

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**



**TEMA**

**PREVALENCIA DE *LEISHMANIA SPP.* EN CÁNIDOS DOMÉSTICOS DE DOS CANTONES DEL MUNICIPIO DE SAN ILDEFONSO, DEPARTAMENTO DE SAN VICENTE, EL SALVADOR.**

**POR:**

**BR. FRANCISCO EDMUNDO ALBERTO ESCOBAR.**

**BR. CARMEN ELENA ARTEAGA RODRÍGUEZ.**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, ENERO 2009.**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA**



**TEMA**

**PREVALENCIA DE *LEISHMANIA SPP.* EN CÁNIDOS DOMÉSTICOS DE DOS CANTONES DEL MUNICIPIO DE SAN ILDEFONSO, DEPARTAMENTO DE SAN VICENTE, EL SALVADOR.**

**POR:**

**BR. FRANCISCO EDMUNDO ALBERTO ESCOBAR.**

**BR. CARMEN ELENA ARTEAGA RODRÍGUEZ.**

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE:**

**LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, ENERO 2009.**

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

ING. AGR. MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIO GENERAL:

DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÓNOMICAS

DECANO:

ING. AGR. Y DR. REYNALDO LOPEZ LANDAVERDE

SECRETARIO:

ING. AGR. MSc. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFE DE DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA.

M.V. OSCAR LUIS MELÉNDEZ CALDERÓN

DOCENTES DIRECTORES:

M.V. ORLANDO ALBERTO SILVA HERNÁNDEZ

M.V.Z. ROLANDO VARGAS LÓPEZ

## RESUMEN.

La leishmaniosis es una enfermedad zoonótica de prevalencia alta en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo. En América, se presenta desde el sur de los Estados Unidos hasta la Argentina. La enfermedad es causada por protozoarios hemoflagelados del género *Leishmania* y la transmisión a los hospedadores vertebrados (caninos, primates y marsupiales) ocurre predominantemente por la inoculación de la forma infectiva (promastigote) del parásito durante la picadura de moscas de los géneros *Phlebotomus*, en el viejo mundo y *Lutzomyia* en América.

En nuestro país, por muchos años se han diagnosticado casos de Leishmaniosis humana. En San Ildefonso municipio del Departamento de San Vicente, desde 1974 hasta el año 2007 se han registrado 234 casos de leishmaniosis cutánea, todos diagnosticados positivos mediante frotis y la prueba de Montenegro que se realiza en el Laboratorio "Dr. Max Bloch", del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social; constituyéndose un problema grave de salud dado el carácter zoonótico del proceso. A pesar de esto no se han realizado investigaciones que ayuden a determinar el papel del perro dentro del ciclo biológico del parásito como posible reservorio.

Tomando en cuenta lo anterior, el propósito del presente estudio fue determinar la prevalencia de *Leishmania* en cánidos domésticos en dos cantones del mencionado municipio: San Lorenzo y Lajas y Canoas y poder con ello generar información sobre la situación de la enfermedad en nuestro país, y a la vez poder contribuir a su control. Durante el estudio se tomaron muestras de aspirado de nódulo poplíteo para efectuar el diagnóstico de *Leishmania*, mediante las técnicas de laboratorio: tinción de frotis y aislamiento en cultivo para la observación microscópica del parásito.

De 237 muestras analizadas mediante dichos métodos no fue posible evidenciar la presencia de *Leishmania spp*, a pesar de que el 86.07% de los perros muestreados

presentaba sintomatología compatible con la enfermedad, y que el estudio se realizó en una área donde la leishmaniosis se considera endémica en humanos.

## AGRADECIMIENTOS

A NUESTROS DOCENTES DIRECTORES:

M.V. ORLANDO ALBERTO SILVA HERNÁNDEZ

M.V.Z. ROLANDO VARGAS LÓPEZ

Por su tiempo, responsabilidad, colaboración e interés en la elaboración de esta investigación.

A NUESTROS PADRES Y FAMILIA:

Por su apoyo, comprensión y paciencia a lo largo de nuestra carrera, para poder lograr una de nuestras metas.

A NUESTROS AMIGOS:

Por su apoyo y colaboración.

A NUESTRA FACULTAD:

Le agradecemos, por su aporte en nuestra formación académico-profesional, ya que nos brindaron las herramientas básicas para desarrollarnos como futuros profesionales, así como también a cada una de las personas que la integran.

AL MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL (MSPAS):

Al personal que labora en el Área Clínica de Diagnóstico de *Leishmania* del Laboratorio Central "Dr. Max Bloch". Agradecemos por brindarnos sus conocimientos y orientación para el desarrollo de nuestro trabajo.

Especialmente a:

Lic. Marta Alicia Hernández.

Agradecemos también a:

- Dra. Claudia Armida Flores Hernández (Directora de la Unidad de Salud de San Ildefonso).
- Sr. Alcides Solano (Promotor de salud cantón San Lorenzo).
- Sr. José Samuel (Promotor de salud de Lajas y Canoas).
- Sr. José Napoleón Membreño (Promotor de salud de Lajas y Canoas).
- Dr. Rafael Cedillos (CENSALUD), a todos ellos por su especial colaboración en la realización de cada fase de nuestra investigación.
- Doris Rivera, nuestra querida secretaria y amiga del Depto. de Medicina Veterinaria, por su apoyo, colaboración y amistad para con nosotros.

A TODOS ELLOS MUCHAS GRACIAS.

## DEDICATORIA

### A DIOS TODO PODEROSO:

Al cual le debo todo y le agradezco por haberme dado fortaleza, sabiduría, perseverancia, guiado y llevado de su mano hasta lograr una de mis metas que es la de finalizar mi carrera.

### A MIS PADRES:

BERNABÉ ALBERTO SERRANO (Q.D.D.G.) Y BLANCA IDALIA ESCOBAR, a mi padre que desde los cielos siempre me guio y a mi madre por su apoyo, comprensión y esfuerzo para que llevara acabo este especial logro académico.

### A MIS HERMANOS:

ARTURO BERNABÉ ALBERTO E, ROQUE RAFAEL ALBERTO E, ROBERTO CARLOS ALBERTO E, ROQUE ALBERTO E, ANA CECILIA ALBERTO E, por ser el pilar fundamental en este logro, por haber confiado en mi, apoyarme, ayudarme y ser pacientes a lo largo de mi carrera.

### A MI ESPOSA:

CARMEN ELENA ARTEAGA RODRÍGUEZ, por su apoyo, paciencia, y comprensión, y ser siempre mi mejor amiga.

### A MI HIJA:

MARIA ELENA ALBERTO ARTEAGA, por ser la niña más bella del mundo, y ser mi principal motivación que Dios me regalo para culminar mi carrera.

LIC. MARTA ALICIA HERNÁNDEZ

Por su gran ayuda, colaboración y amistad para conmigo.

A MIS AMIGOS:

Por su apoyo, colaboración, paciencia, comprensión y su amistad.

FRANCISCO EDMUNDO ALBERTO ESCOBAR

## DEDICATORIA

A DIOS PADRE, HIJO Y ESPIRITU SANTO Y A NUESTRA MADRE SANTISIMA:

A quienes les debo todo lo que soy y agradezco infinitamente por haberme guiado y llevado de la su mano hasta lograr una de mis metas como es la finalización de mi carrera universitaria.

A MIS PADRES:

JUAN RAMON ARTEAGA MENJIVAR Y CARMEN RODRIGUEZ DE ARTEAGA: por su incondicional amor, guía moral y espiritual, por su apoyo, dedicación, esfuerzo, comprensión y paciencia a lo largo de mi vida y para que llevara a cabo este especial logro académico.

A MI QUERIDO ABUELITO, JESUS CASTRO, por ser mi segundo papa y el de mis hermanos, porque siempre nos ha brindado su incondicional amor, compañía, consejo, apoyo y ayuda a lo largo de nuestras vidas. MIS TIAS DELMY Y ROSA, por su especial cariño y apoyo en todo momento Y MIS PRIMOS, EDUARDO, NETO Y QUIQUE, por su especial cariño y amistad.

A MIS HERMANOS:

JUAN RAMON, FRANCISCO DE JESUS Y JUAN JOSE ARTEAGA RODRIGUEZ, por sus muestras de cariño, apoyo, ayuda y paciencia en todo.

A MI ESPOSO:

FRANCISCO EDMUNDO ALBERTO ESCOBAR, por su amor, dedicación, amistad, apoyo, comprensión y paciencia en todo momento.

A MI HIJITA:

MARIA ELENA ALBERTO ARTEAGA, por ser la bendición más grande que me ha dado Dios y por llenar de alegría mi vida.

A MIS CUÑADOS, ARTURO BERNABE, ROQUE RAFAEL, ROBERTO CARLOS Y ROQUE ALBERTO ESCOBAR, por su apoyo y ayuda en la culminación de mi carrera.

LIC. MARTA ALICIA HERNÁNDEZ:

Por su gran ayuda, colaboración y amistad para conmigo.

A MIS AMIGOS:

CLAUDITA, NATY Y GUAYO, TANIA y a todos mis demás amigos que a lo largo de mi carrera y mi vida me han brindado su cariño y su querida y valiosa amistad.

CARMEN ELENA ARTEAGA RODRÍGUEZ.

## INDICE

	Página
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS.....	I
ASESORES.....	II
RESUMEN.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
DEDICATORIAS.....	V
INTRODUCCION.....	1
1. Revisión bibliográfica.....	3
1.1 Definición.....	3
1.2 Historia.....	3
1.3 Etiología.....	5
1.3.1 Clasificación taxonómica.....	5
1.3.2 Estados del ciclo biológico de <i>Leishmania</i> .....	7
1.4 Ciclo biológico de de <i>Leishmania</i> spp.....	9
1.5 Especies de <i>Leishmania</i> .....	10
1.6 Transmisión.....	13
1.6.1 El vector.....	13
1.6.2 Morfología.....	13
1.6.3 Capacidad vectorial.....	14
1.6.4 Ciclo en el insecto.....	17
1.6.5 El reservorio.....	17
1.6.6 Características de los reservorios.....	17
1.6.7 El perro como reservorio.....	19

<b>1.7 Aspectos clínicos.....</b>	<b>20</b>
<b>1.8 Epidemiología.....</b>	<b>21</b>
<b>1.8.1 Situación de la leishmaniosis en las Américas.....</b>	<b>21</b>
1.8.1.1 Brasil.....	21
1.8.1.2 Colombia.....	22
1.8.1.3 Venezuela.....	22
1.8.1.4 Perú.....	23
1.8.1.5 Panamá.....	23
1.8.1.6 Nicaragua.....	24
1.8.1.7 México.....	24
1.8.1.8 Honduras.....	24
1.8.1.9 Guatemala.....	25
1.8.1.10 Costa Rica.....	25
1.8.1.11 El Salvador.....	26
<b>1.9 Diagnostico de Leishmania spp.....</b>	<b>29</b>
1.9.1 Diagnostico Clínico.....	29
1.9.2 Diagnostico Parasitológico.....	29
1.9.2.1 Métodos directos.....	30
1.9.2.1.1 Tinción del parásito.....	30
1.9.2.2 Métodos indirectos.....	30
1.9.2.2.1 Cultivo.....	30
1.9.2.2.2 Xenodiagnóstico.....	31
1.9.3 Diagnostico Inmunológico.....	31
1.9.3.1 Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).....	32
1.9.3.2 Método Inmunoenzimático (ELISA).....	32
1.9.3.3 Aglutinación Directa (DAT).....	32
1.9.3.4 Inmunotransferencia (Inmunoblot).....	32
1.9.4 Técnicas Biomoleculares.....	33
1.9.4.1 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	33
<b>1.10 Profilaxis.....</b>	<b>34</b>

1.11	Leishmaniosis cutánea (LC).....	37
1.12	Leishmaniosis visceral (LV).....	38
1.13	Leishmaniosis mucocutanea (LMC).....	40
2.	Justificación.....	40
3.	Hipótesis de investigación.....	41
4.	Objetivos de la investigación.....	41
5.	Materiales y métodos.....	42
5.1	Generalidades.....	42
5.1.1	Ubicación geográfica.....	42
5.1.2	Duración de la investigación.....	43
6.	Objeto de estudio.....	43
7.	Determinación del tamaño de muestra.....	43
8.	Metodología de campo.....	44
8.1	Toma de muestra de aspirado poplíteo.....	44
8.2	Materiales y equipo de campo.....	45
9.	Metodología de laboratorio.....	46
9.1	Técnica de tinción de frotis de aspirado de nódulo linfático.....	46
9.1.1	Materiales y reactivos.....	46
9.1.2	Equipo.....	47
9.1.3	Metodología.....	47
9.2	Método de aislamiento en cultivo NNN (Novy-Nicolle-Mc Neal).....	47
9.2.1	Materiales y reactivos.....	47
9.2.2	Equipo.....	48
9.2.3	Metodología.....	48
10.	Resultados y Discusión.....	49
11.	Conclusiones.....	50
12.	Recomendaciones.....	51
13.	BIBLIOGRAFIA.....	52

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Algunas características de las especies de <i>Leishmania</i> ....	12
2. Factores epidemiológicos que determinan la transmisión del parásito.....	16
3. Procedencia de casos de leishmaniosis cutánea en El Salvador, 1992-1993.....	28
4. Casos de leishmaniosis cutánea en El Salvador por grupos de edad, 1992- 1993.....	28

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Estados del ciclo biológico de Leishmania.....	6
2. Estado amastigote.....	7
3. Estado promastigote.....	8
4. Ciclo biológico de la Leishmania.....	9
5. Especies de Leishmania.....	11

## INDICE DE ANEXOS

<b>Figura A</b>	<b>Página</b>
<b>1. Mapa del municipio de San Ildefonso.....</b>	<b>57</b>
<b>2. Distribución de la leishmaniosis visceral y cutánea atípica causada por <i>Leishmania chagasi</i> en El Salvador.....</b>	<b>58</b>
<b>3. Distribución de la leishmaniosis cutánea y mucocutánea en El Salvador.....</b>	<b>58</b>

## INTRODUCCION.

Las **Leishmanias** (descubiertas en 1903 por Leishman y Donovan), son un grupo de protozoos flagelados que pertenecen al orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae. Los miembros de este género son parásitos intracelulares de los macrófagos en el hombre, el perro y una amplia variedad de animales silvestres. La enfermedad que producen, Leishmaniosis, da lugar a las formas cutáneas y visceral. Sus vectores son mosquitos hematófagos en los que los parásitos sufren transformaciones morfológicas y multiplicación (Mehlhorn H, 1993), (Urquhart, 2001).

