

## Estudio sobre la trasmisión de la leishmaniasis de América a los animales

POR EL DR. MIGUEL NORIEGA DEL AGUILA

Jefe de Trabajos Prácticos en el Curso de Bacteriología

El estudio de las lesiones y características que ofrece la leishmaniasis experimentalmente producida en los animales, es tema de actualidad no obstante los importantes trabajos de LAVERAN y otros. En el deseo de contribuir a aclarar algunos tópicos sobre la etiología, unidad, pluralidad o asociación de agentes que determinan, posiblemente, las diversas variedades clínicas, hemos emprendido algunos estudios de trasmisión, que vamos a exponer.

LAVERAN ha conseguido transmitir la infección leishmaniásica haciendo inoculaciones con productos de raspado o con cultivos en el peritoneo de cinco ratones. La infección ofrecía particular localización por los testículos. Realizando inoculaciones en estos órganos con algunas gotas de cultivo de *Leishmania trópica*, consiguió también infectar a cinco ratones que ofrecieron idénticos síntomas e iguales lesiones que los que han sufrido la inoculación intraperitoneal.

Las inoculaciones en serie también han sido fructuosas, pues, con el producto de trituración de los testículos de un ratón infectado ha conseguido originar lesiones testiculares en dos cobayos que recibieron inyecciones en dicho órgano; las lesiones se limitaron únicamente al testículo en el cual se había hecho la inoculación.

He aquí como describe las lesiones experimentalmente producidas; su transcripción textual permitirá poner en relieve las diferencias que existen entre sus resultados y los nuestros.

«Un cobayo fué inoculado el 5 i 7 de Nobre. de 1914, en el testículo derecho, con el producto de la trituración de los testículos de un ratón infectado con *Leishmania trópica*. El 30 de Nobre. practico unapunción en el testículo derecho que no parece alterado. El *frottis* hecho con la gota de serosidad turbia así obtenida, contiene gran número de Leishmanias. A partir del 5 de Dibre. el testículo derecho se *atrofia*; está más pequeño que el izquierdo i su consistencia está disminuida. El cobayo es muerto el 25 de Dibre. de 1914; pesa 520 grs. El testículo izquierdo pesa 1 gr. 500 mg.; el derecho no pesa más que 0 gr. 650 mg.; está por lo tanto *muy atrofiado*, su consistencia está *disminuida*; la coloración es *normal*; no hay congestión en los vasos. Un *frottis* del testículo derecho muestra escasas Leishmanias; no se encuentra *Leishmania* ni en el testículo izquierdo, ni en el bazo, ni en el hígado, ni en la médula de los huesos ».

*Protocolo de nuestras inoculaciones.*—El 19 de febrero de 1918 inoculamos dos cobayos en ambos testículos con el producto del raspado de una lesión leishmaniásica situada cerca del glande, proveniente de un enfermo del servicio del Dr. J. Arce (sala de San Roque del Hospital «Dos de Mayo») que también ofrecía extensas ulceraciones en las mucosas.

La técnica seguida fué ésta: abrir con la asepsia respectiva un ojal en la piel testicular, previa rasuración de la misma, sirviéndose de un vacinoestilo, raspado del chancro leishmaniásico, hasta franca hemorragia i acto continuo, sirviéndose de pipetas capilares, inoculación en plena masa glandular. Haremos notar que la úlcera era tratada, desde hacía algunos días, de idéntico modo, según tuve conocimiento. Debo recordar aquí que durante la inoculación fué auxiliado galantemente por mi compañero de labores el Dr. L. Gómez de la Torre.

Las características de los cobayos eran las siguientes: cobayo N<sup>o</sup>. 1, plomo, peso 480 gramos; cobayo N<sup>o</sup>. 2 chinchilla, peso 510 grm. Estos animales después de la inoculación fueron sometidos a observaciones periódicas cada seis u ocho días.

