

REVISTA MEDICA DE COSTA RICA

Director: Dr. JOAQUIN ZELEDON

Tomo VII

San José, Costa Rica, Diciembre de 1947

No. 164

Año XIV

Revisión de algunos datos relacionados con la Epidemiología de la Leishmaniosis Tegumentaria

Por A. TREJOS W.

Llegó recientemente a mis manos el trabajo de los Dres. Ovarés, Piedra y Quirós sobre leishmaniosis cutánea, publicado en el número de mayo de esta revista.

Los autores formulan una serie de hipótesis y preguntas que ya fueron confirmadas, negadas o contestadas por otros investigadores que de este asunto se han ocupado.

Como conocemos perfectamente las dificultades que hay en Costa Rica para la investigación bibliográfica, ya que casi no disponemos de fuentes de consulta, y teniendo fácil acceso a la biblioteca del Instituto Oswaldo Cruz, que cuenta con la mayor parte de las publicaciones sobre biología aplicada a medicina, resolvimos elaborar un resumen del estado actual de los conocimientos relacionados con los problemas abordados por los autores del artículo que nos ocupa y que titulan "Investigación sobre la Leishmaniosis Cutánea".

Consideraremos:

- 1.—Transmisión de las leishmaniosis.
- 2.—Reservorios naturales de la protozoosis.
- 3.—Ciclo evolutivo de las *Leishmania*.
- 4.—Inmunidad y vacunación en la leishmaniosis tegumentaria.
- 5.—Esbozo de la orientación epidemiológica que podría seguirse en Costa Rica.

TRASMISION

Comienzas Ovarés y cols. diciendo: "Una revisión sobre la literatura de la leishmaniosis cutis, no permite hasta ahora asegurar definitivamente ni el ciclo evolutivo ni el modo de transmisión de su agente patógeno" y más adelante concluyen: "El vector y el ciclo evolutivo de la *L.* sigue siendo un enigma".

Actualmente se cuenta con datos de orden experimental que permi-

ten afirmar que las diversas *Leishmania* (*L. tropica*, *L. brasiliensis*, *L. infantum* y *L. donovani*), son transmitidas por los mosquitos del género *Phlebotomus* (Diptera, Psychodidae).

Ya en 1905 los hermanos Sergent (37), llevados por razones epidemiológicas, responsabilizaron los flebótomos de transmisores de *Leishmania tropica*.

Luego, numerosos autores obtuvieron infección experimental en animales, inclusive hombre, con triturados de flebótomos que habían picado a enfermos del leishmaniosis cutánea. Datos a este respecto se encuentran en Brumpt (8) y Craig & Faust (11).

Aquí en América, Aragao (3) en 1922, tuvo suceso con *Phlebotomus intermedius* capturados en Río de Janeiro, consiguiendo infectar, con el triturado de estos dípteros, un perro.

La transmisión experimental por picada del insecto, presentó algunas dificultades al principio, pero actualmente se sabe que estas dificultades eran debidas al régimen alimenticio de los flebótomos mantenidos en cautividad.

Smith, Halder y Ahmed (40, 41) demostraron en 1940, que alimentando los flebótomos (*Phlebotomus argentipes*), con pasas, en los días sucesivos a la picada de un enfermo de Kala Azar, el aparato digestivo, y principalmente la faringe, de estos dípteros, quedaba, al contrario de cuando se alimentaban con sangre, completamente bloqueado por formas flageladas (leptómonas) de la *Leishmania donovani*, a semejanza de lo que ocurre con las pulgas infectadas con *Pasteurella pestis*.

Este fenómeno del "bloqueo" de los flebótomos, ya había sido señalado por Shortt y cols. en 1926 (39).

Por último, Swaminath y cols. (44), en 1942 consiguieron transmitir por picada de los flebótomos así bloqueados, el Kala Azar indio a la mayoría de los ratones y hámsteres con que experimentaron, y finalmente a cinco voluntarios que se ofrecieron para estas experiencias. Los resultados obtenidos por estos investigadores son en la opinión de Wenyon (48) un "record" auténtico del progreso de la investigación que dejó perfectamente dilucidada la transmisión de la *Leishmania donovani*.

Con relación a la transmisión de la *Leishmania tropica*, los resultados obtenidos, entre otros, por Adler y Ber (1), tampoco dejan dudas con relación al papel desempeñado por los flebótomos.

