

LA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA EN EL ALTO TAMBOPATA, DEPARTAMENTO DE PUNO, PERÚ

Herrer Arístides*

* Doctor en Ciencias Biológicas, Jefe de División de Epidemiología, a cargo de los Programas de Leishmaniasis y Bartonellosis del INS. Fallecido el 12 de diciembre de 1996.

Nota: *Publicación elaborada en homenaje póstumo al autor y cuyo tema mantiene toda su vigencia e interés. El texto ha sido abreviado por el Comité Editor del Instituto Nacional de Salud, con autorización de la viuda, Dra. Juana Lung de Herrer, investigadora que fue colaboradora científica hasta el sensible fallecimiento del distinguido investigador.*

RESUMEN

Se relatan los estudios ecológico-epidemiológicos realizados en 1975, en la parte alta del valle de Tambopata (Alto Tambopata), en relación con la leishmaniasis tegumentaria o espundia y con la esperanza que los resultados de esta investigación puedan posteriormente orientar campañas preventivas contra la espundia. Se practicó la inoculación intradérmica del antígeno leishmanina, la reacción de Montenegro, en un total de 556 personas, obteniéndose 116 casos positivos. Se relacionó la intensidad de la reacción con las localidades donde se practicó la reacción de Montenegro. Se realizó la búsqueda de infección leishmaniásica en mamíferos selváticos que fueron capturados y en los mamíferos domésticos de la zona, de los cuales tres perros, una mula y un asno tenían lesiones cutáneas comparables a las que da lugar la leishmaniasis tegumentaria en la especie humana. En los cultivos realizados a partir de las lesiones cutáneas en ocho casos humanos de leishmaniasis tegumentaria se obtuvo en cuatro de ellos el aislamiento del agente etiológico de la espundia. A partir de los estudios entomológicos se recolectó en conjunto 868 especímenes de titiras, correspondiente a nueve especies del género *Lutzomyia*; *L. auraensis* representó 79,8% del total de titiras capturadas y *L. migoni* el 12,0%. Tanto por la ocurrencia de las lesiones metastásicas en las mucosas buco-naso-faríngeas, así como por la presencia de personas con reacción de Montenegro positiva y sin evidenciar infección leishmaniásica en el Alto Tambopata, presente o pasada, ésta no difiere de las que ocurren en otros países sudamericanos, donde la espundia es endémica.

Palabras clave: Leishmaniasis mucocutánea, Perú.

ABSTRACT

Ecological and epidemiological studies performed in the highlands of the Tambopata Valley (High Tambopata) during 1975, about "espundia" or tegumentary Leishmaniasis are hereby described, hoping that the findings of this research could be useful to guide preventive actions against "espundia". The intradermal inoculation of the leishmanina antigen, Montenegro reaction was used in 556 humans, and 116 positive cases were found. The intensity of the reaction was related to the sites where the Montenegro reaction was performed. Leishmania infection was sought in jungle mammals that were captured, as well as in domestic mammals living in the area; of these, three dogs, one mule and one donkey had cutaneous injuries, resembling those of tegumentary leishmaniasis in human beings. In four out of eight cultures from human cases of tegumentary leishmaniasis performed, the ethiological agent of "espundia" was isolated. As a result of entomological studies, 868 specimens of "titiras" were captured, corresponding to nine species of the Genus *Lutzomyia*; the findings point out that 79.8% of the insects were *L. auraensis* and 12% *L. migoni*. The occurrence of metastatic injuries in the oral, nasal and pharyngeal mucosae, as well as the presence of positive Montenegro reaction, without evidence of any past or present Leishmaniasis infection in Alto Tambopata shows that "espundia" does not differ from the disease that occurs in other South American countries where "espundia" is endemic.

Key Words: Leishmaniasis, mucocutaneous, Peru.

INTRODUCCIÓN

La Leishmaniasis tegumentaria o espundia en la parte alta del Valle de Tambopata (Alto Tambopata), tanto por la frecuencia de las lesiones metastásicas en las mucosas respiratorias que da lugar, así como por el serio inconveniente que constituye para la salud de las personas que toman parte en el proceso de asentamiento campesino o colonización de dicho valle, desde hace tiempo ha sido motivo de preocupación por parte de las autoridades sanitarias de la Región de Salud Sur-Altiplánica. Sin embargo, debido al desconocimiento de los factores que determinan y/o condicionan la presencia de la enfermedad, no ha sido posible, hasta ahora, emprender campaña profiláctica alguna.

La concurrencia de ciertas circunstancias afortunadas dio lugar, a comienzos del año 1975, a que se materializaran los deseos por realizar estudios ecológico-epidemiológicos en el Alto Tambopata, con la esperanza de que los resultados de las investigaciones pudieran, posteriormente, orientar campañas preventivas contra la espundia.

Aspectos a los que se prestó especial atención: Siguiendo, en lo posible, el plan de estudios elaborado para esta primera etapa de la investigación se puso especial empeño en la consecución de los siguientes objetivos:

1.- Prevalencia de la enfermedad humana en las localidades visitadas; frecuencia con que ocurren las lesiones metastásicas en las mucosas oral, nasal y/o faríngea; posibles relaciones de tiempo, magnitud y otras características de las lesiones cutáneas con la aparición y gravedad de las lesiones metastásicas en las mencionadas mucosas; posibilidad de que las lesiones metastásicas ocurran con mayor frecuencia en determinadas localidades.

2.- Factores principales que condicionan la endemia: posibles especies de tigras (*Lutzomyia spp.*) que, por sus hábitos alimenticios y preferencia de huéspedes (especies antropofílicas), podrían ser responsables de la transmisión de la leishmaniasis tegumentaria humana en el Alto Tambopata; mamíferos silvestres y/o domésticos que podrían intervenir o tomar parte en la ecología de la enfermedad, ya sea en calidad de reservorios o de eventuales transportadores de la infección; el ambiente selvático y su alteración, debido a la acción del hombre.

3.- Procedencia y composición de la población humana presente en las localidades de estudio, así como costumbres de la gente que favorecerían la adquisición de la enfermedad, dando lugar al establecimiento de patrones o modalidades epidemiológicas especiales.