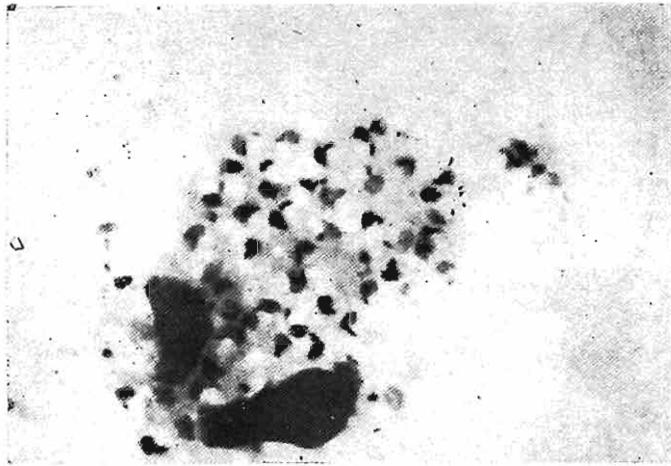
El 27 de febrero se notó en el cobayo plomo una ligera tumefacción en el testículo derecho; la punción dió resultado negativo; la acción traumática fué la probable causa de esta tumefacción, pues, posteriormente todo había desaparecido (13 de marzo). En los días subsiguientes hasta el 15 de mayo, es decir, casi tres meses después de la inoculación, ninguna manifestación objetiva se apreciaba, pues, el ojal abierto cicatrizó a los 5 días, y en el interior la palpación no permitió descubrir aumento de consistencia en la

glándula ni localizaciones tumorales en alguna de ellas. El 20 de mayo muere por traumatismo casual, procediéndose inmediatamente a la necropsia. Todos los órganos conservaban su consistencia i color normales, excepto el testículo izquierdo, cuyas lesiones paso a describir.

*Lesiones macroscópicas.*—En el tercio medio de la glándula se observaba un disco mui regular, como de medio centímetro de diámetro, cuyo color rojo, equimótico (color de jamón), resaltaba netamente sobre el fondo blanco nacarado de la glándula, es decir, tenía gran semejanza con las lesiones específicas secundarias en personas de piel blanca. En cambio, la profundidad abarcaba mui poco espesor. He creído de interés referir este aspecto, puesto que los autores que se han ocupado del mismo tema con la *Leishmania trópica*, no lo han observado (léase la descripción de Laveran). La consistencia i peso del testículo eran normales. No era posible constatar induración desde que la lesión siendo de poco espesor, daba la misma impresión táctil que la glándula toda. El epidídimo era normal de manera que la parte afectada, era el tejido conjuntivo peritesticular i una delgada capa de este órgano. La simple inspección hacía presumir, que esta lesión era debida al desarrollo exuberante de la *L. brasiliensis*, como lo afirmó después la observación microscópica. Se dividió la glándula en dos partes, siguiendo el eje menor de ella i pasando por la mitad de la lesión necrótica. Se hicieron varios frotis, se les fijó al alcohol-eter i se colorearon al Giemsa. La otra mitad sirvió para hacer inclusiones.

*Examen microscópico.*—Desde el primer momento llamó nuestra atención el gran número de Leishmanias intra i extra celulares. Las células parasitadas eran de preferencia células del tejido conjuntivo, grandes mononucleares i células endoteliales. En ciertos recintos de la preparación el número de parásitos era tal que sólo se podía discernir su presencia por la forma bacilar i el color del blefaroplasto, teñido en rojo rubí; pero otros no tomaban la materia colorante con igual intensidad, se puede decir que más bien se teñían básicamente simulando bacilos de contaminación secundaria. Una observación atenta manifestaba tratarse de verdaderos micronúcleos diversamente coloreados, algunos de ellos libres i cuyas afinidades cromáticas seguramente se hallaban alteradas, como consecuencia de la degeneración del protozoo i en los cuales la presión recíproca hubiese puesto en libertad los blefaroplastos. La forma predominante de estos era la bacilar, pero también se veía redondeados i puntiforme; raras veces discontinuos, es decir,

Estudio sobre la trasmisión de la leishmaniasis de América  
a los animales



Microfotografía de una célula repleta de leishmanias,  
cuyo núcleo ha sido fragmentado (original del autor)

Obj. inm. 2 mm. Oc. comp. 6

con la cromatina desigualmente repartida: su disposición respecto al núcleo era paralelo o perpendicular. En cuanto al núcleo, su forma era poco variable, redondeado o ligeramente alargado, algunas veces fusiforme, estaba aplicado a la membrana i en ocasiones bastante alejado de ella; aparece teñido en rojo ligeramente violeta por el Giemsa, como se colorea generalmente el núcleo de los leucocitos. El protoplasma homogéneo, se colorea en azul pálido.