Referencias a especies de *Phlebotomus* transmisores de leishmanias, se encuentran en Brumpt (8) que los estudia desde el punto de vista entomológico y parasitológico.

RESERVORIOS

El primer vertebrado, además del hombre, en que se constató infección natural por leishmania, fué el perro. La gloria de este descubrimiento cabe a Ch. Nicolle y Comte (28).

Hoy se considera que es el perro el reservorio de la *Leishmania infantum*. Algunos autores reportan haber encontrado leishmanias hasta en

40% de los perros examinados, en determinadas regiones de Grecia, por ejemplo.

Brumpt (8) dice que la *L. infantum* es un parásito habitual del perro, siendo que puede infectar accidentalmente a los niños y excepcionalmente a los adultos. Como en algunas regiones se encuentran parasitados 40% de los perros, y sólo 1 a 2% de los niños, concluye que el hombre tiene una menor receptividad a la infección, y que el *Phlebotomus perniciosus* prefiere al perro, y no al hombre, para alimentarse.

Tenemos pues que en el Kala Azar infantil del Mediterráneo, la mayoría de las infecciones se transmite del perro al hombre, por intermedio del flebótomo. Ya en el Kala Azar indio, parece que es el mismo hombre quien constituye el reservorio del virus, siendo el ciclo del protozooario, hombre-flebótomo-hombre. Esto se explica por el hecho de encontrarse gran cantidad de leishmanias en la piel de los enfermos, sobre todo en los llamados nódulos de Brahmachari.

Con relación al Kala Azar de América del Sur, el número relativamente pequeño de casos observados, la mayoría de autopsias, no permite aún sacar conclusiones cuanto al reservorio.

El reservorio para la *Leishmania brasiliensis* tampoco ha sido descubierto, siendo que Pessoa (32) cree probable que el mismo hombre lo constituya. Esta hipótesis ya había sido planteada por Nicolle (27), en 1925.

El pequeño número de perros con ulceraciones en las cuales han podido ser encontradas leishmanias, no permite, según Pessoa que este animal sea considerado como huésped obligatorio de una parte del ciclo de la *L. brasiliensis*.

Ahora bien, en 1944, Hoare (14) hace una magnífica revisión crítica de los trabajos recientes hechos en Rusia sobre leishmaniosis cutánea. Los autores rusos atacaron y resolvieron una serie de problemas de la mayor importancia.

Constataron, además de la forma cutáneo-mucosa, otros dos tipos nosológicos independientes: *Leishmaniasis cutanea tarda exulcerans*, forma seca, urbana, crónica y con abundantes parásitos, y *Leishmaniasis cutanea cito exulcerans*, forma húmeda, rural, aguda y con pocos parásitos. Hoare resalta que las condiciones en América deben ser muy semejantes, pues las formas no ulcerosa nodular, y probablemente la verrucosa de Peña Chavarría, corresponderían al tipo seco, en cuanto que la forma ulcerosa cutánea de Peña Chavarría correspondería al tipo húmedo del Botón de Oriente *sensu stricto*. Hoare (14) se refiere al trabajo de Peña Chavarría publicado en 1937 (31). Debemos señalar aquí que este trabajo ya había sido publicado en alemán, en marzo de 1935, por Rotter y Peña Chavarría (36).

La contribución más notable de los rusos al conocimiento de la leishmaniosis cutánea, es la demostración de que la enfermedad es una zoonosis típica, trasmisible al hombre. Este es el punto que nos interesa por el momento.

Las investigaciones llevadas a cabo principalmente por Latyshev y Kriukova (20, 21, 22, 23) sirven de ejemplo de investigación científica bien orientada, por lo que las resumiremos a continuación.

En Asia Central (Turkmenia) había un foco endémico de leishmaniosis cutánea del tipo húmedo. Se estableció que en esa zona los flebótomos vivían en cuevas de roedores. Examinando flebótomos encontraron que las hembras capturadas al aire libre estaban parasitadas en proporción de 3,3%, en cuanto que las capturadas entre las cuevas presentaban leptómonas en porcentajes que variaban entre 6 y 35.

Las especies encontradas fueron *Phlebotomus papatasi* y *P. caucasicus*. Pensaron pues que los flebótomos debían adquirir las leptómonas de los roedores que habitaban las cuevas. Esta hipótesis fué confirmada, pues 30% de los roedores salvajes (*Rhombomys opimus*) presentaba ulceraciones en las cuales se encontraron parásitos morfológicamente iguales a *Leishmania tropica*.