4.- Aislamiento de cepas dermatotrópicas de leishmanias de pacientes y de animales (mamíferos) tanto silvestres como domésticos, que pudieran encontrarse infectados al natural con el agente etiológico de la espundia. Este material permitiría ulteriores estudios de laboratorio tendientes a la caracterización de la cepa del parásito que, en el Alto Tambopata, da lugar a la

leishmaniasis tegumentaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. EL VALLE DE TAMBOPATA (ÁMBITO DEL ESTUDIO)

Dada la considerable población campesina y, al mismo tiempo, la escasez de tierra de cultivo en el altiplano puneño, es natural que, a pesar de la distancia en que se encuentra, la fertilidad del suelo a lo largo del Alto Tambopata, desde hace tiempo, haya constituido motivo de atracción para el campesino de la mencionada región puneña.

De acuerdo a las informaciones proporcionadas por los residentes de las localidades visitadas, la prolongación de la carretera de Sandia hasta varios kilómetros más allá de San Juan del Oro, motivó una intensa migración de campesinos al Alto Tambopata en época reciente. Los que ingresaron a la selva, en esta ocasión, rebasaron diversos caseríos, como Putinapunco, Chocal, San Ignacio y otros semejantes, surgidos como resultado de previas migraciones. Algunos avanzaron hasta localidades que se hallan a varios días de camino a pie a partir del actual término de la carretera y trataron de establecerse en tales lugares. Para este efecto y de acuerdo con sus posibilidades materiales, talaron la vegetación, construyendo sus modestas habitaciones e iniciaron el cultivo de la tierra en las parcelas que habían elegido. Sin embargo, debido a causas no bien explicadas por los mencionados informantes, tal intento colonizador parece que se detuvo hace apenas unos cuantos años y muchos de los que habían penetrado en la selva abandonaron los lugares donde trataron de establecerse. Algunas personas la atribuyen a la paralización en la construcción de la carretera tan sólo a unos pocos kilómetros después de Yanamayo. Cualquiera que haya sido la causa, el intento de tal asentamiento campesino se nota con facilidad, principalmente por la alteración del ambiente selvático original: la vegetación boscosa primaria es discontinua, y escasa la fauna de grandes mamíferos selváticos hasta Paujil-Playa (Figura 1). Y aún, más allá de esta localidad se suele encontrar pequeñas áreas que han sido cultivadas en años anteriores, así como uno que otro campesino que, de todas maneras, se ha establecido cuando menos hasta Azata.

La zona donde se efectuaron los estudios abarca, en orden descendente de altitud, las siguientes localidades: San Juan del Oro (1,200 msnm), Challuma y Chocal (1,120 msnm), San Ignacio (1,090 msnm), Charuyoc y Janansaya (1,000 msnm), Putinapunco (900 msnm), Urubamba (800 msnm), Paujil-Playa (750 msnm) y Azata (730 msnm). Conviene indicar que algunas de estas localidades pobladas se encuentran en partes relativamente altas y a los costados del Valle, por ejemplo Chocal, entretanto que otras están situadas en el fondo y a escasos metros sobre el nivel del río, como sucede con Urubamba. De esto, resulta que la simple altitud de las mencionadas localidades no

siempre indica la distancia en el valle, siguiendo la dirección del río, a la que se encuentran. Desde otro punto de vista, las diferencias de altitud de las localidades visitadas es pequeña, y por sí sola posiblemente no sea determinante del grado de endemidad de la leishmaniasis tegumentaria, como se expone en otra parte de este artículo.



Figura 1. Vista panorámica de los alrededores de Urubamba, en la que se distingue dos formaciones vegetales diferentes. En primer plano, hierbas, arbustos y pequeños árboles frutales; al fondo, vegetación arbórea bastante alterada por la presencia y actividad del hombre.

2. PROCEDENCIA DE LA POBLACIÓN

La población humana que se encuentra en la zona visitada del Alto Tambopata procede, predominantemente, del altiplano puneño. Cierta proporción de ella reside permanentemente a lo largo del valle, ya sea constituyendo pequeños caseríos o de manera aislada en la selva, dedicados todos a la pequeña agricultura. Al lado, hay también un considerable número de personas que se hallan en el valle en forma tan sólo temporal, atraídas por el cultivo y/o la cosecha y transporte de los principales productos agrícolas, por ahora, casi exclusivamente, el café. En esta población flotante predominan las personas adultas.

Es interesante notar la presencia de campesinos peruanos que anteriormente se hallaban establecidos en las yungas bolivianas, de donde fueron obligados a regresar a suelo peruano. Del mismo modo, se suele encontrar algunos bolivianos que radican en el Alto Tambopata. Estos hechos ponen de manifiesto la vigencia de contactos e intercambios entre campesinos de Perú y Bolivia, cuya magnitud, frecuencia y dirección son determinados por circunstancias de orden político y social predominantes en ambos países limítrofes. Es conveniente tener presente tales contactos, por la significación epidemiológica que pueden tener para la leishmaniasis tegumentaria en el valle de Tambopata.

3. EMPLEO DE LA REACCIÓN DE MONTENEGRO

Informaciones recogidas en San Juan del Oro así como el resultado de observaciones preliminares realizadas en Challuma, desde el principio indicaron que en el Alto Tambopata sería difícil estudiar la

prevalencia de la leishmaniasis tegumentaria en función de las diversas localidades que se planeaba visitar. Los principales obstáculos a este respecto eran los siguientes: (a) la presencia de una apreciable población flotante, cuyos miembros procedían casi en su totalidad de lugares no leishmaniásicos; (b) la circunstancia de que cierta proporción de los residentes de la región, por la naturaleza de sus ocupaciones, frecuentaban diversos lugares dentro de la zona endémica; (c) la situación de los campesinos peruanos que procedían de las yungas bolivianas, donde pudieron haber adquirido la enfermedad; y (d) la ocurrencia, como sucede en toda la selva, de lesiones cutáneas de diferente etiología, de las que clínicamente sería difícil separar las producidas por la leishmaniasis tegumentaria; por lo demás no era aconsejable intentar siquiera el diagnóstico por medio de frotis y/o cultivos de tales lesiones cutáneas. En consecuencia se decidió depender de la prueba intradérmica con el antígeno leishmanina, corrientemente conocida con el nombre de reacción de Montenegro. Con este método de estudio, claro está que, en lugar de la prevalencia de la enfermedad, lo que se obtiene es el índice alérgico de la población en relación a la leishmaniasis tegumentaria.

