

Síntesis de un complejo antimonial pentavalente (Ulamina) y su aplicación experimental para el tratamiento de leishmaniasis cutánea localizada en Venezuela

José Vicente Scorza Dagert^{1*}, Carmen Morales¹, Yaneira Petit de Peña², Laura Vásquez, Elina Rojas¹ & José Vicente Scorza B.¹

La urgente necesidad social y ética de dar tratamiento médico satisfactorio a numerosos pacientes con leishmaniasis cutánea localizada, urbana, en el estado Trujillo de Venezuela, sin complicaciones mucosas entre mas de 2000 casos estudiados desde 1984, nos ha conducido a la síntesis y utilización perilesional de un complejo antimonial pentavalente con glucamina (ULAMINA). Se resume el procedimiento para la preparación de ULAMINA y se compara su composición en especies de antimonio, concentración de cloruros, densidad, pH y osmolaridad con muestra de tres patentados comerciales importados, con resultados análogos. Se reportan resultados clínicos satisfactorios en el tratamiento perilesional de 858 pacientes con ULAMINA, con un 5% de casos que abandonaron el tratamiento sin la cicatrización de sus lesiones.

Palabras clave: Leishmaniasis cutanea, tratamiento perilesional, ulamina, antimonial pentavalente.

INTRODUCCIÓN

Desde 1945 algunos complejos derivados de antimonio se han usado como leishmanicidas muy efectivos (Steck, 1978). Dos derivados antimoniales pentavalentes, con menores reacciones desfavorables, son los más usados actualmente para el tratamiento de las leishmaniasis visceral, muco-cutánea y cutánea: el estibogluconato de sodio (Pentostamâ) y el antimoniato de meglumina (Glucantime®) (Berman & Grogl, 1988; Herwaldt & Berman, 1992), aunque a pesar de su prolongado uso, sus estructuras químicas y reacciones bioquímicas son poco conocidas, como tampoco el número y la composición de sus especies químicas y las enzimas y los componentes celulares con los cuales interactúan (Berman & Grogl, 1988).

La aplicación sistémica de estos complejos antimoniales pentavalentes que asegura niveles

elevados en plasma y totalmente excretados por vía renal a las pocas horas, constituye el único recurso terapéutico recomendado por la Organización Mundial de la Salud para casos de leishmaniasis cutánea en posología de 20mg/kg por día, por un mínimo de cuatro semanas (WHO, 1984).

La preparación del complejo Glucantime, además del riguroso problema de su síntesis y purificación, es cosa de arte y no es siempre reproducible (Berman & Grogl, 1988). La nota técnica Glucantime 2168 R.P de Rhône Poulenc, propone una fórmula teórica para un peso molecular de 366, en tanto que los trabajos de Berman *et al.* (1985) evidencian una estructura polimérica con peso molecular variable entre 366 y mas de 3000. Trabajos más recientes proponen que, al igual que con el estibogluconato sódico, el antimoniato de meglumina está compuesto por una mezcla de polímeros carbohidratados de antimonio, con al menos dos moléculas de carbohidratos coordinadas con un átomo de antimonio (Roberts *et al.*, 1998) y además la existencia de fracciones poliméricas en el antimoniato de meglumina, cuyos pesos moleculares varían entre 507 y 1444, así como especies con menor

Universidad de Los Andes: ¹. Instituto de Investigaciones "José Witremundo Torrealba", NURR Trujillo, Venezuela.

². Facultad de Ciencias, Laboratorio de Espectroscopia Molecular, La Hechicera, Merida, Venezuela.

*Autor de correspondencia: jvscorz@yahoo.com

contenido de antimonio cuyos pesos moleculares oscilan entre 222 y 386.

Estas circunstancias nos han alentado a la síntesis de derivados antimoniales de la glucamina, a partir de reactivos de alta pureza grado analítico de la casa Sigma Aldrich Chem. Co. Éticamente nos ha motivado a la síntesis del fármaco y a su uso clínico, la circunstancia de su monopolio y el alto costo comercial, que no permite su utilización por pacientes sin recursos en países con crisis económicas y carentes de auxilio social.

MATERIALES Y MÉTODOS

1.- Reactivos utilizados y adquiridos de Sigma-Aldrich, grado técnico.

N-metil-glucamina 99% (meglumina), cloruro de antimonio (V) 99%, dietilamina 99,5% y metanol 99,8%, además agua bidestilada, mega-pura, Corning.