La leishmaniosis es una enfermedad zoonótica de prevalencia alta en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo, tales como Asia, Oriente Medio, África y sur de Europa (cuena del Mediterráneo); en las Américas, se presenta desde el sur de los Estados Unidos hasta la Argentina. Esta enfermedad se asocia sobre todo con la desnutrición y, en zonas rurales con la presencia de perros (OPS, 1996).

En la mayoría de los casos, el vector principal asociado con la leishmaniosis es *Lutzomyia longipalpis*. Los perros domésticos son los reservorios en la transmisión y diseminación de la leishmaniosis, aunque algunos otros animales salvajes podrían mantener y propagar esta zoonosis en situaciones especiales.

En El Salvador, por muchos años se han diagnosticado casos de Leishmaniosis en humanos. En San Ildefonso municipio del Departamento de San Vicente, desde 1974

hasta el año 2003 se han registrado 184 casos de leishmaniosis cutánea, desde 2004 hasta el año 2007 se han registrado 50 nuevos casos, todos diagnosticados positivos mediante frotis y la prueba de Montenegro constituyéndose un problema grave de salud pública, dado el carácter zoonótico del proceso. A pesar de esto no se han realizado investigaciones que ayuden a determinar el papel del perro dentro del ciclo biológico del parásito como posible reservorio. Nuestro país cuenta además, con la presencia del vector de la enfermedad, *Lutzomyia longipalpis* así como también con los factores climáticos y ecológicos para la sobrevivencia y desarrollo del mismo, por lo que se podría garantizar el desarrollo completo y continuo del ciclo biológico del parásito (Archivos Unidad de Salud de San Ildefonso, 2007).

Tomando en cuenta lo anterior, el propósito del presente estudio fue determinar la prevalencia de *Leishmania* en cánidos domésticos, y poder con ello generar información sobre la situación de la enfermedad en nuestro país, y a la vez poder contribuir a su control.

Durante el estudio se tomaron muestras de aspirado de nódulo poplíteo para efectuar el diagnóstico de *Leishmania*, mediante las técnicas de laboratorio, tinción de frotis y aislamiento en cultivo para la observación microscópica del parásito.

## **1. REVISION BIBLIOGRAFICA.**

### **1.1 DEFINICION.**

Los protozoarios hemoflagelados del género *Leishmania* son parásitos responsables de la enfermedad conocida como leishmaniosis. El principal vector de la infección son moscas de los géneros *Phlebotomus* (en el viejo mundo) y *Lutzomyia* (en América). Sus víctimas son vertebrados: afectando a marsupiales, cánidos, y primates (Wikipedia).

Son parásitos intracelulares localizados dentro de los macrófagos del sistema reticuloendotelial. Constituyen células ovals dentro de las cuales existe un núcleo vesicular y un cinetoplasto en forma de bastón, en ocasiones puede verse en su interior los restos de un flagelo que brota del cinetoplasto. Se multiplican por fisión binaria y las divisiones repetidas pueden reinfectar a las células huéspedes con numerosas leishmanias (*Leishmania* 2000).

### **1.2 HISTORIA**

La evolución de la presencia de *Leishmania* no son claros. Una posible teoría propone un origen en África, con migración a las Américas desde el Viejo Mundo unos 15 millones de años a través del estrecho de Bering. Otra teoría propone un

origen paleártico. Dichas migraciones incluirían adaptaciones sucesivas de los vectores. La más reciente es la de *L. infantum* desde el Mediterráneo hasta países latinoamericanos, llamados desde entonces *L. chagasi*, desde la colonización europea del Nuevo Mundo, donde los parásitos recogieron su nuevo vector en sus respectivas ecologías (Wikipedia).

La primera descripción de leishmaniosis fue hecha por El-Razy de Iraq, alrededor del año 1500 d. C. En 1898, Browosky descubrió el agente etiológico, pero su publicación hecha en ruso, pasó prácticamente inadvertida para los científicos occidentales (Wikipedia).

A finales del siglo XIX se identifica la leishmaniosis americana (Bravo, en 1852, y Cerqueira, en 1885). Cunningham (1885), en la India, fue el primero en observar el microorganismo en los leucocitos mononucleares de los casos de kala-azar. Firth, en 1891, confirmó este descubrimiento. Tamayo (1908) parece haber sido el primero en identificar lesiones características de uta, denominación de la leishmaniosis cutánea andina en las cerámicas del Perú preinca. En 1900 y 1903, Leishman y Donovan descubren, con coloración de Giemsa, un parásito ovalado en macrófagos de pacientes con leishmaniosis visceral, a partir de biopsias viscerales y cutáneas de enfermos de la India. Desde entonces se llevó a cabo una serie de infecciones experimentales a voluntarios para demostrar el poder patógeno del nuevo protozoo. Wright (1903) describe el primer caso de infección por *Leishmania* trópica; Roger (1904) cultiva por primera vez una *Leishmania* a partir del bazo de un paciente con leishmaniosis visceral; Presat (1905), por primera vez, sugiere que los flebótomos serían los transmisores del botón de Oriente; Nicolle (1908) cultivó *L. infantum* y *L. trópica* en el medio NNN (Nicolle Novy MacNeal) y, posteriormente, en el medio semisólido para leptospiras de Noguchi. Nicolle y Moncuex (1909) iniciaron inoculaciones experimentales en monos, perros, ratas, pericos y zorros. Lindenberg (1909) encontró Leishmanias en úlceras en pacientes en Sao Paulo (Brasil) y Nicolle y Sergent sugieren que el perro sería el reservorio (SANCHEZ SALDAÑA, 2004), (P. Jorge, Ezquerria A, 2001).

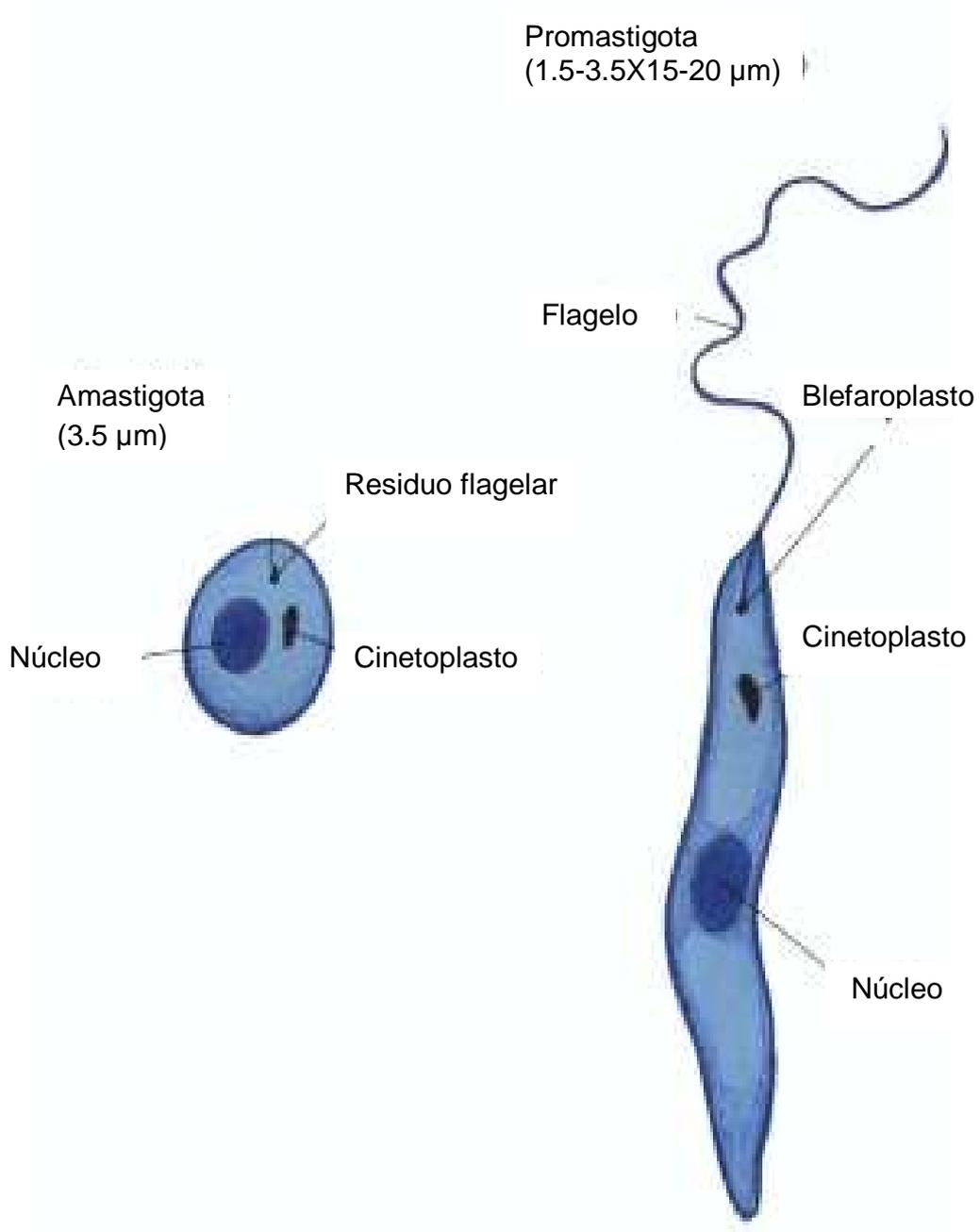
## 1.3 ETIOLOGIA

### 1.3.1 Clasificación Taxonómica

<b>Reino:</b>	PROTISTA
<b>Subreino:</b>	PROTOZOA
<b>Fhylum:</b>	SARCOMASTIGOPHORA
<b>Subfhylum:</b>	MASTIGOPHORA
<b>Clase:</b>	ZOOMASTIGOPHOREA
<b>Orden:</b>	KINETOPLASTIDA
<b>Suborden:</b>	TRYPANOSOMATINA
<b>Familia:</b>	TRIPANOSOMATIDAE
<b>Género:</b>	<i>Leishmania</i> (P. Jorge, Ezquerria A, 2001)

Los miembros de este género se presentan en vertebrados, encontrándolos en las células del sistema retículo-endotelial incluyendo células endoteliales y leucocitos polimorfonucleares; el parásito se puede encontrar en todo el cuerpo: bazo, hígado, médula de los huesos, pulmón, riñón, nódulos linfáticos y piel. Son transmitidos por insectos hematófagos *flebotomos* (Viejo Mundo) y *Lutzomyia* (Nuevo Mundo) (Quiroz Romero, H. 1999).

Las especies de *Leishmania* son difíciles de diferenciar morfológicamente. Los métodos taxonómicos actuales han mostrado la existencia de especies basadas principalmente en la distribución geográfica, datos epidemiológicos y clínicos y el tipo de enfermedades que causan en el hombre (Urquhart, G.M. 2001).

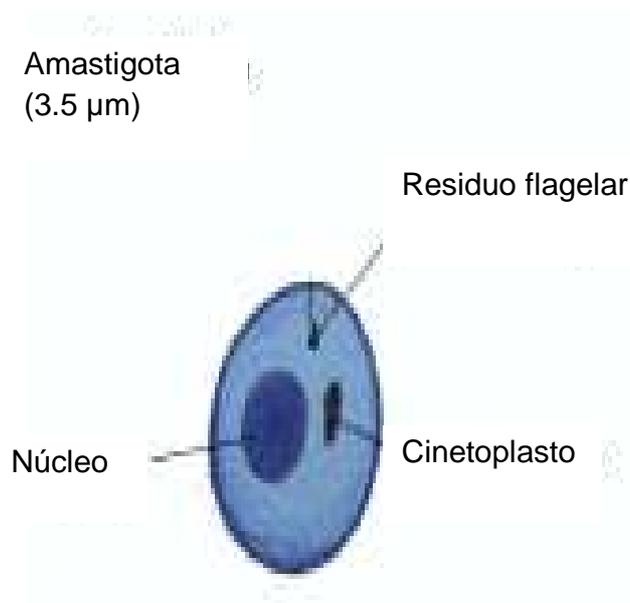


**Figura 1.** Diagrama de *Leishmania* spp. Forma amastigota (intracelular, sin flagelo) y forma promastigota (flagelada)

### 1.3.2 Estados del Ciclo Biológico de *Leishmania*

Las Leishmanias presentan varias formas en su ciclo biológico. Así, se encuentran básicamente como formas extracelulares flageladas en el interior del tracto digestivo del vector o como formas intracelulares inmóviles en el interior de macrófagos de los hospedadores vertebrados (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

**Estado amastigote:** es la forma intracelular en macrófagos y células fagocíticas, que se produce a las pocas horas de su penetración en el hospedador vertebrado. Aparecen como cuerpos redondeados u ovals, de 2-4  $\mu\text{m}$  de diámetro, con un núcleo en posición central y un orgánulo muy basófilo, de forma y tamaño variables, denominado cinetoplasto, adyacente a él (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

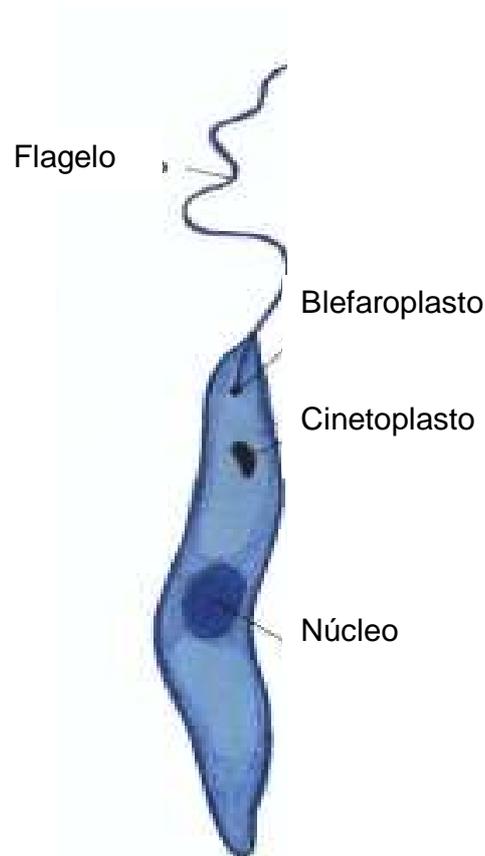


**Figura 2.** Estado amastigote

**Estado promastigote:** es la forma que se presenta en el aparato digestivo del flebótomo. Es un flagelado móvil, con cuerpo elongado de 15  $\mu\text{m}$ , aproximadamente, y un solo flagelo de casi la misma longitud que el cuerpo. El extremo anterior es cónico y el posterior redondeado. El núcleo se localiza en el centro del cuerpo y el cinetoplasto cerca del extremo anterior, próximo al lugar de donde sale el flagelo.