La identidad de los parásitos de los roedores y de los humanos, fué confirmada por la receptividad de los *Rhombomys* a las cepas de leishmanias de origen humano y viceversa, la infección de hombres con parásitos de roedor. Además, flebótomos que se nutrían en estos roedores, adquirían las *Leishmania* que evolucionaban dando formas de leptómonas, lo que probó ser estas leptómonas una fase en el ciclo evolutivo de aquellas *Leishmania*.

Probaron también los autores rusos que dentro de las cuevas de los roedores salvajes había un microclima estable durante todo el año, con condiciones de temperatura y humedad óptimas para los flebótomos, que continuamente transmitían las leishmanias de un roedor para otro, ya que al contrario de lo que pasa en el hombre, como veremos luego, estos *Rhombomys* no presentan inmunidad a la infección por *L. tropica*.

Los resultados prácticos obtenidos de estos estudios tienen valor incalculable, pues en zonas donde 70% de la población humana padecía de leishmaniosis, bajó este porcentaje a 0,4 una vez que fueron envenenadas las cuevas de los roedores con Cloropirina (Nitrotriclorometano).

CICLO EVOLUTIVO

Vimos pues que las *Leishmania* toman en los flebótomos formas de leptómonas que se reproducen activamente en el aparato digestivo de éstos, llegando hasta a bloquearlos. Los flebótomos así bloqueados transmiten más fácilmente las leishmaniosis que los no bloqueados, siendo que debe pasar un tiempo para que el flebótomo que ha ingerido leishmanias se torne infectante. Muy largo están, por lo tanto, los flebótomos de poder ser considerados como simples "vectores pasivos".

El hecho, ya desde hace muchos años conocido, de que puede haber una autoinoculación que el enfermo practica al rascarse sucesivamente lesiones y partes sanas, o la transmisión directa de un enfermo a un sano, no quita absolutamente importancia al método más común de transmisión que es a través del flebótomo.

La constatación de que otros artrópodos tengan receptividad para las leishmanias, como es, entre otros, el caso de la mosca *Stomoxys calcitrans*, observado por Berberian (4), y la hipótesis de que puedan esporádicamente transmitir estos parásitos, tampoco va a quitarle al flebótomo la importancia epidemiológica que tiene; así como por el hecho de que varios artrópodos hematófagos pueden transmitir la peste bubónica, no vamos a pensar que no sea la pulga el vector natural, y desviar la atención para fuentes de contagio más o menos hipotéticas.

Con relación a la afirmación de Ovaris y cols. de que no se ha buscado suficientemente dónde es que el vector puede adquirir las leishmanias, vemos que tienen razón en lo que a América se refiere, si bien debemos recordar que aquí la variedad enorme de la fauna de las regiones donde hay leishmaniosis, hace la búsqueda del reservorio más difícil que lo que fué esa búsqueda en Asia Central.

Ahora bien, sería sumamente difícil encontrar un vertebrado reservorio de leishmanias, que albergue éstas bajo la forma característica de cualquier otro de los géneros de la familia *Trypanosomidae*.

Precisamente la taxonomía de esta familia se hace llevando en cuenta, como carácter genérico, el ciclo evolutivo del flagelado, y es justamente el carácter diferencial del género *Leishmania*, el presentarse estos parásitos bajo la forma de leptómonas en el huésped invertebrado, y bajo la forma de leishmanias, aflageladas, con un núcleo y un quinetooplasto baciliforme, en el huésped vertebrado.

Excepcionalmente pueden presentarse, junto con las formas típicas de leishmania, algunas formas de leptómonas en los tejidos del vertebrado, pero que sepamos, sólo existen dos casos en que se ha podido constatar esta anomalía. Wenyon (46) en 1915, encontró en uno de los varios perros inoculados por él con una cepa de *Leishmania donovani*, además de las formas de leishmania, algunas formas de leptómonas en el bazo. El otro caso es de Hoeppli (15) que habiendo inoculado dos hámsteres con *L. tropica* observó, además de una generalización de la infección con formas de leishmania en el hígado, bazo y tejido conjuntivo, en uno de los animales, formas que identificó como siendo de leptómonas, entre las fibras del miocardio más o menos alteradas.