2.- Síntesis de antimoniato de meglumina.

Toda la síntesis se realiza a temperatura ambiental (25°C) con agitación permanente de metilglucamina disuelta en un mínimo volumen de agua bidestilada, siendo titulada gota a gota con solución ácida de antimónico, evitando que la reacción sobrepase 37°C y manteniendo la agitación durante tres horas para finalmente precipitar el complejo con metanol. Decantado el complejo, es redissuelto en un mínimo volumen de agua bidestilada y neutralizado hasta pH 7.0 con dietilamina, para recrystalizarlo con metanol. Separados los cristales por filtración, se llevan a estufa (40°C) durante 96 horas hasta evaporar los residuos de metanol. Los cristales se disuelven al 10% (peso-volumen) en agua bidestilada y la solución se esteriliza a través de membrana (Acrodisc-Gelman) para envasarla en condiciones de esterilidad, en viales de 10 mL con tapón de caucho.

3.- Análisis de especies de antimonio en los complejos obtenidos.

Cada lote de complejo envasado fue analizado por triplicado por la técnica de Petit de Peña *et al.* (2004) mediante absorción atómica, usando un Varian-Techtron, modelo A.A 1475. Los resultados se expresan en mg/mL de antimonio total, SbV y SbIII en la solución del complejo de 300 mg/mL para uso terapéutico.

4.- Pacientes, su diagnóstico y tratamientos incluyendo el perilesional con antimoniato de meglumina (ULAMINA).

Pacientes con lesiones cutáneas ulceradas, sin alteraciones mucosas, provenientes del área urbana de la ciudad de Trujillo, fueron diagnosticados parasitológicamente mediante examen microscópico de improntas y frotis de biopsias de sus lesiones, coloreadas con Giemsa y también confirmadas sus respuestas inmunes por intradermoreacción con antígeno figurado de promastigotes de *Leishmania* (Viannia) *braziliensis*.

Para instalar tratamiento, se les explicó el porqué de la técnica de infiltración perilesional semanal (Yépez & Scorza, 1995; Oliveira-Neto *et al.*, 1997) y la conveniencia de concluir el tratamiento cuando lo ordenase la médica tratante. Atendiendo las indicaciones del Comité de Ética del Centro de Investigaciones “José Witremundo Torrealba”, se les instruyó sobre otros tratamientos alternativos y una vez acordado un esquema, se les sugirió aceptar y firmar un acta de voluntaria escogencia. En el caso de niños menores, se les admitió a la terapia tras el consentimiento firmado por su representante. En estos casos, cuando se aplicó la ULAMINA, fue mezclada a volúmenes iguales con lidocaína para reducir el trauma de la infiltración semanal.

RESULTADOS

1.- Resultados de la síntesis.

El proceso de síntesis, incluyendo esterilización y envasado, requiere 15 días y utiliza, para cada lote de Ulamina, 113 gr. de SbCl₅, 250 g. de n-metilglucamina, 40 mL de dietilamina y 4 litros de metanol de los cuales, por redestilación, se pueden recuperar 3 litros utilizables.

Cada síntesis del complejo, en condiciones de laboratorio, produce 300gr. equivalente a 1000 mL de fármaco (300 mg/mL).

La esterilización se realiza a través de membrana (0,22μ) en porciones de 70 mL por cada filtro. El envasado, en condiciones de esterilidad, se hace en viales de 10 mL, cantidad suficiente para el tratamiento de cada paciente con una lesión única, tras hasta seis (6) infiltraciones de 1,8 mL de fármaco. De

cada lote de fármaco sintetizado y envasado, se toman 3 viales para análisis físico-químico de antimonio. La Tabla I informa resultados de los análisis físico-químicos de diez (10) lotes de ULAMINA y su comparación, con 4 lotes de Glucantime comercial. Entre Noviembre de 1992 y Julio de 2001 se sintetizaron 11 (once) lotes de ULAMINA cuyos contenidos de SbV y SbIII se comparan con cuatro (4) lotes diferentes de Glucantime comercial. Un lote de ULAMINA, No.3, preparado en Septiembre de 1994 produjo leves reacciones cutáneas retardadas indeseables en varios pacientes, por lo cual fue seguidamente sustituido por otro lote No.4 sintetizado en paralelo. Obsérvese que el lote No.3, descartado, contuvo doble concentración de SbV, en comparación con los otros resultados de las síntesis. No obstante, esos valores no distan considerablemente de los comerciales importados, como tampoco del último lote sintetizado por nosotros en Julio del 2001 (Tabla II).