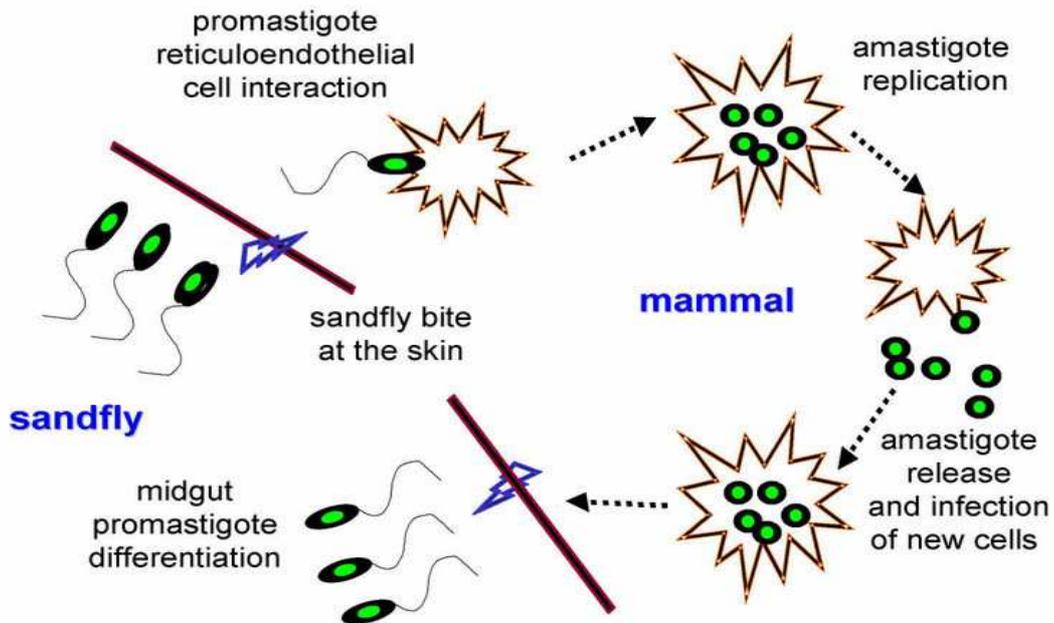
La forma infectante para el hospedador definitivo son los promastigotes metacíclicos, una población diferenciada al final del ciclo intravectorial, más pequeños, extremadamente activos y móviles y con un flagelo muy largo (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

Promastigota (1.5-3.5x15-20 $\mu\text{m}$ )



**Figura 3.** Estado promastigote

## 1.4 CICLO BIOLÓGICO DE *Leishmania* spp.



**Figura 4.** Ciclo biológico de la *Leishmania*.

**Etapas en el Hospedador vertebrado.** La leishmaniosis es transmitida por la picadura de un insecto hematófago. El insecto inyecta en la sangre la forma infecciosa, los promastigotes. Los promastigotes son fagocitados por los macrófagos y se transforman en amastigotes. Estos se dividen y multiplican por fisión binaria longitudinal en las células infectadas, y originan la rotura del macrófago. Los amastigotes liberados son fagocitados por otros macrófagos, que se distribuyen a distintos tejidos, dependiendo en parte de la especie de *Leishmania*. Esto origina las manifestaciones clínicas de la leishmaniosis.

**Etapas en el insecto.** El insecto se infecta al ingerir sangre con macrófagos infectados por amastigotes. En el intestino del insecto, los parásitos se diferencian en promastigotes, que se multiplican y migran a la probóscide en formas metacíclicas infectantes para el vertebrado. Si el insecto realiza otra picadura, los promastigotes pasan a la sangre del huésped, completándose el ciclo (wikipedia), (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

El mantenimiento del ciclo biológico de *Leishmania* depende necesariamente de la capacidad de los promastigotes para colonizar el aparato digestivo del hospedador intermediario, y de la de los amastigotes para establecer un parasitismo intracelular en el macrófago del hospedador vertebrado.

El tiempo requerido para completar el ciclo en el insecto es variable, dependiendo de la especie de *Leishmania*, del vector y de las condiciones ambientales, aunque, por lo general, oscila entre 6-14 días (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

## **1.5 ESPECIES DE LEISHMANIAS**

La diferenciación de especies en el género *Leishmania* ha constituido durante mucho tiempo un apartado muy problemático, puesto que la morfología del parásito no es un criterio útil para la especiación. En un principio se emplearon características extrínsecas del parásito para posteriormente basarse en propiedades intrínsecas. Además se han identificado distintas entidades taxonómicas (subespecies, complejos, zimodemas) y utilizado diversas nomenclaturas. El modelo taxonómico más ampliamente aceptado hoy es el basado en la identificación de isoenzimas. La movilidad electroforética de un grupo determinado de isoenzimas (generalmente 15 y 20) permite individualizar a un zimodema, que es considerado como la entidad taxonómica básica para la clasificación actual del género *Leishmania*. El zimodema se corresponde con una línea de parásitos con el mismo perfil enzimático; los zimodemas se agrupan en especies y éstas en complejos. Un complejo es un conjunto de zimodemas íntimamente relacionados entre sí, que difieren fenotípicamente de los grupos de zimodemas que constituyen otros complejos. Con estos criterios, la clasificación del género quedaría como sigue (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999), (OPS 1996), (P. Jorge, Ezquerro A, 2001).

VIEJO MUNDO

NUEVO MUNDO

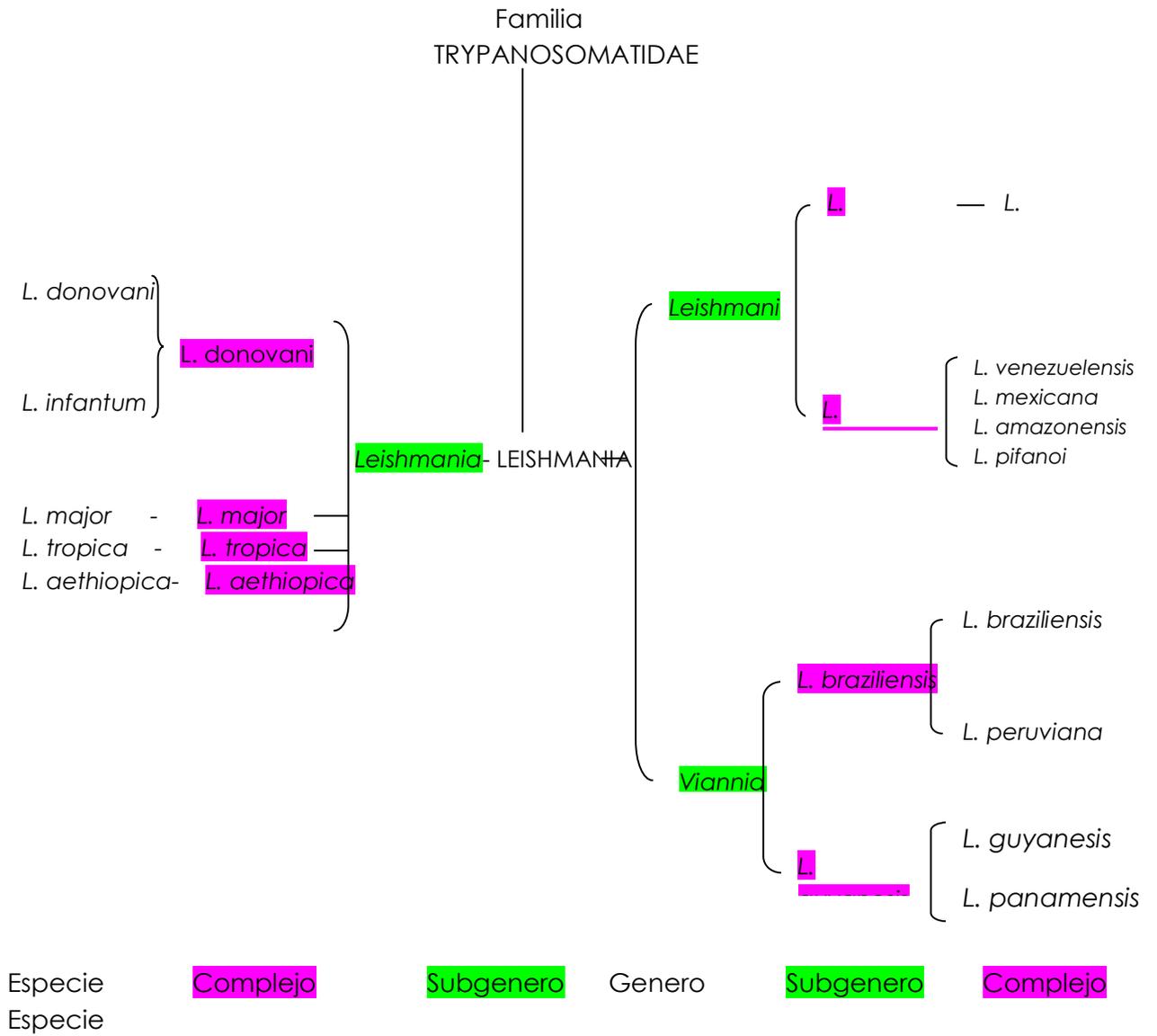


Figura 5. Especies de Leishmanias

**Cuadro 1. Algunas características de las especies de *Leishmania*.**

Especie	Síndrome	Distribución geográfica	Reservorio principal	Vector principal
<b>Complejo mexicana</b> <i>L. mexicana</i>	Cutáneo, raramente difuso	Belice, Brasil, Guatemala, México, Venezuela	Roedores	<i>Lutzomyia olmeca</i>
<i>L. amazonensis</i>	Cutáneo y difuso	Brasil	Roedores y marsupiales	<i>L. flaviscutellata</i>
<i>L. venezuelensis</i>	cutáneo	Venezuela	Desconocido	<i>L. olmeca</i>
<b>Complejo braziliensis</b> <i>L. braziliensis</i>	Cutáneo y mucocutáneo	Bolivia, Brasil, Colombia, Paraguay, Perú, Venezuela	Roedores, perros	<i>L. wellcomei</i>
<i>L. panamensis</i>	Cutáneo, raramente mucocutáneo	Colombia, Costa Rica, Panamá	Perezoso	<i>L. trapidoi</i>
<i>L. guyanensis</i>	Cutáneo	Argentina, Guayana Francesa, Guyana, Perú, Suriname	Perezoso, hormiguero	<i>L. umbratilis</i>
<i>L. peruviana</i>	Cutáneo		Perro	<i>L. peruensis</i> <i>L. verrucarum</i>
<b>Complejo tropica</b> <i>L. tropica</i>	Cutáneo	Suroeste de Asia, Medio Oriente, litoral mediterráneo	Hombre, perros	<i>Phlebotomus sergenti</i>
<i>L. major</i>	Cutáneo	África, al sur del Sahara, suroeste de Asia, Medio Oriente	Jerbo	<i>P. papatasi</i> <i>P. papatasi</i> <i>P. caucasicus</i>
<i>L. aethiopica</i>	Cutáneo y difuso	Etiopía, Kenya	Hiráceos	<i>P. longipes</i> <i>P. pedifer</i>
<b>Complejo donovani</b> <i>L. donovani</i>	Visceral	África al sur del Sahara, África occidental, India, Nepal, Pakistán	Hombre, perros, roedores	<i>P. argentipes</i> <i>P. orientalis</i> <i>P. martini</i>
<i>L. infantum</i>	Visceral	Asia central, China, litoral mediterráneo, Medio Oriente	Canidos domésticos y silvestres	<i>P. perniciosus</i> <i>P. major</i> <i>P. caucasicus</i> <i>P. chinensis</i> <i>P. sergenti</i>
<b><i>L. chagasi</i></b>	<b>visceral</b>	<b>América Central y del Sur</b>	<b>Cánidos</b>	<b><i>L. longipalpis</i></b>

Los complejos que causan la leishmaniosis se pueden distinguir por caracteres tales como el vector, la localización del parásito en el intestino del insecto, la patogenicidad del agente para la piel del hámster, y el crecimiento en medios de cultivo (ACHA, 1988).

## 1.6 TRANSMISION

La transmisión de la enfermedad a los hospedadores vertebrados ocurre predominantemente por la inoculación de la forma de promastigote (flagelada) infectivo durante la picadura del *flebótomo* (Viejo Mundo) y *Lutzomyia* (Nuevo Mundo), pequeñas moscas que abundan todo el año en las zonas tropicales y en el verano, en las zonas templadas. El hombre se infecta de modo accidental por las picaduras del vector al penetrar en aéreas enzooticas de la selva. Diversos estudios han demostrado que un gran número de especies de mamíferos silvestres están infectadas; sin embargo, no todos esos animales pueden ser considerados huéspedes primarios, ya sea porque son poco abundantes o porque su tasa de infección es baja para desempeñar esa función. La excepción es el perro, único huésped no humano que se conoce (ACHA, 1988).

### 1.6.1 El Vector.

Los vectores de *Leishmania* son insectos nematóceros que pertenecen a la subfamilia *Phlebotominae*. Al menos 70 de las 600 especies y subespecies conocidas son capaces de transmitir este protozoo. Algunas especies del genero *Lutzomyia* en América (mosca de la arena) y del genero *Phlebotomus* en el Viejo Mundo son vectores de *Leishmania* (Gispert, C. 2000), (MSPAS 1996).

**Moscas de la arena:** son miembros de la familia Psychodidae. Estas moscas están confinadas principalmente a las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Los miembros de este género son moscas pequeñas, parecidas a polillas, de aproximadamente 1.5 a 4mm de tamaño. Las patas son tan largas como las antenas, constituidas por 16 segmentos que con frecuencia tienen un aspecto perlado y peludo. Se conoce comúnmente como “moscas de la arena”, “moscas polilla”, “jejenes buhó o moscas enanas buhó” (Gispert, C. 2000).

### 1.6.2 Morfología.

Los adultos son dípteros de pequeño tamaño, 2-5 mm, color amarillento, alas lanceoladas, patas muy largas y todo el cuerpo recubierto por cerdas. La cabeza

tiene dos ojos compuestos, antenas largas y probóscide desarrollada como aparato picador-chupador. Los machos son fitófagos de forma exclusiva y sólo las hembras son hematófagas (Pena, A. A. Blasco Bellido, J. B. González Morán, F. 2000).

En lo que se refiere a la fonología, los flebótomos, se encuentran distribuidos por amplias zonas del mundo, realizando su ciclo vital completo durante todo el año en áreas tropicales; sobreviven a los rigores del invierno (diapausa) en cuarto estadio larvario. Los hábitats varían desde los propios de selva húmeda a regiones muy áridas, con distribución entre el nivel del mar y los 1500 mts e incluso más. Tienen actividad crepuscular y hasta pasada la media noche, siempre y cuando la temperatura sea superior a los 18°C y no haya viento. El vuelo es corto (Aprox. 1km.), silencioso, acostumbran a avanzar dando saltitos en zig-zag y la picadura es mas dolorosa que la de los culícidos. Un animal puede sufrir docenas de picaduras en una sola noche. Una vez alimentadas, las hembras vuelven a sus refugios naturales para reposar y filtrar la sangre antes de buscar el lugar de ovoposición que sucederá unos 4 a 5 días más tarde (Gispert, C. 2000).

