

ESTUDIOS SOBRE LEISHMANIASIS EN COLOMBIA

Mejía S., Hernán; Hernández, Natalia;
Echeverría, Marcela; Cohen, Guillermo;
Tovar, Alvaro; Guana, Adriana; Ruzynke, Clara;
Berman, Johathan; Grogl, Max; Soto, Jaime

RESUMEN

La leishmaniasis ha sido tema de estudio para el Servicio de Dermatología del Hospital Militar desde hace varios años. Consecuencia de ello, son los resultados que presentamos en este trabajo y que buscan determinar, en primer lugar si la aplicación repetida de antígeno de Montenegro puede introducir sensibilización y, por tanto, falsos positivos, tema de importancia especialmente en áreas endémicas. Nuestro estudio indica que no hay sensibilización después de tres inyecciones administradas con intervalos de 28 días.

En segundo lugar comparar los dos métodos actualmente disponibles para tipificación de Leishmania: isoenzimas y anticuerpos monoclonales. Encontramos que ambos son útiles pero que es más fácil de realizar la técnica de monoclonales.

Como otra de las necesidades es encontrar tratamientos alternativos, probamos la combinación de paromomicina tópica por 10 días y glucantime parenteral por 7 ó 3 días. Encontramos que al cabo de un año hubo curación de 90% con la primera combinación y de 40% con la segunda, en grupos de 20 pacientes.

Finalmente, para prevención probamos un jabón repelente con DEET 20% y permetrin 0.5% en 34 individuos que tuvieron protección mayor que la observada en los 24 controles. Cuando usamos permetrin para impregnar uniformes en 143 sujetos sólo 4 se enfermaron en comparación con 18 del grupo control.

INTRODUCCION

Hace 92 años que Leishman descubrió el parásito productor de la leishmaniasis en el bazo de un paciente con enfermedad visceral, 108 años que Cunningham lo visualizó en una lesión cutánea y más de 50 años que venimos empleando el mismo medicamento para su tratamiento. También es verdad que esta enfermedad está catalogada por la OMS como una de las seis prioritarias en medicina tropical (Chulay, 1984) y que a ella

se destinan importantes recursos de organismos internacionales para su estudio, lo que ha llevado a grandes avances en el conocimiento de su biología, inmunología y genética, a desarrollar pruebas diagnósticas cada vez más precisas. Sin embargo, son múltiples los interrogantes sobre esta enfermedad que quedan por resolver.

En nuestro Servicio, tenemos alrededor de cuatrocientos pacientes cada año, que son el reflejo de los 2.500 miembros de las Fuerzas Militares (DISAN EJC, 1990) y de los más de 10.000 civiles que la padecen en nuestro país cada año (MIN-SALUD, 1990), que así mismo reflejan los doce millones de casos anuales que OMS calcula a nivel mundial. Al contrario de lo que cabría esperar, año tras año se incrementa el número de enfermos nuevos y los esfuerzos de las entidades centrales de salud están orientados a tratar algunos pacientes, pero no son evidentes las tareas para disminuir la incidencia de la enfermedad. Aun así, los esfuerzos gubernamentales se quedan demasiado cortos, pues si se administrara medicación para todos y cada uno de los enfermos en las dosis y por el tiempo recomendado, se necesitaría invertir más de tres mil millones de pesos cada año (US\$3.5 millones), sin contar los costos de exámenes de laboratorio, hospitalización, desplazamientos, pérdida de días laborales y secuelas. Y la verdad es que el gobierno no alcanza a destinar el 10% de la cifra anotada. La mayoría de los logros sobre investigación en leishmaniasis en Colombia son resultado de grupos o fundaciones que, si bien tienen algún apoyo gubernamental, derivan la mayoría de sus recursos de organismos internacionales.

Desde hace 10 años nuestro Servicio ha destinado una parte importante de su tiempo de investigación al problema de la leishmaniasis y fruto de este esfuerzo han sido los diferentes trabajos que se han presentado en diversos foros nacionales e internacionales, así como la publicación en varias revistas. Se ha convertido entonces, la leishmaniasis en nuestro principal objeto de investigación.

Lo que vamos a presentar este año es el resultado del trabajo de los Residentes del Servicio que, al menos en una ocasión durante su Residencia, participan activamente en la elaboración de alguno de los protocolos que se adelantan constantemente. Más que un trabajo de investigación, estamos presentando una línea de investigación producto del esfuerzo conjunto y sostenido a través de los años, mirando el problema desde diversos ángulos, pero todos con el mismo objetivo.

Hernán Mejía S., Natalia Hernández, Marcela Echeverría, Guillermo Cohen, Alvaro Tovar, Adriana Guana, Clara Ruzynke, Jonathan Berman, Max Grogl, Jaime Soto.
Hospital Militar Central, Servicio de Dermatología, Santafé de Bogotá, D.C.

REACCION A LA LEISHMANINA DEL INS-C EN SUJETOS CON LEISHMANIASIS CUTANEA Y EN INDIVIDUOS SANOS NO INMUNES

Marco teórico

Debido a que la leishmaniasis continúa siendo una prioridad de salud en nuestro medio, el Servicio de Dermatología del HMC ha persistido en la búsqueda de respuestas a preguntas tales como la vigencia del valor diagnóstico y epidemiológico de la prueba de Montenegro, la posibilidad de sensibilización después de aplicaciones repetidas, la presencia del fenómeno amplificador, etc. Esto cobra especial importancia si se tiene en cuenta que en las zonas endémicas no se dispone de recursos diagnósticos más elaborados y la prueba de Montenegro resulta sencilla en su ejecución y de bajo costo, y que, en ocasiones, es necesario aplicarla varias veces a un mismo individuo, con intervalo de tiempo variable.

El antígeno de Montenegro no está estandarizado universalmente; las diferentes preparaciones contienen como vehículo fenol o thiomerosal, los parásitos son muertos por diferentes métodos, las especies empleadas también son variadas, así como sus concentraciones (Weigle, 1987). El empleado en Colombia, preparado del INS - C, contiene 5×10^6 promastigotes de *L. panamensis*, más 5×10^6 promastigotes de *L. amazonensis*, inactivados por calor en un ml. de agua destilada más thiomerosal de 1:10.000.

El antígeno de Montenegro es inyectado intradérmicamente y la induración es medida a las 72 horas. Una reacción positiva se define como una induración mayor de 5 mm. Una prueba de Montenegro positiva indica exposición previa a antígenos de leishmania, con evidencia de reacción inmune por parte del huésped (Kubba, 1989). Existen dos problemas en relación con esta prueba el primero es si el vehículo de la leishmanina crea por sí mismo la induración, vale decir, si el thiomerosol causa por se inducción de inmunidad celular y el segundo problema es si la prueba produce fenómeno de amplificación (respuesta más enérgica posterior a cada nueva aplicación del antígeno), tras aplicaciones sucesivas. Con el fin de resolver estos interrogantes se adelantó este trabajo.

Materiales y métodos

Se utilizó la leishmanina fabricada por el INS - C ya especificada. También se preparó una fórmula de thiomerosal en agua destilada 1:10.000 (vehículo del antígeno de Montenegro del INS - C) para aplicar al grupo control.