La forma de la Leishmania que predominaba era la redondeada o ligeramente oval (véanse las figs). Se observa al lado de grandes cuerpos de Leishman, hasta de 5 micras aproximadamente, otras medias de dimensiones corrientes: 2 a 4 micras; parece generalmente que se colorea con mayor intensidad la cromatina nuclear de las pequeñas formas. Se observan buen número de leishmanias grandes i medias, predominando éstas; sin embargo, hai sitios en la misma preparación en los que dominan las primeras. Se sabe que WRIGHT admite la forma redondeada como la ordinaria del parásito i la alargada como un efecto de la deformación mecánica durante el proceso de la preparación del frotis, abonan su modo de pensar, que las formas alargadas no se encuentran en los cortes. LAVERAN sostiene que no siempre las formas alargadas son efecto del traumatismo, pues, siendo protozoos dotados de movimientos amiboides, pueden ser sorprendidos por el reactivo fijador en cualquiera de sus formas i que si en los cortes no se observan ellas, se debe únicamente a que estando incluidos en los elementos anatómicos, su movilidad es menor, i solo se pueden observar las formas redondeadas o ligeramente ovales. Por lo que atañe a nuestras preparaciones coexisten ambas formas, tanto entre las Leishmanias libres, como en las intracelulares i por consecuencia dado el gran número de observadores que anotan las mismas particularidades morfológicas, es necesario considerarlas como normales.

En cuanto a las dimensiones, todos los autores están de acuerdo en asignarles números que varían de 2 a 4 micras, teniendo las formas redondas la primera magnitud por diámetro, i las ovalares tendrían un largo variable entre ambos límites i 1 a 2 micra de ancho (LAVERAN). No establecen diferencia entre la magnitud de las Leishmanias en lesiones humanas i las obtenidas experimentalmente. Los investigadores nacionales dan las mismas magnitudes medias 2 a 5 o 2 a 4 o 3 micras (ESCOMEL, REBAGLIATI, MONGE, respectivamente). El Dr. A. NEIVA hace variar las dimensiones en límites más amplios 3 a 6 micra de largo por  $\frac{1}{2}$  a 2 micra de ancho, pero estas medidas solo se refieren a los ovalares. SPLENDORE dá

aproximadamente los mismos números que el anterior investigador. Haremos notar que ya FRANCHINI había descrito grandes formas redondas en vía de multiplicación que alcanzaban 5 i 6 micras de diámetro, de protoplasma teñido en azul i con 2 pares de núcleos; formas medias de contornos redondos i ligeramente ovalares, cuyo diámetro oscilaba entre 2, 3 i 5 micras. En estas los núcleos (trofo i kinetonúcleo) están muy próximos i aún aplicados. El centrosoma en estas es redondeado i no bacilar, pudiendo partir de los bordes o de la masa nuclear. Añade el autor citado, entre otras cosas, que el núcleo está casi siempre coloreado en rosa i puede medir hasta 2 micras siendo redondo; en cambio, al centrosoma solo le dá 1 a 1, 5 micras, a lo más 2 micras de longitud con coloración azul violeta; a las pequeñas formas les asigna las siguientes características: 1, 5 a 2 micras, ovals, núcleo i centrosoma generalmente adosados i ocupando la parte más ancha del parásito. En estas formas dice que no es rara la ausencia del micronúcleo. Esta observación es interesante porque describe el parásito de un caso de Leishmaniasis procedente del Brasil i, particularmente, por haber grandes analogías con las formas por nosotros observadas; solo que FRANCHINI se ocupa de preparaciones tomadas en el hombre i el que describimos es un producto de inoculación.

Las constataciones de FRANCHINI se refuerzan con las observaciones últimamente publicadas por BOUILLIEZ quien ha hecho inoculaciones en animales con el producto del raspado de lesiones de Botón de Oriente. En las preparaciones coloreadas por el Giemsa, describe este último autor, formas riziformes i además, un gran número de redondas i ovalares; añade, que ha observado formas redondas de dimensiones *enormes* y piensa que esta longitud es debida al aplastamiento, al hacer el frotis o a la desecación i fijación que fatalmente deforman estos organismos delicados, sobre todo, cuando esta última se hace con frotis desecados. En los frotis coloreados por el método lento ha notado rizoplastos que partían normalmente del blefaroplasto; esta deformación preflagelar, ha sido observadas por BOUILLIEZ principalmente en el líquido de artritis de un ratón (*Mus musculoïdes*), en el líquido sero sanguinolento extraído del hocico rojo i edematoso de una *Golunda Campanae*, en la ulceración de la cola de una rata de campo (*Arvicanthis Niloticus*) i en las lesiones de un cercopiteco.