### **1.6.3 Capacidad vectorial.**

La adaptación de los flebótomos al medio ecológico en el que viven los vertebrados de los que se van a alimentar, será pieza clave para que exista la transmisión, determinada por los siguientes aspectos:

- a. El carácter obligatorio de la transmisión por la picadura de los flebótomos.
- b. Lo depurado de las interrelaciones entre *Leishmania* y el flebótomo.
- c. La especificidad relativa en la alimentación de cada especie de flebótomo hacia un vertebrado determinado.
- d. La diferente tendencia antropofílica de cada especie de flebótomo, por lo que significa un riesgo epidemiológico.
- e. Los hábitats particulares que condicionan la distribución de cada especie de flebótomo.

La gran mayoría de las especies de flebotominos necesita ingurgitar sangre para desarrollar los óvulos. El tiempo que se tarda entre la ingesta de sangre y la puesta de huevos se llama ciclo gonotrófico. Los adultos viven una media de cuatro semanas por lo que realizan el ciclo gonotrófico tres o cuatro veces.

Con el fin de evaluar el riesgo de transmisión en una zona dada y establecer las medidas de control oportunas, es imprescindible definir la capacidad vectorial de las especies de flebótomos presentes, la cual determina la peligrosidad epidemiológica.

La capacidad vectorial viene condicionada por:

- Factores de densidad de población.
- Índice de infestación.
- La mayor expectativa de vida favorece que un flebótomo puede infectarse a lo largo de ella.
- Duración del ciclo gonotrófico
- Hay, además, una serie de factores ligados a la etiología del insecto.

Los picadores intra –o extradomiciliarios, endo- y exofílicos, y el habito de picadura diurno o nocturno, explican cómo es la transmisión. Así, los que pican dentro de las viviendas, durante la noche, y son reposadores intradomiciliarios después de la ingesta (endofílicos), son más fáciles de controlar mediante barreras mecánicas y uso de insecticidas residuales. La zoofilia o antropofilia indica la tendencia a picar animales o humanos, lo que también señala parte del riesgo epidemiológico. El alcance del vuelo de los flebótomos no es un factor de mayor importancia al ser muy corto. Por ultimo, el fototropismo es positivo en los flebótomos, motivo por el que acuden en la noche a picar dentro de las viviendas (MSPAS 1996).

**Cuadro 2. Factores epidemiológicos que determinan la transmisión del parásito.**

<b>Factores epidemiológicos que determinan la transmisión del parásito</b>
<i>FACTORES PRIMARIOS</i>
<p><b>Dependientes del reservorio</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Alta densidad del animal y alta enzootia(endemia)</li> <li>✚ Proximidad del reservorio, vector y humano</li> <li>✚ Evolución crónica de la infección</li> <li>✚ La especie de <i>Leishmania</i> aislada del reservorio, vector y humano ha de ser idéntica.</li> </ul> <p><b>Dependientes del vector (peligrosidad epidemiológica)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Expectativa de vida del vector</li> <li>✚ Duración del ciclo gonotrófico y su concordancia</li> <li>✚ Densidad de población. Frecuencia media de picadura</li> <li>✚ Zoofilia y antropofilia (afinidad hacia los animales y los humanos)</li> <li>✚ Endofilia y exofilia</li> <li>✚ Alcance de vuelo</li> <li>✚ Duración del ciclo del parásito en el vector (metaciclogénesis)</li> <li>✚ Fototropismo</li> </ul> <p><b>Receptividad del humano a la infección</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Hábitos de la población</li> <li>✚ Tipo de vivienda</li> <li>✚ Profesiones</li> <li>✚ Proximidad del humano al hábitat del vector</li> </ul>
<i>FACTORES SECUNDARIOS</i>
<p><b>Biológicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Zonas húmedas, secas, áridas</li> <li>✚ Tipo de vegetación</li> <li>✚ Climatología</li> </ul> <p><b>Ecológicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Presión con insecticidas</li> <li>✚ Roturación(romper, arar) de nuevas áreas para vivienda o cultivo</li> <li>✚ Movimiento de poblaciones (turismo, militares, éxodos, etc.)</li> </ul>

#### **1.6.4 Ciclo en el insecto.**

Se ha comprobado que numerosas especies de *Phlebotomus spp.* Pueden comportarse como vectores de *Leishmania spp.* Al alimentarse de sangre, *Phlebotomus* ingiere leucocitos y células mononucleares con amastigotes. Estas formas se desarrollan en el intestino medio del insecto, produciéndose un número enorme de promastigotes. Después, los promastigotes pasan al esófago y a la faringe del hospedador invertebrado, y son tan abundantes que pueden llegar a obturar el tubo digestivo. Cuando estos nematóceros se alimentan, un tapón de microorganismos pueden ser desatascado e inyectado en el mamífero al que pican. También se puede contraer la infección aplastando sobre la piel insectos contaminados (E. J. L. Soulsby, 1987).

#### **1.6.5 El Reservorio.**

La leishmaniosis es una zoonosis, y por lo tanto el hombre es un huésped accidental que adquiere la infección cuando entra en las áreas enzoóticas de la selva para realizar tareas como maderero, petrolero, ganadero o agricultor, entre otras. La leishmaniosis cutánea puede ser un problema importante en los asentamientos campesinos dentro de la selva. La colonización permanente del hombre en áreas enzoóticas produce cambios ecológicos considerables, sobre todo por la deforestación, el reemplazo de animales silvestres por domésticos y el reemplazo o variación del predominio de unas especies de insectos por otras más adaptadas al nuevo ambiente (Robert F. Harwood, Maurice T. James, 1987).

#### **1.6.6 Características de los reservorios**

Se define como reservorio de una enfermedad aquel animal que garantiza tanto la existencia del agente etiológico como facilita su posterior transmisión. Para que pueda ser considerado reservorio principal debe reunir las siguientes condiciones en mayor o menor grado:

- a. El animal, a menudo de hábitos gregarios, debe estar representado en número suficiente en el nicho ecológico donde aparece la enfermedad y

ser lo bastante longevo para asegurar que es fuente de alimentación para el insecto vector. La relación entre el animal y el flebótomo tiene que ser estrecha.

- b. El curso de la infección en el animal tiene que ser crónico para que los parásitos estén presentes en cantidad y tiempo suficientes para asegurar la infección de los flebótomos.
- c. Se requiere que esa enzootia sea lo suficientemente prevalente para justificar los casos humanos. El contacto entre el flebótomo y el humano tiene que estar asegurado.
- d. Los aislados de *Leishmania* obtenidos del reservorio, una vez caracterizados con técnicas bioquímicas, deben ser los mismos que los de humano y vector del mismo nicho ecológico.

Un animal es reservorio secundario cuando estas características se reúnen sólo de manera parcial, indicando que la interrelación entre el animal y el protozoo es reciente en términos evolutivos y, por tanto, inestables. Como es lógico, los reservorios principales son escasos y los secundarios numerosos.

Las condiciones medioambientales de un biotopo determinan un tipo de vegetación y están, los animales e insectos presentes. Por regla general existe un ciclo selvático de la leishmaniosis mantenido entre un reservorio salvaje y los flebótomos del entorno. Por sinantropía, bien del reservorio o del vector, el ciclo se aproxima al ámbito peridoméstico para, finalmente arraigarse entre los animales y vectores domésticos. El humano se infecta normalmente de manera accidental bien al penetrar en el ciclo selvático por condicionantes de vivienda o de actividad, bien al implantarse un ciclo peridoméstico o doméstico.

Las leishmaniosis pueden ser zoonosis si el reservorio es animal, o antroponosis si es el humano. La mayoría pertenece al primer grupo y, como es obvio, los métodos de control difieren. Los reservorios pueden ser, a su vez, animales domésticos,

peridomésticos o salvajes, los que también determina las medidas de control posibles (Gispert, C. 2000), (MSPAS, 1996).

#### **1.6.7 El perro como reservorio.**

Los cánidos son buenos reservorios de *L. infantum*/*L. chagasi*. En el Viejo Mundo, el lobo (*Canis lupus*) y el chacal (*Canis aureus*) aparecen parasitados, aunque la baja densidad de estos animales y su lejanía del humano les relega a un plano muy secundario como reservorio. Solo el zorro (*Vulpes vulpes*) puede estar jugando un papel de sinantropía entre el ciclo selvático y el peridoméstico por su cambio de hábitos, en zonas mas próximo a los vertederos que a la caza. De hecho *L. infantum* se aísla del zorro en una proporción muy similar a la del perro. En América se considera como reservorio de *L. chagasi* el zorro cangrejero (*Cerdocyon thous*) y el zorro *Lycalopex vetulus* que sufre la enfermedad de manera fulminante por lo que se cree es un reservorio reciente en términos de coevolución, todos ellos con un vector asociado, *Lutzomyia longipalpis*. Al perro, que también aparece parasitado en su doble versión cutánea y visceral, se le considera eslabón entre el ciclo selvático y el domestico (Pena, A. A. Blasco Bellido, J. B. González Morán, F. 2000).

La distribución de la *Leishmania* canina es focal, dependiendo de la presencia del vector, lo que implica la necesidad de hacer estudios precisos en aquellas zonas donde se pretenda realizar un programa de control. Los únicos vectores probados son los flebótomos, como se ha mencionado, en los numerosos intentos de infectar experimentalmente otros artrópodos, solo se ha conseguido la transmisión mecánica por la mosca hematófaga *Stomoxys calcitrans*. Se ha publicado la presencia de *Leishmania* en el semen de perros infectados pero la relevancia epidemiológica del hallazgo está por definir. También se ha probado la transmisión vertical.

Erróneamente se ha considerado que solo los perros con síntomas son infectivos para los flebótomos, sin embargo, se ha podido demostrar que los asintomáticos también lo son (Gispert, C. 2000), (Pena, A. A. Blasco Bellido, J. B. González Morán, F. 2000).

## 1.7 ASPECTOS CLINICOS

Tras su inoculación, los promastigotes proliferan en los macrófagos de la zona y, tras un periodo de semanas o meses, invaden órganos internos tales como el bazo, hígado, médula ósea, y otros, en los que se multiplican, destruyendo los macrófagos en el proceso. En casos avanzados, la afección del tracto digestivo se manifiesta en diarrea, emaciación marcada y abdomen extendido, y la mortalidad alcanza al 70-90% de los casos no tratados. La muerte acontece en las primeras semanas, o a los pocos años de contraer la infección (E. J. L. Soulsby, 1987).

En el examen *post mortem* se observan emaciación, anemia, bazo intensamente agrandado, así como agrandamiento hepático con una importante infiltración grasa. Las células endoteliales y los macrófagos contienen masas de amastigotes. Generalmente, los ganglios linfáticos se presentan infartados, con sus células invadidas por formas infectantes (E. J. L. Soulsby, 1987).

El perro sufre una patología similar a la descrita en los casos humanos, así, aparecen anemia, emaciación, caquexia, dermatitis y pérdida de pelo alrededor de los ojos y la boca, nódulos subcutáneos infartados, uñas deformadas alargadas (onicogrifosis), hemorragia en el hocico y, por ultimo la muerte, siendo la diarrea el signo clínico terminal. En el examen *post mortem* se aprecian esplenomegalia, hepatomegalia y adenopatías. Pueden ocurrir lesiones cutáneas con caída de pelo y ulceraciones en labios y párpados. En los casos crónicos son evidentes un eczema típico y ulceración de la piel (E. J. L. Soulsby, 1987), (MSPAS, 1996), (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999), (Urguhart, G.M. 2001).

## **1.8 EPIDEMIOLOGIA**

La leishmaniosis es una enfermedad de amplia distribución geográfica en el mundo, y abarca zonas áridas, tropicales y subtropicales del Viejo y Nuevo Mundo (OPS, 1996).

### **1.8.1 Situación de la leishmaniosis en las Américas.**

Se presenta desde el sur de los Estados Unidos hasta la Argentina. Esta enfermedad se asocia sobre todo con la desnutrición y, en zonas rurales, con la presencia de perros.

En la mayoría de los casos, el vector principal asociado con la leishmaniosis es *Lutzomyia longipalpis*. Los perros domésticos son los reservorios en la transmisión y diseminación de la leishmaniosis, aunque algunos otros animales salvajes podrían mantener y propagar esta zoonosis en situaciones especiales.

Son tres formas clínicas diferentes de leishmaniosis que se presentan en las Américas: leishmaniosis visceral (LV), cutánea (LC), y mucocutánea (LMC) (OPS, 1996).

#### **1.8.1.1 BRASIL.**

Se notificaron en por lo menos 17 de los 26 estados, casos de LV. Entre 1984 y 1994. Los focos de mayor endemicidad se dan en el Nordeste, en los estados de Bahia, Ceará, Maranhao, Pernambuco, Piaui y Rio Grande del Norte.

La LC y LMC está muy difundida. En 24 de los 26 estados se registraron casos. Entre 1984 y 1993 se registraron 119,683 casos, con un pico en 1987 cuando se registraron 26,611 casos.

La LV canina está muy difundida. En algunas localidades endémicas están infectados más del 20% de los perros, pero por lo general la tasa de infección oscila entre 3 y 13%. Entre 1979 y 1986 se sometieron a pruebas serológicas 611,148

perros y 32,264 (5,28%) dieron resultados positivos infectados con *L. chagasi*. El vector comprobado es *Lu. longipalpis* (OPS, 1996).

#### **1.8.1.2 COLOMBIA.**

Conocida desde 1944, la LV es endémica principalmente en el valle de río Magdalena y sus tributarios, desde donde se extiende progresivamente hacia el norte y hacia el sur. Entre 1944 y 1980 se registraron 107 casos, 80% en niños menores de 5 años de edad. En 1988 se registraron 53 casos, y 150 en 1990. El agente etiológico es *L. chagasi* y el vector *Lu. longipalpis* (OPS, 1996).

La LC y LMC, que es ampliamente distribuida en 23 de las 31 regiones administrativas. En el período comprendido entre 1929 y 1979 se notificaron unos 1900 casos. Entre 1981 y 1986 se notificaron más de 9,300 casos, incluidos 600 de LMC, y en 1988 se notificaron 3,322 casos, incluidos 139 de LMC (OPS, 1996).

Con el propósito de establecer la prevalencia de leishmaniosis canina se efectuó un estudio descriptivo en 307 caninos, ubicados en 17 veredas de los municipios de Neiva, Tello y Algeciras, en Colombia. El 1,4 % de los caninos analizados presentaron amastigotes en el aspirado y el 17,2 % fueron seropositivos. La prevalencia de anticuerpos contra *L. chagasi* es alta comparada con otros estudios realizados en Colombia y otros países (Fernández, J. Charry, T. Bello F. J. 2002).