El estudio se hizo en 33 voluntarios sanos, sin antecedente inmunológico por leishmania, residentes en Bogotá, de los cuales 19 recibieron leishmanina y 14 el vehículo. Se inyectó 0.1 ml. del preparado en el 1/3 medio de la superficie flexora del antebrazo no dominante en tres ocasiones con intervalos de 28 días. Se practicaron lecturas del tamaño de la induración a las 24, 48, 72 y 96 horas, empleando para ello la técnica del bolígrafo y la regla (OMS, 1990).

Adicionalmente, y para determinar sensibilidad de la prueba, a 31 pacientes con leishmaniasis cutánea comprobada, para-

sitológicamente y evolución de 4 a 16 semanas, se les aplicó antígeno del mismo lote. La prueba se leyó a las 72 horas.

Resultados

De los 19 individuos que recibieron el antígeno de Montenegro, 11 tuvieron una reacción de 0 mm. en tres ocasiones. Cuatro individuos tuvieron una induración de 1 mm. y tres individuos tuvieron entre 2.5 y 3 mm. de reacción después de la primera inoculación. Un individuo tuvo una induración de 3.5 mm. después de la segunda inoculación, pero ninguna reacción después de la tercera inoculación.

De los 14 individuos del grupo control, que recibieron el vehículo, doce mostraron una reacción de 0 mm. después de cada una de las inoculaciones. Dos individuos mostraron induraciones de 1 y 2.5 mm. respectivamente después de la segunda inyección.

Los valores promedio para los dos grupos están mostrados en la Tabla No. 1

Preparado	Induración en mm		
	Lectura No. 1	Lectura No. 2	Lectura No. 3
INS Antígeno (19 vol.)			
Media (SD)	.25 (0.65)	0.47 (1.1)	0.18 (0.39)
Media + 3 SD	2.2	3.8	1.4
Vehículo (14 vol.)		0.33 (0.67)	0 (0)
Media (SD)	0 (0)	0.33 (0.67)	0 (0)
Media + 3 SD	0	2.3	0

En los 31 enfermos el resultado de la intradermo reacción fue de 8.5 ± 2.2 mm. (rango: 4 a 14 mm.). Es de anotar que el menor valor correspondió a un paciente con cuatro semanas de evolución de las lesiones clínicas y quien había estado en área endémica hasta 7 semanas antes del momento de la aplicación de la prueba. No hubo correlación entre la edad de la lesión y el tamaño de la induración, así como tampoco con la severidad del cuadro clínico.

Discusión

La validez de la leishmanina como ayuda diagnóstica en leishmaniasis cutánea activa depende de su sensibilidad y especificidad para detectar sólo a aquellos individuos enfermos y solamente a ellos. Debe además descartarse la posibilidad de reacciones amplificadas como consecuencia de aplicaciones sucesivas, así como la eventual respuesta a los componentes del vehículo.

Los resultados del presente estudio indican que la leishmanina muestra diverso grado de positividad en enfermos comprobados parasitológicamente. Si bien las respuestas son bajas, en todos - salvo en un caso - estuvieron por encima de 5 mm., límite inferior para considerarla positiva en estudios epidemiológicos (Restrepo, 1989). No se evidenció correlación entre el

tamaño de la respuesta y la edad de la lesión, ni tampoco entre la respuesta y la presentación o severidad clínica.

En individuos sanos sin experiencia inmunológica contra leishmaniasis, ni la aplicación inicial ni las aplicaciones repetidas mensualmente del antígeno de Montenegro, resultaron en induraciones mayores de 4 mm. Del mismo modo, las aplicaciones iniciales y sucesivas del vehículo con thiomerosal tampoco resultaron en induraciones mayores de 2 mm. Esto nos lleva a considerar que el antígeno de Montenegro del INS-C puede ser usado como inoculación única o repetida para documentar reacciones de hipersensibilidad retardada a antígenos de leishmania.

Sugerimos que cuando se use otro antígeno, diferente al empleado por nosotros, se haga previamente una evaluación de las induraciones inducidas por el antígeno y por el vehículo en individuos normales; estas pruebas preliminares evitarán el problema de una estandarización arbitraria y, por consiguiente, de reacciones positivas demasiado altas o demasiado bajas, con los problemas de resultados falsamente positivos o negativos. Adicionalmente este estudio preliminar puede prevenir el uso de un antígeno de Montenegro que resulte sensibilizante per se.

AISLAMIENTO DE CEPAS

Marco teórico

Las especies de leishmania se pueden caracterizar por sus propiedades biológicas y bioquímicas, mediante diferentes métodos tales como, la radiorrespirometría (Decker Jackson, 1977), patrones de crecimiento de los parásitos in vivo o in vitro (Lainson, 1972. Kirwin, 1981), endonucleasa de restricción (Jackson, 1984), densidad de flotación de DNA del núcleo y cinetoplasto (Chance, 1974), y recientemente por métodos más modernos, fáciles y accesibles como la movilidad electroforética de isoenzimas (Gardener, 1974. Miles, 1979. Kreutzer, 1987), y el uso de anticuerpos monoclonales (McMahon - Pratt, 1981, 1982. Williams, 1986).

Durante el período de 1983 - 1988, Corredor y Cols, determinaron la etiología de la leishmaniasis en Colombia y mapearon la distribución geográfica del parásito, encontrando como sitios más afectados los departamentos de Antioquia, Boyacá, Caldas, Chocó, Cundinamarca, Guaviare, Meta, Norte de Santander, Santander y Tolima (Corredor, 1990). Esta distribución concuerda con datos suministrados posteriormente por el Ministerio de Salud (MINSALUD, 1990) y por estudios realizados en diferentes brigadas del Ejército Nacional acantonadas a lo largo de nuestra geografía (Soto, 1993).

La caracterización específica de cada aislado ofrece la posibilidad de conocer las especies circulantes en cada región geográfica, lo que permite al epidemiólogo planear estrategias particulares para control y prevención. Así mismo, da al clínico información pertinente para decidir sobre necesidades, esquemas terapéuticos y tiempo de seguimiento individual para sus pacientes.

La caracterización a través de electroforesis de isoenzimas propias del parásito y su comparación ofrece un método confiable de identificación, pero consume tiempo y requiere de equipo y personal con alto grado de capacitación. El uso de

los anticuerpos monoclonales especie - específicos facilita el trabajo, además hay una buena correlación con los patrones isoenzimáticos. En el presente estudio empleamos los dos métodos para identificar los aislados de un grupo de pacientes pertenecientes a las Fuerzas Militares.

Materiales y método

Cincuenta miembros de las Fuerzas Militares de Colombia con leishmaniasis cutánea fueron sometidos a aislamiento y cultivo en medio de NNN modificado y en Schneider enriquecido con FBS a temperatura de 25°C, de acuerdo con metodología reportada previamente (Duque, 1993).

