

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS**



**TEMA**

**ESTUDIO SEROLÓGICO Y MOLECULAR DE *Leishmania spp* EN  
CANIDOS DOMESTICOS DE DOS CANTONES DEL MUNICIPIO DE SAN  
ILDEFONSO, DEPARTAMENTO DE SAN VICENTE, EL SALVADOR**

**POR:**

**BR. MARCELA VANESSA CHINCHILLA ELIAS**

**SAN SALVADOR, JULIO 2010.**

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



**TEMA**

**ESTUDIO SEROLÓGICO Y MOLECULAR DE *Leishmania spp* EN  
CANIDOS DOMESTICOS DE DOS CANTONES DEL MUNICIPIO DE SAN  
ILDEFONSO, DEPARTAMENTO DE SAN VICENTE, EL SALVADOR**

**POR:**

**BR. MARCELA VANESSA CHINCHILLA ELIAS**

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE:**

**LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, JULIO 2010.**

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

ING. AGR. MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIO GENERAL:

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÓNICAS

DECANO:

DR. E ING. AGR. ADALBERTO LÓPEZ LANDAVERDE

SECRETARIO:

ING. AGR. Y 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

COORDINADOR DE PROCESOS DE GRADUACION

---

M.V. ORLANDO ALBERTO SILVA HERNÁNDEZ

## **AGRADECIMIENTOS**

Como todos los trabajos de investigación, éste no ha sido fruto de una labor individual, sino de equipo en el que cada uno ha aportado su granito imprescindible. Por ello, ahora que se termina, quiero expresar mi gratitud a todas las personas que, de una forma u otra, han colaborado en la elaboración de esta tesis.

A 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.

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA COLOMBIA

Laboratorio de Diagnóstico de Leishmaniosis adscrito al Grupo de Investigación PECET (Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales) por haberme financiado una parte fundamental de mi trabajo de investigación.

En especial a: Dra. LINA CARRILLO

Por su tiempo, responsabilidad, apoyo y ambición investigadora.

A MI AMIGO

Dr. Alberto Espinoza Rodezno

Por su gran aporte de conocimientos, apoyo y gran dedicación en la elaboración de mi trabajo de investigación. Por esas grandes charlas, orientación y consejos.

AL MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA (MATAZANO)

Agradezco al personal que labora en el Área de laboratorio por brindarme sus conocimientos y orientación para el desarrollo de mi investigación.

Especialmente al: DR. GUILLERMO ERNESTO MARTÍNEZ BENAVIDES, por su colaboración incondicional durante el transcurso de la elaboración de mi tesis. Mil gracias por sus sabios consejos.

A DOCTOR OSCAR GARCIA, por ser un ejemplo como profesional integral, por brindarme siempre ese empuje para salir adelante y estar pendiente en el desarrollo y finalización de mi tesis.

A LOS AMIGOS INCONDICIONALES:

NESTOR Y SONIA, por siempre darme ánimos para seguir adelante en los momentos más difíciles de la carrera, porque la carrera fue menos amarga en compañía de ustedes, por su apoyo incondicional y orientación.

A COLOCHA, FATIMA e IRMA por su gran apoyo y por estar siempre dispuestos a realizar trabajo de campo. Mil gracias.

A LA FACULTAD:

Le agradezco, 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.

A Doris Rivera por su gran ayuda en procesos de papeleo fundamentales para la finalización de mi proceso de graduación.

Agradezco también a:

Dra. Claudia Armida Flores Hernández (Directora de la Unidad de Salud de San Ildefonso).

- En especial a:
- 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).

Por su apoyo en las horas más difíciles de calor y cansancio a la hora de realizar la fase de campo, gracias por su paciencia.

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:**

VILMA ELIAS DE CHINCHILLA que con su gran amor, confianza y seguridad me han guiado hasta el día de hoy, por su apoyo incondicional hasta el ultimo momento, por ser mi mejor amiga. A mi padre BALTAZAR CHINCHILLA por su comprensión y esfuerzo para que llevara acabo este especial logro académico.

