los 1980, brotes de leishmaniasis en Brasil, Perú, Venezuela y Colombia (Costa *et al.*, 1990); incluyendo brotes en regiones donde previamente no se había diagnosticado la enfermedad, destacándose además la emergencia de la LV en zonas urbanas, en particular en grandes ciudades los mayores factores de riesgo; aunque es indiscutible que los factores sociales, económicos de la población humana también estén afectando esta situación. (Desjeux & Alvar, 2003).

En Venezuela, por lo tanto las áreas endémicas se han extendido, por una parte respondiendo a desplazamientos humanos y cambios ambientales, por otro lado como consecuencia de la colonización y adaptación de los insectos vectores

a nuevas áreas de orden urbano, provocando la aparición de casos en estas zonas (Aguilar *et al.*, 1998).

En 1941, Martínez-Niochet & Pons publicaron reporte de un caso de LVA en el país proveniente de Las Mercedes del llano, 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 Anduve en 1942, en el estado Bolívar. El primer caso de LVA en perros, en Venezuela fue publicado en 1960 por Medina y col. A partir de 1961, con las investigaciones de Amaral *et al.* (1961); Amaral *et al.* (1961); Torrealba *et al.* (1961); Torrealba (1964); Pifano & Romero (1964) se pone en evidencia la importancia del estudio de los elementos que conforman la cadena epidemiológica de la LVA y despertando el interés por su mejor conocimiento.

Actualmente la leishmaniasis visceral americana (LVA), en Venezuela se distribuye en 15 de los 23 Estados del territorio. Ha sido estudiada de acuerdo a la ubicación geográfica de la enfermedad y a la distribución geográfica de los vectores a partir de tres focos: **Foco Central** que comprende los Estados Aragua, Carabobo, Guárico, Cojedes y Yaracuy. **Foco Occidental**: conformado por los Estados Falcón, Lara, Portuguesa, Trujillo y Zulia. **Foco Oriental** constituido por los Estados Nueva Esparta, Sucre, Anzoátegui y Monagas. (Felicangeli ,1991). Esta patología 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 (Feliciangeli, 1991)

En el país alrededor de 1000 casos fueron oficialmente reportados de 1955 a 2001, un promedio general de alrededor de 20 casos por año. Se considera, sin embargo el subregistro sigue siendo importante. Esto parece subestimar la verdadera incidencia. Sin embargo, con la reemergencia de LVA en focos rurales (Delgado *et al.*, 1998; Zulueta *et al.*, 1999) y la aparición en los suburbios de zona periurbana (Aguilar *et al.*, 1998) estas cifras han aumentado a 50 casos por año en los últimos 10 años (OPS, 1994; Zulueta *et al.*, 1999).

Con relación a los flebótomos vectores de la LVA estos se incluyen en los géneros *Phlebotomus* en el Viejo Mundo y *Lutzomyia* (França, 1.924) en el Nuevo Mundo (WHO, 1990), las hembras hematófagas, se infestan cuando pican para ingerir sangre de un hospedador parasitado. Su distribución geográfica abarca desde 50° de latitud norte a 40° Sur, sin haberse hecho registros hasta el presente en Nueva Zelanda y las Islas del Pacífico (Feliciangeli, 2006).

Lutzomyia longipalpis s.l. (Lutz & Neiva, 1.912) es considerado el principal vector de (*Leishmania*) *L. infantum* (= *L. chagasi*) en el Nuevo Mundo como ha sido demostrado en algunos países de Sur América, tales como Brasil (Deane, *et al.*, 1954; Ryan, 1984) Bolivia (Le Pont, *et.*, 1985) y Venezuela (Feliciangeli, 1991). *Lutzomyia evansi* (Nuñez-Tovar, 1.924) ha sido señalado como vector

secundario de LVA en el Nuevo Mundo y ha sido encontrado naturalmente infectado con (*Leishmania*) *L. infantum* (= *L. chagasi*) en la costa atlántica de Colombia (Travi, *et al.*, 1990) y con *Leishmania* spp., en los estados Aragua (Feliciangeli, *et al.*, 1993) y Carabobo (Aguilar, *et al.*, 1998), Venezuela.

En Venezuela, *Lu. evansi* ha sido reportado en 14 de las 23 entidades federales del país, en altitudes comprendidas entre los 100 y 1200 m snm y en una gran variedad de zonas de vida (Feliciangeli *et al.*, 1988) La primeras sugerencias de su implicación en la cadena epidemiológica de LVA fueron hechas por Pifano & Romero (1964, 1973) en la Isla de Margarita estado Nueva Esparta donde ocurrían casos de LVA y no se encontró *Lutzomyia longipalpis*, transmisor comprobado de la enfermedad. Más recientemente la especie ha sido encontrada con infección natural en focos de la región centro norte de Venezuela y en los estados Aragua y Carabobo (Feliciangeli, *et al.*, 1993, 1999); y en la región andina, estado Trujillo (Aguilar *et al.*, 1998; Feliciangeli *et al.*, 1999; Vivenes, 2000).

Otra especie vectora de LV, cuya distribución geográfica esta actualmente referida a Venezuela *Lutzomyia pseudolongipalpis* (= *Lu. longipalpis*) la cual fue encontrada naturalmente infectada con promastigotos de *Leishmania* spp. en un foco endémico en la rinconada, Curarigua Estado Lara (Arrivillaga & Feliciangeli, 2001)

En cuanto a los reservorios en los focos de leishmaniasis que existen en el mundo se han citado una gran variedad de animales, mamíferos, como reservorios de distintas especies de *Leishmania* en el Viejo Mundo (37 especies) y en el Nuevo Mundo (25 especies) (Dereure, 1999). Éstos pertenecen a distintos grupos taxonómicos y son tanto silvestres como domésticos (Dereure, *et al.*, 1991; (Ashford, 1996; OPS, 1996).

Entre ellos, merece la pena destacar el *Canis canis*, por su proximidad al entorno humano. Tanto en el Viejo como en el Nuevo Mundo, este animal ha sido hallado parasitado por distintas especies de *Leishmania* (Dereure, 1999; Dereure, *et al.*, 1991; Dereure, *et al.*, 1994; Hashiguchi &, *et al.*, 1991; Llanos Cuentas, *et al.*, 1999).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Localización del Estudio

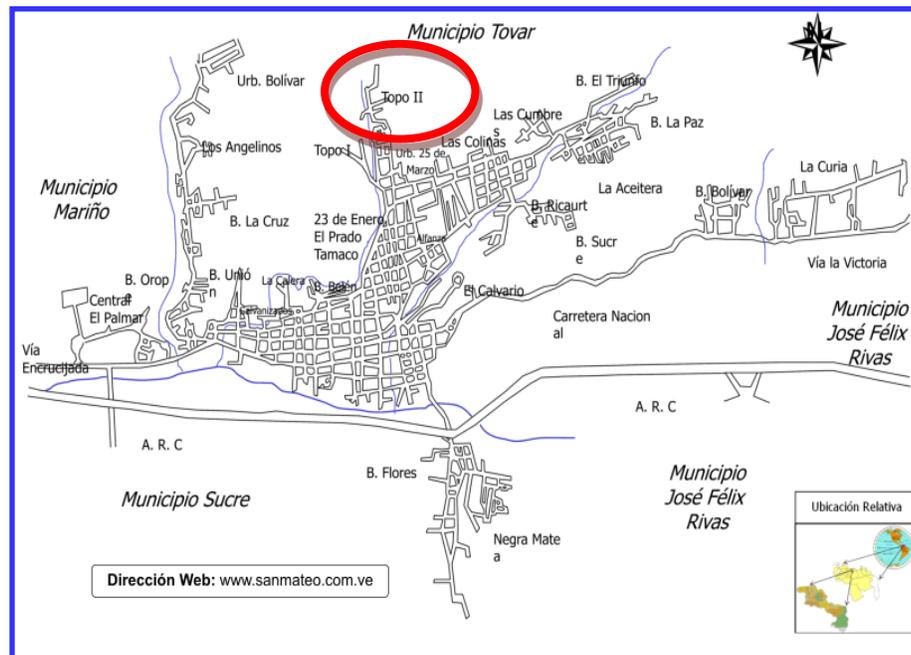
El estudio se realizó en el Estado Aragua el cual, se localiza en la parte centro norte del País entre $09^{\circ} 23' 12,4''$, $10^{\circ} 32' 38''$ Norte y $66^{\circ} 32' 50''$, $67^{\circ} 52' 54''$ Oeste; limita por el Norte con el Mar Caribe, al Este con los estados Guárico, Miranda y Distrito Capital, al Oeste con los estados Carabobo y Guárico y al Sur con el estado Guárico. El estado está dividido geopolíticamente en dieciocho (18) municipios, siendo el municipio Bolívar uno de ellos (Figura1)



Fuente: CONAPLAN, 2009.

Figura 1. Mapa geopolítico del estado Aragua

El municipio Bolívar (Figura 2) tiene una superficie de 58 km² con una población total de 42.688 habitantes, de los cuales 2.006 (4,69%) (INE, 2008) corresponden al sector el Topo I. Cuenta con una Dirección municipal de Salud (DMSB) y una red ambulatoria formada por 12 Ambulatorios (DMSB, 2008). La localidad de San Mateo, Municipio Bolívar del estado Aragua se encuentra a una latitud de 113, 5 m s.n.m; presenta una zona semiárida, cuya zona de vida corresponde a un bosque tropical seco (Ewel y Madriz 1968) con una temperatura media anual de 25,8 ° C, una humedad relativa del 76,3 % y una precipitación media anual de 956,7 mm (Servicio de meteorología FAN, 2008).



Fuente: www.sanmateo.com.ve, 2009.

Figura 2. Croquis del municipio Bolívar, estado Aragua

La localidad de San Mateo representa un foco de importancia epidemiológica por la alta incidencia de leishmaniasis visceral, donde en los últimos 10 años se ha reportado la mayor casuística de la enfermedad del Estado Aragua (50% del total para el estado), incluyendo una defunción de una menor de 5 años en el año 2003 (Servicio de Dermatología Sanitaria de la Corporación de Salud del Estado Aragua, 2008).

En San Mateo se han registrado casos de leishmaniasis visceral en los siguientes sectores: Los Angelinos, Barrio Belén, El Topo I, El Topo II, El Triunfo y Cumbres de Zamora. Todas estas localidades se encuentran ubicadas al pie del Cerro el Topo y presentan características similares en cuanto al tipo de vivienda, temperatura, humedad relativa y servicios básicos.

Se seleccionó para el estudio el sector el Topo I por haber presentado dos casos con una defunción en los últimos 10 años. Este sector está localizado en un área rural de la región Centro Norte (07° 51' 12,4" Latitud Norte y 67° 21' 21,1" Latitud Oeste.) El 22% (449) de la población son niños menores de 9 años quienes son altamente vulnerables a contraer la leishmaniasis visceral. En cuanto a los servicios básicos, cuenta con electricidad, posee aguas servidas por tubería y sistema de aguas negras (Anexo 1).

2.2 Definición de la población y muestra

Se seleccionó para este estudio el sector El Topo I el cual comprende unas 108 casas más cercanas a la casa donde se registro el caso de leishmaniasis visceral, debido a que estas se encuentran en un área de mayor riesgo, ubicadas a pie de monte del Cerro el Topo.

El sector en estudio está conformado por 108 casas, de las cuales se seleccionarán 15 casas, formando 5 tripletas partiendo de la casa donde hubo el caso y en un radio de 100 a 250 metros, de manera que en cada una de éstas estuvieran representados gradientes comparables de densidad de flebótomos (alta, mediana y baja). en base a la similitud de las condiciones de las casas para ello se diseñó un formato el cual recoge la información relacionada con las características de las viviendas (Anexo 2): (i) 5 casas con características semejantes y con mosquiteros impregnados con insecticida en el dormitorio principal (MT), (ii) 5 casas con características semejantes y con mosquiteros sin impregnar con insecticida en el dormitorio principal (MNT) y (ii) 5 casas control con características semejantes sin mosquitero (SM), durante 12 meses. El estudio se realizó de Febrero 2009 a Enero de 2010 (Figura 3).