Por el método de los electroforesis de isoenzimas, las enzimas utilizadas para la identificación de las especies de acuerdo con los patrones internacionales fueron: Glucosa Fosfato Isomerasa (GPI), Fosfoglutamasa (PGM) y Glucosa 6 - Fosfato dehidrogenasa (6GPDH). Estas, confrontadas con las diferentes especies de leishmania, presentan movilidad electroforética específica de especie, lo cual permite su identificación. Las cepas utilizadas como referencia fueron las recomendadas por la OMS, como se ilustra en la Tabla No. 2.

Leishmania especie	Isoenzimas código	Anticuerpo monoclonales
L. braziliensis	MHOM/CO/86/CL 250	B16
L. guyanensis	MHOM/CO/90/CL 664	B19
L. panamensis	MHOM/CO/87/CL 412	B4
L. amazonensis	MHOM/CO/87/CL 447	A13
L. mexicana	MHOM/CO/93/CL 802	M7
L. chagasi	MHOM/CO/86/CL 287	D2

Los anticuerpos monoclonales son inmunoglobulinas homogéneas secretadas por clones celulares derivados de una célula plasmática; tienen su utilidad tanto para la identificación de las especies, como para la investigación de la virulencia y patogenicidad del parásito. Son detectados por anti - inmunoglobulinas marcadas con fluoresceína. Son específicos y no presentan reacción cruzada con tripanosomas o con las diferentes especies entre sí. Los anticuerpos utilizados fueron donados por la OMS utilizando como cepas de referencia las ilustradas en la tabla No. 2. Por este método se reconocieron tanto subgénero como especie de Leishmania.

Resultados

Para lograr los cincuenta aislamientos objetivo de este trabajo, fue necesario cultivar a 89 pacientes. Estos cincuenta aislados corresponden a *L. panamensis*, 40 casos (80%), *L. braziliensis*, 8 casos (16%) y *L. amazonensis*, 2 casos (4%) (Tabla No. 3).

La figura 1 muestra la distribución geográfica de los aislados lo que representa la localización de las diferentes Unidades Militares de donde fueron remitidos los pacientes, siendo notoria la concentración de casos en el departamento de Antioquia, reflejo simplemente de una mayor facilidad de acceso a nuestro Servicio.

Tabla No. 3. Caracterización de cepas de leishmania por las isoenzimas GPI. PMG. 6PGDH.

Leishmania especie	Código - Cepas aisladas
L. panamensis 80%	MHOM/CO/93/CL 745
	MHOM/CO/93/CL 746
	MHOM/CO/93/CL 747
	MHOM/CO/93/CL 748
	MHOM/CO/93/CL 749
	MHOM/CO/93/CL 750
	MHOM/CO/93/CL 751
	MHOM/CO/93/CL 752
	MHOM/CO/93/CL 753
	MHOM/CO/93/CL 755
	MHOM/CO/93/CL 757
	MHOM/CO/93/CL 763
	MHOM/CO/93/CL 773
	MHOM/CO/93/CL 774
	MHOM/CO/93/CL 775
	MHOM/CO/93/CL 776
	MHOM/CO/93/CL 777
	MHOM/CO/93/CL 778
	MHOM/CO/93/CL 780
	MHOM/CO/93/CL 783
	MHOM/CO/93/CL 800
	MHOM/CO/93/CL 805
	MHOM/CO/93/CL 835
	MHOM/CO/93/CL 836
	MHOM/CO/93/CL 837
	MHOM/CO/93/CL 838
	MHOM/CO/93/CL 839
	MHOM/CO/93/CL 840
	MHOM/CO/93/CL 841
	MHOM/CO/93/CL 842
	MHOM/CO/93/CL 843
	MHOM/CO/93/CL 844
	MHOM/CO/93/CIDEIM 1
MHOM/CO/93/CIDEIM 2	
MHOM/CO/93/CIDEIM 3	
MHOM/CO/93/CIDEIM 4	
MHOM/CO/93/CIDEIM 7	
MHOM/CO/93/CIDEIM 8	
MHOM/CO/93/CIDEIM 9	
MHOM/CO/93/CIDEIM 10	
L. braziliensis 16%	MHOM/CO/93/CL 754
	MHOM/CO/93/CL 756
	MHOM/CO/93/CL 768
	MHOM/CO/93/CL 762
	MHOM/CO/93/CL 769
	MHOM/CO/93/CL 762
L. amazonensis 4%	MHOM/CO/93/CL 781
	MHOM/CO/93/CL 782

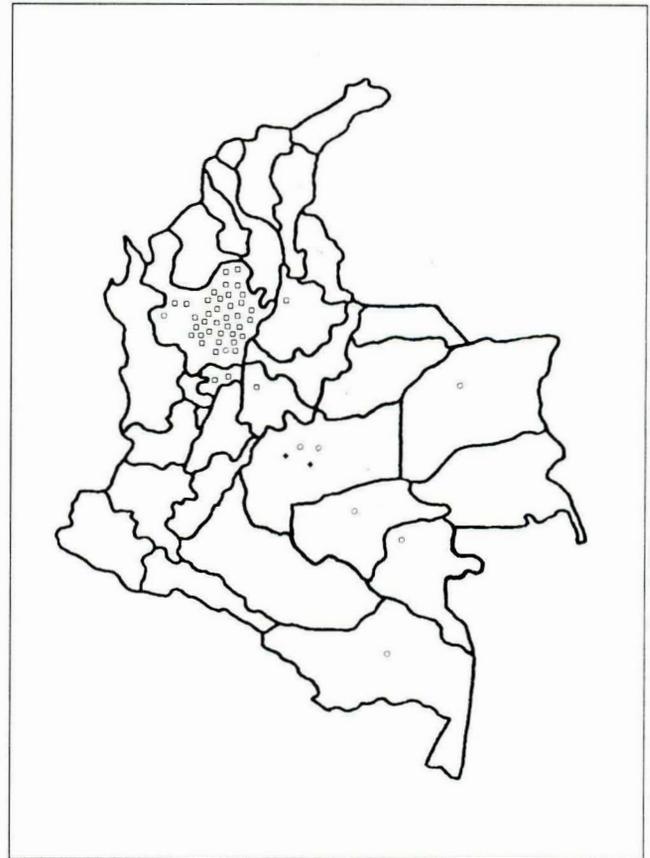


Fig. No. 1. Distribución de las cepas de leishmania aisladas en Colombia.

personal altamente especializado y al menos 15 a 20 cc. de cultivo que contenga 10⁶ promastigotes / ml.

Con los anticuerpos monoclonales se logra identificar la especie sin que se presenten reacciones cruzadas; los requerimientos de material, equipo y personal son menores y la reproducibilidad del método es evidente. Es cierto que la producción de los monoclonales es compleja y requiere una alta tecnología, pero una vez se supera esto - a través de su distribución por la OMS - la aplicación de la técnica es accesible. Puede entonces pensarse en emplear la técnica de los monoclonales en forma rutinaria y dejar la identificación por isoenzimas para casos especiales. Este estudio, con 50 pacientes, corrobora los hallazgos de series más numerosas publicadas recientemente en nuestro país (Corredor, 1990).

EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA PAROMOMICINA TOPICA EN EL TRATAMIENTO DE LA LEISHMANIASIS CUTANEA

Marco teórico

Por más de 50 años se han usado los derivados del antimonio para el tratamiento de la leishmaniasis, pero empleando dosis y esquemas muy variables. En Colombia el tratamiento para la forma cutánea se hace actualmente con Glucantime a dosis de 20mg/kg/ día por 20 días en una sola dosis diaria, con lo cual se obtiene 91% de efectividad (Soto, 1993a). Sin embargo,

Inicialmente todos los aislados fueron caracterizados por electroforesis de isoenzimas para, posteriormente, someterlos a la técnica de identificación con monoclonales. Así, los monoclonales B12 y B4 reaccionaron con las cepas de L (V) panamensis, caracterizando su género (Viannia) y especie (panamensis). Estas cepas no reaccionaron con monoclonales B16, B19, D2, M7 que caracterizan las leishmanias braziliensis, guyanensis, donovani y amazonensis respectivamente.

Discusión

La caracterización de aislados de Leishmania sp. tiene importantes connotaciones desde el punto de vista diagnóstico, terapéutico, pronóstico y epidemiológico, más aún en nuestro país en donde circulan especies con reconocida capacidad mucotrópica. La identificación mediante la electroforesis de isoenzimas es un método ampliamente utilizado (Kretzer, 1980, 1983), e inclusive en nuestro país el estudio con mayor número de casos, empleó este método para la identificación (Corredor, 1990). Sin embargo, se necesitan laboratorios con equipo y

éste resulta un tratamiento prolongado, de difícil administración y consecución, incómodo, costoso y en cierto grado, de efectos colaterales de alguna consideración (Soto, 1993b); además cada día se observa con mayor frecuencia resistencia a este tratamiento que, en países como Kenya supera el 40% (Chunge, 1990).

Son muchos los estudios realizados para determinar la efectividad de otras alternativas terapéuticas tales como: pentamida, anfotericina B, trimetropin - sulfa, formicin b, allopurinol, cicloguanil, rifampicina, dehidroemetina, clorpromazina, dapsona, Imidazoles, 8 aminoquinolinas, Interferon gamma y otros (Saenz, 1990. Neal, 1987. Bryceson, 1987. Berman, 1985. Soto, 1984). De éstos, los mejores resultados se han obtenido con Pentamidina por lo que se utiliza en los casos de resistencia o intolerancia al Glucantime; sin embargo, el tratamiento es mucho más costoso y en algunas ocasiones presenta efectos colaterales más severos que el Glucantime (Soto, 1993a, 1994a).

La paromomicina se proyecta como una alternativa útil (Neal, 1968. El On, 1992). Esta es un aminoglucósido análogo a la neomicina; fue aislada en 1959 por primera vez del *Streptomyces krystomyceticus*. Además de su actividad antibacteriana es el único aminoglucósido activo contra protozoos y se ha demostrado su actividad en leishmaniasis visceral por vía parenteral y leishmaniasis cutánea por vía tópica, en Israel. En el HMC se utilizó por vía parenteral con una tasa de curación apenas del 53% y mínimos efectos colaterales (Soto, 1994b).

Materiales y métodos

Cuarenta pacientes usuarios del HMC, con diagnóstico de leishmaniasis cutánea comprobada parasitológicamente por frotis directo, biopsia, cultivo y anticuerpos monoclonales, fueron divididos en dos grupos. Se excluyeron pacientes con

compromiso mucoso, enfermedad concomitante y antecedente de tratamiento en los 6 meses previos. Los pacientes firmaron consentimiento voluntario para participar en el estudio.

Los pacientes fueron tratados con una combinación de Glucantime parenteral 20mg/kg/ día y un ungüento que contenía paromomicina al 15% y Cloruro de Metil Bencetonio al 5% en dos topificaciones diarias durante 10 días; la primera cohorte recibió por 3 días. Las lesiones de cada paciente fueron medidas en sus dos diámetros mayores, anotando su tamaño en milímetros cuadrados antes del tratamiento, al finalizar, a los 1.5 meses, 3 meses, 6 meses y 12 meses. Si en alguna visita se encontraba aumento igual o superior al 50% del área de la lesión, se consideraba recaída, rescatando al paciente con tratamiento convencional de Glucantime. Los resultados obtenidos fueron sometidos a comparación histórica con un grupo que había sido tratado con Glucantime a 20/mg./kg./día por 20 días en un estudio previo (Tabla No. 4) (Soto, 1993a).

Resultados

Los resultados de la cohorte I aparecen en la Tabla No. 5 que muestra que hubo mejoría en 18 de los 20 pacientes (90%). En la segunda cohorte (Tabla No. 6) se obtuvo mejoría en 12 de 20 pacientes (60%). En el grupo de Glucantime 20mg/kg/día por 20 días (comparación histórica) hubo curación en el 91% (Tabla No. 4). Los efectos colaterales relatados fueron irritación local, manifiesta como sensación de ardor en el 30% de los pacientes y formación de vesículas en el 15% de los pacientes.

De los 40 pacientes de nuestro estudio, 30 lograron ser cultivados, demostrándose *Leishmania panamensis* en 26 y *Leishmania braziliensis* en 4.

Tabla No. 4. Resultados del tratamiento de la leishmaniasis cutánea con antimonato de meglumine.

Paciente No. / Lesión No.	Área de la lesión (mm ²)					Resultado Final
	Antes de tratamiento	Después de Tratamiento	1,5 meses	3 meses	6-12 meses	
1	1.050	504	0	0	0	Cura
5	600	48	0	NA	0	Cura
9	600	360	NA	NA	0	Cura*
13	900	63	0	NA	0	Cura
17	780	62	0	0	0	Cura
21	440	0	1.392	-	-	Recaída
25	3.000	0	0	NA	0	Cura
29	336	87	0	NA	0	Cura
33	16	0	NA	NA	0	Cura
37	375	0	0	0	0	Cura
41	580	302	12	NA	0	Cura
45	468	0	0	NA	0	Cura
49	1.050	158	0	84	-	Recaída
55	104	394	25	0	0	Cura
61	128	0	0	NA	0	Cura
64	1.050	599	0	NA	0	Cura
74	400	224	100	0	0	Cura
75	169	100	0	NA	0	Cura
78/1	1.200	996	0	NA	0	Cura
78/2	575	403	0	NA	0	Cura
78/3	340	150	0	NA	0	Cura
80	110	50	0	NA	0	Cura
84	1.225	1.054	NA	0	0	Cura
86	144	144	0	0	0	Cura
92/1	850	0	0	NA	0	Cura
92/2	675	0	0	NA	0	Cura

NA = No asistió a la visita de seguimiento.

* = El paciente sólo recibió 14 inyecciones por presentar efectos tóxicos, sin embargo se curó.

Tabla No. 5. Resultados parciales del tratamiento de la leishmaniasis cutánea con Antimoniato de Meglumine por 7 días más Paromomicina tópica al 15% por 10 días.