**A MI ESPOSO:**

JUAN PABLO, por ser mi pilar en los momentos más difíciles, mi fuerza y seguridad en mis flaquezas, por su paciencia, y comprensión, y ser siempre mi mejor amigo.

**A MIS HIJOS:**

CAMILLA SOPHIA Y JUAN DIEGO FRECH CHINCHILLA, mis angelitos bellos que Dios me a prestado para ser mi principal motivación, superación y alegría.

**A MIS HERMANOS EMILIO, LARISSA Y AMALIA** por hacerme sentir que están ahí aun en su ausencia, brindándome su apoyo confianza y cariño.

**A MIS SUEGROS**

CAROL Y JUAN FRECH, por estar siempre atentos a mis necesidades y preocupaciones en el transcurso de mi carrera; por ese amor incondicional y abnegado hacia mis angelitos como unos segundos padres.

**A MIS CUÑADOS YAMIL, EVA Y JOANNA**

En especial a EVELYN por su apoyo en las etapas dubitativas...que han sido muchas, por adentrarme en las herramientas de la computación. Gracias cuñis.

## RESUMEN

En El Salvador, por muchos años se han diagnosticado casos de leishmaniosis en humanos. El municipio de San Ildefonso, departamento de San Vicente, desde 1974 hasta el año 2008 se han registrando 235 casos de leishmaniosis cutánea. Según datos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social los casos diagnosticados con *Leishmania spp* a nivel nacional han ido en aumento desde el año 2007 con 0.32% al 2008 con 0.83%, todos diagnosticados positivos mediante frotis y la prueba de Montenegro constituyéndose en un problema grave de salud pública, dado el carácter zoonótico del proceso. No hay registros evidenciados en Salud Pública a nivel nacional de perros positivos a *Leishmania* por lo tanto es imposible tratar de establecer una prevalencia y aunque anteriormente se hizo un estudio para establecerla (Tesis de grado, Alberto Escobar y Carmen Arteaga, 2008), debido a la utilización de pruebas de baja sensibilidad y especificidad no se logró detectar casos positivos a leishmaniosis.

El Salvador, cuenta además, con la presencia del vector de la enfermedad, *Lutzomyia longipalpis*. Con el propósito de determinar la presencia de leishmaniosis canina se efectuó un estudio en una población de 584 cánidos, tomando una muestra de 137, ubicados en los cantones San Lorenzo y Lajas y Canoas del municipio antes mencionado a los cuales se evaluó suero sanguíneo y biopsia de oreja, utilizando técnicas diagnósticas altamente específicas y sensibles tales como: Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y Reacción en Cadena a la Polimerasa (PCR) respectivamente. El estudio fue descriptivo estimando la población a través de un muestreo de tipo dirigido a animales de los cantones antes mencionados. Para la toma de muestras se seleccionaron: 1) animales en hogares donde existan casos positivos en humanos y perros con lesiones; 2) animales en casas con casos de leishmaniosis en personas y animales sin lesiones. De 137 muestras analizadas mediante dichos métodos fue posible evidenciar la presencia de *Leishmania spp*. En esta investigación en la prueba de serología se detectaron anticuerpos IgG Anti-Leishmania en 10 de los 126 perros muestreados (7.93%) y 1 caso positivo por la prueba de PCR de entre 25 animales muestreados (4%). Los títulos de serología oscilaron entre 1:8 a 1:64 considerando positivos arriba de 1:32. Los resultados muestran una baja prevalencia de anticuerpos anti-leishmania por la técnica de IFI. Se sugiere que los perros juegan un papel limitado en la propagación de la enfermedad dada la endemicidad demostrada en el humano.