Durante el estudio, para promover el uso correcto del mosquitero por parte de los habitantes de la comunidad en estudio, se informo sobre la enfermedad, el uso y manejo adecuado de mosquiteros impregnados con insecticida como

medida de prevención y control. La población fue previamente informada acerca del estudio a realizar, y también se solicitó el consentimiento escrito manifestando su acuerdo en participar en el mismo (Anexo 3).



Figura 3. Imagen satelital de la localidad en estudio señalando la ubicación de las casas y el tipo de intervención

2.3 Mosquiteros

Para el ensayo se utilizó, mosquiteros sin impregnar y mosquiteros impregnados con deltametrina 55 mg /m² de larga duración industrializados y estandarizados marca PermaNet ® 2.0, suministrados por VESTERGARD FRANDSEN S.A (Anexo 4).

2.4 Características de los Mosquiteros

Composición: 100% Poliéster tejido en color blanco, no inflamable Tipo: rectangular, para cama matrimonial con lazos. Peso: 100 denier: 30 g/m² (36 filamentos). Malla: 510 / pulgadas² = 80/cm², Hilos: 75 denier (30 g/m²), Ancho: 1,50 metros. Largo: 2,00 metros. Alto: 2,00 metros. Dosis de insecticida: deltrametrina (piretroide) 55 mg/ m². Los mosquiteros fueron diseñados con especificaciones técnicas solicitadas y fabricados exclusivamente para este estudio (Anexo 5).

2.5 Trabajo de Campo

El trabajo de campo se realizó en dos etapas; la primera etapa pre intervención, la cual se desarrolló considerando la muestra antes descrita, durante tres meses Octubre a Diciembre de 2009 y consistió en la colocación de 15 trampas de luz tipo CDC (Communicable Disease Center), una trampa dentro de cada una de las viviendas seleccionadas, durante 12 horas; entre las 18:00 y 6:00

horas. La segunda etapa post intervención, la cual se realizó durante doce meses a partir del momento que fueron colocados los mosquiteros dentro de las viviendas seleccionadas según la muestra de Febrero 2009 a Enero 2010 (Figura 4).



Figura 4. Mosquiteros tratados colocados en las viviendas seleccionadas

2.6 Evaluación

Se evaluó el impacto de los mosquiteros sobre la población adulta de flebótomos a través del uso de trampas de luz tipo CDC durante 12 horas entre 18:00 y 6:00 horas colocando una trampa dentro de cada una de las casas seleccionadas a través del monitoreo mensual (7-10 días) de la población de flebótomos durante 12 meses, contando los flebótomos colectados en las trampas

CDC diariamente y colocando de nuevo la misma trampa en el mismo lugar (Figura 5)



Figura 5. Montaje de trampas CDC dentro de viviendas seleccionadas

Diariamente se verificó en campo con los habitantes de las casas el funcionamiento de las trampas, para ello se diseñó un formato (Anexo 6). Las trampas fueron vaciadas en el laboratorio del Centro Nacional de Referencia de Flebótomos y otros Vectores del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la universidad de Carabobo (Biomed UC) diariamente y los flebótomos que fueron capturados se colocaron en viales de vidrio identificados con: sector, localidad, estado, fecha, casa, tipo de trampa y número de ejemplares capturados por sexo; en alcohol absoluto al 100%.

2.7 Insectos de Campo

Los insectos fueron capturados con trampa de Shannon usando la técnicas de aspirado directo (capturadores de boca) (Maroli y col., 1997). El fundamento de esta trampa fue la captura de flebótomos con luz fluorescente (Figura 6). Se colocó en el monte a unos 200 metros de una de las viviendas de la zona de mayor riesgo durante 3 horas desde las 19:00 hasta las 22:00 horas, 1 día/semana por mes. Los flebótomos que fueron colectados con trampa de Shannon se transportaran en un recipiente de plástico de boca ancha; con tapa con un orificio en el centro cubierto de tela de organza y con una capa de yeso humedecido en el fondo, tanto en el interior como en el exterior para mantener alta y constante la humedad, condiciones favorables para su supervivencia; sobre la tela de la tapa reposaba una mota de algodón embebido en solución al 10% azucarada como dieta suplementaria y se trasladaran al laboratorio Centro Nacional de Referencia de Flebótomos y otros Vectores del Instituto de Biomedicina de la Universidad de Carabobo (Biomed UC) (Figura 7).

2.8 Insectos de Colonia

Se utilizó para el bionsayo insectos machos de la colonia cerrada del Centro Nacional de Referencia de Flebótomos y otros Vectores del Instituto de Biomedicina de la universidad de Carabobo (Biomed UC).



Figura 6. Captura con trampa de Shannon usando la técnica de aspirado directo, capturadores de boca.



Figura 7. Equipo utilizado para el traslado de flebotomos capturados en el campo con trampa de Shannon.

2.9 Procesamiento e identificación de los flebótomos

Para la identificación de los flebótomos que fueron capturados, estos fueron lavados en una solución al 10% de champo en agua destilada por cinco minutos (5 min.) para ser clarificados, luego se pasaron por fenol por un tiempo mínimo de treinta minutos (30 min.). Una vez preparado el material este fue observado con un ocular 10x y objetivo 40x. La información que se derivó de la actividad antes descrita fue recopilada en un formato para tal fin (Anexo 7). Todos los flebótomos capturados se identificaron a nivel de especie utilizando las claves taxonómicas de Forattini, 1973; Young & Duncan, 1994 y Feliciangeli *et al* 1991.

2.10 Bioensayo para la evaluación biológica residual en mosquiteros tratados

Adicionalmente se realizó un bioensayo para evaluar la residualidad del mosquitero a intervalos diferentes de uso. Para este propósito se utilizaron insectos machos de la colonia cerrada del Centro Nacional de Referencia de Flebótomos y otros Vectores del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Carabobo (Biomed-UC).

2.11 Bioensayo

Se realizó bioensayo para medir la eficacia residual de los mosquiteros impregnados, para ello se utilizó el Protocolo del método de Organización Mundial

para Salud, (WHO, 2009) modificado para este estudio (Figura 8). El cono fue colocado sobre el mosquitero en cuatro sectores o puntos distintos del mismo (puntos de contacto), en momentos distintos sobre una superficie plana (lámina de formica la cual fue lavada para cada punto), sujetando con la mano para impedir que se mueva del piso. Para las pruebas fue requerido el equipo recomendado; el cual consta de un cono plástico transparente con una abertura en la parte superior y captador de boca – aspirador de mosquito.

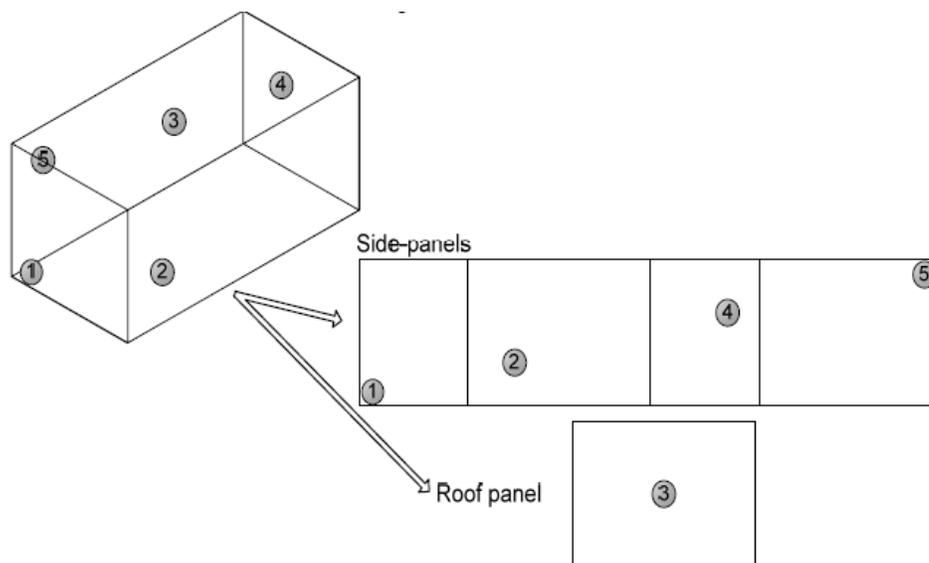


Figura 8. Preparación de MT con deltametrina para bioensayos de residuabilidad (el punto 1 fue ignorado ya que puede haber sido sometido a abrasión excesiva y es la parte que se supone va debajo del colchón) WHO (2009)

Se utilizaron según la disponibilidad del material por punto 25 flebótomos de la colonia cerrada del Centro Nacional de Referencia de Flebótomos y otros Vectores del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Carabobo (Biomed-UC). Se colocaron los flebótomos (25 flebótomos por punto) dentro del cono, y fueron expuestos por 3 minutos sobre cada punto (Figura 9). Una vez concluido el tiempo de exposición, se retiraron los flebótomos cuidadosamente con un aspirador, cuidando de no maltratarlos, fueron transferidos a un recipiente de plástico de boca ancha; con tapa con un orificio en el centro cubierto de tela de organza y con una capa de yeso húmedo en el fondo, tanto en el interior como en el exterior para mantener alta y constante la humedad, condiciones favorables para su supervivencia, sobre la tela de la tapa fue mantenida una mota de algodón embebido en solución al azucarada 10% como dieta suplementaria (Figura 10).



Figura 9. Exposición de los flebótomos al mosquitero tratado

Se registro la mortalidad después de una hora y a las 24 horas de exposición. Luego de la lectura a las 24 horas, los flebótomos expuestos en los mosquiteros sin impregnar (usado), se preservaron en viales de vidrio herméticos en alcohol al 100% debidamente identificados (lugar, fecha, procedencia del material biológico, número de ejemplares, sexo). Los flebótomos que fueron expuestos en los mosquiteros impregnados (usados) se preservaron en envases Ependorf debidamente rotulados (lugar, fecha, procedencia del material biológico, casa, punto o sector del mosquitero) y a una temperatura de -20° C. los Se utilizó para el bioensayo un mosquitero impregnado nuevo (sin usar), los cinco mosquitero impregnado usado (los cinco mosquiteros impregnados colocados en las casas seleccionadas),y los cinco mosquitero sin impregnar usado control (los cinco mosquitero sin impregnar control colocados en las casas seleccionadas). Estos bioensayos se realizaron a los seis meses de inicio de uso de los mosquiteros y luego de la primera y segunda lavada de los mismos. Los mosquiteros fueron lavados en la comunidad siguiendo las instrucciones de lavado dado a las familias seleccionadas.



Figura 10. Equipo de recuperación de los flebotomos para su recuperación luego de la exposición al mosquitero tratado.

2.12. Protocolo para el procedimiento de lavado de los mosquiteros

Para el lavado de los mosquiteros se les explicó previamente a los usuarios de los mismos el procedimiento de lavado y luego se realizó junto con ellos. Asimismo se les entregó por escrito dicho procedimiento en cada una de las viviendas para las posteriores lavadas. El lavado se hizo con agua limpia a temperatura ambiente en un recipiente limpio con jabón azul de barra, sin estregar, ni torcer, sin dejar en remojo y secando a la sombra.