2. Resultados de los tratamientos.

La casuística clínica por leishmaniasis cutánea localizada atendida en el Consultorio del Centro “José Witremundo Torrealba”, entre 1984 y 2003, sobrepasa dos mil pacientes. De estos, 930 fueron inicialmente tratados parenteralmente con Glucantime a la dosis convencional de 20mg/Sb/k/día, hasta completar veinte días de tratamiento para un porcentaje de 84% de curación sin recaídas.

1255 pacientes de fecha más reciente, en ausencia de suficiente Glucantime, fueron tratados con otros tres esquemas de tratamiento que incluyeron Glucantime más Gabbromicina por vía parenteral; (52 casos) con 10% de recaídas (Scorza *et al.*, 1988a), Ketoconazol (517 casos) con 5% de recaídas (Scorza *et al.*, 1988b) y 686 pacientes tratados con ULAMINA por vía perilesional (Tabla III).

Tabla I. Características fisicoquímicas de diez lotes de antimoniales sintetizados y su comparación con cuatro lotes de Glucantime, utilizados en el Consultorio del Centro “José Witremundo Torrealba” en Trujillo, Venezuela. 1985 - 2001

	Glucantime (4 lotes)	Ulamina (10 lotes)	P
Sb TOTAL (mg/mL)	99,34 ± 4,18	78,25 ± 23,01	.101
SbV(mg/mL)	98,91 ± 4,09	77,95 ± 23,05	.103
SbIII(mg/mL)	0,42 ± 0,10	0,20 ± 0,23	.093
Cloruros(mg/mL)	2,46 ± 1,12	1,61 ± 0,28	.038*
pH	3,97 ± 1,129	5,01 ± 1,57	.196
Densidad	1,12 ± 0,0356	1,01 ± 0,0578	.024*
Osmolaridad(mOsm/L)	856 ± 48,08	266 ± 141,43	.036*

* Diferencias significativas.

CONTROL: 930 casos tratados convencionalmente con Glucantime, por vía parenteral

GRAN TOTAL: 2185 pacientes

Hasta finales de 2004 hemos tratado perilesionalmente 172 pacientes adicionales a los del período 1984–2003. Los resultados de estos tratamientos perilesionales, con hasta siete (7) infiltraciones, se presentan en el Tabla IV. De éstos, 42% recibieron alta clínica y un 53% abandonó el tratamiento tras completa o casi completa cicatrización, sin poder nosotros verificar la ocurrencia de posibles recaídas, por ser pacientes de más reciente data. Un 5% de pacientes (N: 43) abandonó el tratamiento sin cicatrización, después de recibir hasta cuatro infiltraciones.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En Venezuela se han observado diferentes formas clínicas de leishmaniasis tegumentaria americana con un promedio de 2000 casos por año y gran subregistro, para una prevalencia estimada de 143 casos por 100.000 habitantes (Bonfante & Barroeta, 2002) siendo más alta en los estados Lara, Trujillo, Mérida y Táchira, en el occidente del país. En el estado Trujillo, una encuesta realizada en el área urbana de la ciudad capital, reveló una prevalencia de 8,2% con el hallazgo de 121 personas investigadas, reactivas a la intradermoreacción con antígeno preparado con parásitos de la localidad, sin que se

Tabla II. Análisis de especies de antimonio en los complejos sintetizados y su comparación con el complejo extranjero.

Nº	Muestras	Sb total (mg/mL)	Sb (V)* (mg/mL)	Sb(III) (mg/mL)
1	Ulamina 11/92	62,5	62,32	0,18
2	Ulamina 1/94	60,93	60,75	0,18
3	Ulamina 9/94 (contenido clasificado como tóxico)	124,21	124,2	0,01
4	Ulamina 9/94	71,87	71,71	0,16
5	Ulamina 6/95	51,56	51,45	0,11
6	Ulamina FC1 4/96	88,12	87,27	0,85
7	Ulamina 6/96	51,56	51,45	0,11
8	Ulamina 5/99	89,75	89,59	0,16
9	Ulamina 9/99	51,56	51,45	0,11
10	Ulamina JWT/JFT 8/2000	84,37	84,21	0,16
11	Ulamina 8/2001	97,65	97,55	0,10
	Glucantime Specia	98,59	98,17	0,42
	Glucantime Aventis	103,10	102,54	0,56
	Glucantime Italiano	101,93	101,50	0,43
	Glucantime Italiano (vial oscuro)	93,75	93,45	0,30