## INDICE

<b>Contenido</b>	<b>Pág.</b>
AGRADECIMIENTOS .....	iv
DEDICATORIA.....	vi
INTRODUCCION .....	1
1. MARCO TEÓRICO .....	3
1.1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
1.1.1 Definición de Leishmaniosis .....	3
1.2 HISTORIA .....	3
1.3 AGENTE ETIOLOGICO DE LA LEISHMANIOSIS.....	5
1.3.1 Posición Sistemática y Clasificación Del Genero Leishmania .....	5
1.3.2 Formas Evolutivas, Ciclo Vital y Transmisión.....	7
1.4 EL VECTOR.....	11
1.4.1 Morfología, Ciclo De Vida y Etapas En El Hospedador.....	11
1.5 HOSPEDADORES VERTEBRADOS .....	13
1.6 Situación De Leishmaniosis En Las Américas .....	14
1.6.1 Leishmaniosis Visceral .....	15
1.6.2 Leishmaniosis Cutánea .....	17
1.6.3 Leishmaniosis Cutánea Difusa.....	26
1.7 DESCRIPCIÓN DE LOS TIPOS DE LEISHMANIA .....	26
1.7.1 Leishmaniosis Cutánea .....	26
1.7.2 Leishmaniosis Visceral .....	32
1.7.3 Leishmaniosis Mucocutanea .....	39
1.8 LEISHMANIOSIS CANINA.....	39
2. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO .....	44
2.1 Identificación Del Agente .....	46
2. JUSTIFICACION .....	56
3. HIPOTESIS .....	57
4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION.....	57
4.1 OBJETIVO GENERAL .....	57
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	57
5. MATERIALES Y METODOS.....	58
5.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL MUNICIPIO DE SAN ILDEFONSO	58
5.2 Fauna Silvestre Del Municipio De San Ildefonso .....	58
5.3 DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO .....	59
5.4 DURACION DE LA INVESTIGACION.....	59

5.5	OBJETO DE ESTUDIO .....	60
5.6	DETERMINACION DEL TAMAÑO DE MUESTRA .....	60
5.7	CARACTERISTICAS DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES EN ESTUDIO (PERROS) DE LOS CANTONES DEL MUNICIPIO MUESTREADO. ....	61
6	METODOLOGIA DE CAMPO .....	61
6.1	Toma de muestra serológica y molecular.....	61
6.1.1	Procedimiento para toma de muestra suero sanguíneo .....	61
6.1.2	Procedimiento para toma de muestra de biopsia de oreja.....	63
6.2	MATERIALES Y EQUIPO DE CAMPO UTILIZADOS .....	63
7	METODOLOGIA Y RESULTADOS DE LABORATORIO DE LEISHMANIA UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA .....	64
8	DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	71
9	CONCLUSIONES .....	72
10	RECOMENDACIONES .....	73
11	BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.....	74
12	ANEXOS .....	79
	GLOSARIO .....	82

## LISTA DE CUADROS

CUADRO		PÁGINAS
1	Consulta Ambulatoria atendida en los establecimientos del Ministerio de Salud. Período del 01/01/2007 al 31/12/2007	25
2	Consulta Ambulatoria atendida en los establecimientos del Ministerio de Salud. Período del 01/01/2007 al 31/12/2008	25
3	Prevalencia de la leishmaniosis canina en el área Mediterránea y Península Ibérica según estudios serológicos. (1991)	42
4	Positividad serológica de muestras tomadas en el Municipio de San Ildefonso.	70

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINAS
1	Diagrama de <i>Leishmania</i> spp. Forma amastigota (intracelular, sin flagelo) y forma promastigota (flagelada)	9
2	Ciclo De Vida De Leishmania Spp (Fuente O.M.S 2005)	11
3	Mapa distribución mundial de leishmaniosis visceral (Fuente O.M.S 2005)	16
4	Mapa Distribución Mundial de Leishmaniosis Cutánea	18
5	Úlcera de Leishmaniosis cutánea.	28
6	Niño de 10 años con Hepatoesplenomegalia	33
7	Ciclo de transmisión de la Leishmaniosis visceral	35
8	Raza canina Podenco Ibicenco	40
9	Toma de muestra de suero sanguíneo	63
10	Controles positivos y negativos así como el DNA extraídos de las muestras de tejidos de los perros.	66
11	Controles positivos y negativos y DNA extraídos de las demás muestras ningún producto amplificado pudo ser obtenido	66
12	Fluorescencia de promastigotes de muestras tomadas en el Municipio de San Ildefonso.	69

## INTRODUCCION

Las leishmaniosis es una enfermedad zoonótica parasitaria causadas por al menos 20 especies de protozoos hemotisulares del sub-genero *Leishmania* y *Viannia*, transmitidos mediante la picadura de insectos vectores del genero *Lutzomyia* que afectan al hombre y a diversas especies animales.