2.13 Análisis de los Resultados

1. Para determinar el impacto del uso de mosquitero sobre densidad de flebotomos en las casas con mosquiteros impregnados vs. N° de

flebótomos colectados en casas con mosquiteros sin impregnar, se aplicó la prueba no paramétrica de la suma de rangos de Wilcoxon (U de Mann-Whitney). Adicional y/o alternativamente la presencia o no de flebótomos en las muestras obtenidas según los grupos de tratamiento estudiado y grupos de viviendas a riesgo ser analizó con la prueba regresión logística ajustada por los meses de colección.

2. El efecto residual del insecticida fue evaluado en “laboratorio” con los mosquiteros impregnados y no impregnados con insecticidas utilizados en las viviendas del estudio, a través de medición de la proporción de muertes de flebótomos y utilizando la prueba U de Mann-Whitney. Adicionalmente se comparó el porcentaje de mortalidad de los flebótomos por punto de contacto y en los tres momentos relativos al uso y lavado de los mosquiteros.

3. El Estudio de la fluctuación poblacional mensual de los flebótomos en casas control se correlacionó mensualmente con las variables climáticas de precipitación, humedad y temperatura presente en la zona de estudio. Para ello la fluctuación mensual de flebótomos se correlacionó con estas variables utilizando la prueba de Prueba Rho de Spearman.

III. RESULTADOS

3.1 Composición específica y abundancia relativa de las especies de flebótomos.

a) Composición específica y abundancia relativa.

En la etapa pre intervención, realizada entre Octubre a Diciembre 2008, en las 15 casas seleccionadas para el ensayo de control de vectores de leishmaniasis visceral a través del uso de mosquiteros impregnados, se realizaron 150 capturas, colectándose un total de 88 ejemplares (36 M y 52 H). Se detectó la presencia de 5 especies de *Lutzomyia*. *Lutzomyia longipalpis* y *Lu. evansi* reconocidas de poseer hábitos antropofílicos y ser vectores de leishmaniasis visceral, fueron las especies predominantes, siendo la proporción de sexos de 2.08 M:1H en *Lu. longipalpis* y de 0,42 M:1H en *Lu. evansi*; siendo para esta última especie mayor la proporción de hembras sobre machos dentro de las viviendas. Las otras tres especies correspondieron a *Lu. dubitans* Sherlock, 1962, *Lu. lichi* (Floch & Abonnenc, 1950) y *Lu. atroclavata* (Knab, 1913).

En la Cuadro 1 se presentan la abundancia y composición específica de la fauna flebotómica, registradas desde Febrero 2009 a Enero 2010, a través de 1.899 trampas de luz CDC colocadas en intradomicilio. Se obtuvo un total de 749 ejemplares de *Lutzomyia*, encontrándose las mismas especies detectadas en el estudio de pre-intervención: *Lu. longipalpis* y *Lu. evansi* fueron las especies

predominantes, siendo la proporción de sexos de 4,13 M:1H en *Lu. longipalpis* y de 1,30 M:1H en *Lu. evansi*. Las otras tres especies correspondieron a *Lu. dubitans*, *Lu. lichyi* y *Lu. atroclavata*.

Cuadro 1. Abundancia y composición específica de la fauna de flebotomos en el intradomicilio, en el sector El Topo I, San Mateo, Estado Aragua. Febrero 2009 – Enero 2010.

Especies de <i>Lutzomyía</i>	♂	♀	Total	%	95% LC	Prop. sexo m:h
<i>Lu. longipalpis</i> **	194	47	241	32,18	28,84-35,65	4,13:1
<i>Lu. evansi</i> **	260	199	459	61,28	57,69-64,79	1,30:1
<i>Lu. dubitans</i>	16	25	41	5,47	53,96-7,35	0,64:1
<i>Lu. lichyi</i> **	4	2	6	0,80	0,29-1,74	2,00:1
<i>Lu. atroclavata</i>	2	0	2	0,27	0,03-0,96	2,00:0
Total	476	273	749	100		

Número de capturas =1899

****Especies antropofílicas**

Se encontró que la conformación específica de la fauna flebotómica capturada con trampas de Shannon (n=31) ubicada en el bosque durante el período de Noviembre de 2008 hasta Agosto de 2009, de 18:00 a 22:00 horas, fue similar a la que se registró con trampa CDC; es decir, en el bosque se encontraron las mismas especies capturadas en las viviendas. Así mismo, se observó con este método de captura, que la especie más abundante fue *Lu. evansi* (88,78%), con un neto predominio de hembras sobre machos (0,18 M:1 H).

3.2 Dinámica estacional de la población de flebótomos en intradomicilio y su correlación con variables climáticas: temperatura, humedad relativa y precipitación.

En el Cuadro 2 se presentan los datos de las fluctuaciones estacionales de *Lu. longipalpis* y *Lu. evansi* en el intradomicilio y los datos correspondientes de las variables climáticas: temperatura, humedad relativa y precipitación. Para ello los datos utilizados fueron los obtenidos con las capturas por noche durante doce meses con la trampa CDC dentro de las cinco casas sin mosquitero (SM), debido que las 10 casas restantes tenían mosquiteros tratados con insecticida (MT) y mosquiteros no tratados (MNTC). Se encontró una correlación directa significativa entre la abundancia de *Lu. evansi* (coeficiente de correlación de Pearson: $P=0,4902$) y *Lu. longipalpis* ($P=0,4497$) y la precipitación mensual, coincidiendo el mayor pico de abundancia de las dos especies con la precipitación en el mes de Septiembre. (Gráfico 1).

Cuadro 2. Fluctuación estacional de *Lu. longipalpis* y *Lu. evansi* capturados en El Topo I, San Mateo, Estado Aragua (trampa CDC intradomicilio) y su relación con las variables climáticas: temperatura, humedad relativa y precipitación durante Febrero 2009- Enero 2010.

Meses	*n° <i>Lu. longipalpis</i>	* n° <i>Lu. evansi</i>	n° trampas/ noche	individuos / noche		Temp. °C	H.R.	Precip. mm/mes
				<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. evansi</i>			
Febrero	9	0	47	0,19	0,00	21,1	83	3,2
Marzo	0	0	72	0,00	0,00	24,6	80	2,2
Abril	1	0	45	0,02	0,00	25,3	74	26,8
Mayo	0	0	68	0,00	0,00	26,9	76	90,4
Junio	65	144	79	0,82	1,82	26,9	76	57,8
Julio	9	0	57	0,16	0,00	26,6	80	102,6
Agosto	4	1	53	0,08	0,02	25,9	84	141,7
Septiembre	43	221	39	1,10	5,67	26,6	82	145,4
Octubre	3	2	45	0,07	0,04	26,4	80	98
Noviembre	2	1	50	0,04	0,02	25,4	88	48
Diciembre	0	0	40	0,00	0,00	24,2	85	7,8
Enero	0	0	40	0,00	0,00	25,8	71	0,7
TOTAL	136	369	635					

* Especies antropofílicas

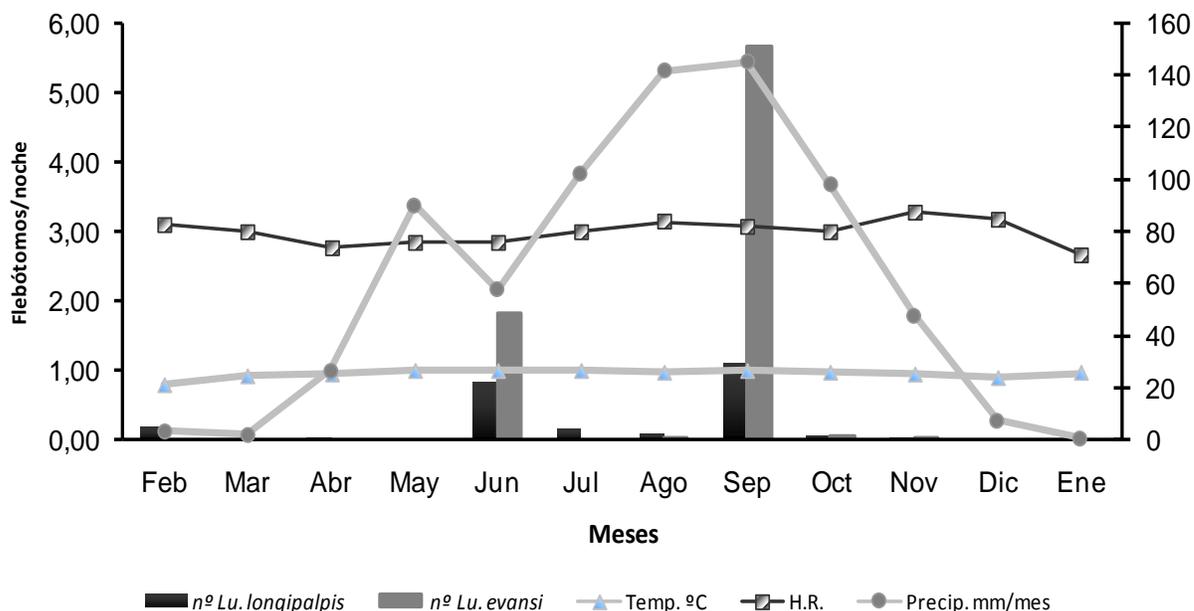


Gráfico 1. Frecuencia mensual de *Lu. longipalpis* y *Lu. evansi* capturados en el intradomicilio con trampas CDC en El Topo I, San Mateo, Estado Aragua y su relación con las variables climáticas: temperatura, humedad relativa y precipitación (2009-2010).

3. 3 Evaluación del impacto del uso de los mosquiteros impregnados con deltametrina sobre la densidad intradoméstica de los flebotomos

a) Evaluación por tipo de intervención

El impacto del uso de mosquiteros tratados con insecticida deltametrina a 55 mg/m² como medida de control. Se muestra en el Cuadro 3, donde se reporta

el número total de individuos de las especies antropofílicas más abundantes (*Lu. longipalpis*, *Lu. evansi* y *Lu. dubitans*) por tipo de intervención: en casas sin mosquitero (SM), con mosquiteros no tratados control (MNTC) con mosquiteros tratados (MT), agrupadas tomando en cuenta su distancia del bosque: entre 0 y 150 y de 150 a 250 metros. Se utilizaron un total de 1.894 trampas, con pequeñas variaciones del número de trampas entre los grupos, debido a la ausencia ocasional de los habitantes en algunas casas. En primer lugar en el Gráfico 2 se muestra la comparación de la suma de los flebótomos colectados en los tres grupos de intervención sin tomar en cuenta la distancia del bosque.

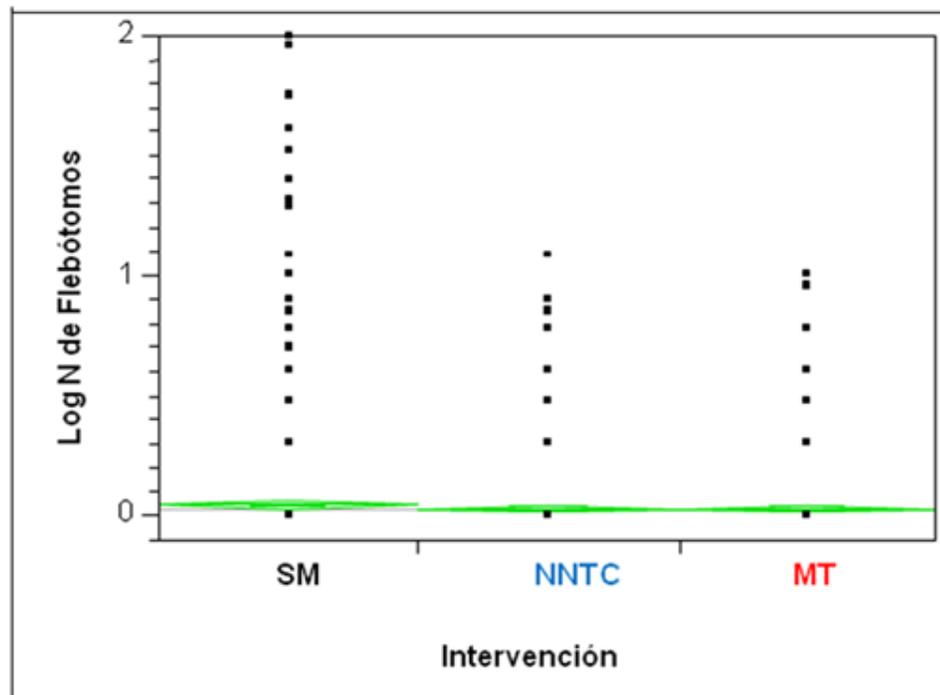


Gráfico 2. Comparación del número de flebótomos colectado en los tres grupos de casas con diferente tipo de intervención.