* El valor de Sb(V) es calculado por la diferencia entre Sb total y Sb (III).

observase complicación mucosa en ninguna de las personas con antecedentes clínicos o inmunológicos (Scorza *et al.*, 1985). La ausencia de complicaciones clínicas y fallas en la disponibilidad de Glucantime, condujeron a la aplicación experimental perilesional de meglumina sola o asociada con lidocaina, para la curación clínica en 87 lesiones de 89 pacientes (96%) (Yépez & Scorza, 1995). Un esquema terapéutico perilesional similar, ha sido aplicado en Brasil por Oliveira-Neto *et al.* (1997) en 74 pacientes de

los alrededores de Río de Janeiro, con un 80% de curación clínica tras la inyección perilesional de Glucantime después de anestesia local con xilocaina, sin recaídas después de diez años de tratamiento, ni la aparición de lesiones en las mucosas. Bonfante & Barroeta (2002) refieren que Solano *et al.* (1984), obtuvieron un 100% de curación clínica mediante infiltraciones peri e intralesionales semanales. Se ignoran importantes detalles técnicos sobre la síntesis de la meglumina. Demicheli *et al.* (2003) describen

Tabla III. Edades y sexos de pacientes del estado Trujillo con leishmaniasis cutánea localizada, tratados, con cuatro esquemas de tratamiento en el Centro de Investigaciones “José Witremundo Torrealba” del Núcleo Universitario “Rafael Rangel” (1984 – 2003).

Edades	Tipos de esquemas terapéuticos					
	A		B		C	
	M	F	M	F	M	F
0-7	---	---	3	3	55	61
8-14	9	7	57	61	42	38
31-30	13	9	116	121	41	47
31-45	10	4	108	113	35	35
46-60	---	---	46	48	42	50
>60	---	---	6	4	30	41
Total						
1255	32	20	336	350	245	272

A: Glucantime + Gabbromicina parenteral

B: Ulamina perilesional

C: Oral con Ketoconazol

Tabla IV. Situación clínica de 858 casos de leishmaniasis cutánea localizada tratados perilesionalmente con ULAMINA en el Consultorio de Leishmaniasis. Centro de Investigaciones “José Witremundo Torrealba”

Cicatrizaciones totales	815	95%
Alta clínica	362	42%
Abandono con cicatrización	453	53%
Abandono sin cicatrización	43	5%

su preparación a partir de metilglucamina disuelta en agua a 55°C y de pentóxido de antimonio obtenido por hidrólisis de SbCl₅ también, a 55°C, neutralizando el complejo con KOH, precipitándolo con acetona; así obtienen un sólido amorfo, con 29% de antimonio, similar o idéntico al compuesto comercial. Nosotros lo hemos sintetizado a menos de 37°C, neutralizado con dietilamina. No obstante, los autores citados concluyen que sus productos de síntesis pudieran ser una mezcla de varios compuestos producidos en diferentes proporciones.

Estos resultados confirman los de Roberts *et al.* (1998) quienes han propuesto una estructura oligomérica tridimensional para el producto de síntesis y pesos moleculares variables entre 314 y 1444. A juzgar por los análisis de diez (10) lotes de ULAMINA y de cuatro muestras comerciales de Glucantime, las proporciones de Sb, SbV y SbIII son similares con contrastantes diferencias en osmolaridad, mucho más baja en los complejos de ULAMINA. Tal vez estas diferencias den cuenta del porqué de la inocuidad de nuestro producto y de la no aparición de reacciones indeseables. Alta frecuencia de reacciones dérmicas, registradas por Sierra-Romero *et al.* (2003) con meglumina comercial y su ausencia en nuestro sintetizado, podría deberse a su contaminación con metales pesados que, entendemos, no están presentes en los pro-fármacos de Aldrich Chem. Co. En la región neotropical no es absoluta la efectividad terapéutica de los antimoniales pentavalentes para el tratamiento de leishmaniasis cutánea producida por especies de *Leishmania* (*Viannia*) spp. Palacios