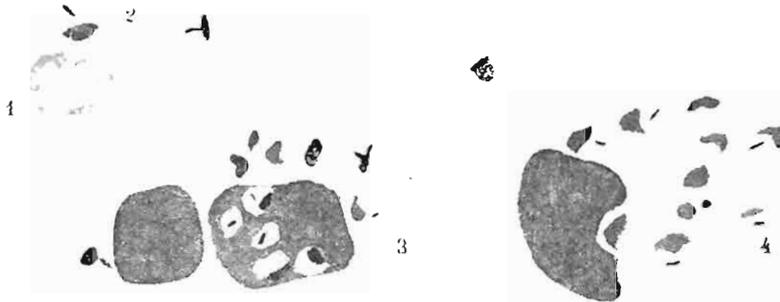
En todos los frotis que hemos hecho se pueden encontrar las diversas formas señaladas por FRANCHINI. Formas gigantes con contornos redondeados u ovalares que alcanzan hasta 5 micras

de diámetro i esto no solo en las que están en vía de división sino también en aquellas en las que no es posible discernir principio de tal fenómeno, si bien es cierto, no son mui numerosas. Su núcleo se tiñe menos intensamente que el de las pequeñas formas; el blefaroplasto, siempre en rojo i el protoplasma en azul pálido, presentando con frecuencia vacuolas. El autor citado no se pronuncia sobre el significado de estas grandes formas i puesto que las describe como formando un grupo, es claro que las considera normales; en cambio, hemos visto anteriormente que BOUILLIEZ, que también ha observado esas enormes leishmanias, las considera como un defecto mecánico ya de los reactivos o de la manipulación. Sin intentar ser absolutos creo que muchas de las grandes formas se pueden aceptar como normales desde que se sabe que los cuerpos de Leishman antes de dividirse aumentan de dimensión; la presencia de ellas significaría, por lo tanto, una próxima multiplicación, pues, si siempre se debiera a la acción de los reactivos y al traumatismo se verían en las leishmaniasis de cualquier origen. Es más posible que se deba a la gran actividad proliferativa por la que atraviezan, a lo que se puede agregar que en estas formas gigantes, sus diferentes partes constitutivas conservan sus posiciones relativas i no se notan plegaduras o rasgaduras de la membrana. Por lo que toca a las leishmanias medias i pequeñas, sus características son las indicadas por FRANCHINI. El blefaroplasto mui próximo al núcleo, bacilar o puntiforme, sus dimensiones varían para las primeras entre 3 i 4 micras i para las segundas al rededor de 2 micra. En ninguna de las formas que anotamos hemos visto rizoplastos, no obstante haber investigado con gran prolijidad. Recordemos que BOUILLIEZ describe las formas a rizoplastos de preferencia en el líquido de ciertos derrames periarticulares i en algunas úlceras abiertas i respecto a esto último, todo el que ha trabajado con animales que presentan lesiones abiertas, sabe la gran cantidad de linfa que trasuda de ellas; a esto se debería seguramente la formación preflagelar o rizoplasto. La presencia de los flagelos en ciertas leishmaniasis abiertas ha hecho emitir hace ya tiempo la opinión de que esas formaciones se generan por encontrarse las condiciones de un medio de cultivo, así lo sostiene el Dr. R. RIBEYRO, en su cátedra de Parasitología, desde hace 4 años i de la misma opinión participa el Dr. A. NEIVA; se sabe también que el flagelo en estos casos es pequeño i no como en los medios de cultivo en los que la *L. Brasiliensis* ha llegado a presentar flagelos que median hasta 40 micras (FRANCHINI). En nuestro caso, no existiendo líquido exudado, i como además, la herida abierta cicatrizó a los 5

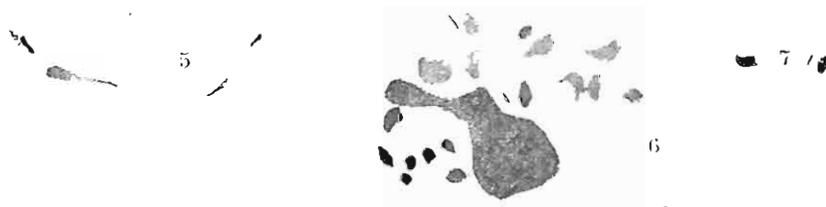
días, como lo dijimos anteriormente, nada de extraño tiene la ausencia de flagelos y rizoplastos puesto que no se hallaban presentes las condiciones favorables para su desarrollo.