Si queremos pues encontrar leishmanias en los tejidos de un vertebrado que pueda ser reservorio del virus, debemos buscarlas bajo este aspecto, y no bajo el de cualquier forma flagelada, como indican Ovaris y cols. Las formas flageladas (leptómonas) aparecen en el invertebrado y en los cultivos *in vitro*. Estos cultivos pueden ser realizados en varios medios sólidos y líquidos, cuya composición y técnica de preparación se encuentra en Langeron (19).

Todavía con relación al ciclo evolutivo de las leishmanias, Ovaris y cols. tocan en otro punto: la posibilidad de que los flagelados que parasitan el látex de los vegetales sean patógenos para el hombre, y dicen que el reservorio del virus puede ser un animal o planta.

En 1909 Lafont (18) describió los flagelados de las *Euphorbiaceae*,

que hoy se conocen con el nombre de *Phytomonas* y que parasitan además especies de otras familias como *Asclepiadaceae*, *Apocynaceae*, *Sapotaceae* y *Urticaceae*.

El primer autor que presentó, pocos años después del descubrimiento de las fitómonas, la hipótesis de que éstas podían ser las mismas *Leishmania*, fué Nicolle (26) en el año 1912. Ch. Nicolle no experimentó al respecto, descartando tal posibilidad por razones teóricas.

Aquí en América, en 1919, Olimpio da Fonseca (13), pensando también en esta posibilidad se inoculó, por vías subcutánea e intradérmica, con el látex de euforbias parasitadas por las fitómonas. Un auxiliar que se ofreció voluntariamente y un mono, también fueron inoculados por las mismas vías. Los resultados fueron negativos en los tres casos, y el profesor da Fonseca nos manifestó, que la única reacción que observó fué la formación de una escara provocada por el efecto cáustico del látex, y que hasta ahora nada había publicado al respecto.

Strong (43) en 1924 también realizó experiencias con intención de probar si había relación entre los flagelados de las euforbias y las leishmanias.

Este autor, trabajando en América Central, encontró zonas donde gran número de plantas estaba parasitado. Consiguió demostrar también la presencia de flagelados semejantes a *Phytomonas* en el tubo digestivo del hemíptero *Chariesterus cuspidatus*. Probó, por experiencias en cuyos detalles no vamos a entrar aquí, que este hemíptero era el trasmisor de las fitómonas de planta a planta.

Inoculó varios animales con los flagelados de las euforbias y con los del hemíptero. Todas las inoculaciones dieron resultados negativos.

Las experiencias de Strong, sin embargo, no pararon ahí. Este autor, examinando lagartijas (*Cnemidophorus lemniscatus*) que encontraba en las regiones donde las euforbias estaban altamente parasitadas, encontró tres, entre más de veintidós autopsiadas, que presentaban en el aparato digestivo flagelados morfológicamente semejantes a los de las euforbias y a los de los hemípteros. En un mono inoculado con los flagelados de la lagartija, se desarrolló una úlcera, en la cual Strong descubrió abundantes formas de leishmania, si bien que éstas eran extracelulares y muchas estaban en degeneración.

Como la lagartija es insectívora, Strong sugiere la posibilidad de que los parásitos leishmaniformes encontrados en la úlcera del mono sean las mismas *Phytomonas* de las euforbias, que después de su pasaje por un insecto y por un vertebrado de sangre fría, se adaptaron al parasitismo de un vertebrado de sangre caliente, el mono.

Comentando estas experiencias de Strong dice Wenyon (47) que no fué probada la identidad de los flagelados del insecto y los de la lagartija; en verdad no sabemos que Strong haya infectado lagartijas con las formas flageladas que encontró en el hemíptero. Además, el mismo Strong señala que la contaminación con las heces de la lagartija podía haber provocado la ulceración en la piel del mono.

En fin, como era de esperarse, Strong refiere los resultados de sus interesantes experiencias, pero se abstiene de emitir conclusiones definitivas.

Por último, en 1933, los hermanos Sargent y cols. (38) dicen que no teniendo los flebótomos hematófagos relaciones con las euforbias, ni los hemípteros fitófagos de las euforbias relaciones con el hombre, la hipótesis de que las euforbiáceas sean reservorios de leishmanias parece inverosímil.

Nos parece, pues, que no habiendo tenido ninguna confirmación experimental, la hipótesis del reservorio vegetal para las leishmaniosis puede darse por descartada, habiendo entre los géneros *Leishmania* y *Phytomonas* tanta relación cuanta hay entre los géneros *Schizotrypanum* y *Herpetomonas*, por ejemplo. Es decir, simplemente una relación filogenética común a la familia *Trypanosomidae*. A este respecto decía Chandler (9) que no parece haber duda de que todo el grupo *Leishmania-Herpetomonas-Trypanosoma*, haya evolucionado de un simple flagelado parásito del tubo digestivo de invertebrados.