El antígeno empleado fue obtenido del Gorgas Memorial Laboratory (Laboratorio Conmemorativo Gorgas), República de Panamá, y había sido preparado con una cepa de *Leishmania braziliensis* aislada de un caso panameño de leishmaniasis tegumentaria pura. Como de costumbre, 0,1 mL del antígeno, diluido de acuerdo a las instrucciones, se inoculó intradérmicamente en la cara interna de uno de los antebrazos; alrededor de las 50 primeras personas fueron inoculadas en el otro antebrazo, con igual volumen del diluyente (líquido de coca mertiolatado) usada en el antígeno, a manera de control. La lectura de las pruebas realizadas se llevaron a cabo entre las 48 y 72 horas, indicando la intensidad de la reacción en los casos positivos, en base a la induración producida alrededor del punto de la inoculación del antígeno, en la siguiente forma:

Dudosa (\pm): reacción menos de 5 mm de diámetro
 Positiva débil (+): reacción entre 5 y 10 mm.
 Positiva de mediana intensidad (++) : reacción entre 11 y 20 mm.
 Positiva intensa (+++) : reacción con diámetro de 21 mm y más.

Durante el curso de la expedición, la reacción de Montenegro se realizó en las localidades de Charuyoc, Putinapunco, Urubamba, Chocal, Paujil-Playa y San Ignacio. Alrededor de un mes más tarde, el Dr. Cadotsch regresó a la zona de estudios con nueva provisión del antígeno y practicó la reacción de Montenegro en las localidades de Janansaya y Challuma. Esta última localidad tenía especial importancia, pues se encontraba en el límite superior de la zona endémica del Tambopata y, además, existía la referencia acerca de una epidemia ocurrida ahí en 1944, la que podría interpretarse como ocasionada por la leishmaniasis tegumentaria.

4. BÚSQUEDA DE INFECCIONES LEISHMANIÁSICAS EN LOS ANIMALES

Por medio de cultivos de piel normal (especialmente de hocico, orejas y base del rabo) y algunas vísceras (bazo e hígado) se intentó determinar la posible presencia de infecciones naturales a leishmanias dermatotrópicas en los mamíferos selváticos que fueron capturados. Esta técnica¹ ha ofrecido magníficos resultados en la investigación de los reservorios de la leishmaniasis tegumentaria en Centroamérica. La búsqueda de tales infecciones, en los mamíferos domésticos, se hizo a través de una cuidadosa revisión de la piel únicamente en los casos que presentaban alteraciones o lesiones semejantes a las que da lugar la leishmaniasis tegumentaria en el hombre y ciertos animales domésticos. En todos los casos se empleó de manera rutinaria el medio semisólido de Noguchi para leptomastix, conjuntamente con el de Senekji para hemoflagelados. Las muestras luego de la correspondiente distinción por el método de Giemsa, fueron revisados macroscópicamente en busca de amastigotes o formas tisulares del agente etiológico de la leishmaniasis.

Para la captura de los mamíferos silvestres se usaron dos tipos distintos de trampas: las plegables de alambre (National Live Trap Corporation) en tres tamaños diferentes, y la metálica, también plegable, conocida con el nombre de "Trampa Sherman". Con este conjunto de trampas se estaba capacitado para atrapar desde pequeños roedores hasta mamíferos de tamaño ligeramente mayor que el zorro de altura. Se usó como cebo, alternativamente, plátano, papaya, queso, pan, maíz y carne fresca. Las trampas eran instaladas preferentemente en el suelo al atardecer, y revisadas al día siguiente por la mañana; tan sólo en unas cuantas ocasiones fueron colocadas en troncos y/o ramas de árboles a 1-2 metros sobre el suelo. La labor de atrape se desarrolló tanto en lugares de la selva aún no alterados así como en áreas con vegetación secundaria; además, en algunos casos, también en los alrededores de terrenos que habían sido cultivados en años anteriores. También se obtuvo algunos especímenes muertos de ciertos mamíferos que no entraban en las trampas y que tenían importancia como posibles reservorios de la leishmaniasis; en estos casos se les obtuvo cazándolos con escopeta.

Durante los últimos días de permanencia en la zona de estudios, se examinó algunos mamíferos domésticos, en los que también se trató de verificar la posible infección natural a leishmanias, como ya queda dicho.

5. ESTUDIOS ENTOMOLÓGICOS

En las diversas localidades visitadas se trató de determinar las especies de titiras presentes, así como la abundancia y hábitos alimenticios de las mismas, poniendo particular atención en aquellas que pican al hombre. La búsqueda directa del insecto, con humo de cigarrillos y linterna eléctrica, se hizo en los diversos lugares donde se oculta y/o reposa durante el día, tales como huecos y/o grietas en el tronco de ciertos árboles, debajo de la vegetación en descomposición, galerías bajo el suelo que suelen albergar a algunos

animales silvestres, lugares donde se encierran ciertos animales domésticos y habitaciones humanas. Además, se emplearon tres tipos diferentes de trampas con el objetivo de obtener el mayor número posible, tanto de especies, así como, de especímenes de las titiras que se encuentran en el Alto Tambopata. Las trampas empleadas fueron las siguientes: (a) la conocida con el nombre de "Trampa Shannon" (Figura 2), en la que se empleó como



Figura 2. "Trampa Shannon" empleada para coleccionar titiras. En el interior se mantiene, como cebo, personas o ciertos animales para atraer al insecto.

cebo alternadamente, al hombre y a una mula; (b) la trampa de aceite diseñada originalmente por Disney² y modificada por Thatcher³, colocando como cebos algunos roedores que se capturaban en las inmediaciones de los lugares donde se instalaba las trampas; y (c) la pequeña trampa eléctrica modelo CDC ("CDC miniature light trap"), la que, como se sabe, no necesita de cebo alguno pues atrae al insecto por medio de la luz procedente de una bombilla alimentada por una batería de 6 voltios.

La naturaleza accidentada, así como la ausencia de carreteras, que caracteriza a la mayor parte del Alto Tambopata, constituyó un serio inconveniente para el uso intensivo de las mencionadas trampas. La de aceite, por ejemplo, fue empleada únicamente en la localidad de Putinapuncu, ya que la estructura rígida y pesada de esta trampa dificultaba su traslado de un sitio a otro, particularmente cuando llovía. En cuanto a la trampa de luz, tratando de aligerarla algo, se sustituyó la batería por una serie de cuatro pilas de 1,5 voltios cada una, contenidas en un estuche de plástico, con lo que, además, resultó más fácil su instalación. La trampa Shannon fue la que mejor se prestó para la captura de titiras a lo largo de la zona de estudios. Las titiras capturadas por los diferentes métodos mencionados eran de inmediato preservadas en alcohol al 70%, de manera que se conservaran en buenas condiciones para el consiguiente estudio taxonómico al que serían objeto en el laboratorio.