Con el análisis de Kruskal-Wallis, no se evidencio diferencia significativa entre los tres grupos ($\chi^2= 0.0268$; $df=2$; $P=0,9867$). Cuando se observan los resultados en los diferentes grupos, se aprecia que el mayor número de flebótomos se colectó en el grupo SM (N=505) ubicado en el área de 0 a150 m. y N=22 en el grupo con MT en el área de 150 a 250 m, mientras que el menor número de flebótomos colectados fue en el grupo de casas con MT (N=87) para el área de 0 a150 m y N=8 en el grupo con MNTC en el área de 150 a 250 m. Sin embargo, con el análisis de Kruskal-Wallis no se demostró diferencia estadísticamente significativa entre los tres grupos en el rango de distancia del bosque de 0-150 m ($\chi^2= 1,1450$; $df=2$; $P=0,5641$) y de 150-250 m ($\chi^2= 3,0307$; $df= 2$; $P= 0,2197$).

Cuadro 3. Total de flebótomos colectados por tipo de intervención y distancia del bosque.

Distancia del bosque	Intervención	Trampas CDC	n	WGM	LC Inf 95 %	LC Sup 95 %
0- 150 metros	SM	386	505	0,0524	0,0347	0,0701
	MNTC	383	110	0,0347	0,0243	0,0450
	MT	381	87	0,0309	0,0216	0,0402
150- 250 metros	SM	251	9	0,0013	0,0080	0,1828
	MNTC	251	8	0,0158	0,0107	0,0209
	MT	242	22	0,0381	0,0330	0,0432

n= número de individuos de las especies antropofílicas.

MGW= Media geométrica de Williams

b) Evaluación del impacto de intervención según la distancia del bosque.

En el Cuadro 4 se totaliza el número de flebótomos colectados en los tres grupos de casas en el rango comprendido entre 0-150 m y los que se colectaron en los tres grupos en el rango de 150-250 m. Cuando se compraron estos dos grupos utilizando la prueba de Wilcoxon, se observó una diferencia altamente significativa. Estos resultados se presentan en el Gráfico 3.

Cuadro 4. Total de flebótomos colectados a diferente distancia del bosque.

Distancia del bosque	Trampas CDC	n	WGM	Lim Inf 95 %	Lim Sup 95 %	χ^2	gl	P
0- 150 m.	1150	702	0,0132	0,0080	0,0183	27,8193	1	< 0.0001
150- 250 m	744	39	0,0564	0,0445	0,0683			

n= número de individuos de las especies antropofílic

MGW= Media geométrica de Williams

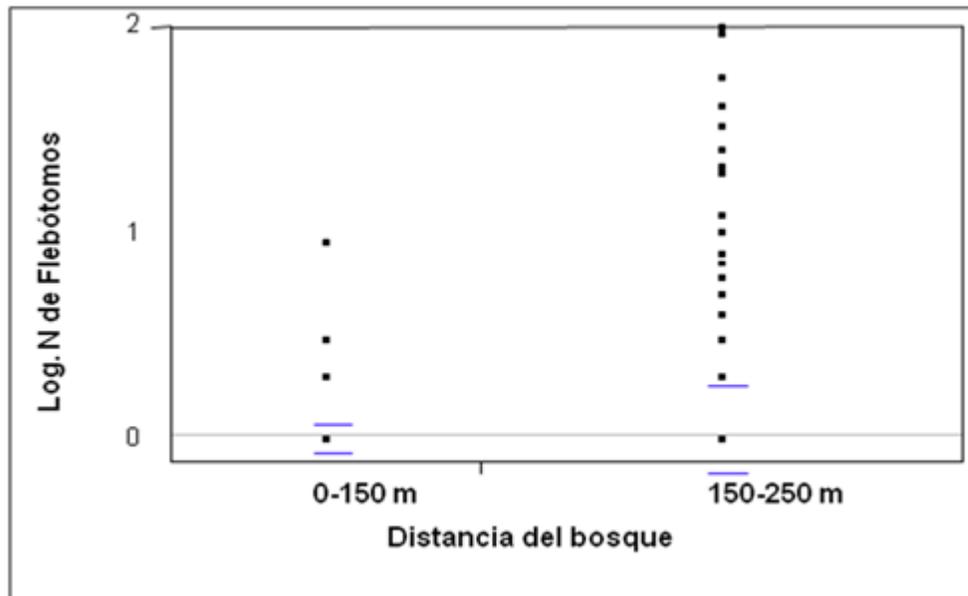


Gráfico 3. Comparación del número de flebótomos colectado en los dos grupos de casas ubicadas a diferente distancia del bosque.

3.4 Evaluación del poder residual del insecticida en los mosquiteros tratados durante el período de estudio (6-10 meses).

a. Mortalidad por puntos de contacto del mosquitero.

El bioensayo evaluó en condiciones de laboratorio el poder residual del insecticida deltametrina a 55 mg /m en los mosquiteros tratados (MT) sobre los cuatro puntos de contacto seleccionados (Figura 8) colocados en las casas durante un periodo de 10 meses. En el Cuadro 5 se muestran los resultados promedios de mortalidad observada en 5 repeticiones con 25 flebótomos c/u, por cada punto a los 6, 8 y 10 meses de uso, habiéndose lavado cada mosquitero

después de cada bioensayo. Para cada punto se utilizaron 125 flebótomos para un total de 1500 insectos. De igual manera se evaluaron los cinco mosquiteros no tratados controles (MNTC). Sin embargo, por escasez de material biológico, el número de réplicas fue un poco menor, utilizándose un total de 1350 insectos. Se observó en los diferentes puntos una mortalidad entre 43% y 82% a los seis meses; de 63% a 90% a los ocho meses y de 78% a 98% a los diez meses. Sin embargo el análisis Kruskal-Wallis no mostró diferencia estadísticamente significativa entre los cuatro puntos en los tres períodos de estudio. A pesar de esto, se evidencia que en el punto dos fue donde se registró menor porcentaje de mortalidad en los tres períodos de tiempo, evidenciándose significancia entre la diferencia de mortalidad observada a los seis meses vs. la mortalidad a los diez meses para este punto ($df= 4$; $P= 0.461$). En los mosquiteros no tratados, la mortalidad osciló entre 0% y 4% considerando todos los puntos y los tres períodos de estudio, lo cual se ubica dentro del límite aceptado bajo condiciones controladas (5%).

Cuadro 5. Porcentaje de mortalidad de flebótomos a las 24 horas de exposición sobre cinco mosquiteros tratados con deltametrina a 55 mg /m² durante tres períodos de tiempo de uso.

% de mortalidad a las 24 horas							
Tratamiento	Puntos del mosquitero				Análisis de Kruskal-Wallis		
MT	2	3	4	5	χ^2	gl	P
6 meses	43 (54)	82 (103)	81 (101)	78 (97)	5,6224	3	0,1315
8 meses	63 (79)	82 (103)	90 (113)	81 (101)	2,0938	3	0,5532
10 meses	78 (98)	98 (122)	98 (123)	98 (122)	2,0577	3	0,5605

Entre parentesis: total de flebótomos muertos

Total de flebótomos = 25 x 5 repeticiones =125 por punto

b. Mortalidad observada a diferentes tiempos de uso.

Cuando se evaluó la efectividad de los mosquiteros tratados considerando el tiempo de uso (Gráfico 4) se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($F=0.8773$; $gl= 2$; $P=0,0035$) en el porcentaje de mortalidad. Un análisis por pares (prueba de Wilcoxon) permitió detectar significancia entre la diferencia de mortalidad observada a los seis meses vs. la mortalidad a los diez meses ($z=0.000$; $gl= 19$).

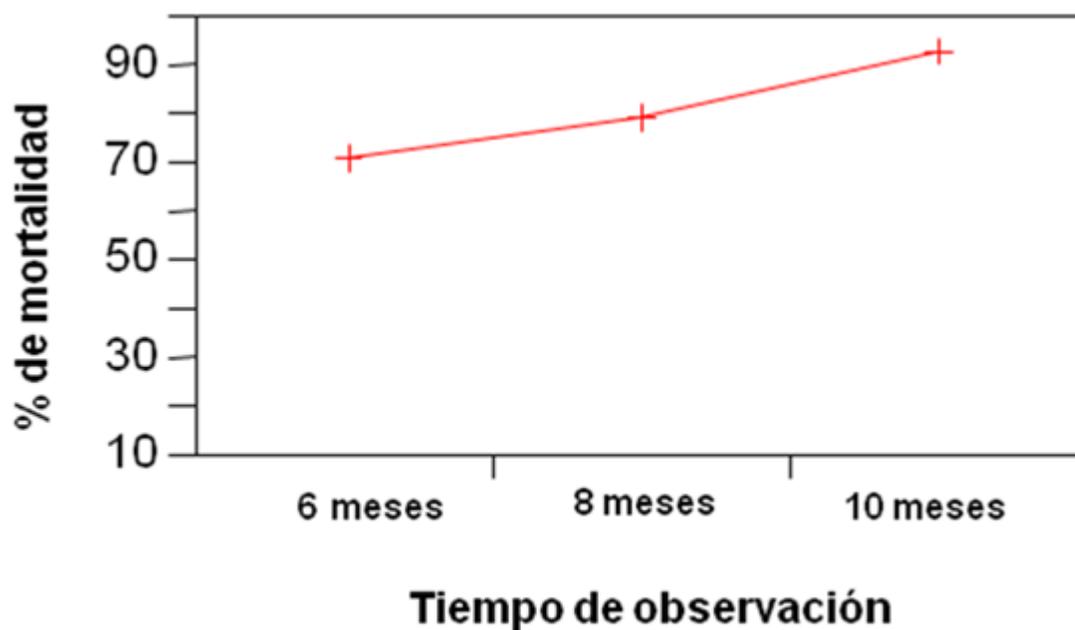


Grafico 4. Porcentajes de mortalidad de flebotomos a las 24 horas de exposición sobre cinco mosquiteros tratados con deltametrina a 55 mg /m² durante el periodo de uso.

IV. DISCUSIÓN

En este trabajo se estudió la composición específica y dinámica poblacional de la fauna flebotómica en San Mateo, Edo. Aragua, un foco de LV en Venezuela. Se realizó además por primera vez en el país, un estudio piloto con mosquiteros tratados con insecticida como posible medida de control para la leishmaniasis visceral.

Se detectó la presencia de cinco especies de flebótomos, de los cuales, las de mayor importancia por sus antecedentes como vectores fueron *Lu. longipalpis* y *Lu. evansi*.

Lutzomyia longipalpis se distribuye desde México hasta Argentina (Young & Duncan, 2004), mientras que la distribución de *Lu. evansi* sólo se extiende desde México (Ibañez-Bernal *et al.*, 2004) hasta Colombia y Venezuela (Young & Duncan, 2004).