et al. (2001), en un ensayo aleatorio terapéutico dobleciego, estudiaron en Colombia la respuesta clínica de 191 pacientes tratados parenteralmente con meglumina (Glucantime Rhône Poulenc) a dosis de 20mg/SbV/Kg/día, comparando esquemas de 10 y 20 días de tratamiento, con resultados similares de 61% (28 de 46) y 67% (24 de 36) curación para diez o veinte días, respectivamente. La no respuesta al tratamiento con el antimonial pentavalente se ha atribuido a resistencia o refractaridad intrínseca de los parásitos, que puede observarse en un 5% de casos, como lo señalan Almeida *et al.* (2005). Estos autores han logrado superar la condición refractaria en tales pacientes, reforzando la quimioterapia con la aplicación tópica de un factor colonia estimulante de granulocitos-macrófagos.

La efectividad terapéutica de la ULAMINA en los casos de leishmaniasis cutánea localizada del estado Trujillo, merece comentarios adicionales. Los agentes etiológicos han sido identificados por Guevara *et al.* (1993) como pertenecientes al subgénero *Viannia*, sin que las lesiones que ocasionen en piel produzcan alteraciones mucosas. En más de 2000 casos atendidos solamente hemos observado complicaciones mucosas, siempre recientes o concomitantes, en tres (3) pacientes cuyas alteraciones se resolvieron con quimioterapia.

El hallazgo de ADN de parásitos, mediante PCR en la sangre de pacientes, no es un hecho extraordinario. Hemos detectado ADN de parásitos en personas que recibieron quimioterapia antimonial tradicional o hacía treinta años que curaron espontáneamente sus lesiones (Guevara *et al.*, 1993). La aplicación perilesional de nuestro derivado antimonial pentavalente, además de reducir considerablemente la cantidad de fármaco, y el trauma ocasionado por su inyección diaria hasta por más de veinte días, reposa sobre el concepto de curación o cicatrización de lesiones, que ya hemos discutido (Yépez & Scorza, 1995).

En conclusión, producimos resultados clínicos curativos en más de 800 pacientes con leishmaniasis cutánea localizada tratados perilesionalmente con menos de 10 mL de un derivado antimonial pentavalente sintetizado por nosotros, sin manifestaciones secundarias desfavorables ni recidivas o recaídas en más de cinco años de tratados.

Synthesis of a pentavalent antimonial complex (Ulamina) and its experimental application for treatment of localized cutaneous leishmaniasis in Venezuela

SUMMARY

The urgent social and ethical need of giving satisfactory medical treatment to numerous urban patients with localized cutaneous leishmaniasis in the State of Trujillo, Venezuela, without mucosal complications among more than 2000 cases studied since 1984, led us to the synthesis and perilesional use of a complex antimonial pentavalent with glucamine (ULAMINA). The procedure for the preparation of ULAMINA is summarized and its composition is compared as a kind of antimony, the concentration of chlorines, the density, the pH and the osmolarity with a sample of three similar commercial imports. The satisfactory clinical results in perilesional treatment of 858 patients are reported, with 5% of the cases abandoning treatment without cicatrization of their lesions.

Key words: cutaneous leishmaniasis, perilesional, Ulamina, pentavalent, antimonial

AGRADECIMIENTOS

La síntesis y la promoción para la aplicación de este complejo ha sido posible, en primer lugar, por la importante donación de reactivos importados por los doctores Gilberto Rodríguez Ochoa y Oscar Feo Isturiz quienes, desde entonces Ministerio de Salud y Asistencia Social comprendieron nuestra necesidad. Mas recientemente al Ministerio de Ciencia y Tecnología a través del proyecto Frontera N. 98000576 para el financiamiento de nuestro trabajo.

REFERENCIAS

- Almeida R., Brito J., Machado P., Schrierer A., Guinardes L. & Carvalho E. (2005). Successful treatment of refractory cutaneous leishmaniasis with GM-CSF and antimonials. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **73**: 79-81.
- Berman J. (1985). Biochemical mechanism of the anti-leishmanial activity of sodium stibogluconate. *Amer. Soc. Microbiol.* **27**: 916-920.