6. EL AGENTE ETIOLÓGICO DE LA ESPUNDIA

Con el objeto de aislar por cultivo la cepa del parásito que ocasiona la espundia en el Alto Tambopata, en las localidades de Putinapuncu y Urubamba se inocularon medios de cultivo con el material obtenido por raspado de lesiones cutáneas producidas por la leishmaniasis tegumentaria; en estos casos se empleó

la técnica y los medios de cultivo ya mencionados al tratar la investigación de la infección natural en los animales domésticos.

En total se hicieron once cultivos con el material procedente de ocho casos. Los pacientes fueron seleccionados de manera que, al aislar las correspondientes cepas, éstas realmente representaran a las que ocasionan la espundia en el Alto Tambopata. Se puso especial cuidado en averiguar que las personas de quienes se tomaron las muestras no hubieran residido con anterioridad en otros lugares donde la leishmaniasis tegumentaria es endémica, teniendo así mayor seguridad que las cepas aisladas en cultivo eran propias de la zona de estudios. Del mismo modo, los cultivos (del raspado de lesiones cutáneas) se llevaron a cabo tanto en pacientes con lesiones cutáneas puras, así como, en personas que al lado de las lesiones de la piel, mostraban también lesiones metastásicas en las mucosas.

RESULTADOS

1. RESPUESTA DE LA POBLACIÓN AL ANTÍGENO LEISHMANINA

La reacción a la inoculación intradérmica del antígeno leishmanina, o reacción de Montenegro, se practicó en un total de 556 personas de diferentes edades y ambos sexos, en ocho localidades a lo largo del Alto Tambopata, entre Challuma (1120 msnm) y Paujil Playa (750 msnm). En 433 (77,9%) fue posible observar los resultados entre las 48 y 72 horas de haberse inoculado el antígeno. En la Tabla 1 se expone, por localidades, los resultados obtenidos, excluyendo algunos casos en los que las respectivas reacciones fueron consideradas solamente como dudosas.

Tabla 1. Encuesta epidemiológica sobre la leishmaniasis tegumentaria en el Alto Tambopata. Resultados obtenidos con la reacción intradérmica de Montenegro.

Localidades	Población	Entrevistadas	Realizadas	Leídas positivas	% positivas
Challuma	126	101	83	5	6,0
Charuyoc	61	48	31	5	16,1
Putinapunco	157	154	131	41	31,3
Urubamba	52	47	30	17	56,7
Paujil-Playa	33	29	17	7	41,2
Chocal	33	32	23	11	47,8
San Ignacio	115	107	87	18	20,7
Janansaya	45	38	31	12	38,7
Totales	622	566	433	116	26,8

Los 116 casos positivos obtenidos en total, del mismo modo que aquellos considerados como dudosos, son expuestos en la Tabla 2, en el que se relaciona la intensidad de las reacciones con las localidades donde se practicó la reacción de Montenegro. Con el objeto de mostrar las diferentes condiciones de las personas que pueden reaccionar en forma positiva a la inoculación del antígeno leishmanina, se tabula y expone en la Tabla 3 los 116

Tabla 2. Encuesta epidemiológica sobre la leishmaniasis tegumentaria en el Alto Tambopata. Intensidad de las reacciones producidas con el antígeno leishmanina.

Localidad	Intensidad de las reacciones			
	Dudosa (reacción menor de 5 mm) ±	Positiva débil (5-10 mm) +	Positiva mediana intensidad (11-20 mm) ++	Positiva intensa (21 mm a más) +++
Challuma	0	0	5	0
Charuyoc	1	2	1	2
Putinapunco	3	15	16	10
Janansaya	0	5	4	3
Urubamba	0	2	5	10*
San Ignacio	0	3	8	7
Paujil-Playa	0	1	5	1
Chocal	0	4	7	0
Totales:	4 (3,3%)	32 (26,7%)	51 (42,5%)	33 (27,%)

* Uno de los pacientes de este grupo desarrolló además una pústula en el sitio donde fue inoculado el antígeno. Dicho paciente tenía lesiones metastásicas en las mucosas de la boca y la nariz, además de lesiones cutáneas.

casos positivos con relación al estado de las respectivas personas.

2. LEISHMANIASIS NATURAL EN LOS ANIMALES

Mamíferos selváticos: El esfuerzo por atrapar vivos especímenes de mamíferos selváticos, llevado a cabo en las localidades de Charuyoc, Putinapunco, Urubamba y Paujil-Playa, equivale a 334 trampas/noche. Se obtuvieron tan sólo 21 especímenes, pertenecientes a las órdenes *Rodentia* y *Marsupialia*. Los roedores estaban representados por 14 (66,7%) especímenes pertenecientes a varios géneros, entre los cuales se reconoció a *Oryzomys* y *Sciurus*, conocidos en diversos lugares con los nombres vulgares de "rata arrocera" y "ardilla gris", respectivamente. Los restantes 7 ejemplares (3,33%) pertenecían a los géneros *Didelphis* y (posiblemente) *Philander*, del orden *Marsupialia*. Tanto, roedores como marsupiales fueron capturados en áreas con vegetación secundaria, o en las proximidades de terrenos que en años anteriores habían sido cultivados.

Los cultivos, de piel normal, sangre y ciertas vísceras (bazo e hígado) de los mencionados animales capturados vivos, ofrecieron resultados negativos, a excepción de unos cuantos que fueron contaminados por hongos. Resultados semejantes fueron obtenidos en los cultivos realizados con material procedente de tres monos de una especie pequeña, cazados con arma de fuego en la selva primaria.

Mamíferos domésticos: En total fueron revisados tan sólo 17 especímenes: 11 perros, 5 mulas y 1 asno, de los cuales 3 perros, 2 mulas y el asno tenían lesiones cutáneas comparables a las que da lugar la leishmaniasis tegumentaria en la mucosa nasal, similares a las que produce la espundia en la especie humana. Se prepararon láminas con material tomado por raspado de las lesiones en estos seis casos, entretanto se inocularon

Tabla 3. Encuesta epidemiológica sobre la leishmaniasis tegumentaria en el Alto Tambopata. Distribución de los casos con intradermorreacción positiva de acuerdo con el estado de las correspondientes personas.