En un estudio realizado por Osorio en el foco de Tolima-Cundinamarca en 1999, se estableció que el 42% (15/35) de los perros fueron positivos por método de PCR-hibridación, mientras que el 57% (20/35) tenía títulos de anticuerpos por ELISA, y solamente el 11% (4/35) y 9% (3/35) fueron positivos por cultivo y evaluación microscópica (L. TRAVI, BRUNO. 2000).

#### **1.8.1.3 VENEZUELA.**

Hasta la fecha se han registrado aproximadamente 500 casos de LV en Venezuela. Se sospecha que el vector es *Lu. longipalpis*, ya que algunos ejemplares se infectaron después de alimentarse sobre un perro naturalmente infectado. Se

considera que el perro es el reservorio domestico principal. De 2,276 perros examinados durante un estudio, 52 aparentemente tenían *Leishmania*.

Entre los 37,000 casos registrados de 1955 a 1990, de LC y LCM, el 70% correspondían a los cuatro estados de la zona andina (OPS, 1996).

#### **1.8.1.4 PERU.**

Existen dos formas principales de leishmaniosis cutánea (LC) en el Perú, definidas principalmente por características geográficas y clínicas: la leishmaniosis andina (uta) y la leishmaniosis selvática (espundia). Los agentes etiológicos son del subgénero *Viannia*. Hasta octubre de 1992 el Ministerio de Salud Publica notifico un total de 581 casos (OPS, 1996).

En otro estudio cuyo objetivo era determinar la presencia de infección por *Leishmania spp* en los caninos domésticos del distrito de Pampas Grande, Perú. Un total de 83 perros provenientes de 7 caseríos, fueron muestreados entre agosto y septiembre de 2000. Los resultados indicaron 3.6% de animales positivos a frotis-coloración Giemsa e IFI, y 8.4% de animales reactivos positivos a inmunodermoreaccion de Montenegro (IDR). Se concluye que la infección por *Leishmania spp* en perros del distrito de Pampas Grande está presente en al menos 5.4% de la población canina del lugar (Medina R. G. Chávez, V. A. Minaya, G. G. 2000).

#### **1.8.1.5 PANAMA.**

Desde 1977 han aumentado el número de casos de LC. En 1986 se notificaron aproximadamente 1,500 casos. Anteriormente, las zonas con mayor endemicidad estaban en las provincias de Colón y Panamá. Entre 1970 y 1980 se registraron 362 casos en el Laboratorio Conmemorativo Gorgas. En la provincia de Bocas del Toro, la incidencia era de aproximadamente 20 casos por 100,000 habitantes (OPS, 1996).

#### **1.8.1.6 NICARAGUA.**

En 1992 se notificaron los primeros seis casos humanos de LV de la costa del pacífico, en donde *Lu. longipalpis* es la especie de flebótomo peridoméstico predominante. El biotipo es el mismo que en Honduras, al otro lado de la frontera, donde también se han diagnosticado casos de LC que probablemente son causados por *L. chagasi*. Se sospecha que el perro es el reservorio principal.

La LC y LMC constituyen un problema importante de salud pública en Nicaragua. En 1980 las autoridades registraron 493 casos, y en los siguientes años se incrementaron. Entre 1980 y 1987 se notificaron más de 9,500 casos. También se han diagnosticado casos de LC causados probablemente por *L. chagasi*. La epidemiología de estos casos debe de ser semejante a la descrita en Honduras (OPS, 1996).

#### **1.8.1.7 MÉXICO.**

Hasta 1991 solo se habían notificado cinco casos de LV en México, todos al sudoeste de la ciudad de México. *Lu. longipalpis* habita en la zona y el perro es el reservorio doméstico sospechoso.

Entre 1991 y 1993 se registraron siete casos en el estado de Chiapas. Seis de estos casos se presentaron en menores de 5 años y el restante es un adulto de 22 años de edad.

En 1993 se registraron 170 casos en el estado de Nayarit de LC Y LMC por *L. mexicana*, en la costa occidental del país. En los perros se ha detectado la presencia de amastigotes en lesiones cutáneas. El vector es *Lu. olmeca olmeca* (OPS, 1996).

#### **1.8.1.8 HONDURAS.**

Los primeros casos de LV se registraron en 1974 y 1975. Entre 1974 y 1983 se notificaron 53 pacientes con LV confirmada parasitológicamente y 16 casos sospechosos. Hasta fines de 1993 había más de 400 casos confirmados parasitológica y serológicamente, de los cuales 96% correspondían a niños menores

de 2 años y 71% eran del sexo femenino. Se identificó *L. chagasi* de aislamientos provenientes de pacientes. *L. chagasi* se aisló de tres especímenes de *Lu. longipalpis*, el presunto vector, el cual es muy común. Se sospecha que el perro es el reservorio.

Tanto la LC como la LMC están presentes en el país y figuran dentro de las 10 primeras causas de morbilidad. En 1988 se notificaron los primeros casos de LC debida a *L. chagasi* procedente de la isla del Tigre, en el golfo de Fonseca, y hasta 1994 se habían presentado más de 500 casos en todas la aéreas endémicas de LV (OPS, 1996).

#### **1.8.1.9 GUATEMALA.**

Solamente se han diagnosticado seis casos de LV hasta 1994. Se supone que el vector es *Lu. longipalpis* y que el perro es el reservorio.

Desde 1988 se han notificado de mil a mil quinientos casos por año de LC y LMC. La notificación de LC es frecuente, en tanto que la de casos de LMC no lo es. El vector del que más se sospecha en relación con la transmisión de *L. mexicana* es *Lu. olmeca olmeca* (OPS, 1996).

#### **1.8.1.10 COSTA RICA.**

Hasta 1994 no se había notificado ningún caso de LV, pero si existe *Lu. longipalpis*, que es el vector de la enfermedad, y *L. chagasi* esta presente en lesiones cutáneas. En 1995 se notifico el primer caso de LV en el país.

La LC y LMC, que se consideran un grave problema de salud pública, son endémicas en las provincias de Limón, Puntarenas, Alajuela y San José. En 1985 se registraron aproximadamente 1,500 casos de LC y LMC. El número de casos de leishmaniosis aumento pronunciadamente de 1982 a 1986. Según se estima en 1987, el número de casos supero los 2,000, y en 1989 hubo 2,500 casos. Esporádicamente se han hallado perros domésticos infectados que podrían actuar como reservorio secundario peridoméstico.

En 1986-1987, en la zona noroccidental de Costa Rica en la provincia de Guanacaste, entre refugiados nicaragüenses se produjo un brote de LC que afectó a 200 personas principalmente niños. Se estableció que el agente etiológico era *L. chagasi* y el vector del que se sospecha es *Lu. longipalpis*, que habita en el área (OPS, 1996).

#### **1.8.1.11 EL SALVADOR.**

En El Salvador no existen antecedentes de investigaciones sobre leishmaniosis canina, pero si existen antecedentes de leishmaniosis humana y la sospecha que el perro es el reservorio doméstico.

##### **Leishmaniosis visceral.**

En El Salvador entre 1905 y 1952 se diagnosticaron cuatro casos autóctonos de leishmaniosis visceral en niños menores de 2 años, todos con insuficiencia de peso, estado nutricional deficiente, fiebre prolongada y hepatoesplenomegalia. La tasa de mortalidad fue de 50%. Entre 1954 y 1984 se registraron solamente 20 casos nuevos, todos en menores de 8 años.

Durante el periodo 1984-1993 se notificaron 33 nuevos casos autóctonos en niños menores de 3 años. El foco se localiza en el occidente del país, en la región fronteriza con Honduras y Guatemala. Se han identificado ocho especies de flebótomos (**Moscas de la arena**) en la zona, y se sospecha que el vector es *Lutzomyia longipalpis*, el cual es bien conocido en la región. Se sospecha que el perro es el reservorio doméstico (OPS, 1996)

##### **Leishmaniosis cutánea (LC) y mucocutánea (LMC).**

En 1947 se notificó el primer caso en un paciente de el sexo masculino que trabajaba en zonas del Petén (Guatemala) y Quintana Roo (México), quien presentaba lesiones ulcerocostrosas en la cara y el cuello. En 1953 se comprobó el primer caso autóctono de leishmaniosis cutánea, en una niña de 12 años originaria del municipio de Masahuat en el departamento de Santa Ana, El Salvador.

Hasta 1984 se habían registrado siete casos autóctonos en El Salvador. La epidemiología se desconoce y se han estudiado pocas cepas. De enero a junio de 1993 se notificaron 54 casos autóctonos en El Salvador relacionados con un brote ocurrido a fines de 1992, que produjo 30 casos. Todos ellos se asociaron con las migraciones no controladas que tuvieron lugar a raíz del conflicto bélico incluyendo algunas áreas en el norte de El Salvador; no se identificó la especie de parásito con que se relacionaban. A fines de 1992 se notificó la presentación atípica de leishmaniosis cutánea muy parecida a la notificada en Honduras, en la isla del Tigre. Mediante la búsqueda activa de casos en un área de leishmaniosis visceral, se comprobaron 54 casos de LC causada por *L. chagasi* (OPS, 1996).

En 1960 se realizó un estudio de vectores en San Vicente en el Salvador que demostró la existencia de ocho especies entre las que predominaba *Lutzomyia longipalpis*, agente transmisor de la enfermedad. Las otras especies eran *Lu. evansi*, *Lu. cayennensis*, *Lu. cruciata*, *Lu. barrettoii*, *Lu. deleoni*, *Lu. gomezi* y *Lu. chiapaensis* (OPS, 1996).

En San Ildefonso municipio del Departamento de San Vicente, desde 1974 hasta el año 2003 se han registrado 184 casos de leishmaniosis cutánea, desde 2004 hasta el año 2007 se han registrado 50 nuevos casos todos diagnosticados positivos mediante frotis y la prueba de Montenegro en la Unidad de Salud de dicho municipio (Archivos Unidad de Salud de San Ildefonso, 2007).

**Cuadro 3.** Procedencia de casos de leishmaniosis cutánea en El Salvador, 1992-1993.

<b>Procedencia</b>	<b>Casos</b>
<b>Cantón de Lajas y Canoas</b>	18
<b>Cantón de El Limón</b>	14
<b>Municipalidad San Ildefonso</b>	9
<b>San Pablo Canales y San Vicente</b>	6
<b>Cantón de San Lorenzo</b>	4
<b>Cantón de El Carreto</b>	3
<b>Cantón de El Tortuguero y Santa Clara</b>	3

*Fuente:* Ministerio de Salud Pública y Bienestar, Unidad de Epidemiología.

**Cuadro 4.** Casos de leishmaniosis cutánea en El Salvador por grupos de edad, 1992-1993.

<b>Grupo de edad</b>	<b>Casos</b>
<b>&lt;1</b>	0
<b>1-4</b>	2
<b>5-14</b>	27
<b>15-44</b>	26
<b>45-60</b>	2

*Fuente:* Ministerio de Salud Pública y Bienestar, Unidad de Epidemiología.

## **1.9 DIAGNOSTICO DE *Leishmania spp.***

### **1.9.1 DIAGNOSTICO CLÍNICO.**

El diagnóstico de la leishmaniosis canina mediante signos de la enfermedad y los datos no específicos de laboratorio resultan poco fiables por las siguientes razones:

1. En el examen clínico, más del 50% de los perros que padecen infecciones demostradas resultan aparentemente sanos (asintomáticos). Estos perros se identifican normalmente como pertenecientes a tres categorías, es decir, aquellos que progresan hacia la enfermedad evidente, aquellos que continúan sin síntomas durante periodos prolongados (incluso durante toda su vida), y los perros que se curan de forma espontánea. Los perros de los dos últimos grupos suelen ser considerados resistentes.
2. Cuando los signos clínicos presentes pueden ser variables, y son similares a aquellos causados por otras enfermedades.
3. Con el uso amplio en la actualidad de las herramientas de diagnóstico específico, se tiene una información cada vez mayor de formas atípicas de leishmaniosis canina, como la dermatitis localizada, la colitis crónica y los desordenes de los sistemas cardiovascular, respiratorio y musculoesquelético, que suponen un auténtico desafío para el diagnóstico clínico (GRADONI, L. 2002).

### **1.9.2 DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO.**

Esta dirigido a evidenciar la presencia del parásito a partir de muestras procedentes del animal enfermo. Es un método de especificidad total, pero con una sensibilidad no muy alta, condicionada por factores como la toma de muestras, la fase de la enfermedad, la carga parasitaria, etc. La presencia del parásito se puede poner de manifiesto mediante métodos directos o indirectos.

### **1.9.2.1 Métodos directos.**

#### **1.9.2.1.1 Tinción del parásito**

Lo primero que se practica es un aspirado generalmente de nódulo poplíteo o de medula ósea. El contenido del aspirado se emplea tanto para el frotis, que se tiñe de manera convencional con colorante de Giemsa u otros colorantes de Romanowsky para observar los amastigotes que se encuentran intracelularmente o bien dispersos por el campo al haberse roto los macrófagos cargados de leishmanias al hacer la impronta. La sensibilidad de la microscopía de medula ósea es superior a la de nódulo linfático (60-75% frente a 40-50%) pero depende de la carga parasitaria, asociada a la gravedad del proceso. No obstante, en estudios sectoriales cruzados (cross-sectional), la sensibilidad del examen microscópico es normalmente pobre (mas o menos del 60%), debido a la elevada prevalencia (mayor del 50%) de muestras de nódulo linfático y medula ósea con bajas densidades parasitarias (1-10 parásitos/1000 campos microscópicos) (GRADONI, L. 2002), (P. Jorge, Ezquerria A, 2001).

### **1.9.2.2 Métodos indirectos.**

Se emplean dos variantes: el aislamiento tras la siembra en medios de cultivo y las inoculaciones a animales de experimentación (Xenodiagnóstico).

#### **1.9.2.2.1 Cultivo**

Parte del inoculo de la biopsia o aspirado se puede cultivar. Los medios de cultivo utilizados son axenicos mono- o bifásicos. El mas idóneo es un agar- sangre de conejo al 15%, conocido como medio especifico NNN (Novy-Nicolle-McNeal), en cuyo caso los promastigotes se pueden ver a partir de la primera semana aunque puede requerirse algún pase a medio fresco antes de aislarse los parásitos. El cultivo de los aspirados incrementa la sensibilidad casi un 20%, pero la dificultad de tener un buen medio, la tardanza en lograrse el resultado y las frecuentes contaminaciones lo relegan a un segundo plano, quedando para estudios epidemiológicos en los que se requiere el aislamiento del parásito para su identificación bioquímica. Además, el

numero de muestras tomadas de un perro también afectan la sensibilidad del cultivo ya que los múltiples aspirados de nódulos linfáticos agrandados de diferentes partes del cuerpo aumentan la sensibilidad del cultivo de nódulo linfático en, al menos, el 10%, comparado con una sola muestra aspirada de nódulo linfático. Cuando se encuentran las condiciones optimas, la sensibilidad del cultivo de muestras aspiradas de nódulo linfático mas medula ósea podría aproximarse al 100%, lo cual es comparable a una técnica serológica potente en grupos de perros seleccionados (GRADONI, L. 2002), (P. Jorge, Ezquerra A, 2001).