No nos parece aventurado creer que este flagelado primitivo fué luego evolucionando y diferenciándose hasta dar los diversos géneros que forman actualmente la familia *Trypanosomidae*, y que tienen ya "habitats" bien diversos.

INMUNIDAD Y VACUNACION

A este respecto dicen Ovars y cols. que "llama la atención que de los casos viejos vistos, ninguno ha sufrido más de una vez la enfermedad..." y luego: "La leishmaniosis cutis parece que confiere inmunidad (sugestión para vacunación profiláctica)".

Colvilli (10) refiere en 1872, que los judíos de Bagdad desde hacía mucho tiempo tenían por costumbre inocular sus niños con serosidades del Botón de Oriente para evitar futuras lesiones en la cara.

Thompson (45) también hace referencia a esta práctica de los habitantes de la Mesopotamia.

Hace cincuenta años, M. Nicolle y Noury-Bey (29) decían, antes de que se conociera la etiología del Botón de Oriente: "El Botón es inoculable. Inoculado o espontáneo confiere inmunidad".

Posteriormente casi no hay autor que se ocupe de la leishmaniosis cutánea que deje de confirmar estas observaciones.

Está pues, perfectamente establecido que la *Leishmania tropica* produce inmunidad en el hombre, cuando es inoculada por el flebótomo, o experimentalmente. Para que esta inmunidad se establezca es preciso que la enfermedad evolucione hasta curar espontáneamente. Ya cuando comienza la fase de cicatrización, no se obtienen reinoculaciones positivas.

Berberian (5) obtiene reinoculación negativa después de 240 días de haber practicado la primera inoculación con *L. tropica*.

Con relación a la forma más grave, cutáneo-mucosa de América del Sur, analizando la cuestión de inmunidad, dicen Pessoa y Barreto (34)

que realmente se desenvuelve inmunidad después de la infección. No obstante, esta resistencia es precaria en algunos casos y así permite una larga sobrevivencia del parásito en la lesión. Otros pocos casos en que, según estos autores, no se observa inmunidad, son los más graves.

Siendo según Rotter y Peña Chavarría (36) las formas que se observan en Costa Rica más semejantes al Botón de Oriente que a la forma cutáneo-mucosa de América del Sur, no podríamos esperar otra cosa, a no ser sólida inmunidad, una vez que las lesiones se curan espontáneamente. Es claro que cuando hay intervención medicamentosa, el proceso de inmunización queda interrumpido, pues ya sabemos que sólo se establece al final de la enfermedad.

La práctica seguida en el siglo XIX en la Mesopotamia, no puede ser clasificada sino como vacunación.

Posteriormente varios autores como Marzinowsky (25), Lawrow y Dubowskoy (24), Sokolova (42), Berberian (5, 6, 7), Katzenellenbogen (16), Kojevnikov (17), Dostrovsky (12), Ansari (2) y otros, se han ocupado de este proceso de vacunación con leishmanias virulentas, o leishmanización profiláctica.

Estos autores usaron, sea serosidades de las lesiones en evolución, sea cultivos vivos de *L. tropica*, inoculados por vía intradérmica o por escarificación de la piel, y están acordes en cuanto a los magníficos resultados obtenidos, no habiendo observado complicaciones y muchos menos generalización de la infección.

Kojevnikov (17) observó además que los individuos que habían padecido leishmaniosis del tipo húmedo, no estaban inmunes contra el tipo seco y viceversa. Recomienda para vacunación profiláctica: usar cepas de ambos tipos, ya que son antigénicamente diferentes, o entonces emplear el que prevalezca en la región donde el individuo vacunado va a vivir.

La primera referencia que encontramos a la posibilidad de vacunación contra leishmaniosis tegumentaria por medio de cultivos muertos, es la de Nicolle (27) que se refería a la leishmaniosis de América del Sur, provocada por la *Leishmania brasiliensis*.

Posteriormente Marzinowsky (25) dice que estaba ensayando vacunación con gérmenes muertos y que había vacunado 26 artistas que pensaban hacer una gira en regiones reputadas como focos endémicos de leishmaniosis cutánea. No conseguimos encontrar referencias posteriores de este autor a los resultados obtenidos. Sin embargo, Lawrow y Dubowskoy (24), refieren que Marzinowsky, Chodunin, Schwtschenko y otros, tratando obtener inmunidad a leishmaniosis cutánea (*L. tropica*) con cultivos muertos, no habían tenido éxito.