En cuanto a la abundancia de cuerpos de Leishman, respecto de las células parasitadas hai, como lo han hecho notar gran número de autores, algunas con escaso número de ellas, 1 o 2; otras, al contrario, que están verdaderamente repletas, a tal punto que el núcleo es rechazado a la periferia, formando una media luna en el contorno celular (hecho ya representado por LAVERAN), en otras el núcleo se presenta fragmentado o dislocado por la presión, debido al enorme número de parásitos (véase la microfotografía); pero lo que más ha llamado nuestra atención es que los cuerpos de Leishman intracelulares en su activa multiplicación pueden comprometer la integridad del núcleo, empotrándose— si se permite el término— en su masa como lo haría una perla en su engaste. Esa constatación ha sido hecha por BOROWSKY, según refiere LAVERAN en su notable obra «Leishmaniasis», tomada a su vez de BETHMANN i WASIELEWSKI. Según estos, BOROWSKY, sostiene el hecho de que las leishmanias pueden alojarse en el núcleo de la célula huésped. LAVERAN concluye: « en los leucocitos *polinucleares* los parásitos están frecuentemente rodeados por los *núcleos*, lo que puede hacer creer que están en el interior ». En la casi imposibilidad de obtener una microfotografía suficientemente clara que pusiera de manifiesto lo que acabamos de sostener, por el poco contraste que hai en la coloración nuclear de las células parasitadas i el de las Leishmanias, he suplicado al Dr. R. RIBEYRO, tomase un dibujo a la cámara clara; gracias a su gentileza, reproducimos fielmente todas las particularidades que hemos podido observar en el campo microscópico. Se notan nítidamente dentro de un gran mononuclear 6 leishmanias en el protoplasma i 5 en el núcleo, en 3 de ellas el blefaroplasto es mui visible, en las otras 2 solo se vé el núcleo i el contorno del parásito. No voi a sostener que estos parásitos son forzosamente intranucleares; pero si, que en su activa multiplicación pueden llegar a ejercer presión sobre el núcleo de las células parasitadas, cuya vitalidad debe estar por lo menos disminuida i por tanto su resistencia, permitiendo que el protozoo se abra sitio en plena masa nuclear. Confirman este modo de razonar el que algunas veces se pueda notar en el núcleo agujeros que serían la impresión de las leishmanias desprendidas durante el frotis i también que las aberturas quedan perfectamente amoldadas al cuerpo del parásito, que al ser debida a las acciones mecánicas sería más grande o más pequeña, quedando a veces cabalgado en el caso úl-

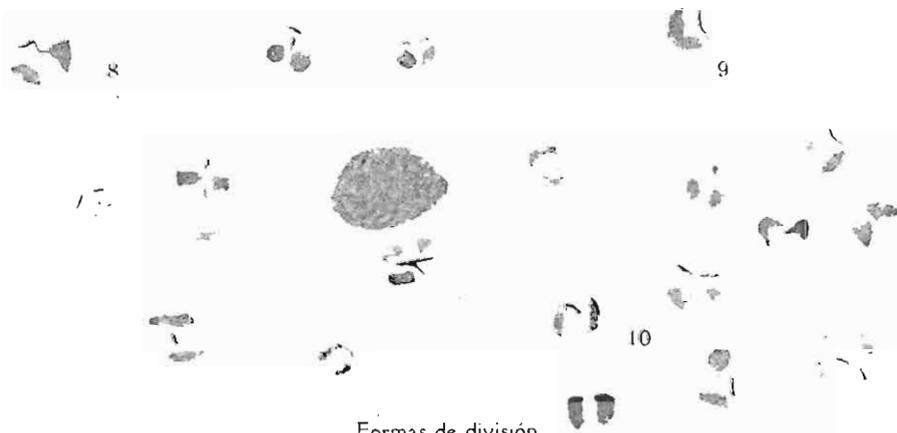
## Estudio sobre la transmisión de leishmaniasis de América a los animales



Formas normales de leishmania



Formas atípicas



Formas de división

Dibujo hecho a la cámara clara. Obj. inner: 2 mm. Oc. comp. 6.