Estado de las personas	Localidades*								Totales
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
Con lesión cutánea únicamente	0	2	2	2	8	4	1	4	23
Con lesión mucosa únicamente	0	0	0	1	0	0	0	1	2
Con cicatrices únicamente	3	1	19	8	8	3	6	7	55
Con lesiones cutánea y mucosa	0	1	5	1	0	0	1	0	8
Con cicatrices y lesión mucosa	1	0	1	1	0	0	0	0	3
Sin lesiones ni cicatrices	1	1	14	4	2	0	3	0	25
Total General:									116

Localidades*: I: Challuma, II: Charuyoc, III: Putinapunco, IV: Urubamba, V: San Ignacio, VI: Paujil-Playa, VII: Chocal y VIII: Janansaya.

medios de cultivo solamente con el material procedente de 3 perros y 2 mulas.

En las láminas, correspondientes a un perro y al único asno examinado, se consiguió observar microscópicamente escasos amastigotes o forma tisular del agente etiológico de la leishmaniasis. En el perro con frotis positivo, además, también se aisló en cultivo, el parásito. Este perro mostraba un área despigmentada y con ligera infiltración, de 10–12 mm de diámetro, en la zona del hocico desprovista de pelamen (Figura 3), cuyo aspecto era característico



Figura 3. Lesión leishmaniásica en el hocico de un perro encontrado en Paujil-Playa. La fotografía muestra la zona despigmentada, después de haberse tomado la muestra, por raspado, con la que se preparó varias láminas y se inoculó medios de cultivo; tanto las láminas como los cultivos ofrecieron resultado positivo.

de la leishmaniasis tegumentaria canina durante la etapa preulcerativa. Según el dueño, quien reside en Paujil-Playa, la lesión había sido notada hace dos meses, aproximadamente. El asno, en el que también se obtuvo frotis positivo, tenía una lesión cutánea de 5-6 cm de diámetro en la cara anterior, tercio medio, de una de las extremidades anteriores (Figura 4), lesión que se encontraba cubierta por costras formadas por sangre seca. Al ser limpiada la lesión, mostró un fondo rojo oscuro de superficie granular y



Figura 4. Lesión de la piel, cubierta por sangre seca formando costras, en la cara anterior, tercio medio, en una de las extremidades anteriores de un asno observado en Urubamba. Después de limpiar la lesión, se notó un fondo rojo oscuro de superficie granular. En láminas preparadas con el raspado del borde de la lesión se observaron escasos amastigotes (leishmanias); en este caso no se hicieron cultivos.

sangraba copiosamente. El dueño de este animal residía en Urubamba, e informó que tal lesión había sido observada desde "hace varios años".

La mula con lesiones en la mucosa nasal y amplia destrucción del tabique, ofreció resultados negativos, a pesar de la especial atención y esfuerzo que se prestó a este caso. Con material tomado de las lesiones se hizo 10 láminas y se inoculó 18 tubos con medios de cultivo. Las láminas fueron revisadas con detenimiento sin observar en ellas ningún amastigote, entre tanto, que todos los cultivos fueron contaminados por hongos. El dueño de esta mula residía en Selva Alegre, localidad que se halla al frente de Urubamba, separadas tan sólo por el río. La lesión habría sido observada desde hace varios años, pues se conocía al animal con el nombre de "la mula con espundia" (Figura 5).



Figura 5. Perforación del tabique nasal (espacio claro y circular al extremo de las pinzas) en una mula, la que además tenía amplias lesiones en la mucosa de la nariz. El aspecto era similar a las lesiones metastásicas que la espundia ocasiona en la especie humana; sin embargo, no se pudo observar la presencia de ningún amastigote en numerosas láminas que fueron preparadas. De acuerdo a las informaciones proporcionadas por el dueño, quien reside en Selva Alegre y llamaba al animal con el nombre de "mula con espundia", la lesión habría sido observada desde hace varios años.

3. AISLAMIENTO DEL AGENTE ETIOLÓGICO DE LA ESPUNDIA

Al revisar, en Putinapunco, la víspera de emprender el viaje de regreso a Lima, los cultivos realizados con el raspado de lesiones cutáneas en ocho casos humanos de leishmaniasis tegumentaria, se observó que, en los correspondientes a cuatro de ellos, había desarrollo de promastigotes (leptosomas). Una persona con lesión cutánea de quien se obtuvo la muestra, sufría también de lesiones metastásicas en las mucosas de la nariz, la boca y la úvula; los otros tres pacientes con cultivo positivo mostraban tan sólo lesiones cutáneas.

Los cultivos de las cuatro cepas mencionadas fueron inoculados intradérmicamente en la nariz de hamsters dorados, en previsión de que pudieran perderse debido a las contingencias del viaje de regreso (por tierra) desde Putinapunco hasta Lima. Los animales empleados en estas inoculaciones procedían del Bioterio de los Institutos Nacionales de Salud y, durante su permanencia en el Alto Tambopata, fueron mantenidos con las precauciones necesarias a fin de evitar que pudieran eventualmente ser picados por las titiras.

Tabla 4.- Observaciones ecológicas sobre la leishmaniasis tegumentaria en el Alto Tambopata. Métodos de captura empleados y número de titiras obtenidas con cada uno de ellos.

Métodos de captura	Horas-captura	Titiras obtenidas
1.- Trampa de luz, modelo CDC	129,3 (62,5%)	2 (0,3%)
2.- Búsqueda directa	13,0 (6,3%)	42 (4,8%)
3.- Trampa Shannon	36,6 (17,7%)	825 (94,9%)
4.- Trampa de aceite	28,0 (13,5%)	0 (0,0%)
Totales :	206,9 (100,0%)	869 (100,0%)

Tabla 5. Observaciones ecológicas sobre la leishmaniasis tegumentaria en el Alto Tambopata. Número de titiras capturadas en cada una de las seis localidades donde se realizaron los estudios entomológicos.

Localidad	*Altitud	Horas captura	Titiras capturadas	Titiras/hora captura
1.- San Juan del Oro	1 20	13,3 (6,4%)	0	-
2.- Challuma	1 120	12,6 (6,1%)	1 (0,1%)	0,07
3.- Charuyoc	1 000	48,0 (23,2%)	0	-
4.- Putinapunco	900	11,4 (56,3%)	153 (17,6%)	1,3
5.- Urubamba	800	12,6 (6,1%)	400 (46,0%)	31,7
6.- Paujil-Playa	750	4,0 (1,9%)	315 (36,3%)	78,8
TOTAL		206,9 (100%)	869 (100%)	

* Altitud sobre el nivel del mar.