De prevalencia alta en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo, tales como Asia, Oriente Medio, África y sur de Europa (cuenca del Mediterráneo); en las Américas se encuentra presente en todos los países de Centro y Suramérica, con excepción de Chile, Uruguay y las islas del Caribe. Es una enfermedad originalmente selvática, caracterizada como una zoonosis, sin embargo los ciclos de transmisión se están adaptando a los ambientes urbanos y periurbanos y se están propagando en áreas no endémicas previamente, como resultado de la urbanización y la deforestación.

Entre los reservorios conocidos o presuntos se encuentran los seres humanos, los cánidos salvajes (zorros y chacales) y los cánidos domésticos (David L. Heymann, 2003). La presente investigación va enfocada a los perros ya que son victimas frecuentes de esta parasitosis siendo de importancia para Salud Publica y la Sanidad Animal.

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).

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 Publica y Asistencia Social; constituyéndose un problema grave de salud dado el carácter zoonótico del proceso.

Según datos del ministerio de salud pública y asistencia social los casos diagnosticados con *Leishmania ssp* a nivel nacional han ido en aumento desde el año 2007 con 0.32% al 2008 con 0.83%. (Ver en Anexos)

No hay registros evidenciados en salud pública de perros positivos a *Leishmania* de ninguno de los dos cantones del municipio de San Ildefonso por lo tanto es imposible tratar de establecer una prevalencia y aunque anteriormente se hizo un estudio para establecerla (Tesis de grado, Alberto Escobar y Carmen Arteaga [2008]), debido a la utilización de pruebas de baja sensibilidad y especificidad no se logró detectar casos positivos a leishmaniosis.

Tomando en cuenta lo anterior, el propósito del presente estudio fue determinar la presencia 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.

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 1.1.1 *Definición de Leishmaniosis*

“Se conoce con el nombre de *Leishmaniosis* a un grupo de enfermedades causadas por protozoos del género *Leishmania*. La infección corresponde a una zoonosis que llega al hombre por la picadura de insectos infectados. La enfermedad, que casi siempre tiene un curso crónico, es producida por varias especies y subespecies del parásito. El período de incubación por lo general dura entre 2 y 6 meses, pero puede variar entre 10 días a varios años.” (Revista Control de Plagas de Parasitosis Humanas Bottero-Restrepo. 2009)

Esta enfermedad tropical en el humano presenta tres tipos de manifestaciones clínicas: leishmaniosis visceral (LV, kala azar), leishmaniosis cutánea (LC, llaga de oriente, uta, pian bois, úlcera de chiclero) y leishmaniosis mucocutánea (LMC, espundia).

En el Nuevo Mundo<sup>1</sup>, la leishmaniosis está causada por el complejo de *L. braziliensis* (LMC y LC), el complejo de *L. mexicana* (LC), *L. peruviana* (LC) y *L. chagasi* (LV y LC); en el Viejo Mundo la leishmaniosis está causada por *L. donovani* (LV), *L. infantum* (LV y LC), *L. trópica* (LC), *L. major* (LC) y *L. aethiopica* (LC). *Leishmania infantum* y *L. chagasi* son idénticas en genotipado bioquímico y deberían considerarse como sinónimas.

### 1.2 HISTORIA

En lo que antes fuera Babilonia, El-Razi hizo la primera descripción de la enfermedad en el año 1500 aC.<sup>2</sup> En 1885 Cunningham descubrió un protozoo en un botón de Delhi. En 1898 Pietro Borovsky confirmó el descubrimiento anterior. En 1903 Leishman y Donovan identificaron el parásito en la fiebre *Dum-Dum* (kala-azar o fiebre negra), en este año se da la primera

---

<sup>1</sup> En este capítulo, el término "Nuevo Mundo" indica América del Norte, Central y del Sur, y el término "Viejo Mundo" se refiere a Europa, África y Asia.