1 glóbulo rojo normal. - 2 y 4 leishmanias y gigantes extra e intracelulares. - 3 leishmanias, formas medias, intraprotoplasmáticas y nucleares. - 5 leishmanias muy alargadas, con el núcleo condensado en uno de los polos. - 6 formas diversas intracelulares. - 7 pequeñas formas. - 8 leishmanias en división con blefaroplasto en ziz-zag. - 9 y 10 formas vacuoladas de división.

timo; se sabe por otra parte, que las leishmanias no sufren la fagocitosis i por lo tanto hai que aceptar que tienen más resistencia que las células huésped.

En cuanto a las formas atípicas, hemos observado algunas bastante alargadas, otras con el protoplasma teñido en azul intenso i además formando un elipsoide. Posiblemente son estas a las que BOUILLIEZ llama riziformes. De preferencia estas han sido vistas dentro de la célula; por último, algunas muy pocas, afectando una forma en tonel i con todo el protoplasma teñido en rojo, probablemente se trata de parásitos en vía de degeneración.

Las formas de división, que las representamos aparte, son las que adquieren mayor tamaño, pudiendo alcanzar hasta 5 micras de diámetro. Se puede deducir de la comparación de varias de ellas que en primer lugar aumentan de volumen antes de dividirse, luego el núcleo se alarga, i se escota, separándose la materia cromática en dos lóbulos. El blefaroplasto se alarga considerablemente, tomando las más variadas formas i disposiciones con respecto al núcleo. Así, se puede notar, que una vez es rectilíneo, otros curvo i en ocasiones en zig zag. Cuando es curvo i está dispuesto paralelamente al núcleo, se nota que la convexidad es la vuelta hacia ellos. No podemos afirmar que esto ocurra siempre, constatamos el hecho, nada más. Nos parece también que es esta disposición la que con más frecuencia se presta a la formación de vacuolas; en efecto, en aquellas en que el blefaroplasto es normal o sigue el eje mayor del parásito, no hai tales, formaciones. La demás formas de división tienen notable analogía con las descritas i fotografiadas por WRIGHT, que han sido reproducidas en el *Boletín del Instituto Pasteur* 1904 pag. 114: hai también algunas analogías con los dibujos de FRANCHINI.

Por casualidad se ha encontrado una forma rara, dentro de un mononuclear, en el que el núcleo aparece dividido en 3 e igualmente el blefaroplasto con tendencia a la trisección, posiblemente se debe a un artificio de preparación.

Las investigaciones del parásito en los frotis de los demás órganos, así como de la sangre periférica i aún de la parte profunda del testículo afectado, han dado resultado negativo. Este caso como, los observados por otros investigadores en especies animales pertenecientes a familias diversas, ha sido de marcha lenta (3 meses) i es por consiguiente de todo punto necesario continuar las pesquisas, hasta que un gran número de ellas de la certidumbre de que se ha escollado. También nos enseña que es más fácil obte-

ner resultado favorables, con lesiones localizadas en la piel i no en las mucosas, como luego lo veremos.

El otro cobayo (chinchilla), después de varias punciones en ambos testículos sin resultado fué sometido a la castración encontrándose los órganos perfectamente indemnes. De los dos cobayos inoculados, se obtuvo por lo tanto un solo éxito positivo.

Actualmente tenemos 8 animales en observación: 3 cobayos, 2 conejos i tres ratones inoculados del mismo modo, excepto los últimos que lo han sido intraperitonealmente, con el producto del raspado de lesiones mucosas (nariz y garganta) de enfermos que me ha remitido cortezmente mi amigo el Dr. Juan José Mostajo a quien agradezco.

Con las experiencias hechas, puedo adelantar que las inoculaciones con material tomado en las mucosas, frecuentemente dá lugar a infecciones sépticas, por mucho cuidado que se tome durante la operación. Unas veces los focos se limitan, otras originan septicemias. En uno de los cobayos obtuve un derrame peritesticular a estreptococos puros; pero la mayoría de los focos limitados eran a diplococos y cocci diversos. En estos casos hemos notado que si el animal se defiende, y el proceso supurativo cura, haciendo pesquizas del parásito, todas resultan infructuosas, lo que parece probar que la supuración arrastra hácia afuera las pocas leishmanias que se han inoculado.