Parrot (30) inoculando animales con cultivos muertos o con cultivos vivos avirulentos de *L. tropica*, tampoco obtuvo inmunización de los mismos.

Aquí en América, Pessoa y cols. (32, 33, 34, 35) han obtenido resultados alentadores usando vacunas con cultivos muertos de *L. brasiliensis*, no sólo en rhesus sino también en hombre.

En una determinada zona del estado de Sao Paulo (Brasil), Pessoa observó que el 15% de las personas no vacunadas presentó leishmaniosis tegumentaria, y solamente 2,7% de las vacunadas contrajo la enfermedad espontáneamente.

Pessoa y Barteto (34) concluyen que estos resultados son prometedores, pero que el proceso necesita ser más estudiado para poder formar un juicio definitivo sobre su valor.

En 1944, Berberian (7) refiere los resultados negativos por él obtenidos ensayando vacunar hombres con los cultivos muertos de *L. tropica*, y observa que estos resultados están en contraposición con los obtenidos por Pessoa y cols.

Vemos, pues, que si con relación a la leishmanización profiláctica con cultivos vivos de *L. tropica* hay unanimidad de opiniones, no ocurre lo mismo cuando se trata de vacunar contra leishmaniosis tegumentaria con cultivos muertos o avirulentos.

Este es, pues, un campo abierto a futuras investigaciones que tal vez vengan a proporcionar un método de matar los cultivos que no altere la constitución antigénica de las *Leishmania* y que permita una inmunización menos incómoda que la que se obtiene por medio del Botón experimentalmente provocado.

ORIENTACION EPIDEMIOLOGICA

Los datos aquí resumidos, permiten ya esbozar el camino que podría seguirse y que indicaría las medidas profilácticas que deben adoptarse en Costa Rica.

Este camino podría ser en líneas generales el siguiente:

- 1) Estudio de nuestros flebótomos.
 - a) Determinación específica.
 - b) Biología.
 - c) Incidencia de formas flageladas de *Leishmania* en los mismos.
- 2) Investigación sistematizada del reservorio entre roedores y otros mamíferos salvajes.
- 3) Teniendo en cuenta estos datos, y los que ya existen sobre clínica y patología de nuestra leishmaniosis, podría ser orientada la profilaxia, sea en el sentido de destrucción del trasmisor o del reservorio, según el caso y si esto fuera posible, o en el de vacunación de los habitantes de las regiones donde la molestia es endémica. En este caso deben ser vacunadas todas aquellas personas que den intradermoreacción de Montenegro negativa.

De esta manera podríamos, si no aplicar rigidamente las medidas adoptadas en otros países, adaptarlas a nuestras necesidades locales.

No queremos terminar estas líneas sin rendir homenaje a un nombre: Aristides Marques da Cunha; que por la restricción de los temas aquí tratados no aparece en la bibliografía citada, pero que no puede ser olvidado cuando se habla de leishmaniasis, mucho menos por los que tuvimos el privilegio de ser sus alumnos en la cátedra de Protozoología del Instituto Oswaldo Cruz.

Deseamos también consignar aquí nuestro agradecimiento a todas las personas que, sea proporcionándonos indicaciones bibliográficas, sea leyendo el manuscrito, contribuyeron a esta revisión.