#### **1.9.2.2 Xenodiagnóstico**

Esta es una técnica para la detección y el aislamiento de un patógeno usando su vector artrópodo natural. Aunque no se puede proponer como una técnica rutinaria de diagnóstico, porque requiere de la colonización de moscas de la arena que no están preparadas, se ha usado para resolver cuestiones epidemiológicas importantes sobre el rol del status clínico y del tratamiento de la leishmaniosis canina. La técnica de xenodiagnóstico directa requiere que una mosca de la arena pique a un perro sedado.

En un intento de hacer este diagnóstico más factible, se ha evaluado una técnica indirecta usando moscas alimentadas artificialmente sobre muestras periféricas de sangre, pero los resultados no fueron estimulantes (GRADONI, L, 2002), (P. Jorge, Ezquerra A, 2001).

### **1.9.3 DIAGNOSTICO INMUNOLOGICO**

El diagnóstico inmunológico resulta determinante, sobre todo cuando los exámenes parasitológicos del material de biopsias o aspirados han resultado negativos. Es muy empleado, además, en estudios de seroprevalencia y determinación de posibles focos enzoóticos de enfermedad. Su objetivo es poner de manifiesto la existencia de anticuerpos específicos anti-leishmania, generalmente del tipo IgG. Son métodos serológicos con alta sensibilidad y especificidad, cuya limitación radica en la imposibilidad de diagnosticar enfermedad cuando no se producen anticuerpos:

durante el periodo de seroconversión, entre 1.5-3 meses tras la infección, y en animales en los que no se estimule la respuesta humoral para la producción de anticuerpos (posibles animales resistentes). Los más empleados actualmente son:

#### **1.9.3.1 Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)**

Es muy utilizado, con gran especificidad y sensibilidad. Se le ha dado el valor de método de referencia. Este supuesto surge de un consenso general entre investigadores, y también porque la IFI es la técnica de primera línea recomendada por el Manual de la Oficina Internacional de Epizootias para las Pruebas Diagnosticas (OIE, 2000). El antígeno más utilizado lo constituyen promastigotes enteros formulados, procedentes de cultivos *in vitro* (GRADONI, L, 2002), (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

#### **1.9.3.2 Método inmunoenzimatico (ELISA)**

Ampliamente contrastado, destaca por su facilidad y versatilidad de empleo. Se han utilizado antígenos diversos, desde proteínas somáticas escasamente purificadas hasta componentes estructurales y proteínas de membrana, lo cual ha repercutido en la sensibilidad y especificidad de la prueba (equiparable a la IFI). Además, se han desarrollado distintas variantes del método básico (como el ELISA competitivo, el Dot-ELISA, el FAST-ELISA) que amplían la aplicabilidad de la prueba (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

#### **1.9.3.3 Aglutinación directa (DAT)**

Desarrollada con posterioridad a las anteriores, es también una técnica con elevada sensibilidad y especificidad, cuya mayor ventaja es su escaso costo y su sencillez de aplicación, ya que no requiere equipamiento específico para su realización (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

#### **1.9.3.4 Inmunotransferencia (inmunoblot)**

Es una técnica cuya aplicación al diagnóstico de la leishmaniosis canina ha sido más reciente. Su sensibilidad y especificidad son muy altas; permite no solo detectar anticuerpos específicos, sino también determinar su especificidad frente a distintas

fracciones antigénicas del parásito. Aunque es una técnica laboriosa y compleja, esta indicada para la resolución de casos dudosos y para la identificación de portadores asintomáticos (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

#### **1.9.4 TECNICAS BIOMOLECULARES.**

En los últimos años se han aplicado varias técnicas de biología molecular basadas en la detección de fragmentos de ácidos nucleicos (ADN) del parásito en los tejidos del hospedador, con lo que realmente se realiza un diagnóstico asertivo parasitológico que supera las limitaciones del diagnóstico inmunológico. Se han ensayado técnicas basadas en sondas de ADN, pero la técnica mas utilizada hasta ahora es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con resultados excelentes en cuanto a sensibilidad y especificidad.

##### **1.9.4.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Esta técnica, desarrollada por Mullis y Col (1987), consiste en la amplificación *in vitro* de un fragmento específico de ADN debido a la extensión simultánea de las dos cadenas por la acción de primers complementarios. La PCR ha sido ampliamente utilizada en diversos estudios. En la leishmaniosis muchos autores reportan su aplicación en el diagnóstico de la enfermedad. Sin embargo, las investigaciones se han orientado hacia la obtención de secuencias de ADN con especificidad de especie, que permitan además del diagnóstico de la enfermedad, la identificación de la especie del parásito infectante (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999), (Rodríguez, N.; Cardona, M.; Zerpa, O.; Barrios, M. Enero- Diciembre 2001).

## 1.10 PROFILAXIS

Las medidas a seguir más significativas en el control de la enfermedad son:

- Asegurar un buen estado sanitario de los perros.
- Realizar un diagnóstico precoz: es aconsejable, sobre todo en zonas endémicas, realizar un diagnóstico serológico que nos garantice que los animales no se han infectado en la época de máxima actividad del vector.
- Evitar los contactos con el vector, utilizando insecticidas repelentes, tanto en el medio como en los animales.
- Potenciar la educación sanitaria de los propietarios de perros.
- Control de núcleos zoológicos.
- Control de perros vagabundos (García Ramos, P. 2001).

La posibilidad de control y erradicación de la leishmaniosis humana está íntimamente relacionada con el control de la leishmaniosis canina, ya que al actuar el perro como el principal reservorio vertebrado de la *Leishmania*, se constituye en un objetivo prioritario. Cualquier intento de control implica el desarrollo de programas de lucha de aplicación generalizada en aéreas extensas de territorio, en los que se incluyan medidas contra los vectores y los reservorios y medidas para la protección de hospedadores definitivos. Considerando estrictamente planteamientos de lucha contra la leishmaniosis humana, una medida de control sería el sacrificio forzoso de todos los perros infectados, procedimiento que se ha seguido en algunas ocasiones con cierto éxito. Sin embargo, dadas las propias limitaciones de esta medida (sobre todo por la dificultad de diagnóstico de todos los perros infectados), y considerando al perro, o concretamente a los perros domésticos, como población que hay que proteger, las posibilidades de control se concretarían en tres tipos de medidas (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

## **1. Lucha contra los insectos vectores, para disminuir la población de flebótomos en las áreas a controlar.**

La más destacada es el empleo de insecticidas de acción residual (malatión, yodofenòs, lindano) en lugares de cría y en lugares de reposo de los flebótomos, especialmente en localizaciones peridomésticas ricas en vegetación (viviendas, alojamientos de animales, paredes de piedra, basureros y otros lugares donde el vector se reproduce). Otra posibilidad es la lucha ecológica, mediante desforestación y reforestación con especies vegetales desfavorables para el crecimiento de los flebótomos (ACHA, 1988), (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999), (E. J. L. Soulsby, 1987).

## **2. Lucha contra los reservorios.**

Se dirige a reducir la fuente de parásitos. Para ello se requiere la identificación de los reservorios silvestres (ratas), reservorios peridomésticos (perros vagabundos) y perros domésticos. Cada uno de estos grupos exige la aplicación de medidas diferentes. Los reservorios silvestres tienen que ser localizados y eliminados. Los perros vagabundos, que son un reservorio más eficaz que los silvestres, también tienen que controlarse, bien con eliminación completa de la población de perros vagabundos o en su defecto, con el diagnóstico y la eliminación inmediata de todos los animales infectados. La actuación con los perros domésticos es diferente; hay en primer lugar que detectar todos los perros domésticos que actúen como reservorios, para lo cual se precisa la adopción de programas regulares de diagnóstico de toda la población que hay que controlar: en los meses de noviembre a enero se pueden detectar los casos infectados en la temporada de transmisión anterior (mayo a septiembre). Con los perros infectados se procedería (según las circunstancias) al sacrificio o al establecimiento inmediato del tratamiento, con el objetivo de eliminar o reducir la capacidad infectante de ese perro durante la temporada de transmisión (ACHA, 1988), (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999), (Urguart, 2001), (E. J. L. Soulsby, 1987).

Hay que recordar que es largo (muchas veces indefinido), caro, un tratamiento y que muy pocas veces se llega a la curación total del perro. Hay muchos fármacos que han mostrado eficacia en el tratamiento, sin embargo los más estudiados y utilizados son las sales de antimonio y el alopurinol. Generalmente se aplican dosis diarias, por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa, durante unos 40 días, repitiendo con frecuencia el tratamiento después de un periodo de descanso (15-30 días). De esta forma, un porcentaje notable de los animales tratados muestra una clara recuperación clínica, aunque sin certeza de curación parasitológica (García Ramos, P. 2001), (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

### **3. Protección de los hospedadores definitivos.**

Se incluyen en este apartado las medidas que impide la infección del hombre y de los perros domésticos, que según diversos estudios, es la vía más prometedora de control de la enfermedad (junto con la eliminación de los vectores). Puede considerarse interceptando vectores (es decir, protegiendo al perro de la picadura del vector, con lo que impide la inoculación del parásito) y mediante el desarrollo de resistencia en los hospedadores. Esta última posibilidad tiene como base la inmunoprolifaxis, empleando vacunas. Se han realizado ya algunos ensayos en el perro, con parásitos íntegros y con componentes antigénicos y, aunque los resultados hasta ahora disponibles no son definitivos, ésta es una línea de investigación en la que están cifradas gran parte de las posibilidades inmediatas de control de la enfermedad (CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999).

#### **Tratamiento en humanos en El Salvador:**

Los medicamentos en orden de prioridad para la forma cutánea.

1. Antimonial de N metil glucamina a dosis de 10 a 20 mg. x kg. de peso IV lento o IM por 20 días consecutivos.
2. Pentamidina 4 mg x kg IM cada 2 días hasta completar 2 gr.

3. Anfotericina B: 0.5 mg x kg x día IV aumentando 1 mg. x kg. en días alternados (máximo 50 mg x día) (Archivos Unidad de Salud de San Ildefonso).

## 1.11 LEISHMANIOSIS CUTANEA

**Sinonimia.** Leishmaniosis cutánea, ulcera de los chicleros, espundia, *pian bois*.

En las Américas, uta y buba. En el Viejo Mundo, furúnculo de oriente, botón de Alepo, de Bagdad o de Delhi, y otros nombres locales.

**Etiología.** Protozoos flagelados de la familia Trypanosomatidae, genero *Leishmania*, cuyo ciclo biológico es relativamente simple.

**Distribución geográfica.** Algunas leishmanias de las Américas parecen ser autóctonas, pero otras pueden haber sido importadas del Viejo Mundo. La leishmaniosis cutánea humana se presenta en las Américas desde el sur de México hasta el norte de la Argentina. En las islas del Caribe solo hay leishmaniosis autóctona en la República Dominicana; en contraste en América del Sur solo Chile y el Uruguay están libres del parásito.

**La enfermedad en el hombre.** La leishmaniosis cutánea es una enfermedad polimorfa que afecta la piel, o la piel y las mucosas. La lesión empieza como un eritema pruriginoso que mas tarde forma una pápula, la cual se transforma en una ulcera indolora. El periodo de incubación dura entre una semana y varios meses. Las lesiones pueden ser únicas o múltiples y, ocasionalmente, no ulcerativas y difusas. Aunque en general se curan espontáneamente en unas semanas o meses, en ocasiones pueden persistir durante un año o mas. Se ha confirmado que la cura espontanea de la leishmaniosis en el hombre depende de la inmunidad mediada por células.

**La enfermedad en los animales.** En las Américas, solo se habían identificado en el perro la *L. braziliensis peruviana* de la leishmaniosis cutánea humana y *L. donovani*

*chagasi* de la leishmaniosis visceral humana. *L. braziliensis* se encontró en perros de Sao Paulo, Brasil. Debido a la dificultad para identificar la especie de parásito, el agente etiológico de la leishmaniosis de los perros a veces se denomina simplemente *L. canis*.

Cualquiera sea la especie que causa la infección, los perros presentan con frecuencia tanto manifestaciones cutáneas como viscerales (ACHA, 1988).

## 1.12 LEISHMANIOSIS VISCERAL

**Sinonimia.** Kala-azar, calazar, fiebre Dum-Dum, ponos, fiebre esplénica infantil, esplenomegalia tropical y leishmaniosis dérmica post-kala-azar.

**Etiología.** Aunque la leishmaniosis visceral es causada generalmente por *L. chagasi* en las Américas, y por *L. donovani* o *L. infantum* en el Viejo Mundo, se han informado casos de leishmaniosis visceral por *L. amazonensis* y de leishmaniosis cutánea por *L. infantum*.

**Distribución geográfica.** *L. donovani donovani* se presenta en Bangladesh y la India, y quizás en China y Nepal. *L. donovani infantum* se distribuye por África oriental, occidental y central, las antiguas repúblicas soviéticas del Asia Central, la costa del Mediterráneo europeo y africano, Afganistán, Arabia Saudita, el norte y noroeste de China, Egipto, Irán, Iraq, Israel y Yemen. *L. donovani chagasi* se presenta en la región nordeste y parte de la región este del Brasil, aunque también se han registrado focos pequeños en las regiones norte y centro oeste. Se han diagnosticado casos esporádicos de la enfermedad en el norte de Argentina, Bolivia, Colombia, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Paraguay, Suriname y Venezuela, y en las islas de Guadalupe y Martinica.

**Presentación en los animales.** La investigación de la prevalencia en los animales por lo común se enfoca en los perros, porque constituyen la principal fuente de infección para el hombre en muchas zonas y porque son las víctimas más frecuentes

de la infección en el sur de Europa. Sin embargo, tanto los cánidos silvestres como los roedores también pueden ser reservorios en áreas específicas.

**La enfermedad en el hombre.** El periodo de incubación por lo general dura entre dos y seis meses, pero puede variar desde diez días a varios años. La enfermedad se instala en forma insidiosa entre los pobladores de las áreas endémicas y su curso es crónico. El inicio de la enfermedad puede ser brusco en las personas procedentes de áreas indemnes. Se presenta fiebre prolongada e irregular, algunos pacientes presentan tos, diarrea y síntomas de infecciones intercurrentes. La enfermedad se caracteriza por esplenomegalia y más tarde hepatomegalia; la linfadenopatía es común en algunas regiones; también se puede presentar anemia con leucopenia, edema, aumento de la pigmentación de la piel, emaciación y el abdomen se torna a veces protuberante debido a la esplenomegalia y hepatomegalia. En los pacientes no tratados la mortalidad es muy alta.