Lutzomyia longipalpis ha sido clásicamente incriminada como responsable de la transmisión de LV en el continente americano (Deane, 1956; Amaral *et al.* 1961; Pifano, 1969; Desjeux, 1991) mientras que *Lu. evansi*, fue señalada por primera vez por Pifano & Romero (1964), como vector potencial o alternativo en ausencia de *Lu. longipalpis* en la Isla de Margarita durante la estación húmeda, cuando disminuyen las poblaciones de *L. longipalpis* (Feliciangeli *et al.*, 1999). Sin embargo, en esta isla hasta el momento, solamente *Lu. longipalpis* ha sido

encontrada infectada con promastigotos de *Leishmania* spp. (Felicangeli *et al.*, 1999), recientemente identificados como *Le. infantum* (Rodríguez *et al.*, 2005).

Los registros de infección y rol vectorial de estas dos especies en Venezuela han sido reportados por Felicangeli (2006).

En Colombia Travi (1990) encontró por primera vez *Lu evansi* infectada en un área endémica de LV donde no se encontró *Lu. longipalpis*, señalándola por lo tanto como única responsable de la transmisión, sin embargo estas especies también son simpátricas y vectoras de LV en varios focos (González *et al.*, 2006).

En Centroamérica también coexisten en Mexico (Ibañez-Bernal *et al.*, 2004) y en Nicaragua, donde fueron las especies más comunes recolectadas en las planicies del Pacífico (Raymond *et al.*, 2010).

Lutzomyia evansi fue la especie más abundante en el año de captura en el Topo I, San Mateo, tanto en el intradomicilio como en el bosque, en comparación con *Lu. longipalpis*. Se observó que ambas especies presentan dos picos de mayor densidad en los meses de Mayo y Septiembre, mostrando una correlación positiva con el patrón bimodal de precipitación observada en el área de estudio, manteniéndose *Lu. evansi* siempre con las densidades más altas. Estas fluctuaciones poblacionales son similares a las observadas en Guayabita, otro foco de LV, a pocos Kms del área de estudio, con la diferencia que aquí se registró la mayor densidad de *Lu. longipalpis* en el mes de Mayo. *Lutzomyia*

longipalpis correlacionó positivamente con la temperatura, mientras que la humedad así como la precipitación mostraron una correlación negativa. Por otro lado *Lu. evansi* no pareció ser afectado sensiblemente por los factores abióticos (Feliciangeli *et al.* 1999).

En Honduras, Carrasco *et al.* (2008) señalan que la mayor abundancia de esta especie se detectó inmediatamente después de las lluvias (Julio y Diciembre) y en Colombia Morrison *et al.* (1995) reportan una correlación positiva entre el número de hembras de *Lu longipalpis* y la humedad relativa y precipitación registradas 3 semanas antes, indicando que estos factores pueden ser predictores de la abundancia de esta especie en esta localidad. En efecto estos autores hacen énfasis en las diferencias observadas en otros países como Costa Rica donde Zeledón *et al.* (1984) señalan una mayor población en el periodo de sequía, disminuyendo considerablemente con la llegada de las lluvias y en el Valle de Guatimar en Colombia (Florez *et al.* 2006), los picos de mayor abundancia corresponden a los meses mayo a –julio (época de sequía) y septiembre (época de lluvia).

En Brasil, donde antiguamente la LV era también relegada a zonas rurales semi-áridas y de clima cálido y de baja precipitación pluvial, la mayor preocupación es actualmente la gran dispersión debida principalmente a la urbanización de la leishmaniasis visceral (Costa, 2001). La urbanización produjo cambios importantes con relación a la dinámica poblacional de *Lu. longipalpis*, la

cual no solo es influenciada por factores climáticos, sino también por factores edáficos y antropogénicos por la proliferación de suburbios desorganizados que han favorecido, probablemente a través de la multiplicación de criaderos, la propagación de esta especie con gran plasticidad para la adaptación.

En cuanto a *Lu. evansi*, el patrón parece ser más constante con una estrecha relación con la lluvia, observándose esta asociación en San Mateo, así como en Guayabita con el pico de población después del mayor pico de precipitación más abundante en Septiembre-Octubre (Feliciangeli *et al.* 1999) y en Trujillo por Vivenes (2000) después del primer pico de precipitación. En los caseríos El Contenido y Vidales, Travi *et al.* (1996), observaron un patrón similar al observado en este trabajo en San Mateo y en Guayabita. Ambos autores (Travi, 1996, Feliciangeli *et al.*, 1999) señalaron también que *Lu. evansi* paridas e infectadas fueron más abundantes hacia el final de la temporada de lluvias (octubre-diciembre), recomendando que las estrategias de control basadas en la reducción de las poblaciones de *Lu. evansi* o evitar el contacto de los humanos-vector, deben ser concentradas durante ese período.

Los estudios sobre control de vectores de leishmaniasis en general y de LV en particular, han sido escasos, lo cual se debió principalmente al carácter selvático, rural y focal de estas enfermedades, así como a la falta de estudios entomológicos y ecológicos básicos que orientaran acerca de la factibilidad y eficiencia de la aplicación de las intervenciones. En Venezuela el Programa de

Control de la Leishmaniasis, dirigido por el Instituto de Biomedicina a través de la red de Servicios de Dermatología Sanitaria en todos los Estados, se ha basado esencialmente en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes hasta el año 2003, cuando se implementó el monitoreo de los reservorios domésticos y el sacrificio de los infectados (Zerpa *et al.*, 2003), lo cual sigue siendo tema actual de debate desde el punto de vista bioético.

En cuanto a los estudios sobre control de los vectores de LV, susceptibilidad y dosis diagnósticas de *Lu. longipalpis* a diferentes insecticidas piretroides fueron determinadas para *L. longipalpis* por Mazzarri *et al.* (2001) y para *Lu. evansi* por Alvarez *et al.* (2006).

A nivel de campo, en Nueva Esparta se comparó el impacto sobre la población de flebótomos intradomésticas del rociamiento con λ -cyalothrina a razón de 25 mg/m² (3 aplicaciones cada 5 meses) y extradomésticas (30 g/ha en aplicaciones espaciales quincenales) en el peridomicilio con fenitrothion ULV 50% en la localidad de Santa Ana durante el año 1999. Hubo una reducción significativa de la abundancia de *Lu. longipalpis*, la especie predominante en comparación con la población capturada en la localidad control Las Cabrerías. También se observó un efecto residual del insecticida hasta 3 meses después, en el intradomicilio mientras que no hubo reducción de la población en el peridomicilio.

En Brasil en el Programa de Control de la LV también se prioriza el diagnóstico precoz y tratamiento de los casos. Sin embargo se ha utilizado con regularidad el control de vectores ya que se demostró que la campaña antimalárica para el control de anofelinos en ese país había tenido un impacto importante también sobre las poblaciones de flebotomos, reduciendo la mortalidad por LV (Alencar, 1963). Posteriormente esta medida ha sido llevada a cabo conjuntamente con el monitoreo de la prevalencia de la infección en los reservorios domésticos y el sacrificio de los seropositivos y evaluada a través de los datos de incidencia de la enfermedad y/o prevalencia de la infección. En 1980 Magalhães *et al.* publicaron un estudio retrospectivo sobre el impacto de 3 medidas: tratamiento de los casos, sacrificio de los perros infectados y aplicación de DDT en 19 municipios del Valle Rio Doce, Estado de Minas Gerais reportando la desaparición de los casos después de aplicación de esta estrategia. Sin embargo en otras situaciones la interpretación de los resultados ha sido dificultosa, como en suburbios de la ciudad de Teresina, estado de Piauí, donde en grupos poblacionales en los cuales se sacrificaron los caninos infectados hubo una importante reducción de la incidencia de la LV, mientras que ésta no se obtuvo en los grupos donde se aplicó esta medida un conjunto con rociamiento intradomiciliario o rociamiento intradomiciliario y nebulizaciones perdomiciliarias (Costa, 2007).

Más recientemente el uso de mosquiteros de larga duración impregnados con insecticidas piretroides, actualmente método de elección en las campañas antimaláricas, recomendado por la Organización mundial de la Salud (WHO, 2007), se ha venido ensayando en algunos países como una alternativa más sustentable que el rociamiento intradomiciliario, como una posible herramienta útil y más económica que el rociamiento, para el control de los vectores de LV.

Todos los trabajos arriba referidos sobre *Lu. longipalpis* y *Lu. evansi* señalan la endofilia y endofagia de estos vectores, usualmente capturados dentro de las casas con trampas de luz CDC, lo cual explican la mayor incidencia de LV en niños menores de 5 años reportadas en Venezuela (Zerpa et al., 2001). En este trabajo se realizó un ensayo sobre la eficacia de los mosquiteros impregnados con deltametrina con este tipo de trampa, comparando el número de flebótomos capturados dentro de casas: sin mosquiteros (SM), con mosquiteros sin insecticida (MNTC) y mosquiteros tratados (MT).

Los resultados obtenidos en los 3 grupos no fueron estadísticamente significativos ni entre los 3 grupos en su totalidad (entre 0 y 250 m), ni cuando se compararon los resultados en los 3 grupos ubicados a diferentes distancia del bosque, entre 0 y 150 m del bosque y entre 150 y 250 m del bosque. Cuando se comparó el número total de flebótomos capturados en todas las casas se registró un número significativamente mayor en el 1er grupo (0-150 m) con relación al 2° grupo (150-250 m del bosque). Por lo tanto este estudio revela que el uso de

mosquiteros bien sea impregnados o no con insecticidas no constituye un factor de protección para las personas expuestas al riesgo de la picada de los vectores de LV en este foco y confirma resultados sobre la proximidad de las casas al bosque como un factor de riesgo de LV obtenidos en otros focos en Venezuela (Feliciangeli *et al.*, 2006), así como de Brazil (de Almeida *et al.*, 2011).

Otros ensayos de control de los vectores a través del uso de mosquiteros han dado resultados variables en varias zonas geográficas.

En Brasil, Courtenay *et al.* (2007) realizaron un estudio con mosquiteros impregnados con deltametrina para reducir las tasas de “aterizaje” de *Lu. longipalpis* en humanos y demostró que, el efecto-barrera del insecticida en el mosquitero tratado aumenta en un 39% con respecto al mosquitero no tratado, la tasa de aterizaje se reduce en 80% y durante las 24 hs siguientes aumentó en 98% la tasa de mortalidad de los flebótomos. Sin embargo este estudio solo se basó en pocas observaciones realizadas durante un periodo muy corto (3 días) y no se midió el efecto residual del insecticida en los mosquiteros.

En el viejo Mundo, Elnaiem *et al.* (1999), realizaron un ensayo en Sudán para determinar el efecto protector de mosquiteros impregnados con insecticida piretroide λ -cyalothrina (10 mg a.i./m²) en dos aldeas endémicas para LV. El estudio indicó que la capturas del vector *P. orientalis* posándose durante toda la noche durante 12 noches (Junio 1995), sobre humano fue de 32,0 +/- 8,3 cuando

no usaron mosquiteros y 6,9 +/- 2,7 posándose en humanos bajo mosquiteros tratados. Se concluyó que el uso de mosquiteros impregnados al aire libre, así como en interiores, podría proporcionar un alto grado de protección personal contra esta infección zoonótica.