Las cuatro cepas humanas, aisladas en cultivo, del mismo modo que la cepa canina, mencionada en otro lugar de este artículo, llegaron a Lima en buen estado; también los hamsters inoculados con dichas cepas llegaron vivos. Las cinco cepas fueron mantenidas en el laboratorio tanto en cultivo así como en hamsters.

Además de los hamsters inoculados en Putinapunco, otros lo fueron en el laboratorio, con los cultivos de las cepas procedentes del Alto Tambopata. Todos los referidos animales fueron infectados, y hasta ahora la infección producida por las cinco cepas es semejante a la que produce la *Leishmania braziliensis*.

4. ESPECIES DE TITIRAS OBTENIDAS

Los estudios entomológicos se realizaron en las localidades de San Juan del Oro, Challuma, Charuyoc, Putinapunco, Urubamba y Paujil-Playa, dedicando un esfuerzo total equivalente a 206,9 horas captura. Se obtuvo en conjunto 868 especímenes de titiras, 309 hembras y 559 machos, correspondientes a nueve especies diferentes; el estudio taxonómico de estos insectos lo realizó en Lima la Dra. Bertha Llanos, del Instituto de Salud Pública. Las especies y los especímenes capturados fueron los siguientes: *Lutzomyia auraensis* (693 especímenes), *L. migonei* (104), *L. dendrophila* (49), *L. nevesi* (5), *L. (Psychodopygus) sp.* (8), *L. (P) davisii* (4), *L. serrana* (3), *L. barrettoii* (1), y *L. intermedius* (1). La primera de las especies nombradas, *L. auraensis*, representó 79,8 %

del total de las titiras capturadas y, *L. migonei* 12,0 %; las siete restantes especies totalizaron tan sólo 8,2%.

En la tabla 4 se analiza y expone, comparativamente, la efectividad de los diversos métodos de captura empleados, utilizando el total de titiras capturadas. Este mismo material se usa también en la tabla 5, para determinar la distribución y abundancia relativa de las titiras a lo largo de las seis localidades del Alto Tambopata, donde se llevaron a cabo los estudios entomológicos.

5. ALGUNOS HÁBITOS DEL INSECTO

Observaciones limitadas realizadas en las localidades de Putinapunco, Urubamba y Paujil-Playa, de 18:00 h. a 19:30 h. y de 04:00 h. a 05:30 h., permitieron conocer que, particularmente la *L. auraensis*, se muestra bastante activa en busca de alimento durante estos dos períodos de observaciones; desafortunadamente no fue posible llevar a cabo estos estudios entre las 19:30 h. y 04:00 h., desconociéndose por consiguiente si esta titira se alimenta durante toda la noche. En cuanto al antropofilismo de las especies de titiras encontradas, así como la atracción que los principales mamíferos domésticos ejercen sobre ellas, se obtuvo información para dos especies, *L. auraensis* y *L. migonei*. La primera muestra gran antropofilismo, al mismo tiempo que se alimenta con avidez sobre la mula; a la segunda se la capturó en un corral donde encerraban cerdos, del mismo modo que en la "trampa Shannon", teniendo como cebo a una mula; con cebo humano, en cambio, se obtuvo un solo espécimen de esta titira (*L. migonei*).

DISCUSIÓN

1. EL PROCESO DE ASENTAMIENTO CAMPESINO EN EL ALTO TAMBOPATA Y LA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA

El desarrollo de la leishmaniasis tegumentaria en la población que se establece en la selva depende tanto de factores locales, presente en el área o localidad considerada en cada caso, así como de ciertas condiciones propias de la población que ingresa. Entre los primeros, se encuentran las especies de parásitos, reservorio y vectores presentes; y, entre las segundas, la composición de la población que inmigra, sus ocupaciones y costumbres, el uso de insecticidas y el empleo que se da a la tierra. De la manera como estos diversos factores confluyen en cada ocasión, resultan diversas modalidades o patrones epidemiológicos de la enfermedad. Teniendo estas consideraciones en mente, es de interés estimar la situación del Alto Tambopata, en lo que concierne a su futuro inmediato, en relación con la leishmaniasis tegumentaria.

Parece que desde épocas anteriores a la Conquista, el Alto Tambopata ha sido visitado por personas. Este fenómeno no ha cesado hasta el presente, aunque han variado los visitantes, del mismo modo que la intensidad y frecuencia de las visitas. Es de suponer que, durante épocas prehispánicas, la gente de otras regiones del Perú, que solía ingresar al Alto Tambopata, no se establecía allí. Habrían sido motivos especiales

que los llevaban al Tambopata, de donde regresaban a sus hogares sin dejar huellas duraderas de su breve permanencia. La presencia de los españoles fue distinta desde el principio; atraídos exclusivamente por la riqueza metalífera de la región, se establecieron en los niveles superiores del valle, donde a los pocos años de su arribo fundaron la villa imperial de San Juan del Oro. El solo nombre de esta ciudad indica cuál era el motivo que animaba la presencia de los conquistadores en una región tan distante y de difícil acceso como lo era entonces el valle de Tambopata. Es posible, desde luego, que incursionaran ocasionalmente a niveles más bajos siguiendo el curso del río, pero sin establecerse en estos lugares ni dedicarse a otro quehacer que no fuera la procura de oro. Por esto, según Raimondi⁴, el agotamiento de dicho metal en el Alto Tambopata ocasionó la decadencia de la famosa villa de San Juan del Oro. La altura sobre el nivel del mar, de las localidades donde residían los españoles, y el tipo de labores a las que se dedicaban, no eran propicias para el desarrollo de la leishmaniasis tegumentaria.

Posteriormente, la cascarilla y luego el caucho, dieron lugar a que el Alto Tambopata fuera de nuevo frecuentado por gente venida de fuera, incluyendo algunos científicos que venían del Viejo Mundo. "Cascarilleros" y "caucheros", del mismo modo que los mencionados científicos, tuvieron mayor contacto con la selva, pues para llevar a cabo el cometido que los animaba tenían que abrirse paso en el bosque, buscar afanosamente las plantas que les interesaban, extraer el látex o la corteza de ciertos árboles, así como pernoctar en plena jungla. Debido a esto, con seguridad tuvieron que irrumpir en los nidos de infección leishmásiaca y, eventualmente, adquirir la enfermedad. Por entonces, sin embargo, la espundia no era identificable y los que se exponían a contraerla constituían pequeños grupos de personas adultas de sexo masculino, circunstancias que restaron importancia a los raros casos de leishmaniasis tegumentaria que, sin duda, ocurrieron en dicha época.