**La enfermedad en los animales.** La leishmaniosis visceral de los perros domésticos también se presenta en focos geográficos. Frecuentemente, pero no siempre, la prevalencia en el hombre y los perros tiene una magnitud similar en una misma área, aunque puede haber zonas con infección canina sin infección humana. La enfermedad causa lesiones cutáneas y sistémicas, pero las primeras son más evidentes. El periodo de incubación dura entre tres y siete meses. Las lesiones cutáneas incluyen áreas alopecicas descamativas, inflamatorias y no pruriginosas, mayormente alrededor de los ojos, las orejas, la cara y los pies. Si bien esas lesiones pueden evolucionar y transformarse en nódulos, erosiones y costras, las pústulas son excepcionales. Los signos sistémicos más frecuentes son fiebre intermitente, anemia, hipergamaglobulinemia, hipoalbuminemia, linfadenopatía, esplenomegalia, letargia y pérdida de peso. A veces se presentan episodios de diarrea, glomerulonefritis y poliartritis (ACHA, 1988).

## 1.13 LEISHMANIOSIS MUCOCUTANEA

**Sinonimia.** “*espundia*”

**Etiología.** *L. braziliensis* y por *L. braziliensis panamensis*

**Distribución geográfica.** Bolivia, Brasil, Colombia, Paraguay, Perú, Venezuela, Costa Rica, Panamá, Guatemala, Honduras, Belice, Ecuador, Guayanas británica, francesa y holandesa.

**La enfermedad en el hombre.** Hasta en el 80% de los casos puede haber propagación metástasica de la mucosa oronasal/faríngea durante la presencia de la lesión primaria o hasta 30 años después. La ulceración y la erosión destruyen progresivamente el tejido blando y el cartílago de la cavidad oronasal/faríngea, con inflamación de la nariz y labios. La destrucción del septo nasal produce el aspecto de la nariz de tapir. Este proceso puede ser doloroso o no. Es frecuente la infección secundaria. El sufrimiento y la mutilación son notables y se puede producir la muerte por bronconeumonía o malnutrición (Seminario No).

**La enfermedad en los animales.** Cualquiera sea la especie que causa la infección, los perros presentan con frecuencia tanto manifestaciones cutáneas como viscerales (ACHA, 1988).

## 2. JUSTIFICACION.

El Salvador cuenta con zonas que reúnen las condiciones óptimas tanto para la prevaencia del parásito *Leishmania*, así como para el desarrollo de sus vectores: ***Lutzomyia longipalpis*, *Lu. evansi*, *Lu. cayennensis*, *Lu. cruciata*, *Lu. barretto*, *Lu. deleoni*, *Lu. gomezi* y *Lu. chiapaensis***, y un reservorio ideal como es el caso del cánido, de modo que garantiza el desarrollo completo y continuo del ciclo biológico del parásito. Un ejemplo sería San Ildefonso municipio de San Vicente, en donde desde 1974 se han venido registrando casos de la enfermedad.

En El Salvador a pesar de conocer la existencia de *Leishmania*, y conocer técnicas de laboratorio comunes como un frotis o un aislamiento en cultivo para un diagnóstico confiable, nunca se ha realizado una investigación en cánidos. Es por eso que se pretende efectuar un estudio, con el objetivo de determinar que el perro es reservorio principal del parásito en nuestro país y con el fin de aportar al país y al municipio de San Ildefonso información valiosa para el control y prevención de dicha enfermedad, ya que al encontrar casos de perros positivos se aportaría información valiosa para que las autoridades competentes tomen las medidas correspondientes para el control de estos animales pues hasta este momento se desconoce la participación del canino en la transmisión de la enfermedad a los humanos.

La Leishmaniosis canina es una parasitosis con una doble repercusión: por un lado, en salud pública, dado el carácter zoonótico del proceso y el papel del perro como reservorio y por otro en medicina veterinaria, en la que, por su notable incidencia, dificultad del diagnóstico precoz y relativa falta de eficacia del tratamiento, constituye una enfermedad altamente problemática.

### **3. HIPOTESIS DE INVESTIGACION.**

Hi: En los cánidos domésticos de dos cantones de San Ildefonso, departamento de San Vicente existe infestación con el parásito *Leishmania*.

### **4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION.**

- **Objetivo General:**

Determinar la presencia de *Leishmania spp* en los cánidos domésticos de dos cantones del municipio de San Ildefonso, departamento de San Vicente, a través de pruebas de laboratorio como son el frotis y cultivo, y establecer su participación como reservorio.

- **Objetivos Específicos:**

Identificar la presencia de amastigotes de *Leishmania* en frotis de aspirado ganglionar de perros domésticos.

Identificar la presencia de promastigotes de *Leishmania* en cultivo de aspirado ganglionar de perros domésticos.

Establecer el porcentaje de cánidos domésticos del municipio de San Ildefonso que evidencian la presencia del parásito *Leishmania*.

Establecer la importancia del perro como reservorio principal, en relación con la aparición de brotes de *Leishmania* en humanos en San Ildefonso.

## **5. MATERIALES Y METODOS.**

### **5.1 GENERALIDADES**

#### **5.1.1 Ubicación Geográfica**

La investigación se llevó a cabo en 79 cánidos domésticos, ubicados en los cantones San Lorenzo y Lajas y Canoas del municipio de San Ildefonso, departamento de San Vicente, El Salvador. El área del municipio mide 136.37 kms<sup>2</sup>; y el perímetro 61.5 kms. La cabecera municipal del pueblo de San Ildefonso 25.5 kms al E de la ciudad de San Vicente, situada a 200 metros SNM. Entre las coordenadas geográficas centrales 13°42'24" LN y 88°33'40" LWG. Su población es de 7,799 personas censadas en el año 2007, y el municipio clasificado en pobreza extrema severa.

La fase de laboratorio se desarrolló en las instalaciones de el Laboratorio de Parasitología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), de la Universidad de El Salvador, y en las instalaciones del Laboratorio Central "Dr. Max Bloch", Área Clínica del Ministerio de Salud.

### **5.1.2 Duración de la Investigación**

La investigación se realizó durante los meses de Abril a Noviembre de 2008, dividida en dos fases: una de campo (toma de muestras) y otra de laboratorio, las cuales se realizaron simultáneamente.

## **6. OBJETO DE ESTUDIO**

Las unidades experimentales a utilizar en el estudio fueron cánidos domésticos; los cuales son utilizados como perros de compañía en las labores campesinas, realizando un estudio completamente al azar.

## **7. DETERMINACION DEL TAMAÑO DE MUESTRA.**

Para determinar el tamaño de la población se tomo como referencia el censo anual de la campaña de vacunación antirrábica de la Unidad de Salud de San Ildefonso del año 2007 que fue de 472 cánidos. Para obtener la muestra nos auxiliamos del “Programa de Cálculo del Tamaño Muestral para la Estimación de la Prevalencia”, de **T&T**, empresa española/inglesa dedicada al diseño, realización y análisis estadístico de experimentos con animales. A efectos de maximizar la confiabilidad y exactitud del estudio se utilizó como prevalencia estimada el 50% y el nivel de confianza del 95% (TESTS AND TRIALS, 2001).

Población: 472 animales

Confianza: 95%

Precisión: 10%

Prevalencia: 50%

**Numero de muestras = 79 animales.**

El estudio se realizo completamente al azar no importando el sexo, ni edad, ni sintomatología clínica de los animales.

## **8. METODOLOGIA DE CAMPO.**

### **8.1 Toma de muestra de aspirado poplíteo**

Para este estudio se recolectaron 79 muestras de aspirado poplíteo de un total de 472 cánidos domésticos de los cantones San Lorenzo y Lajas y Canoas del municipio de San Ildefonso depto. De San Vicente, El Salvador.

El estudio se realizó completamente al azar no importando el sexo, edad, ni sintomatología clínica de los animales.

El procedimiento durante la toma de muestra (aspirado poplíteo), fue el siguiente:

- Los animales fueron seleccionados al azar y sujetados adecuadamente para su manipulación.
- Posteriormente se realizó la limpieza y desinfección (jabón antiséptico, suero fisiológico y alcohol 90%) del área de punción (nódulo poplíteo) para obtención de la muestra.
- Por punción de nódulo poplíteo se obtuvieron aproximadamente 0.1ml de aspirado, se ejerció varias veces una presión ligera en el nódulo y se hicieron movimientos de la aguja varias veces hacia atrás y hacia delante, y posteriormente se procedió a retirar. Utilizando jeringas estériles descartables de 3ml con aguja de 21 x 1 ½.
- Inmediatamente obtenida la muestra se depositaba el aspirado sobre un portaobjeto para realizar frotis, realizando 2 frotis por muestra.
- Se colocó parte del aspirado sobre un portaobjeto limpio. Con la parte posterior de la aguja se extendió el aspirado sobre el centro de la lámina. El aspirado formó una monocapa fina y homogénea. Se secó rápidamente abanicando el portaobjetos en el aire, estas eran depositadas y transportadas en un laminero.

- Para el cultivo fue tomado el aspirado del nódulo poplíteo del otro miembro, con el mismo tipo de jeringa a la cual se le adicionaba 0.8ml de solución de Locke, se aspiró esperando que la solución que es completamente incolora tomara un aspecto turbio.
- Inmediatamente se inoculó en el medio NNN (Novy-Nicolle-McNeal) en tubos de ensayo con tapón de hule, que permanecían sellados con papel parafina y almacenados a temperaturas de 4 a 12°C.
- Tanto el frotis como el tubo se identificaron con nombre del perro y fecha de la toma de la muestra.
- Las muestras obtenidas eran almacenadas y transportadas al laboratorio en una hielera a temperatura de refrigeración.

## **8.2 Materiales y Equipo de campo**

- Jeringas descartables con capacidad para 3 ml con aguja de 21 x 1 ½
- Jabón antiséptico
- Suero fisiológico
- Alcohol
- Algodón
- Gasa
- Bolsas plásticas grandes
- Gabacha blanca
- Tirro
- Gelatinas (refrigerantes)
- Gradillas para tubos de ensayo
- Lamineros
- Hielera
- Casa perro
- Papelería en general

- Bolígrafos
- Tubos de ensayo al vacío
- Un galón de agua
- Vehículo
- Porta objetos
- Guantes

## **9. METODOLOGIA DE LABORATORIO**

### **9.1 Técnica de tinción de frotis de aspirado ganglionar**

Examinar los frotis teñidos con la coloración de Giemsa utilizando un objetivo de inmersión en aceite con aumento de 100X, permite observar amastigotes de *Leishmania* como organismos redondos u ovalados, muy pequeños, de aproximadamente 3  $\mu\text{m}$  x 5  $\mu\text{m}$ , que se encuentran dentro o fuera de células fagocitarias (macrófagos). Cada amastigote contiene un núcleo rojo malva, un pequeño cinetoplasto que se tiñe más intensamente de rojo malva, y un citoplasma celeste. La característica diagnóstica específica que hay que buscar en la *Leishmania* es la presencia de un núcleo y un cinetoplasto en estos organismos (MSPAS, 1996).

#### **9.1.1 Materiales y reactivos**

- Portaobjetos
- Metanol
- Agua desmineralizada
- Solución Giemsa
- Solución Búffer
- Tirro
- Papel Toalla

### **9.1.2 Equipo**

- Bandeja para coloración de láminas
- Pizeta
- Gotero (aceite de inmersión)
- Microscopio compuesto
- Gabacha blanca

### **9.1.3 Metodología**

En el laboratorio los frotis fueron colocados en una bandeja de coloración, y fijados con metanol por 1 minuto, se procedió a cubrir el frotis con colorante de Giemsa diluido, (a razón de 1 ml de solución buffer poner de 4 a 5 gotas de colorante puro y mezclar). Dejar 30 minutos en reposo, lavar con agua de chorro y dejar secar a temperatura ambiente. Realizado este proceso se procedió a su observación directa al microscopio utilizando el método en zig-zag, con los objetivos 40X y 100X.

## **9.2 Método de aislamiento en cultivo NNN (Novy-Nicolle-McNeal)**

Si las condiciones locales permiten la preparación de un medio de cultivo apropiado, puede prepararse un cultivo aséptico de material de los aspirados de nódulo linfático o de médula ósea. Si los cultivos no están contaminados por bacterias u hongos, al examinarlos con el microscopio 7 a 14 días después de haber inoculado los aspirados, pueden encontrarse formas promastigotes flageladas que nadan libremente (MSPAS, 1996).

### **9.2.1 Materiales y Reactivos**

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Papel toalla
- Tubos de ensayo al vacío
- Solución de sales equilibrada con prolina
- Agua destilada

- Peptona bacteriológica
- Extracto de carne vacuna
- Sangre de conejo desfibrinada
- Agar (simple, no nutritivo)
- Solución de Locke

### **9.2.2 Equipo**

- Cámara de flujo laminar
- Microscopio compuesto
- Gabacha
- Pizeta
- Gradilla para tubos de ensayo
- Becker con solución de descarte para pizeta y laminas
- Bandeja porta láminas

### **9.2.3 Metodología**

Los cultivos fueron examinados en el laboratorio, a los 5 y 10 días después de haber inoculado los aspirados, se tomo una alícuota de la parte líquida de el medio y se coloco entre lámina y laminilla. Se observaron al microscopio utilizando un objetivo con un aumento de 40X, mediante el método de zig-zag. Tratando de encontrarse formas promastigotes flageladas que nadan libremente.

## 10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

No se pudo evidenciar la presencia de *Leishmania* spp tanto en frotis como en cultivo en los cánidos muestreados, a pesar de que el 86.07% presentaba sintomatología compatible con la enfermedad, y que el estudio se realizó en una área donde la leishmaniosis se considera endémica (humanos).

En los frotis no fue posible evidenciar la presencia del agente debido a que es menos factible encontrarlo en muestras de aspirado de ganglio linfático que en muestras tomadas de medula ósea, lo cual no se practicó por la dificultad de realizar esta técnica a nivel de campo, no obstante que el muestreo fue al azar y se observó sintomatología compatible con leishmaniosis en gran porcentaje de los animales. La explicación podría deberse, tal como indican las referencias, que en nódulo linfático existe una elevada dilución de los agentes en animales enfermos (1 a 10 parásitos X 1000 campos).