En 2005, auspiciado por la OMS, se realizó un esfuerzo multidisciplinario para el desarrollo de investigación operativa dirigida a la gestión integrada de los vectores *P. argentipes* y *P. papatasi* con la finalidad de eliminar la leishmaniasis visceral en el subcontinente Indio: Bangladesh, India y Nepal (Joshi *et al.*, 2005). Se realizaron tres intervenciones diferentes: (i) rociamiento intradomiciliario con insecticida de acción residual (RI); (ii) mosquiteros tratados de larga duración (MTLD); y (iii) modificación ambiental (MA) a través de frisado de paredes con cal o barro. Obtuvieron como resultado: que el RI redujo significativamente la densidad del vector y en menor medida lo fueron el uso de MTILD y la MA, independientemente del tipo de paredes o si las personas comparten su casa con el ganado, durante al menos 5 meses de estudio. RI fue efectiva en todos los sitios pero los MTILD sólo fueron eficaces en Bangladesh y la India. Estos resultados se contradicen con los resultados del estudio de Bern *et al.*, 2000 quienes observaron que dormir debajo de un mosquitero, aun no tratado, constituyó un factor de protección en Nepal. Estos autores recomiendan un programa de educación para la salud para incrementar el uso de los mosquiteros en la población.

Vanlerberghe *et al.* (2006) midieron los factores determinantes en el uso mosquiteros de acuerdo a la posibilidad de adquirirlos en las zonas endémicas de leishmaniasis visceral del subcontinente Indio. Obtuvo como resultado que dada la desigualdad socio-económica para adquirir los mosquiteros, parece imprescindible la distribución gratuita de mosquiteros tratados con insecticida para la población en general con la finalidad lograr un efecto de masivo sobre la densidad de vectores.

Finalmente, en el marco del proyecto antes referido, Picado *et al.* (2010) midieron el impacto entomológico del uso de mosquiteros tratados con deltametrina de larga duración (PermaNet 2.0), durante un año, obteniendo solamente una reducción del 25% en la densidad del vector, siendo ésta mucho menor que el 59–80% de reducción en la densidad de mosquitos observados en los ensayos con mosquiteros tratados con insecticida para control de la malaria en África (Maxwell, *et al.*, 2007). Se espera que el ensayo clínico, diseñado para medir el impacto del uso de MT sobre la incidencia de LV, podría confirmar si el uso de los mosquiteros tratados debería adoptarse dentro de una estrategia de control en los programas de eliminación de LV en esta región.

Al evaluar la residualidad del insecticida en los MT en condiciones de laboratorio en tres períodos en los 4 puntos evaluados, cuando se comparó a los 6 meses la mortalidad en los diferentes puntos, se observó que en una de las áreas evaluadas (punto 2) ésta fue alrededor de 50% menor a la observada en

otros puntos, probablemente debido a una mayor manipulación de esta área por las personas para entrar y salir de la cama, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

Sin embargo en todos los puntos se observó una mortalidad de los insectos expuestos significativamente mayor a los 10 meses después de 2 lavadas del mosquitero con respecto a la mortalidad observada en los insectos expuestos a los 6 meses. Esto indicaría que el poder residual del insecticida se recupera en los mosquiteros con el tiempo, posiblemente debido a las lavadas, ya que con éstas se eliminarían factores inherentes al uso y al tiempo.

No se encontraron resultados de estudios de residualidad en mosquiteros tratados con deltametrina usados para control de flebótomos.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados del bioensayo sobre el uso de mosquiteros impregnados con deltametrina para el control de los vectores de leishmaniasis visceral en San Mateo, no fueron alentadores. Aún cuando antes de la aplicación de esta medida los habitantes fueron informados oportunamente acerca del objetivo del proyecto, el uso correcto y continuo de los mosquiteros no pudo ser verificado. Para disminuir el error que pueda introducir esta variable que se escapa del control del investigador o del personal de salud responsable del control de vectores, se recomendaría, previa a la aplicación de esta medida, una mayor sensibilización de las personas expuestas a riesgo, a través de un Programa de Educación continuo para incentivar el uso sistemático de esta medida especialmente durante los meses en los cuales se registra la mayor pluviosidad, cuando aumenta la densidad de las especies vectoras. Siendo estos meses los más frescos del año, esto podría disminuir el rechazo o negligencia en el uso de los mosquiteros impregnados, que podrían ser debidos principalmente a las altas temperaturas se registran en esta área geográfica durante el periodo de sequia.

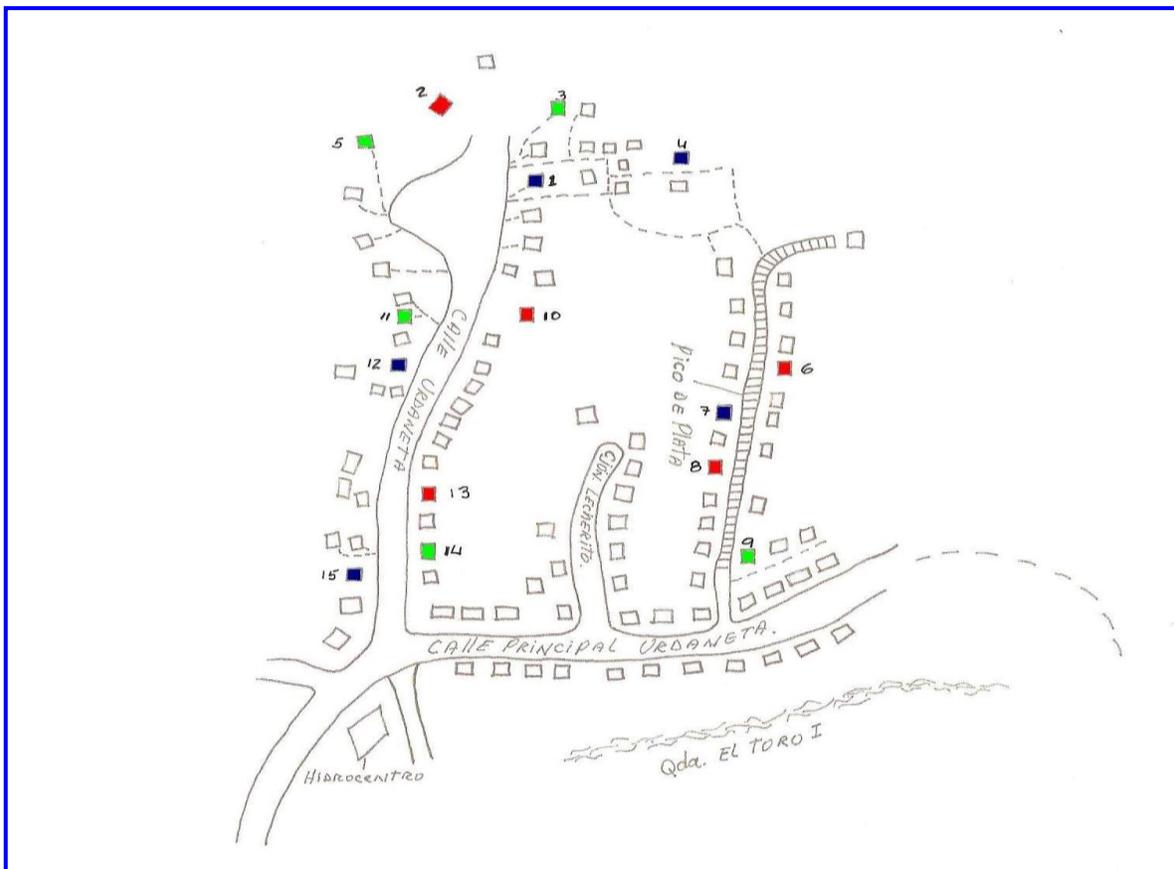
Los resultados del bioensayo sobre el poder residual de la deltametrina demostraron que la efectividad del insecticida fue excelente durante el periodo de observación de 10 meses y después de 3 lavadas del mosquitero tratado. Si resultados similares se obtuvieran luego de las 20 lavadas; podríamos inferir que lavando los mosquiteros tratados una vez por mes, éstos tendrían una efectividad

de casi dos años, lo cual corroboraría lo señalado por el fabricante de las mallas Perma Net™ ® 2.0

Todos los resultados obtenidos en esta investigación han generado información básica y valiosa para la toma de decisiones en el desarrollo de estrategias integradas de control de la leishmaniasis visceral, un problema de Salud Pública en Venezuela.

VI. Anexos

ANEXO 1. CROQUIS DE LA LOCALIDAD EL TOPO I, SAN MATEO ESTADO ARAGUA



Fuente: Arturo Bravo y la autora.

ANEXO 2. FORMATO PARA RECOPIRAR LA INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL TIPO DE VIVIENDA



Gobierno Bolivariano de Venezuela
Ministerio de Salud
Dirección General de Salud Ambiental



CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA DE FLEBÓTOMOS Y OTROS VECTORES (BIOMED)



ENSAYO DE CONTROL Y DINÁMICA POBLACIONAL DE FLEBÓTOMOS VECTORES DE LEISHMANIASIS VISCERAL, A TRAVÉS DEL USO DE MOSQUITEROS IMPREGNADOS CON DELTAMETRINA, EN SAN MATEO, MUNICIPIO BOLÍVAR, ESTADO ARAGUA, VENEZUELA

DATOS DE LAS VIVIENDAS SELECCIONADAS

Casa nº _____

Nº DE VIVIENDAS: _____

ESTADO: _____

LUGAR: _____

FECHA: _____

DISTRITO: _____

LOCALIDAD: _____

MUNICIPIO: _____

1. Ubicación de la Vivienda:
a. Urbana
b. Periurbana
c. Rural

2. Tipo de Vivienda:
a. Rancho
b. Vivienda Rural
c. Casa
d. Quinta

3. La vegetación y el área de los alrededores de la vivienda pueden describirse como:
a. Bosque húmedo a < 10 m. de la vivienda (peridomicilio)
b. Bosque húmedo a > 10 m. de la vivienda
c. Arbusto y césped rodeando la vivienda < 10 m.
d. Arbusto y césped rodeando la vivienda > 10 m.
e. Matas de café o cacao < 10 m.
f. Matas de café o cacao > 10 m.
g. Sitios para almacenar cosechas dentro de los 10 m. de la vivienda
h. Basura dentro de los 10 m. de la vivienda
i. Basura a > de 10 m. de la vivienda
j. Nada de basura ni vegetación cerca de la vivienda

4. Material predominante en el techo:
a. Platabanda
b. Teja
c. Láminas asfálticas
d. Lámina metálicas (zinc y similares)
e. Asbesto y similares
f. Palma

5. Material Predominante en las Paredes Exteriores:
a. Bloques o ladrillo sin frisar
b. Bloques o ladrillo frisado
c. Concreto
d. Madera aserrada, fórmica, fibra de vidrio y similares
e. Adobe, tapia o bahareque frisado
f. Adobe, tapia o bahareque sin frisar
g. Otros (palmas, tablas o similares)

6. Material Predominante en el piso:
a. Mármol, mosaico, granito, vinil, cerámica, ladrillo, terracota, y similares
b. Cemento
c. Terra
d. Madera
e. Otros

7. Estructura de la casa. Cuantos tiene?
a. Cosina
b. Sala
c. Dormitorios
d. Baños
e. Porche

8. Presencia de anexos en el peridomicilio:
a. Gallinero
b. Palomar
c. Conejera
d. Cochinera
e. Corral
f. Depósito de leña
g. Trojas
h. Otros

DATOS DE LAS VIVIENDAS SELECCIONADAS

<p>9. El agua llega a la vivienda por:</p> <p>a. Acueducto o tubería</p> <p>b. Camión Cisterna</p> <p>c. Pila pública o estanque</p> <p>d. Pozo con tubería o bomba</p> <p>e. Pozo o manantial protegido</p> <p>f. Otro medios</p>

<p>10. Esta vivienda tiene:</p> <p>a. Poceta conectada ala cluaca</p> <p>b. Poceta conectada a pozo séptico</p> <p>c. Poceta sin conexión a cloaca o a pozo séptico</p> <p>d. Excusado de hoyo o letrina</p> <p>e. No tiene poceta o excusado</p>
--

<p>11. Esta vivienda dispone de:</p> <p>a. Electricidad</p> <p>b. Teléfono</p> <p>c. Radio</p> <p>d. Televisor</p> <p>e. Bicicleta</p> <p>f. Motocicleta</p> <p>g. Auto / Camioneta</p>
--

<p>12. En esta vivienda la basura es recogida por:</p> <p>a. Servicio de aseo urbano</p> <p>b. Se deposita en container colectivo</p> <p>c. No hay servicio de aseo urbano</p>

<p>13. Tienen animales en la casa</p> <p>a. Perros</p> <p>b. Gatos</p> <p>c. Gallinas / pollos</p> <p>d. Otros</p>

Nombre de la persona que levanto la información: _____

Nombre del jefe o jefa de familia: _____

ANEXO 3. CONSENTIMIENTO INFORMADO ENTREGADO A LAS HABITANTES QUE PARTICIPARON EN EL ENSAYO



**PROYECTO
UC-
2008000911-2
LEISHMANIA
SIS**



Gobierno
Bolivariano
de Venezuela | Ministerio
de Salud | Dirección General
de Salud Ambiental



CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA DE
FLEBÓTOMOS Y OTROS VECTORES (BIOMED)



Información para ensayo de control con mosquiteros impregnados en la comunidad

Queremos pedir su valiosa colaboración en una investigación sobre la Leishmaniasis en Venezuela. Es muy importante que usted comprenda las razones de este estudio para ello es importante leer bien esta información.