De acuerdo con el ingeniero Hernán Augusto⁵, el asentamiento de campesinos en el Alto Tambopata es reciente, y se inicia con posterioridad a la colonización de las yungas bolivianas y vecinas al departamento de Puno. Según esta versión, entre los primeros campesinos que se establecieron en el Alto Tambopata se encontraban parte de los que huyeron del altiplano puneño, luego de ser dominada la sublevación indígena ocurrida en la provincia de Huancané el año 1923. Cabe suponer que recién en esta época, con los primeros asentamientos campesinos, que la leishmaniasis tegumentaria comienza a constituirse en un problema de salud pública en el mencionado valle. Es así como en 1954 se cita en forma precisa la presencia de la espundia "a partir de Putinapunco"⁶. Este mismo autor, además, recoge la versión según la cual, en 1944, habría ocurrido en la localidad de Challuma una epidemia de cierta enfermedad cutánea, la "que fue combatida con tártaro emético por un médico polaco (posiblemente el Dr. Kuczynski Godard)". Consideraciones ecológicas, así como la droga empleada para tratar los pacientes, autorizan suponer que dicha epidemia haya sido de etiología leishmásiaca.

En la actualidad, el Alto Tambopata es escenario de un proceso de asentamiento campesino que se hace

cada vez más intenso, lo que eventualmente podría dar lugar a serios brotes epidémicos de la leishmaniasis tegumentaria. Hasta ahora, tales brotes no han ocurrido debido a la forma especial en que ha venido llevándose a cabo la colonización de este valle⁷. En efecto, el próspero asentamiento campesino del Alto Tambopata se singulariza por ser una empresa espontánea, mantenida en forma pacífica por años, y en el que inicialmente ingresan a la selva tan sólo personas adultas de sexo masculino. De esta manera, durante el período de la colonización en el que hay mayor riesgo de adquirir la enfermedad, no están presentes los niños ni las mujeres; estos grupos de población hacen su aparición en los nuevos asentamientos cuando la prevalencia de la leishmaniasis ya ha disminuido considerablemente, lo que evita ocurrencia de violentos brotes epidémicos como corrientemente suelen presentarse en los asentamientos campesinos ordinarios. En ese sentido, sirve de ejemplo lo acontecido hace algunos años en el Asentamiento Campesino de Zipayare, Venezuela⁸. Sin embargo, especialmente cuando la colonización alcance niveles más bajos en el Tambopata, tal vez se cambie por el traslado y asentamiento masivo de población susceptible; si tal cosa ocurre, la modalidad epidemiológica actualmente prevalente, también cambiará.

2. POSIBLE IMPORTANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LOS ANIMALES DOMÉSTICOS CON INFECCIÓN LEISHMANIÁSICA NATURAL

Ya en 1912, cuando aún se desconocía por completo la manera como la infección leishmaniásica se mantiene en la selva, la infección natural en el perro fue descubierta en el Brasil⁹. Los primeros casos observados mostraban grandes lesiones de la piel, especialmente en el hocico y las orejas, semejantes a las lesiones cutáneas que la espundia ocasiona en la especie humana, y desde entonces se supuso que el reservorio de la enfermedad humana debería buscarse entre la fauna selvática. A los primeros hallazgos en el Brasil siguieron otros, prácticamente en todos aquellos países del Nuevo Mundo donde la enfermedad es endémica y se han conducido investigaciones sobre el particular. Algunos casos de infección natural han sido demostrados también en otros animales domésticos, tales como el caballo¹⁰ y el asno⁸.

En este artículo se comunica la verificación de la leishmaniasis tegumentaria natural en un perro y asno, del mismo modo de haberse observado lesiones en la mucosa nasal de una mula, clínicamente similares a las lesiones metastásicas que la espundia produce en el hombre. No obstante, el resultado negativo del esfuerzo realizado, tendiente a demostrar la etiología leishmaniásica en este último animal, hay la impresión de que los tres mencionados mamíferos domésticos juegan algún papel en la epidemiología de la leishmaniasis tegumentaria en el Alto Tambopata. En ese sentido, cabe recordar que, además de ser susceptibles a la infección leishmaniásica natural, son huéspedes preferidos de las titiras. Es tan grande la atracción que el perro y el asno ejercen sobre diversas especies de titiras que, en la actualidad, se les usa como cebo en los

programas de investigación en los que se requiere capturar grandes cantidades de insectos; y, en lo que concierne a la mula, en este mismo artículo se indica que es uno de los huéspedes preferidos por la especie de titira predominante en el Alto Tambopata, la *L. auraisis*.

Conviene tener presente la circunstancia de que los mencionados mamíferos domésticos, con suma frecuencia, ingresan a la selva y se ponen en contacto con los nidos de infección leishmaniásica. De esta manera, son infectados y pueden, entonces, en forma eventual, trasladar el parásito de un sitio a otro. En el Alto Tambopata, la mula es casi la única usada entre el término de la carretera y diversos lugares, distantes uno o dos días del camino, donde se han asentado muchos campesinos, y que la pondría en condición de poder transportar la infección leishmaniásica a lo largo del recorrido que hace.

Hasta ahora ha sido subestimada o no comprendida la importancia que los mamíferos domésticos pueden tener en calidad de eventuales portadores de la infección leishmaniásica en regiones de la selva neotropical. Sin embargo, sería difícil explicar algunas peculiaridades de la leishmaniasis tegumentaria selvática, si se niega importancia epidemiológica a la infección natural de los animales domésticos. Por ejemplo, la aparición ocasional de algún caso humano en asentamientos ya completamente deforestados y libres de la enfermedad durante años, pero donde han logrado subsistir algunas especies de titiras.

3. CURSO ACTUAL DE LA LEISHMANIASIS EN EL ALTO TAMBOPATA

Como ya se ha mencionado anteriormente, diversas circunstancias hacen difícil determinar la prevalencia de la leishmaniasis tegumentaria humana a lo largo de la zona de estudios. Considerando que sería conveniente obtener siquiera una reseña del grado de endemidad prevalente en las diferentes localidades donde fueron conducidos los estudios, a continuación se ofrece una breve discusión, en base a las diversas informaciones recogidas.