En cuanto a los cultivos, los resultados no fueron los esperados, probablemente porque no se lograron reunir las condiciones que se requieren a nivel de campo, de tal manera que el posible crecimiento de los promastigotes fue impedido por la proliferación de otros microorganismos. Además, los resultados podrían haber sido exitosos con respecto a dicho aislamiento, si el número de aspirados de nódulos linfáticos infartados hubiera sido mayor, tal como Luigi Gradoni afirma que las posibilidades se incrementarían en un 10%, comparado con una sola muestra.

## 11. CONCLUSIONES.

- En esta investigación no se pudo evidenciar la presencia de *Leishmania* spp en cánidos domésticos por medio de los métodos de tinción de frotis y cultivo.
- En el estudio no se pudo comprobar la participación del perro como reservorio, en relación con la aparición de brotes de *Leishmania* en humanos en San Ildefonso, pese a que el 86.07% de los cánidos presentaban sintomatología compatible.
- Es posible que los casos evaluados no cursaran la enfermedad en condiciones de cronicidad, situación que de acuerdo a las referencias estaría disminuyendo las posibilidades de identificar o aislar el agente etiológico.
- En el caso de que el perro no actúe como reservorio, la investigación epidemiológica se debería orientar en la búsqueda de otros agentes, incluyendo la posibilidad de que la *Leishmania* se este transmitiendo vectorialmente de humano a humano.

## 12. RECOMENDACIONES.

- Realizar otras investigaciones en el municipio de San Ildefonso utilizando métodos diagnósticos que cuenten con una elevada sensibilidad y especificidad, tal como la técnica diagnóstica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) ya que es consenso general de investigadores, además porque es la prueba prescrita por la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE).
- Ejecutar estudios orientados a determinar otras especies animales que puedan actuar como posibles reservorios de *Leishmania*.
- Tomar en cuenta anamnesis y sintomatología clínica compatible con *Leishmania* en futuras investigaciones, con el fin de incrementar las posibilidades de identificar el agente etiológico y realizar un diagnóstico más confiable.
- En la transmisión de la leishmaniosis la prevención por parte de las autoridades correspondientes debe ir orientada al control de los vectores, siendo en el país el más importante *Lutzomyia longipalpis*.
- Al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social tomar en cuenta a los cánidos domésticos de San Ildefonso como una fuente de contaminación de una amplia variedad de enfermedades que pueden repercutir en la salud de la población de dicho municipio.

### 13. BIBLIOGRAFIA.

1. ACHA, P.; SZYFRES, B. 1988, Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales, segunda edición, Estados Unidos, OPS (Organización Panamericana de la Salud), Pág. 53-71.
2. Archivos Unidad de Salud de San Ildefonso, 2007.
3. Amadeo, C. Rivas, E. Calles, C. 2003, 44 soldados aislados por enfermedad de Leishmaniasis, La Prensa Grafica. Consultado en Enero 2008. Disponible en el World Wide Web: [www.laprensagrafica.com/especiales/2004/nuestrosoldados/portada.htm](http://www.laprensagrafica.com/especiales/2004/nuestrosoldados/portada.htm)
4. CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999, Parasitología Veterinaria, McGraw-Hill Internacional, Madrid, España. Pág. 652-665.
5. Departamento de Microbiología y Parasitología. Curso de Parasitología Médica. Información Básica sobre Leishmaniasis. Consultado en Agosto 2008. Disponible en el World Wide Web: [www.seminarioNoleishma.htm](http://www.seminarioNoleishma.htm)
6. E. J. L. Soulsby, 1987, Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos, séptima edición, México, Interamericana, p. 521-551
7. Fernández, J. Charry, T. Bello F. J. 2002, Prevalencia de Leishmaniasis Visceral Canina en Municipios de Huila-Colombia. Consultado en Enero 2008. Disponible en el World Wide Web: [www.revmed.uma.edu.co/revistasp.htm](http://www.revmed.uma.edu.co/revistasp.htm)
8. García Ramos, P. 2001, Zoonosis en Extremadura, Consejería en Extremadura, INDUGRAFIC, pág. 78-84.
9. Gispert, C. 2000, Manual Merck de Veterinaria, Susan E. Aiello, Quinta edición, España, Océano. Pág. 637.

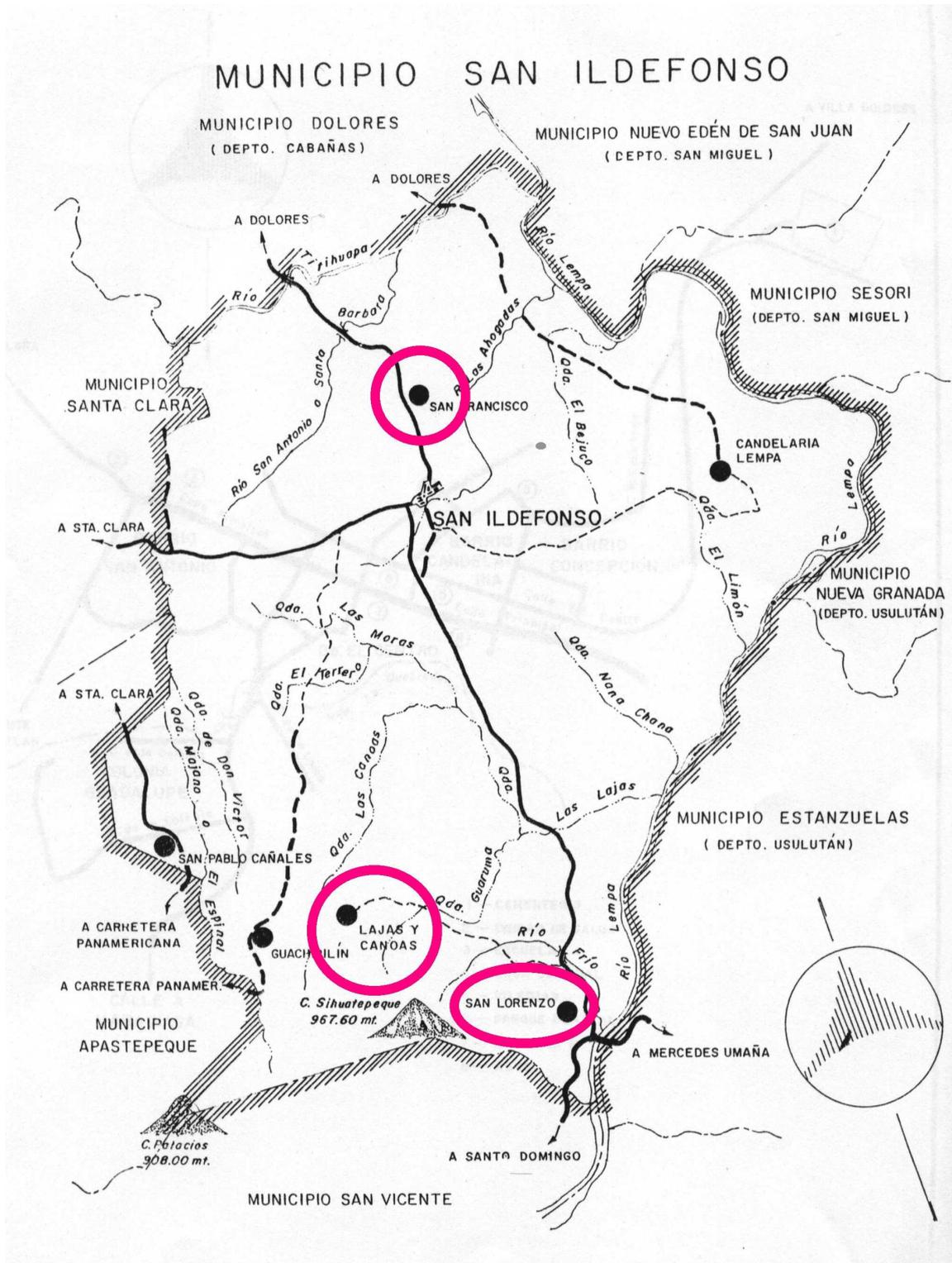
10. GRADONI, L. 2002, Laboratorio de Parasitología, Instituto Superior de Sanidad, Roma, Italia. El Diagnostico de la Leishmaniasis Canina. Consultado en Julio 2008. Disponible en el World Wide Web: <http://www.diagnosticoveterinario.com>
11. L. TRAVI, BRUNO. 2000, Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Medicas-CIDEIM, Cali, Colombia. Leishmaniasis Visceral Canina. Consultado en Agosto 2008. Disponible en el World Wide Web: <http://apps.unicordoba.edu.co/revistas/revistamvz/MVZ-51/29.pdf>
12. Leishmania, 2000 (en línea) consultado, 3 junio 2008, disponible en el World Wide Web: <http://www.alipso.com/monografias/leishmania/>
13. MSPAS (Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social), 1996, Manual de lucha contra la Leishmaniosis visceral. Organización Mundial de la Salud. División de Lucha contra las Enfermedades Tropicales. Ginebra. pag. 27-71.
14. MSPAS (Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social), MANUAL DE LEISHMANIASIS, Laboratorio "Dr. Max Bloch" Área Clínica. Del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Código LC-ACL-MPT-15. pag. 9, 12, 22, 26, 27.
15. MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería), 1995, Prevalencia de Enfermedades Enzooticas en bovinos de la República de EL Salvador, Ministerio de Agricultura y Ganadería. Dirección General de Sanidad Vegetal y Animal.
16. Medina R. G. Chávez, V. A. Minaya, G. G. 2000, Infección por Leishmaniasis sp. En caninos del distrito de Pampas Grande, Ancash, Perú. Consultado en Julio 2008. Disponible en el World Wide Web: [www.scielo.org.pe/scielo.php](http://www.scielo.org.pe/scielo.php)

17. Mehlhorn H.- Piekarski G. 1993. Fundamentos de parasitología. Parásitos del hombre y de los animales domésticos. 3era. Ed. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. Pág. 42, 44, 45, 46, 48.
18. OPS (Organización Panamericana de la Salud) 1996, Epidemiología y control de las Leishmaniasis en las Américas por país o territorio. Consultado en Enero 2008. Disponible en el World Wide Web: [www.Paho.org/spanish/ad/dpc/cd/epi-y-control.pdf](http://www.Paho.org/spanish/ad/dpc/cd/epi-y-control.pdf)
19. P. Jorge, Ezquerro A, 2001, Las Leishmaniasis: de la Biología al Control, Centro Colaborador de la OMS para Leishmaniasis, Servicio de Parasitología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid. Segunda edición.
20. Pena, A. A. Blasco Bellido, J. B. González Morán, F. 2000, Leishmaniasis en Castellón: Estudio Epidemiológico de los casos humanos, vector y reservorio canino, España. Consultado en Febrero 2008. Disponible en el World Wide Web: [www.msc.es/biblic/publicaciones/recursos\\_propios/resp/revista.cdrom](http://www.msc.es/biblic/publicaciones/recursos_propios/resp/revista.cdrom)
21. Quiroz Romero, H. 1999. parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Editorial Limusa, S.A de C.V. Grupo Noriega Editores, México, D.F. pág. 87-90.
22. Robert F. Harwood, Maurice T. James, 1987, Entomología Médica y Veterinaria, Editorial LIMUSA, Primera edición, Pag. 180-186.
23. Rodríguez, N.; Cardona, M.; Zerpa, O.; Barrios, M. Enero- Diciembre 2001. Boletín de Malariología y Saneamiento Ambiental. Aplicación de Herramientas Moleculares en el Diagnostico y Caracterización de *Leishmania spp.* en áreas endémicas de Venezuela.

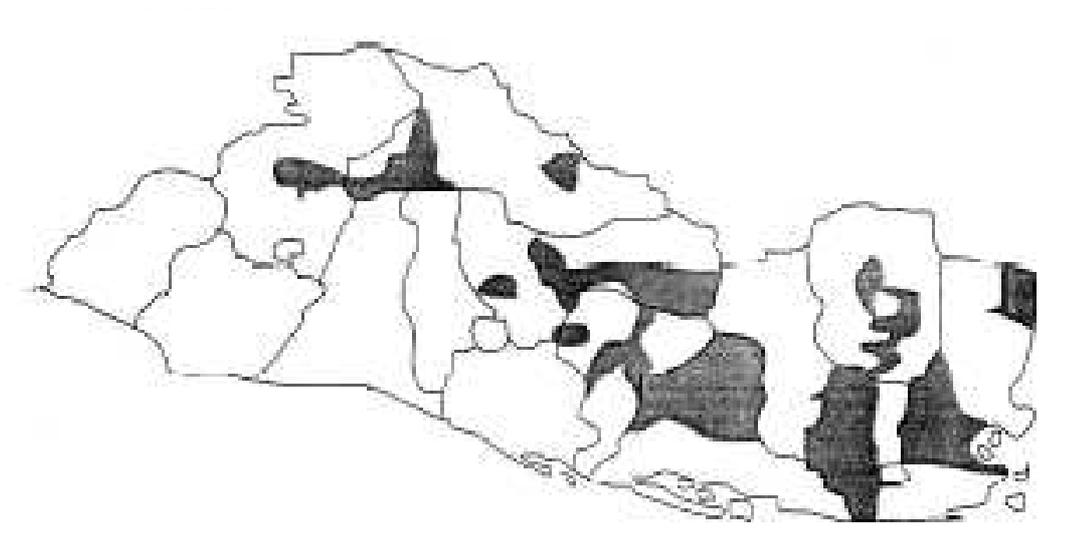
24. Segura, J. Honhold, N. 1993, Manual de Muestreo para la Salud y Producción Animal, UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
25. SANCHEZ SALDAÑA, L.; SAENZ ANDUAGA, E.; PANCORBO MENDOZA, J. agosto 2004. Dermatología peruana, educación médica continúa. Leishmaniasis. Departamento de Dermatología del Hospital Militar Central. Consultado en Agosto 2008. Disponible en el World Wide Web: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php_arttext)
26. TESTS AND TRIALS, 2001, Precisión y Exactitud, España, consultado Mayo 2007. Disponible en el World Web : [testsandtrials.com/recursos.htm](http://testsandtrials.com/recursos.htm)
27. Trigo Tavera, F. J. MVZ. 1998. Patología Sistémica Veterinaria. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A de C.V. 3era. Ed. pág. 364, 365.
28. Urquhart, G.M. 2001. Parasitología Veterinaria. 2da. Ed. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. Pág. 250-252.
29. Wikipedia, la enciclopedia libre. Consultado en Agosto 2008. Disponible en el World Wide Web: [www.es-wikipedia.org/wiki/leishmaniosis](http://www.es-wikipedia.org/wiki/leishmaniosis).

# **ANEXOS**

Figura A1. Mapa del Municipio de San Ildefonso



**Figura A2: Distribución de la leishmaniosis visceral y cutánea atípica causada por *Leishmania chagasi* en El Salvador.**



**Figura A3: Distribución de la leishmaniosis cutánea y mucocutánea en El Salvador.**