Paciente No. / Lesión No.	Tipo de Lesión	Area de la lesión (mm ³)						Resultado Final
		Antes de tratamiento	Después de tratamiento	1.5 meses	3 meses	6 meses	12 meses	
1/1	ULC	132	45	0	NA	NA	0	Cura
1/2	ULC	30	16	0	NA	NA	0	Cura
1/3	PLA	1.089	400	0	NA	NA	0	Cura
2	ULC	320	204	308	-	-	-	Excluido
3/1	ULC	80	70	NA	0	NA	0	Cura
3/2	ULC	288	168	NA	0	NA	0	Cura
4/1	PLA-ULC	1.200	550	NA	0	NA	0	Cura
4/2	ULC	144	0	NA	0	NA	0	Cura
5	PLA	500	184	0	25	-	-	Recaída
6	ULC	660	660	660	0	NA	0	Cura
7/1	ULC	361	225	0	0	NA	0	Cura
7/2	ULC	98	119	0	0	NA	0	Cura
7/3	PAP	25	1	0	0	NA	0	Cura
8	ULC	56	0	0	0	NA	0	Cura
9	ULC	49	NA	0	0	NA	0	Cura
10	ULC	104	NA	0	0	NA	0	Cura
11/1	PLA-ULC	357	110	0	0	0	0	Cura
11/2	ULC	450	187	0	0	0	0	Cura
11/3	PLA-ULC	64	46	0	0	0	0	Cura
12/1	PLA-ULC	304	126	NA	0	NA	0	Cura
12/2	PLA-ULC	180	72	NA	0	NA	0	Cura
12/3	PLA-ULC	210	70	NA	0	NA	0	Cura
12/4	PLA-ULC	48	20	NA	0	NA	0	Cura
13/1	PLA	2.000	2.000	0	NA	NA	0	Cura
13/2	PLA-ULC	650	408	0	NA	NA	0	Cura
13/3	PLA-ULC	238	121	0	NA	NA	0	Cura
13/4	PLA	240	121	0	NA	NA	0	Cura
14/1	PLA-ULC	80	12	0	NA	NA	0	Cura
14/2	PLA	748	110	0	NA	NA	0	Cura
14/3	PLA	589	120	0	NA	NA	0	Cura
14/4	PLA	126	16	0	NA	NA	0	Cura
14/5	PLA	192	42	0	NA	NA	0	Cura
15	PLA-ULC	713	90	0	992	-	-	Recaída
16	PLA-ULC	676	324	0	NA	NA	0	Cura
17/1	PLA-ULC	546	240	0	NA	NA	0	Cura
17/2	PLA-ULC	144	32	0	NA	NA	0	Cura
17/3	PAP	36	195	0	NA	NA	0	Cura
17/4	PAP	25	0	0	NA	NA	0	Cura
17/5	PAP	25	0	0	NA	NA	0	Cura
18	PAP-ULC	56	9	0	NA	NA	0	Cura
19	ULC	200	162	0	NA	NA	0	Cura
20/1	ULC	364	276	0	NA	NA	0	Cura
20/2	ULC	56	0	0	NA	NA	0	Cura
21	ULC	228	0	0	NA	NA	0	Cura

NA = No Asistió PAP = Pápula PLA = Placa ULC = Ulcera

Discusión

En nuestro Servicio el tratamiento de la leishmaniasis cutánea se hace con Antimoniato de Meglumine en esquema de 20mg/kg/día por 20 días para la forma cutánea según recomendaciones del CDC de los Estados Unidos (Herwaldt, 1992). Este tratamiento resulta prolongado, costoso, de difícil aplicación (parenteral por 20 días) y con la posibilidad de algunos efectos secundarios de consideración. Las razones de someter al paciente a este tratamiento son en primer lugar: acortar el tiempo de la enfermedad y en segundo término, prevenir la posibilidad de compromiso mucoso tardío, eventualidad que ocurre en el 0.3% de los enfermos según el foro de investigaciones reunido en Medellín, en mayo de 1993 (datos en mimeógrafo).

La efectividad lograda en la cohorte I resulta equiparable con el Grupo control (90% vs. 91.3% respectivamente). La cohorte II obtiene el 40% de efectividad que, comparado con el Grupo control, muestra una diferencia significativa (40% vs. 91.3%, $\chi^2=8.9$ $p=0.003$).

La diferencia de efectividad entre las dos cohortes (90% vs. 40%) muestra que el tratamiento tópico no es suficientemente curativo por sí solo. Sin embargo, se demuestra que la Paromomicina por vía tópica es un agente activo como tratamiento coadyudante contra la leishmaniasis cutánea en Colombia, mientras que cuando se emplea por vía parenteral, la tasa es de curación de sólo 53% (Soto, 1994b). Esta diferencia puede radicar en distintas concentraciones, plasmáticas y tisulares, de paromomicina con una pobre distribución desde el torrente sanguíneo hacia la piel cuando se administra por vía parenteral.

Por su parte, los 7 días de Glucantime parenteral tampoco son suficientemente curativos por sí solos, pues en un estudio previo de 43 pacientes que recibieron Glucantime a dosis de 20mg/kg/día por 10 días mostraron una tasa de curación del 0% (J. Soto, Servicio de Dermatología HMC, datos en archivo).

El 90% de efectividad conseguido en el Grupo I es pues atribuible, al efecto sinérgico de dos agentes con actividad comprobada contra la leishmania, pero que utilizados independientemente, no muestran efectividad considerable. El esquema de 10 días de paromomicina al 15%, más Cloruro de Metil Benzetonio al 5% en parafina blanca blanda más 7 días

Tabla No. 6. Resultados parciales del tratamiento de la leishmaniasis cutánea con Antimonio de Meglumine por 3 días o más Paromicina tópica al 15% por 10 días.

Paciente No. / Lesión No.	Tipo de Lesión	Area de la lesión (mm ²)					Resultado Final
		Antes de tratamiento	Después de tratamiento	1.5 meses	3 meses	6 meses	
1/1	ULC	2.025	1.600	396	0	0	Cura
1/2	ULC	255	150	0	0	0	Cura
2/1	PLA-ULC	72	6	0	0	NA	Cura
2/2	PLA-ULC	256	60	0	0	NA	Cura
2/3	PLA-ULC	70	9	0	0	NA	Cura
2/4	PLA-ULC	168	18	0	0	NA	Cura
3/1	PLA	920	104	900	-	Recaída	Recaída
3/2	PLA	304	35	35	-	Recaída	Recaída
3/3	PLA	580	63	165	-	Recaída	Recaída
3/4	ULC	144	20	108	-	Recaída	Recaída
4/1	PLA-ULC	100	63	0	0	0	Cura
4/2	ULC	9	9	9	0	0	Cura
4/3	PLA-ULC	210	28	0	0	0	Cura
4/4	PLA-ULC	551	60	0	0	0	Cura
4/5	ULC	16	0	0	0	0	Cura
5/1	PLA	368	156	0	0	0	Cura
5/2	PLA	120	60	0	NA	0	Cura
6/1	ULC	80	80	NA	NA	Recaída	Recaída
6/2	PLA	80	49	NA	NA	Recaída	Recaída
6/3	PLA	70	30	NA	NA	Recaída	Recaída
6/4	PLA	16	0	NA	NA	Recaída	Recaída
7	PLA	425	180	NA	850	Recaída	Recaída
8	PLA	912	456	456	NA	Recaída	Recaída
9	PAP	144	48	48	NA	0	Cura
10	PAP	180	9	9	1.161	-	Recaída
11	PLA	2.145	630	630	0	Recaída	Recaída
12	PLA	1.617	730	760	NA	225	Recaída
13/1	PLA	1.716	616	0	NA	0	Cura
13/2	PLA	1.000	513	0	NA	0	Cura
13/3	PLA	1.974	1.140	0	NA	0	Cura
14	PLA	360	294	NA	NA	0	Cura
15	ULC	2.209	2.500	2.912	-	Recaída	Recaída
16	ULC	1.750	1.620	1.540	-	Recaída	Recaída
17/1	ULC	88	88	0	0	Recaída	Recaída
17/2	PLA	121	9	0	0	Recaída	Recaída
18/1	PLA	121	88	460	-	Recaída	Recaída
18/2	PLA	1.110	1.080	1.024	-	Recaída	Recaída
19	PLA	368	Nueva 252	576	-	Recaída	Recaída
20	PLA	132	0	220	NA	262	Recaída
				0		0	Cura