La colecta de titiras, expresada como número de especímenes obtenidos por hora de búsqueda-captura (Tabla 5), indica con claridad que este insecto es, en la actualidad, mucho más abundante en las localidades de Urubamba y Paujil-Playa. La verificación de la infección leishmaniásica natural en los animales domésticos (un asno y un perro), del mismo modo, fue posible únicamente en las dos mencionadas localidades; además en las proximidades de Urubamba se encontró la mula con lesiones en la mucosa nasal, clínicamente semejantes a las de la espundia en el hombre. Del mismo modo, también los resultados de la prueba intradérmica con el antígeno leishmanina fue más elevado en Urubamba y Paujil-Playa (Tabla 1), que en las demás localidades donde adicionalmente se realizaron estudios entomológicos y se llevaron a cabo la búsqueda de la infección leishmaniásica natural en los animales domésticos. Conviene recordar ahora que, de todas las localidades donde se realizaron los estudios, Urubamba y Paujil-Playa son las que se encuentran: (a) a menor altitud sobre el nivel del mar; (b) a mayor distancia del término de la carretera; y (c) donde el ambiente selvático ha sido alterado en menor grado.

En conclusión, se puede resumir que la

infección leishmaniásica es más intensa en los lugares donde la presencia del hombre es reciente y que, inversamente va desapareciendo en los asentamientos más antiguos. Esta alta prevalencia en los lugares donde recién se inician los asentamientos campesinos, así como la subsiguiente y progresiva disminución, hasta la eventual desaparición de la enfermedad, es una característica epidemiológica de la leishmaniasis tegumentaria selvática. La causa de este fenómeno reside en la alteración del ambiente selvático debido a la presencia del hombre. Cuando éste recién ingresa a la selva las posibilidades de adquirir la enfermedad son mayores. Pero a medida que se establece en ella y, consciente o inconscientemente, altera el equilibrio existente entre los factores que mantienen la infección en la naturaleza, la enfermedad se hace cada vez más rara en la población humana y finalmente desaparece.

4. NATURALEZA DE LA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA EN EL ALTO TAMBOPATA

Altitudinal y climáticamente la zona de estudio corresponde a lo que en el Perú se denomina selva alta o ceja de selva, y se halla en una región donde la leishmaniasis tegumentaria da lugar, con frecuencia, a serias lesiones metastásicas en las mucosas buco-nasofaríngeas. En consecuencia, tiene interés estimar la proporción en que este tipo de lesiones secundarias, así como otros aspectos similares de la espundia, se presentan en el Alto Tambopata entre los 730 msnm y 1200 msnm, zona de altitud donde se encuentran las localidades visitadas.

La tabla 3 indica la condición –al momento en que fueron entrevistadas- de las personas con reacción positiva a la inoculación del antígeno leishmanina, material informativo del que se puede inferir algunas conclusiones de importancia epidemiológica. En dicha Tabla, se observa, por ejemplo, que 13 (11,2%) de los 116 casos con reacción de Montenegro francamente positiva sufrían de lesiones metastásicas en las mucosas. Esta cifra corresponde a ocho localidades en las que la prevalencia de la enfermedad es diferente en la actualidad, circunstancia que se debe tener en cuenta al considerar la verdadera importancia de este fenómeno en el Alto Tambopata, pues se sostiene que la frecuencia de las mencionadas lesiones varía en relación con el grado de endemicidad de las localidades¹¹. Además, aunque se desconoce la proporción en que ocurren las lesiones metastásicas en las mucosas en función de la altura de las localidades, hay razones para suponer que serán más frecuentes en los niveles inferiores de Tambopata.

Otro aspecto importante, que muestra la tabla 3, se refiere a la presencia de 25 (21,5%) personas que, a pesar de carecer de lesiones activas así como de antecedentes de haber sufrido la enfermedad en el pasado, reaccionaron en forma positiva a la inoculación del antígeno leishmanina. Este fenómeno es frecuente en la leishmaniasis tegumentaria, y que se trata de explicar suponiendo principalmente la presencia de infecciones subclínicas. En ocasiones especiales, en las que la proporción de tales casos es bastante alta, como lo observado en una tribu selvática de Brasil, se ha sugerido la posibilidad de que la población tenga una marcada resistencia a la infección leishmaniásica o que la cepa infectante del parásito sea en tales casos de baja virulencia¹². Lo determinado para la población del Alto Tambopata (21,6%) estaría entre los límites ordinarios en que varía este fenómeno, y en consecuencia, serían debido a infecciones subclínicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Herrer A, Thatcher VE, Johnson CM.** Natural infections of *Leishmania* and *Trypanosomes* demonstrated by skin culture. *J Parasit* 1966; 52: 954-7.
2. **Disney RHL.** A trap for phlebotomine sandflies attracted to rats. *Bull Ent Res* 1966; 56: 445-51.
3. **Thatcher VE.** Studies on phlebotomine sandflies using castor oil traps baited with Panamanian animals. *J Med Ent* 1968; 5: 293-7.
4. **Raimondi A.** El Perú. Tomo III: Imprenta del Estado, Lima, 1879.
5. **Augusto BH.** Informe sobre el viaje de exploración y estudio de las zonas montañosas del Tambopata e Inambari de las Provincias de Sandia y Carabaya, del departamento de Puno, con fines de colonización agrícola. Comisión de la Reforma Agraria y Vivienda, 1957. (Mimeograf.).
6. **Luna MA.** La colonización indígena del valle de Tambopata. Informe al Director General de Asuntos Indígenas, Dr. J Pereyra Arroyo. Lima, 1954. (Mecanogr.).
7. **Martínez H.** Las migraciones altiplánicas y la colonización del Tambopata. Talleres de Litografía Latina. Lima, 1960.
8. **Pons AR, Londres H.** Leishmaniasis tegumentaria americana en el asentamiento campesino de Zipayare. Aspectos epidemiológicos, clínicos e inmunológicos. Su importancia en la reforma agraria. Casmera, Venezuela. *Arch Ven Med Trop & Parasit Med* 1968; 3: 5-59.
9. **Pedroso A.** Leishmaniose local do cao. *Ann Paulista Med & Cir* 1913; 1: 33-9.
10. **Mazza S.** Leishmaniasis cutánea en el caballo y nueva observación de la misma en el perro. *Bol Inst Clin Quir* 1927; 3: 462-4.
11. **Pifano F.** Aspectos epidemiológicos de la leishmaniasis tegumentaria en la región neotropical, con especial referencia a Venezuela. *Arch Ven Med Trop & Parasit Med* 1960; 3: 31-61.
12. **Aston DL, Thorley AP.** Leishmaniasis in Central Brazil: Results of a Montenegro skin test survey among Amerindians in the Xingu National Park. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1970; 64: 671-8.