Río de Janeiro, octubre de 1947.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Adler, S. & Ber, M., 1941. The transmission of *Leishmania tropica* by the bite of *Phlebotomus papatasi*. Ind. J. Med. Res 29 (4): 803-809.
- 2) Ansari, M. N., 1946. Culture et isolement de *Leishmania tropica*. Leishmanisation prophylactique. Arch. Inst. d'Hessarek. Terán. 2 (2): 31-35. Res. en Trop. Dis. Bull. 43 (12): 1127. 1946.
- 3) Aragao, H. B. 1922. Transmissao da leishmaniose no Brasil pelo *Phlebotomus intermedius*. Brasil Med. 36 (11): 129-130.
- 4) Berberian, D. A., 1938. Successful transmission of cutaneous leishmaniasis by the bites of *Stomoxys calcitrans*. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 38 (2): 254-256.
- 5) Berberian, D. A., 1944. Cutaneous leishmaniasis (Oriental Sore). I Time required to development of immunity after vaccination. Arch. Dermat. Syph. 49 (6): 433-435.
- 6) Berberian, D. A., 1944. Cutaneous leishmaniasis (Oriental Sore). II Incubation period. Arch. Dermat. Syph. 50 (4): 231-232.
- 7) Berberian, D. A., 1944. Cutaneous leishmaniasis (Oriental Sore). IV Vaccination against Oriental Sore with suspensions of killed *Leishmania tropica*. Arch. Dermat. Syph. 50 (4): 234-236.
- 8) Brumpt, E., 1936. Précis de Parasitologie. 5ª edición, 2 Vols. XII + 1139 pp. Masson & Cie., Ed. Paris.
- 9) Chandler, A. C., 1923. Speciation and host relationships of parasites. Parasitology. 15 (3): 326-339.
- 10) Colvilli, 1872. Cit. en Marzinowsky (25).
- 11) Craig, C. F. & Faust, E. C., 1943. Clinical Parasitology. 3ª edición, 1 Vol. 767pp. Lea & Febiger, Ed. Philadelphia.
- 12) Dostrovsky, A., 1945. The incubation period in experimental cutaneous leishmaniasis. Acta Med. Orientalia (Palestine Near East Med. J) 4 (9):303-305. Res. en Trop. Dis. Bull. 43(4):320. 1946.
- 13) da Fonseca, O., Comunicación personal en octubre de 1947.
- 14) Hoare, C. A., 1944. Cutaneous leishmaniasis (Critical review of recent russian work). Trop. Dis. Bull. 41(5):330-345.

- 15) Hoeppli, R., 1929. Neuere pathologische Befunde bei experimenteller Trypanosomiasis und Leishmaniasis. Beihefte z. Arch. Schiffs. Trop. Hyg. 33(3):101-112.
- 16) Katzenellenbogen, I., 1944. Vaccination against Oriental Sore. Report of results of five hundred and fifty-five inoculations. Arch. Dermat. Syph. 50(4):239-242.
- 17) Kojenynnikov, P. V., 1945. Ausencia de inmunidad cruzada entre los dos tipos de leishmaniosis cutánea. (En ruso). Med. Parasit. & Parasitic Dis. Moscú. 14(3):82-86. Res. en Trop. Dis. Bull. 43(8):724. 1946.
- 18) Lafont, A., 1909. Sur la présence d'un parasite de la classe de flagellés dans le latex de l'Euphorbia pilulifera. C. R. Soc. Biol. 61 (tomo 19): 1011-1013.
- 19) Langeron, M., 1942. Précis de Microscopie. 69 edición, 1 Vol. VI + 1340 pp. Masson & Cie. Ed. Paris.
- 20) Latyshev, N. I. & Kriukova, A. P., 1941. Epidemiología de la leishmaniosis cutánea en los desiertos arenosos. Problemas de la leishmaniosis cutánea. Ashkhabad. 241-248. (En ruso). Ref. en Hoare (14).
- 21) Latyshev, N. I. & Kriukova, A. P., 1941. Die Rolle der Sanfliegen in der Aufbewahrung des Virus der Hautleishmaniose während des Zeitraums zwischen Epidemien. C. R. Acad. Sci. Moscú. 30:90-92. Ref. en Hoare (14).
- 22) Latyshev, N. I. & Kriukova, A. P., 1941. Sobre la epidemiología de la leishmaniosis cutánea. La leishmaniosis cutánea como una zoonosis de los roedores salvajes en Turkmenia. Trav. Acad. Milit. Med. Armée Rouge U. R. S. S. Moscú. 25:229-242. (En ruso). Ref. en Hoare (14).
- 23) Latyshev, N. I. & Kriukova, A. P., 1942. Estado presente del problema de la leishmaniosis cutánea: pluralidad del organismo causador. Med. Parasit. & Parasitic Dis. Moscú. 11:74-78. (En Ruso). Ref. en Hoare (14).
- 24) Lawrow, A. P. & Dubowskoy, P. A., 1937. Über Schutzimpfungen gegen Hautleishmaniose. Arch. Schiffs.—Trop.—Hyg. 41(4):374-379.
- 25) Marzinowsky, E. I., 1928. L'immunité dans le Bouton d'Orient. Bull. Soc. Path. Exot. 21(8):638-641.
- 26) Nicolle, Ch., 1912. Origine et rapports du Kala Azar et du Bouton d'Orient. Arch. Inst. Pasteur Tunis. 1912(4):219-224.
- 27) Nicolle, Ch., 1925. Quelques considérations sur la leishmaniose tégumentaire américaine. Rev. Soc. Argent. Biol. 6:689-693.
- 28) Nicolle, Ch. & Comte, Ch., 1908. Origine canine du Kala-Azar. C. R. Acad. Sci. 146:789-791.
- 29) Nicolle, M. & Noury-Bey, 1897. Recherches sur le Bouton d'Alep. Ann. Inst. Pasteur. 11(9):777-783.
- 30) Parrot, L., 1929. Sur la vaccination contre le Bouton d'Orient. C. R. Soc. Biol. 100:411-412.
- 31) Peña Chavarría, A., 1937. Leishmaniosis tegumentaria en la República de Costa Rica. Festschrift B. Nocht. 452-459.
- 32) Pessoa, S. B., 1941. Profilaxia da Leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo. Folha Med. 22(14):157-161.
- 33) Pessoa, S. B., 1941. Segunda nota sobre a vacinação preventiva na leishmaniose tegumentar americana con leptómonas mortas. Rev. Paulista Med. 19(2):106-109.
- 34) Pessoa, S. B. & Barreto, M. P., 1944. Contribuição para o estudo