NA = No Asistió PAP = Pápula PLA = Placa ULC = Ulcera

de Glucantime parenteral a 20mg/kg/día, se proyecta como una alternativa muy útil a considerar en el tratamiento de la leishmaniasis cutánea en Colombia, dado que se obtuvo un índice de curación semejante a tratamientos convencionalmente reconocidos, brindando las ventajas buscadas de menores efectos colaterales, menor tiempo de tratamiento, más fácil administración y menor costo.

Estos alentadores resultados nos impulsan a realizar estudios de una serie mayor de pacientes para que demostrada plenamente la eficacia del esquema propuesto por nosotros, éste se establezca como tratamiento convencional de fácil administración para la forma cutánea, reservando el Glucantime con su esquema de 28 días para el tratamiento de la leishmaniasis mucosa y visceral.

PREVENCION EN LEISHMANIASIS

Los esfuerzos orientados al control de las enfermedades transmitidas por insectos han sido pocos gratos; sin embargo la lucha continúa, ya que los casos de paludismo, dengue y leishmaniasis siguen en aumento en nuestros países en vías de desarrollo, convirtiéndose en un importante problema de salud.

En Colombia uno de los últimos reportes epidemiológicos de 1986 mostró como nuevos casos de paludismo la cifra de 65000, dengue 34000 y leishmaniasis 5600 (Ministerio de Salud, 1986), siendo la población militar afectada 20 a 65 veces más que la civil, debido a su desplazamiento por áreas altamente endémicas y sin la protección adecuada. Datos obtenidos en 1992, muestran en la población militar 6500 casos de paludismo, 2450 de leishmaniasis y 3000 de dengue (DISAN EJC, 1990).

Uno de los primeros métodos usados en la prevención de estas enfermedades fue el rociado con insecticida que inicialmente arrojó resultados favorables y alentadores, pero luego se desarrolló resistencia de los vectores al insecticida (Gratz, 1987), contaminación del suelo, agua y productos agrícolas, afectando aún más la salud del hombre y causando graves disturbios ecológicos (Valderrama, 1987). Por este motivo los esfuerzos de prevención se han orientado hacia el control individual, con sustancias repelentes que en algunos casos han resultado muy costosas y de difícil adquisición en nuestros países. Basados en estos dos aspectos de la protección individual y bajo costo, hemos realizado los siguientes estudios teniendo como grupo de trabajo y muestra representativa de nuestro país, el personal militar que patrulla las áreas de orden público altamente endémicas.

Prevención de las enfermedades transmitidas por mosquito, mediante el empleo de jabón repelente, con Permethrin al 0.5% y Dietiltoluamida al 20%.

Se intentó establecer la capacidad protectora de un jabón repelente con una formulación de 20% DEET y 0.5% de Permethrin, producto no tóxico (OMS, 1984), de fácil aplicación, alta efectividad (Frances, 1987. Self, 1987) y bajo costo, con el propósito de extender su uso hacia la población civil según la respuesta obtenida.

Materiales y métodos

Durante los meses de mayo a septiembre de 1992, en la zona rural de Campo Capote (Santander), con características de selva húmeda tropical, se tomó una población de sesenta soldados que se dividió en dos grupos:

Grupo A: 34 hombre jóvenes, cuyo promedio de edad era de 21 años, a quienes se les suministró el jabón repelente con DEET 20% más permethrin 0.5%.

Grupo B: 26 hombre jóvenes, cuyo promedio de edad era de 20 años, a quienes se les suministró un jabón placebo. De ellas 19 terminaron el estudio.

Previo anamnesis y examen clínico, descartando cualquier patología, los pacientes se aplicaban el jabón cada 8 horas dejando secar la espuma en su cuerpo y así ingresaban al área endémica, en la cual permanecieron durante un período de 30 días, después de los cuales fueron observados durante dos meses, con el fin de detectar tempranamente los casos de leishmaniasis, dengue o paludismo que surgieran.

Resultados

La incidencia de enfermedades en los dos grupos, al cabo de los dos meses de seguimiento, es como aparece a continuación:

Enfermedades	Grupo A 34 pacientes	Grupo B 19 pacientes	P
Paludismo	0	3	> 0.03
Dengue	1	7	< 0.001
Leishmaniasis	0	1	0.3

Se observaron pocos efectos secundarios, entre ellos, leve irritación local y sensación de untuosidad en la piel.

Discusión

Considerando que previo al estudio, la población militar que se desplazaba por la misma área geográfica, mostraba una prevalencia de: Paludismo de 250/1000, Dengue de 180/1000 y Leishmaniasis de 148/1000, es evidente que las regiones por donde se desplazaron los sujetos eran lugares con una alta posibilidad de infección.

El empleo de jabón con DEET 20% y permethrin 0.5% ofrece una buena protección contra enfermedades producidas por mosquitos, pero con la limitación de tener que aplicarlo varias veces durante el día.

En conclusión es un producto efectivo, no tóxico, de fácil aplicación, estable en condiciones extremas de actividad física y climatológicas y con bajo costo.

Primera fase del estudio de impregnación de uniformes con Permethrin

Este estudio busca determinar la eficacia del Permethrin (Peripel) impregnado en los uniformes, para prevenir o disminuir las picaduras de insectos, producto usado por personal militar de otros países con resultados satisfactorios (Gupta, 1989. Pirom, 1992). Adicionalmente se intenta establecer su seguridad y tolerancia.

Materiales y métodos

Durante un período de 5 semanas se observó a 30 militares del área de Tolemaida, zona rural con una temperatura entre 20 y 29°C, sometidos a un grado de actividad física de normal a moderado.

Se realizó la impregnación de uniformes sumergiéndolos durante 2 minutos en una mezcla de 5 lts. de agua y un sachet de 15 ml. de Peripel 55.