Este estudio consiste en un ensayo de aplicación del uso de mosquiteros para prevenir la leishmaniasis visceral, enfermedad que se ha reportado en esta zona.

Esta enfermedad es transmitida a través de la picada de unos pequeños mosquitos de color claro, con las alas hacia arriba y atrás, como pequeñas mariposas, que se mueven en saltos cortos, y son llamados **flebotomos**.

Estos pueden estar infectados con un parásito que es el que produce la leishmaniasis en el humano y también en el perro quien se convierte en portador de la enfermedad.

Estos mosquitos pican de noche ya que llegan del monte a las casa, atraídos por la luz. Si las personas usan mosquiteros, no llegan a ser picadas y por lo tanto tienen menor posibilidad de enfermarse.

Nosotros vamos a medir si este mosquitero funciona poniendo una trampa de luz, que Uds. ya conocen para atrapar y comparar las cantidades de flebotomos en las diferentes casas donde se ponen mosquiteros con una dosis muy baja de insecticida la cual no es perjudicial para las personas y otras en las cuales los

mosquiteros no tiene ningún insecticida con un tercer grupo en el cual por ahora no se van a poner mosquiteros, pero que al finalizar el estudio éstos les serán donados para su protección. Al final del ensayo, por lo tanto a **TODOS** se les regalarán los mosquiteros para que Uds. lo usen como medida de protección.

Su participación es totalmente voluntaria y no tiene que participar si no lo desea. No importa si participa o no, este estudio no va a cambiar su derecho de acceso a cualquier servicio de salud.

El **beneficio** que Ud. obtendrá al participar en este estudio al final del mismo, es la donación de mosquiteros para protegerse de la picada de los flebótomos.

Si Ud. observa alguna reacción adversa al uso del mosquitero en algún miembro de la familia, deberá avisar inmediatamente al personal responsable de este estudio cuyos nombres y teléfonos se suministran al final de este documento.

CONSENTIMIENTO

CONFIRMO que he leído o escuchado la información sobre el estudio que el personal de la Dirección General de Salud Ambiental del Ministerio del Poder Popular para la Salud, conjuntamente con la Universidad de Carabobo, está realizando en esta comunidad y confirmo que comprendo de qué se trata.

He entendido que es un estudio sobre **leishmaniasis visceral** que la produce un parásito que lo transmite un mosquito y que pueden tenerlo los animales domésticos.

Este estudio será de **beneficio** para mi y mis familiares y los que vivimos acá porque tendremos información y sabremos si usando el mosquitero podremos protegernos y proteger a los niños de la picada de los flebótomos y por lo tanto prevenir la enfermedad.

Participo en este estudio **por voluntad propia**. Así mismo entendemos que tenemos el derecho, con o sin razón, de retirarnos del estudio en cualquier momento sin que esto me afecte, o me niegue el acceso a los Servicios de Salud.

Igual doy autorización para entrar a la casa y sus alrededores, para capturar los mosquitos y estudiarlos.

Si tengo alguna duda o quiero cualquier otra información, o en caso de presentarse algún inconveniente que hace suponer se deba al uso del mosquitero, se que puedo llamar a la Econ. Karem Flores al N° 0416-8467810 o a la Dra. Dora de Piñero al N° 0243 - 242 58 22.

Nombre

Testigo

Nombre:

En.....a los.....días del mes de.....año.....

Fuente: Centro de referencia Nacional de flebótomos y otros vectores (BIOMED), 2009

ANEXO 4. MOSQUITEROS PermaNet® 2.0, SUMINISTRADOS POR VESTERGARD FRANDSEN S.A UTILIZADOS EN EL ESTUDIO



ANEXO 5. TIPO DE MALLA DEL MOSQUITERO

ANEXO 6. FORMATO PARA EL REPORTE DE FUNCIONAMIENTO DE LAS TRAMPAS CDC



ENSAYO DE CONTROL Y DINÁMICA POBLACIONAL DE FLEBÓTOMOS VECTORES DE LEISHMANIASIS VISCERAL, A TRAVÉS DEL USO DE MOSQUITEROS IMPREGNADOS CON DELTAMETRINA, EN SAN MATEO, MUNICIPIO BOLÍVAR, ESTADO ARAGUA, VENEZUELA

REPORTE DE FUNCIONAMIENTO DE LA TRAMPA CDC

Nº DE VIVIENDAS: _____ ESTADO: _____ LUGAR: _____
 FECHA: _____ DISTRITO: _____ LOCALIDAD: _____
 HORA: _____ MUNICIPIO: _____ VIVIENDAS SELECCIONADAS: _____

CASA	ESTADO DE LA TRAMPA CDC DURANTE LA NOCHE			
	Encendida	Se apago	Poca Luz	Comentario
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				

Fuente: La autora, 2009.

ANEXO 7. FICHA DE RECOLECCIÓN Y REPORTE DE INSECTOS



Ministerio de Salud
Dirección General de Salud Ambiental



CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA DE FLEBÓTOMOS Y OTROS VECTORES (BIOMED)

ENSAYO DE CONTROL Y DINÁMICA POBLACIONAL DE FLEBÓTOMOS VECTORES DE LEISHMANIASIS VISCERAL, A TRAVÉS DEL USO DE MOSQUITEROS IMPREGNADOS CON DELTAMETRINA, EN SAN MATEO, MUNICIPIO BOLÍVAR, ESTADO ARAGUA, VENEZUELA

FICHA DE RECOLECCION DE INSECTOS

N° DE LABOR: _____ ESTADO: _____ LUGAR: _____
 FECHA: _____ DISTRITO: _____ LOCALIDAD: _____
 HORA: _____ MUNICIPIO: _____

CONDICIONES DEL AMBIENTE

LLUVIA: _____ HUMEDAD: MÍNIMA _____ % MÁXIMA _____ %
 VIENTO: _____ TEMPERATURA: _____ °C MÁXIMA _____ °C

DESCRIPCIÓN DE LA CAPTURA

DOMICILIO

PARED INT: _____ HUECO DE ARBOL: _____ ABRIGOS NATURALES
 ENTRE PIEDRAS: _____
 PARED EXT: _____ ENTRE RAICES: _____ CUEVAS ANIMALES: _____
 PERSONAS: _____ ARBUSTOS: _____ GRUTAS: _____
 ANIMALES: _____ PALMERAS: _____ OTROS: _____
 NIDOS: _____ HOJAS: _____

EN CEBO EN EL EXTERIOR

HUMANO: _____
 ANIMALES: _____
 LUZ: _____
 TRAMPAS: _____
 COLECOR: _____
 DESTINO: _____

ABRIGO DE ANIMALES DOMÉSTICOS

CHIUQUERO: _____
 VAQUERA: _____
 CABALLERIZA: _____
 GALLINEROS: _____
 OTROS: _____

OBSERVACIONES:

IDENTIFICACIÓN DE MATERIAL	RESULTADOS	FECHA:
Criopreservación para Disección: _____		
Conservación en alcohol 100%: _____		
Montaje para Taxonomía: _____		
Otros Procedimientos: _____		

Fuente: Centro de referencia Nacional de flebótomos y otros vectores (BIOMED), 2009

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Aguilar, C. M.; Fernandez, E; Fernández, R.; Cannova, D.C; Ferrer, E.; Cabrera Z.; Souza, W.J.; Coutinho, S.G. 1998. Urban visceral leishmaniasis in Venezuela. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 93: 15–16.
2. Alencar, J.E. 1961. Profilaxie do Clazar no Cearia Brasil. Rev. Instituto de Medicina Tropical Sao Paulo. 8: 173 -180.
3. Alexander, B.; Usma, Mc; Cadena, H.; Quesada B.I.; Solarte, Y.; Roa, W.; Travi, B.I.; 1995. Evaluation of deltamethrinimpregnated bednets and curtains against phlebotomine sandflies in Valle del Cauca, Colombia. Med. Vet. Entomol. 9:279-283.
4. Amaral, A.D.; Torrealba, J.W., Henríquez, C.E.; Kowalenko, W.; Barrios, P.A. 1961. Studies on visceral leishmaniasis in Venezuela. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. 70: 91-98.
5. Amaral, D.F.; Torrealba, J.W.; Henríquez, C.E.; Kowalenko, W.; Barrios, P.A. 1961. *Phlebotomus longipalpis* Lutz & Neiva, 1912, probable transmisor de la leishmaniasis visceral en Venezuela. Gac. Med. Caracas. 3: 389-408.

6. Arrivillaga, J.J. & M. D. Feliciangeli. 2001 *Lutzomía pseudolongipalpis*, the first new species within the *longipalpis* (Díptera: Psychodidae Phebotominae) complex from La Rinconada, Curarigua, Lara State, Venezuela. J. Med. Entomol. 38: 783 – 790.
7. Ashford R.W. 1996. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. Clin. Dermatol. 14: 523-532.
8. Chin J. 2002. El Control de las Enfermedades Transmisibles. OPS, Washington.
9. Costa, J.; Vale, K.; Franca, F.; Saldanha, A.; Da Silva, J.; Lago, E.; Marsden, P.; Magalhaes, A.; Silva, C.; Neto, A.; Galvao, C. 1990. Cura espontânea da leishmaniose causada por *Leishmania Viannia braziliensis* em lesões cutâneas. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 23: 205 – 8.
10. Curtis, C.F.; Miler, J. E.; Hassan, M.H.; Kolaczinski, J.H.; Kasumba, I. 1998. A comparison of use of a pyrethroid either for house spraying or for bednet treatment against malaria vectors. Trop. Med. Int. Health. 3: 619-631.
11. Deane, M.P.; Deane, 1954. L.M. Infecção natural do *Phlebotomus longipalpis* por leptomonas, provavelmente de *Leishmania donovani* em foco de calazar, no Ceará. Hospital. 45: 697-702.

Delgado O.; Feliciangeli, MD; Gómez, B.; Alvarado, J.; García, L. & Bello, C. 1998. The re-emergence of American visceral leishmaniasis in old focus in Venezuela: present situation of human and canine infection. *Parasite*. 5: 317–323.

12. Dereure, J. 1999. Réservoirs des leishmanies. In *Les leishmanioses*. Collection Médecine tropicale de l'AUP ELF-UREF, Marketing/Ellipses, Paris. 109-127.

13. Dereure, J.; Espinel, I.; Barrera, C.; Guerrin, F.; Martín, A.; Echevarría, R.; Guderian, R.H. & Le Pont, F. 1994. Leishmaniose en Equateur. 4. Infestation naturelle du chien par *Leishmania panamensis*. *Ann. Soc. Belgique Méd. Trop.* 74: 29-33.