da imunidade da leishmaniose tegumentar americana. I Reuniao anual dos dermatosifilógrafos brasileiros. 137-151. 1945.

35) Pessoa, S. B., & Prestana, B. R., 1940. Ensaio sobre a vacinacao preventiva na leishmaniose tegumentar americana con germens mortos. *Rev. Biol. Hyg.* 10(2):112-118.

36) Rotter, W. & Peña Chavarría, A., 1935. Die Hautleishmaniose in Costa Rica. *Arch. Schiffs- Trop. Hyg.* 39(3):89-99.

37) Sergent, Ed. & Sergent, Et. 1905. Sur un Culicide nouveau, tres Commun a Briskra (*Grabhamia subtilis*), *C. R. Soc. Biol.* 57 (tomo 19): 673-674.

38) Sergent, Ed., Sergent, Et., Parrot, L., Donatien, A. & Lestoquard, F., 1933. Revue historique du problème de la transmission des leishmanioses. *Bull. Soc. Path. Exot.* 26(2):224-248.

39) Shortt, H. E., Barraud, P. J. & Craighead, A. C., 1926. The life history and morfology of *Herpetomonas donovani* in the Sandfly *Phlebotomus argentipes*. *Ind. J. Med. Res.* 13(4):947-959.

40) Smith, R. O. A., Halder, K. C. & Ahmed, I., 1940. Further investigations on the transmission of Kala-Azar. Part II. The Phenomenon of the "blocked" Sandfly. *Ind. J. Med. Res.* 28(2):581-584.

41) Smith, R. O. A., Halder, K. C. & Ahmed, I., 1940. Further investigations on the transmission of Kala-Azar. Part III. The Transmission of Kala-Azar by the bite of the Sandfly *P. argentipes*. *Ind. J. Med. Res.* 28(2):585-591.

42) Sokolova, A. N., 1940. Vacunación preventiva con parásitos vivos de la leishmaniosis cutánea. (En ruso). *Trans Turkmen Cutan. Venerol Inst. Ashkhabad.* 11:44. Ref. en Hoare (14).

43) Strong, R. P., 1924. Investigations upon the flagellate infections. *Amer. J. Trop. Med.* 4(4):345-372.

44) Swaminath, C. S., Shortt, H. E. & Anderson, L. A. P., 1942. Transmission of indian Kala-Azar to man by the bites of *Phlebotomus argentipes*. *Ind. J. Med. Res.* 30(3):473-477.

45) Thompson, J. G., 1931. The question of immunity in man to protozoal diseases. *Proc. Roy. Soc. Med.* 24:499-511.

46) Wenyon, C. M., 1915. Flagelates forms of *Leishmania donovani* in the tissues of an experimentaly infected dog. *J. Trop. Med. Hyg.* 18(19):218-219.

47) Wenyon, C. M., 1926. Protozoology. 2 Vols. XVI + 1563 pp. Bailiere, Tindal and Cox, Ed. London.

48) Wenyon, C. M., 1943. Comentario a los trabajos de Swaminath & Cols. (44). *Trop. Dis. Bull.* 40(3):227-228.