Durante el tiempo de estudio los pacientes hicieron sus actividades normales y lavaron el uniforme al menos una vez por semana.

Resultados

Los reportes sobre picaduras fueron en el rango de 1 a 5 nuevas picaduras por día en 80% de los sujetos y de 6 a 15 en el 20% restante.

En resumen se reportaron picaduras en 75 de los 405 días/hombre (27 hombres por 15 días cada uno), lo que corresponde a un 18.5%.

La calificación subjetiva del producto fue: muy buena a buena en el 90% de los casos y apenas en un 10% fue regular o mala.

Hubo sólo cuatro reportes de efectos secundarios leves, dos de ardor leve y resequedad de la piel y dos con lesiones eritematosas en cara y cuello, sitios donde no había contacto con el uniforme (probablemente debido a otros factores).

Discusión

Concluimos que el empleo de uniformes impregnados con peripel tuvo un efecto útil en la disminución de las picaduras de insectos, con la consiguiente disminución del riesgo de adquirir enfermedades transmitidas por estos vectores. Ade-

más, resultó ser un producto seguro con pocos efectos secundarios.

Prevención de enfermedades transmitidas por picaduras de insectos mediante la impregnación de uniformes con Permethrin, fase II.

Materiales y métodos

Con el objetivo de evaluar la eficacia del permethrin como producto repelente de insectos al ser impregnado en las ropas, en una población mayor en el área endémica para leishmaniasis en Cimitarra, zona de selva húmeda tropical, se tomaron dos grupos de 143 soldados del Ejército Nacional cada uno.

El Grupo A recibió manejo de sus ropas impregnadas con permethrin como se realizó en la fase I, en tanto que el Grupo B, fue manejado con placebo. Permanecieron dentro del área endémica seis semanas y fueron observados durante 8 a 12 semanas más, buscando la incidencia de leishmaniasis.

Resultados

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Grupo A Permethrin: 1 caso de leishmaniasis 0.7%
Grupo B Placebo: 17 casos de leishmaniasis 11.88%

Conclusión

Se observó una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.002$) en la incidencia de leishmaniasis en el grupo que usó el permethrin, producto de fácil aplicación, no tóxico, con pocos efectos secundarios tal como observamos en la fase I del estudio antes mencionado.

CONCLUSIONES

Al contrario de lo que cabría esperar, las leishmaniasis continúan incrementándose en el mundo. Colombia, como país eminentemente tropical, no escapa a este fenómeno y muestra de ello es el notable incremento de casos nuevos en los últimos diez años. Y si bien hay importantes adelantos en el conocimiento de la biología, la genética y la inmunología de la enfermedad, éstos aún no se reflejan estrictamente en los aspectos clínicos, terapéuticos y profilácticos. Sin embargo, se persiste en la búsqueda de mejores métodos diagnósticos, que sean más fáciles de aplicar, más rápidos, más sensibles y más específicos y, sobre todo, que puedan ser fácilmente aplicables en las áreas endémicas que son, por lo general, regiones apartadas de la civilización.

En este mismo orden de ideas, son importantes los esfuerzos que se hacen para conocer las diferentes especies de parásitos y relacionarlas con los nichos ecológicos y regiones geográficas precisas; de ahí que sea tan importante insistir en la tipificación y especiación de todos los aislados. En este sentido nuestro

país ha hecho un gran esfuerzo y varias instituciones han hecho valiosos aportes.

Es urgente encontrar nuevas alternativas terapéuticas toda vez que el medicamento actualmente disponible está perdiendo efectividad y tiene algunas limitaciones en su aplicación. Debe entonces buscarse un medicamento de fácil administración, de efecto seguro, con pocos efectos adversos y de bajo costo. Así, deben buscarse fármacos que sean aplicables masivamente y que tengan una efectividad superior al 90%.

Pero lo ideal sería que más que tener mejores medicamentos, se superaran las medidas de prevención. Hasta ahora los efectos han arrojado resultados parciales y hay limitaciones en cuanto a la aplicación masiva. El ideal sería encontrar soluciones de aplicación individual pero de impacto colectivo; en este sentido la impregnación de ropas con una sustancia que actúe como insecticida y repelente y que tenga efecto persistente por varias semanas a pesar del lavado, es un buen paso adelante.

En el futuro, el Servicio se verá comprometido en proyectos que refuercen los resultados hasta aquí obtenidos y que dan nuevas luces en el desarrollo de soluciones más accesibles y con mayor impacto para el control de la leishmaniasis.

AGRADECIMIENTOS

Al grupo de parasitología del Instituto Nacional de Salud por su colaboración en los cultivos y especiación. Agradecemos al CIDEIN por la capacitación de Clara Rusynke y a la Alfred Berman Foundation, por la asesoría y revisión de protocolos.

SUMMARY

For several years, Leishmaniasis has been the focus of attention of the investigators of the Military Hospital. In concordance with these policies, we are reporting here the results of several investigations that were directed to establish: in the first place whether the repeated application of Montenegro's antigen can induce sensitization and lead to false positive reactions, a crucial point in endemic areas. Our results indicate that there is no sensitization after three injections applied at 28 day intervals. Secondly: to compare the two current methods used for typification of leishmaniasis (isoenzymes and monoclonal antibodies). Our results indicate that both methods are effective, but the monoclonal antibodies technique is easier to carry out. Thirdly: we tried to find a new alternative therapy by using two regimens of treatment: topical paromomycin for ten days and parenteral glucantime for seven or three days. We found a year later a cure rate of 90% in the first scheme and 40% in the second one. The medications were tried in groups of 20 patients each. Finally, we tested the prophylactic value of a repellent savon containing 20% DEET and 0.5% permethrin among 34 soldiers, who got better protection than the 24 control individuals. When we employed permethrin impregnation of the uniforms in 143 soldiers, only 4 acquired leishmaniasis, compared to 18 in the control group.