- Berman J. & Grogl M. (1988). *Leishmania mexicana*: chemistry and biochemistry of sodium stibogluconate (Pentostam). *Exper. Paras.* **67**: 96-103.
- Berman, J., Waddel, D & Hanson, D. (1985) Biochemical mechanism of the anti-leishmanial activity of sodium stibogluconate. *Amer. Soc. Microbiol.* **27**: 916-920.
- Bonfante R. & Barroeta S. (2002). *Leishmanias y leishmaniasis en América con especial referencia a Venezuela. Barquisimeto, Venezuela.* 270pp.
- Demicheli C., Ochoa R., Silva I., Gozzo F., Eberlin M. & Frezard F. (2003). Pentavalent organo-antimonial derivatives: two simple and efficient synthetic methods for meglumine. *Appl. Organomet. Chem.* **17**: 226-231.
- Guevara P., Ramírez J. L., Alonso G., Rojas E., Scorza J. V., Añez N., González N. & Da Silveira J. (1993). Identification and diagnosis of *Leishmania* based on ribosomal intergenic spacer sequences. *Mem. Inst. O. Cruz.* **88 (Suppl.)**: 80-81.
- Herwaldt B. T. & Berman J. (1992). Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostam) and review of pertinent clinical studies. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* **46**: 296-306.
- Oliveira-Neto M. P., Schubach A., Mattos M., Gonçalves da Costa S. C. & Pirmez C. (1997). Intralesional therapy of American cutaneous leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de Janeiro, Brazil – an area of *Leishmania braziliensis* transmission. *Inter. J. Dermatol.* **35**: 463 - 468.
- Palacios R., Osorio L. E., Grajales F. & Ochoa M. T. (2001). Treatment failure in children in a randomized clinical trial with 10 and 20 days of meglumine antimoniate for cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania Viannia* species. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **64**: 187-193.
- Petit de Peña Y., Vicuña-Fernández N., López S., Vázquez L., Scorza-Dagert J. V., Carrero P. & Rondón C. (2004). Antimony speciation in human blood samples from patients treated with ulamine. A novel experimental drug for leishmaniasis. *Metal Ions in Biology and Medicine.* **8**: 560-563.

- Roberts W., McMurray W. J. & Rainey P. (1998). Characterization of the antimonial antileishmanial agent meglumine antimoniate (Glucantime). *Antimicrob. Agents & Chemother.* **42**: 1076-1082.
- Scorza J. V., Macías P. & Rojas J. (1985). Encuesta epidemiológica sobre leishmaniasis cutánea en la ciudad de Trujillo, Venezuela. *Bol. Dir. Malar. & San. Amb.* **25**: 73-81.
- Scorza J. V., Henández A., Villegas E., Marcucci M. & Araujo P. J. (1988a). Comprobación clínica del sinergismo entre el Glucantime y la Gabromicina en el tratamiento de la leishmaniasis tegumentaria del estado Trujillo, Venezuela. *Bol. Dir. Malar. & San. Amb.* **28**: 23-26
- Scorza J. V., Hernández A., Villegas E., Márquez J.C. & Mauricci M. (1988b). Efectividad del Nysoral (Ketoconazol) para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea y cutaneomucosa en Trujillo, Venezuela. *Bol. Dir. Malar. & San. Amb.* **28**: 32-39.
- Sierra-Romero G., de Moraes-Flores E. M., Ferreira-Moronta E. & de Oliveira V. (2003). High frequency of skin reactions in patients with leishmaniasis treated with meglumina antimoniale contaminated with heavy metals. A comparative approach using historical controls. *Mem. Inst. O. Cruz.* **98**: 145-149.
- Solano A. E., Hidalgo H. H. & Zeledon A. R. (1984) Tratamiento exitoso de la leishmaniasis por *Leishmania braziliensis panamensis* con glucantime. *Med. Cut. I. L. A.* **12**: 19-24
- Steck E. (1974). The leishmaniasis. *Prog. Drug. Res.* **18**: 289-351.
- Yépez Y. & Scorza J. V. (1995). Intralesional chemotherapy with meglumine plus lidocaine of localized cutaneous leishmaniasis in Trujillo state, Venezuela. *Bol. Dir. Malar. & San. Amb.* **35**: 71-75.
- WHO (1984). *The leishmaniasis*. Report of a WHO Expert Comité, Tech. Rep. Ser. 701, Geneva.

Recibido el 14/12/2005
Aprobado el 03/03/2006