Antes de terminar esta pequeña nota, haremos un resumen de las inoculaciones hechas con producto tomado en casos de leishmaniasis *americana*, ya que ellas son en corto número. SPLENDÖRE a quien debe considerarse como el primero que realizó estudios sobre trasmisión de leishmaniasis inoculó a un simio, con resultado positivo. Llama la atención que este notable investigador no sea citado por LAVERAN, al ocuparse de la leishmaniasis americana en los animales.

WENYON es el que ha obtenido mayor número de éxitos favorables; ha inoculado dos perros con el producto de raspado de lesiones humanas, uno de ellos contrajo la infección, el otro que recibió el virus por vía venosa quedó indemne. Obtuvo igualmente buen éxito con un gato y un Cinocéfaló (babuino). En cambio ha escollado al tratar de conferir la infección a *roedores*; conejos y ratones (LAVERAN).

MIGONE ha inoculado perros y gatos y también un platirrino (*Cebus libidinosus*) sin resultado i lo mismo se puede decir de FRANCHINI, que ha inoculado el producto de raspado de las ulceraciones puesto en suspensión en solución fisiológica citratada, a un perro,

a cobayos, ratas blancas y ratones blancos, pues si es cierto que a los cinco días encontró muy escasas leishmanias en el raspado del fondo de la lesión cutánea ésta estaba en completa supuración y a los 9 días desaparecieron las leishmanias en los cobayos, y cosa igual le ocurrió con las ratas blancas, puesto que al 9º. día encontró escasas leishmanias *bastante netas* que convivían en un foco de supuración: en cuanto a los otros animales no se añade nada de particular. En ambos casos el autor dice: «bien distintas i «bastantes netas» lo cual indica que no eran típicas i por consiguiente que sus pruebas no dieron resultado, razón por la cual no le cita LAVERRAN.

SANT'ANNA ha inoculado a dos cercopitecos con buen éxito, el producto proveniente de un sujeto portador de *L. brasiliensis*. Un segundo pasaje en otro cercopiteco, también le dió idéntico resultado.

STRONG i sus colaboradores han inoculado a un perro con material fresco de una lesión situada en la cara, i por escarificación alcanzando resultado positivo. Estas lesiones fueron inoculadas a otros animales con resultado nulo.

En cuanto a los investigadores nacionales, que se han ocupado de este interesante tópico, la bibliografía es aún más reducida, los mencionamos a continuación.

El Dr. R. RIBEYRO ha inoculado a perros con resultado negativo (comunicación verbal).

Los Drs. C. MONGE i R. REBAGLIATI, han inoculado; el primero un perro durante su estadía en el valle de la Convención (Cuzco) con resultado negativo; el segundo perros y conejos, por escarificación e implantación sub-dérmica, con el mismo resultado del anterior. Ambos experimentadores hacían sus pruebas casi simultáneamente (Agosto de 1913), cuando los trabajos preliminares para el V Congreso Médico Latino Americano.

La observación expuesta nos parece el primer intento, con resultado positivo, entre nosotros i también el primero de transmisión de la *Leishmaniasis americana*, directamente del hombre a los roedores, y el hecho tiene importancia particular porque ha comprobado que el testículo es el órgano apto para infectarse más fácilmente con el agente específico de esta dermatosis.

Todavía quedan muchos puntos por estudiar; tales como la reproducción en serie a los animales de la misma o diferente especie, como se ha hecho con el Botón de Oriente, obtención experimental de las formas flageladas a voluntad, pues en las lesiones animales todavía no han sido señaladas; las condiciones óptimas

para obtener seguramente una inoculación positiva y también los órganos parasitípos respecto de la *L. Brasiliensis*.

## BIBLIOGRAFIA

- LAVERAN.—*Leishmanioses*.—París 1917.  
FRANCHINI.—«Bulletin de la Société de Pathologie Exotique».—1913 pag. 221.  
BOUILLEZ.—«Bulletin de la Société de Pathologie Exotique».—1917. pag. 66  
NEIVA.—*Primera Conferencia Sur Americana de Higiene y Microbiología*.—Buenos Aires. 1917. pag. 330.  
WRIGHT.—«Bulletin de l'Institut Pasteur».—París 1904 pag. 114.  
SPLENDORE.—«Bulletin de la Société de Pathologie Exotique».—París 1912 pag. 412.  
STRONG.—*Reports of Firsts Expedition to south America*.—1913. pag. 178.  
MONGE.—*La Crónica Médica*.—Lima 1913. pag. 400.  
REBAGLIATTI.—«*La Crónica Médica*».—Lima, 1914. pag. 385.