BIBLIOGRAFIA

- BERMAN, J. (1985). Leishmaniasis. Experimental chemotherapy of Leishmaniasis - a critical review. Elsevier Science Publishers B.V. Washington D.C. 1985.
- BRYCESON, A. (1987). The Leishmaniasis Vol II. Therapy in man. Academic Press Inc. London. 1987.
- CORREDOR, A., KREUTZER, R.D., TESH, R.B. et al. (1990) Distribution and etiology of leishmaniasis in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*; 1990. 42:206 - 14.
- CHANCE, M. L., PETERS, W., SCHORY, L. (1974). Biochemical taxonomy of leishmania. Observations on DNA. *Am Trop Med parasitol* 1974; 68: 307.
- CHULAY, J. D., MANSON-BAHI, P. E. C. (1984). Leishmaniasis in stricland GT (ed): Hunler's tropical medicine, ed 6. Philadelphia, WB Saunders Co. 1984 pp. 574 - 593. 1984
- CHUNGE, CN., et al. (1990). Treatment of visceral Leishmaniasis in Kenya by aminosidine alone or combined with sodium stibogluconate. *Tran R. Soc Trop Med Hyg*. 1990 84(2): 221-5.
- DECKER - JACKSON J. E., SCHROT, J. R., LEVIN, G. Identification of leishmaniasis spp by radiorespirometry. *J Protozool* 1977; 24: 463 - 70
- DÍSAN EJERCITO (1990) Reporte de la sección de medicina preventiva. Mineografo. Bogotá. 1990.
- DUQUE, S., PELAEZ, D. C., CORREDOR, A. A. (1993). Normas para cultivo in vitro de parásitos de la Familia Trypano somátidae. Santafé de Bogotá: Instituto Nacional de Salud. 1993: 1 - 32.
- EILON, J. et al. (1922). Topical treatment of old world cutaneous Leishmaniasis caused by leishmania major. A double blind control study. *J Am Acad Dermatol*. 1992;27:227
- FRANCES, S. (1987) Effectiveness of DEET and permethrin protectants alone and in soap formulation as skin and clothing protectants against mosquitoes in Australia. *J. Am Acad Mosq Contr ass*. 1987; 3:684
- GARDENER, J. P., CHANCE, M. L., PETERS, W. (1974). Biochemical taxonomy al leishmania. II Electrophoretic variation of malate dehydrogenase. *Am trop Med Parasitol* 1974; 68:317.
- GRATZ, N. (1987). Conkol de vectores: una perspectiva global. En: *Malaria en las Américas*. Washington D.C. OPS/OMS. Cuademo Técnico No. 5. 1987.
- GUPTAK, R.K. et al. (1989). Effects al weathering on fabrics treated with permethrin for protection against mosquitoes. *Journal of the America Mosquito Control Association*. 5 (2), 1989 176- 179.
- HERWALD, B., BERMAN, J. (1992). Recomendations for treating leishmaniasis with Sodium Stibogluconaze (Pentostam) and review of pertinent clinical studies. *Am J Trop Med an Hyg*. 1992.46(3): 296 - 306.
- JACKSON, P. R., WOHLHEIRTER, J. A., JACKSON, J. A. et al. (1984) Restnction endonucleasa analysis of leishmania kinetoplast DNA charatenzes parasites responsible for visceral and cutaneous disease. *Am J Trop Med Hyg* 1984; 33:808 - 19.
- KIRWIN, J. (1981). Colounlbian strains of leishmania from men: growth characteristics in culture media and hamsters. *Trans R Soc trop Med Hyg* 1981; 75: 619 - 22.
- KREUTZER, R. D., CHRISTENSEN, H. A. (1980) Characterization of leishmania species by isozyme electrophoresis. *Am J Trop Med Hyg* 1980; 29: 199 - 208.
- KREUTZER, R. D., SENKO, M. E., HENDRICKS, L. D., et al. (1983). Identification of leishmania species by multiple isozyme analysis. *Am J Trop Med Hyg* 1983; 32: 703
- KREUTZER, R. D., SOURATY, N., SENKO, M. E. (1987). Biochemical identities and differences amons leishmania species and subspecies. *Am J Trop Med Hyg*. 1987; 36: 490 - 7.
- KRISTEN, A., et al. Leishmaniasis skin test standarization and evaluation of safety, dose, storage, longevity of reaction and sensitization.
- KUBBA, R., and AL-GINDON, J. (1989). Leishmaniasis. *Dermatol clinics*, 7 (2): 331-351. 1989.
- LAINSON, R., SHAW, J. J. Leishmaniasis of the New World. tazonomic problems. *Med Bull* 1977; 28:44
- MCM-AHON-PRATT, D., BENETT, E., DAVID, J. R. (1982). Monoclonal antibodies taht distinguish subspecies of leishmania brazilensis. *J Immunol* 1982; 129: 926 - 7.
- MCM-AHON-PRATT, D., DAVID, J. R. (1981). Monoclonal centibodies that distinguish new world species of leishmania. *Nature*. 1981; 291:581.
- MILES, M. A., POVOA, M. M., DESOUZA, A. A., et al. (1979). Some methods for the enzymatic characterization of Latin American leishmania with particuar reference to *L. mexicana*, *amazonensis* and subspecies of leishmaniasis. *Hertigi Toans r Soc Trop Med Hyg* 1979; 74:243.
- MINSALLUD, Colombia. (1986). Boletín Epidemiológico Nacional. Bogotá. 1986.
- MINSALLUD. (1990). Casos nuevos de leishmaniasis 1985 - 1990. Mimeografo. Bogotá. 1990.
- NEAL, R.A. (1968). The effect of antibiotics of the Neomycin group on experimental cutaneous Leishmaniasis. *Ann Trop Med and Par*. 1968 62(1): 5462.
- NEAR, R. (1987). The Leishmaniasis. Experimental Chemotherapy, Vol II. Academic Press Inc. London. 1987.
- OMS. (1984). Data sheet on pesticides. No. 51. Permethrin. VBC/CD/84.51. Genneve, 1984.
- OMS (1990). Lucha contra la leishmaniasis. Ginebra, Ser Inform Tec 793. 1990.
- PIROM KAMOL - RATANAKUL, et al. (1992). The effectiveness of permethrin impregnated bed nets against malaria for migrant workers in eastern thailand. *Am J Trop Med Hyg*. n (3) 1992. pp 305 - 309
- RESTREPO, M. La reacción de Montenegro en la epidemiologia de la leishmaniasis sudamerica. *Bol of Sanit Pan*. 89: 130 - 136.
- SAENZ, R., et al. (1990). Efficacy of Ketoconazole against Leishmania brazilensis panamensis Cutaneous Leishmaniasis. *A.J.M.* 89: 147-55. 1990.
- SELF, L. (1987). The current status of community personal protection measures in the western pacific region. documento presentado en el Encuento sobre Evaluación y Ensayo de nuevos pesticidas. Ginebra. 1987.
- SOTO, J. (1984). Perspectivas en ei tratamiento de leishmaniasis tegumentaria americana. *Bol CLAD Cap Col*. 1984: 14
- SOTO, J. (1993a) Leishmaniasis Tegumentaria americana. *Med*; 3:20 - 8 1993
- SOTO, J., et al. (1993b) Evaluation of pentamidine for the treatment of coutaneous leishmaniasis in Colombia. *Clin Inf Dis*. 16: 417 - 26. 1993.
- SOTO, J., et al. (1994a) Successful treatment of colombian cutaneous Leishmaniasis with 4 injection of Pentamidine. *Am J Trop Med and Hyg*. 50 (1: 107 - 11). 1994
- SOTO, J. (1994b). Evaluation of injectable paromomicin for the treatment of cutaneous leishmaniasis in Colombia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, en prensa. 1994.
- VALDERRAMA, F. (1987). Tesis de grado ms en Epidemiologia. Universidad del Valle.
- WEIGLE, K. A., et al. (1987). Diagnosis of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in Colombia: A compilation of seven methods. *Am J Trop Med Hyg* 36 (3): 489 - 96. 1987.
- WILLIAMS, C., SACCL, J., ROLAND, A. (1986). Characterization and quantification of membrabce antigens of mew world leishmania species by using monoclonal antibodies in western blot and flow microfluouometric assays. *soc Prot Logists* 1986; 36: 490 - 7.