14. Dereure, J.; Rioux, J.A.; Gállego, M.; Périères, J.; Pratlong, F.; Mahjour, J. & Saddiki, A. 1991. *Leishmania tropica* in Morocco: infection in dogs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85, 595.

15. Desjeux, P. 1991. Information on the epidemiology and control of the leishmaniasis by country and territory. WHO (ed.). Geneva. 27 págs.

16. Desjeux, P. 1992. *Wld. Hlth. Statist. Quart.* 45.: 267–275

17. Desjeux, P.; Alvar, J. 2003. *Leishmania/HIV* co-infections: epidemiology in Europe. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 97(Suppl 1):3-15

18. Desjeux P. 1996. Leishmaniasis: public health aspects and control. *Clinics Dermatol.* 417-23.
19. Elnaiem, D.A.; Elnahas, A.M., Aboud, M.A. 1999. Protective efficacy of lambda-cyhalothrin impregnated bed nets against *Phlebotomus orientalis*, the vector of visceral leishmaniasis in Sudan. *Med. Vet. Entomol.* 13:310-314.
20. Ewell, J. J.; Madriz, A. & Tossi, J. A. 1976. Zonas de vida de Venezuela. 2ª Edición. Edit. Sucre. Caracas. 270 pp.
21. Feliciangeli, M.D. 1991. Vectors of Leishmaniasis in Venezuela. *Parassitologia.* 33 (Supl 1): 229-236.
22. Feliciangeli, M.D.; Gómez, B.; Delgado, O.; García, L.; Bello, C. 1993. Leishmaniasis visceral en el caserío La Ganadería de Guayabita, estado Aragua, Venezuela. Infección natural de *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) con *Leishmania* spp. *Act. Cient. Venez.* 44 (Suppl. I): 262.
23. Feliciangeli, M. 1988. La fauna flebotomina (Diptera: Psychodidae) en Venezuela. I. Taxonomía y distribución geográfica. *Bol. Dir. Malarial. y San. Amb.* 28: 99-113

24. Feliciangeli, M. D.; Rodriguez N.; De Guglielmo, Z. & Rodriguez, A. 1999. The re-emergence of American visceral Leishmaniasis in an old focus in Venezuela. II Vectors and Parasites. *Parasite*. 6: 113-120.
25. Feliciangeli, MD; Mazzarri MB; Blas, SS; Zerpa O 2003b. Control trial of *Lutzomyia longipalpis* s.l. in the Island of Margarita, Venezuela. *Trop. Med. Int. Health*. 8: 1131-1136.
26. Feliciangeli MD, Mazzarri MB, Campbell-Lendrum D, Maroli M, Maingon R 2003a. Cutaneous leishmaniasis vector control perspectives using lambda-cyhalothrin residual house spraying in El Ingenio, Miranda State, Venezuela. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 97: 641-646.
27. Feliciangeli, D. 2006. Sobre los Flebótomos (Díptera: Psychodidae: Phlebotominae), con especial referencia a las especies conocidas en Venezuela. *Acta Biol. Venez.* Vol. 26: 61-80.
28. Forattini, O. P. 1973. Entomología Médica. 4o Volumen. *Psychodidae Leishmonioses Bartolnelose*. Editorial Edgar Blucher Ltda., São Paulo. 658 p.
29. Garnham, P.C.L. 1965. The *Leishmania* with special reference to the role of animal reservoir. *Am. Zoologist*. 5: 141-151.

- 30.** Handman, E. 2001. Leishmaniasis: current status of vaccine development. Clin. Microbiol. Rev. 14: 229-243.
- 31.** Handman, E. 2001. Leishmaniasis: current status of vaccine development. Clin. Microbiol. Rev. 14:229-243.
- 32.** Hashiguchi, Y.; Gómez, E.A.; de Coronel, V.V.; Mimori, T.; Kawabata, M.; Furuya, M.; Nonaka, S.; Takaoka, H.; Alexander, J.B. & Quizhpe, A.M. 1991. Andean leishmaniasis in Ecuador caused by infection with *Leishmania mexicana* and *L. major*-like parasites. Am. J. Trop. Med. Hyg. 44, 205-217.
- 33.** Le Pont, F. & Dejeaux, P. 1985. 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.
- 34.** Lengeler, C. 2001. Insecticide-treated bednets and curtains for preventing malaria (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 4. Oxford, Update Software.
- 35.** Llanos Cuentas, E.A.; Roncal, N.; Vilaseca, P.; Paz, L.; Ogusuku, E.; Pérez, J.E.; Caceres, A. & Davies, C.R. 1999. Natural infections of *Leishmania peruviana* in animals in the Peruvian Andes. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 93: 15-20.

- 36.** Llanos Cuentas, Al. & Soto Calle, V. 2005. El uso de los mosquiteros tratados con insecticida como una estrategia para la prevención de la malaria. Rev. Med. Hered. Vol.16. Nº 2, p.87-88. ISSN 1018-130X.
- 37.** Maroli, M. & Lane, R.P. 1989. The effect of permethrin impregnated nets on *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae) in central Italy. pp. 217-223. En leishmaniasis - the Current Status and New Strategies for Control. Plenum Press. New York, USA.
- 38.** Martínez, N.A. & Pons, A.R. 1941. Primer caso de Kala-azar en Venezuela. Gac. Med. Caracas. 48: 329-332.
- 39.** Mauricio, L.L.; Stothard, J.R.; Miles, M.A. 2000. The strange case of *Leishmania chagasi*. Parasitol. 16: 188-189.
- 40.** Mazzarri, M.; Feliciangeli, MD.; Maroli, M.; Hernández, A. & Bravo, A. 1997. Susceptibility of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) to select insecticides in an endemic focus of visceral Leishmaniasis in Venezuela. J. Amer. Mosq. Contr. Assoc. 13: 335-341.
- 41.** Medina, R.; Romero, J.; Goldman, C.; Espin, J. 1960. Comprobación del primer perro infectado con Kala-azar en Venezuela. Gac. Med. Caracas. 67: 441-447.

42. Molina, R.; Gradoni, L.; Alvar, J. 2003. HIV and the transmission of Leishmania. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 97(Suppl 1):29-45.
43. Moreno, G.; Rioux, J.A.; Lannote, G.; Pratlong, F.; Serres, E. 1986. 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. 105-117pp. En: Rioux JA (Ed.) *Leishmania* Taxonomy and Phylogeny IMEE. Montpellier, Francia.
44. OMS. 1984. The leishmaniases. Technical report series 701. OMS. Ginebra. 140 págs.
45. OMSA (Organización Mundial de Sanidad Animal) 2004. Código sanitario para los animales terrestres. 13ª edición. OIE, París. 500 págs.
46. OPS. 1994. Las condiciones de Salud en las América. Organización Panamericana de la Salud. Publ. Cient. Washington, D.C. 549, 485 p.
47. OPS. 1996. Epidemiología y control de las leishmaniosis en las Américas por país o territorio. Cuaderno Técnico N° 44. OPS. Washington, DC. 52 págs.

48. Pifano, F. & Romero, M. J. 1973. Comparación de un foco autóctono de Leishmaniasis visceral (Kala-azar) en la Isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. Arch. Venez. Med. Trop. Parasit. Med. 5: 129-144.
49. Pifano, C.F.; Romero, M.J. 1964. Investigaciones epidemiológicas sobre la leishmaniasis visceral en la isla de Margarita. Estado Nueva Esparta, Venezuela. Gac. Med. Caracas. 425-430.
50. Potenza, L. & Anduze, P. 1942. Kala-azar en el estado Bolívar, Venezuela. Rev. Polic. Caracas. 11:67.
51. Rodríguez, N.M.; De Guglielmo, Z.; Barrios, M.A.; Barrios, R.M.; Zerpa, O.; Feliciangeli, M.D. 2005. 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.
52. Rubio-Palis, Y. 2003. Bioseguridad de mosquiteros tratados con insecticidas piretroides para la prevención de la Malaria. Bol. Dir. Malariol. San. Amb. Vol. XLIII, Nº 1 2003.
53. Ryan, L.; Brazil, R.P. 1984. *Leishmania* infections in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) on the island of São Luis, Maranhão State, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 79: 383-384.

- 54.** Salomon, Oscar D., Sosa Estani, Sergio, Rossi, Gustavo C. Spinelli, R. 2001. Presencia de *Lutzomyia Longipalpis* y situación de la Leishmaniosis visceral en Argentina. Buenos Aires. Medicina. Vol. 61 –Nº 2; 61 174-478.
- 55.** Scorza, JV. 1985. Cambios Epidemiológicos de la Leishmaniasis tegumentaria en Venezuela. Bol Dir. Mal. y San. Ambiental 25: 114-127.
- 56.** Smith, T., *et al.* 2002. Effects of insecticide-treated mosquito nets on malaria transmission. 8–11 En: Third European Congress on Tropical Medicine and International Health, Lisbon, Portugal.
- 57.** TDR Special Programme for Research and Training in Tropical Disease. 2002. pp: 1- 5.
- 58.** Torrealba, J.W.; Amaral, A.D.; Henríquez, C.E.; Kowalenko, W.; Barrios, P.A. 1961. Observaciones Iniciales sobre el Perro (*Canis familiaris*) como Rervorio de Kala-azar en Venezuela. Rev. Venez. San. Asist. Soc. 26: 342-349.
- 59.** Torrealba, J.W.1964. Consideraciones sobre la Epidemiología de la Leishmaniasis Visceral en Venezuela. Gac. Med. Caracas. 72: 99-115.
- 60.** Travi, B. L.; Velez, I. D.; Brutus L.; Segura, I.; Jaramillo, C. & Montoya-Lerma J. 1990. *Lutzomyia evansi*, an alternate vector of Leishmania

chagasi in a Columbian focus of visceral Leishmaniasis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 84: 676-677.

- 61.** Vivenes, M. A. 2000. *Lutzomyia evansi* hospedero biológico de parásitos del complejo *Leishmania mexicana*. Tesis Magíster Scientiarum en Protozoología. Mimeografiado. Centro de Investigaciones “José Witremundo Torrealba”, Universidad de los Andes, Núcleo Trujillo.
- 62.** WHO. 1990. The control of leishmaniasis: report of an expert Committee. Technical Report Series, No. 793. WHO. Gêneve. 177págs.
- 63.** WHO. 1993. The Leishmaniasis. CTD/MIP/WP.93.8, WHO/HQ. Geneva.
- 64.** WHO. 2005. Guidelines on the Use of Insecticide-treated Mosquito Nets for the Prevention and Control of Malaria in África.
- 65.** WHO/HTM/NTD/WHOPES. 2009. Report of the twelfth whopes working group meeting control of neglected tropical diseases who pesticide evaluation scheme. pp 2-120.
- 66.** 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.

- 67.** Zerpa, O.; Ulrich, M.; Benítez, M.; Avila, C.; Rodríguez, V.; Centeno, M.; Belizario, D.; Reed, S.G.; Convit, J. 2002. Epidemiological and immunological aspects of human visceral leishmaniasis on Margarita island, Venezuela. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 97: 1079-1083.
- 68.** Zerpa, O.; Ulrich, M.; Borges; Rodríguez, V.; Centeno, M.; Negrón, E.; Belizario, D.; Convit, J. 2003. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in Venezuela. *Rev. Panam. Sal. Pub.* 13: 239-245.
- 69.** Zulueta, A.; Villarroel, E.; Rodríguez, N.; Feliciangeli, M.; Mazzarri, M.; Reyes, O. *et al.* 1999. Epidemiologic aspects of American Visceral Leishmaniasis in an endemic focus in eastern Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 61:945-950.