<sup>2</sup> El-Razi ZM. An introduction to the history of medicine in Islam and Iran. Med J Islamic Rep Iran 1982; 2:131-6.

publicación de la entidad. Ese mismo año Ronald Ross denominó al agente *Leishmania donovani* en honor a los investigadores anteriores. También en ese año Wright describió el agente del botón de oriente llamándolo *Leishmania trópica*.

En 1908 Nicolle y Sicre realizaron cultivos a partir de lesiones del botón de oriente, por lo que se desarrolló el medio de Nicolle, Navy y Macneal (NNN) en agar sangre.

En 1911 Wenyon sugirió que *flebotomus* era el vector, pero este dato se demostró en 1921, cuando Sergente y su grupo comprobaron dicha teoría. También en 1911, Gaspar Vianna descubrió *L. braziliensis* como agente etiológico de la leishmaniosis americana.

En 1912 Arago logró la trasmisión experimental por inoculación. Ese mismo año Vianna administró con éxito el tártaro emético en Brasil, por lo que hasta hoy, los antimoniales se prescriben como tratamiento de la leishmaniosis.<sup>3</sup>

También en 1912 Farfán-López realizó una tesis relacionada con las “úlceras de los chicleros” en Campeche. En dicho año Seidelin describió la enfermedad en los trabajadores del chicle de la península de Yucatán, por lo que acuñó el término de “úlcera de los chicleros”.<sup>4</sup>

“El primer caso en nuestro continente fue descrito por Migone en el Paraguay (1913); posteriormente fue observado por Valenzuela en México. En 1926 Montenegro desarrolló la intradermorreacción, la cual lleva su nombre. En 1944 Millán y Chávez informaron el primer caso en el mundo de leishmaniosis cutánea diseminada, pero lo denominaron leishmaniosis cutánea infantil y lo publicaron en una revista de escasa circulación internacional, por lo que Prado y colaboradores fueron reconocidos por su descubrimiento en 1948.

En 1952 Báez-Villaseñor y colaboradores publicaron el primer caso de leishmaniosis visceral en México, en Huitzuco, Guerrero. En 1953, en Escárcega, Campeche, Biagi designó *Leishmania trópica mexicana* al agente infeccioso, al notar que la “úlcera de los chicleros” era más parecida a la leishmaniosis cutánea producida por *L. trópica* que por *L. braziliensis*.

---

<sup>3</sup> Velasco-Castrejón O, Guzmán-Bracho C, Cruz-Rodríguez J, González-Domínguez F. Las leishmaniosis con especial referencia a México. Publicación técnica del IndRE 1991;7:1-47.

<sup>4</sup> Seidelin H. Leishmaniosis y babesiasis en Yucatán. Ann Trop Med Parasit 1913; 6:295-8.



Un estudio preliminar en el municipio de Ovejas (Sucre,1984) de L.V.C, realizando 52 exámenes Serológicos a caninos por Inmunofluorescencia indirecta, revelo en un 3,84% la presencia de anticuerpos con títulos de 1:20 y 1:40. El estudio de las muestras Obtenidas por punción hepática y ganglionar no indico animales positivos.<sup>5</sup> En 1997 Velasco-Castrejón aplicó la radiofrecuencia (termoterapia) como alternativa de tratamiento en Tabasco.

### 1.3 AGENTE ETIOLOGICO DE LA LEISHMANIOSIS.

#### 1.3.1 *Posición Sistemática y Clasificación Del Genero Leishmania*

La posición sistemática del género *Leishmania* es compleja pues presenta pocos criterios morfológicos que ayuden a su clasificación taxonómica, por ellos se han basado tradicionalmente en distintos criterios extrínsecos como son el curso clínico de la enfermedad, los reservorios involucrados, la distribución geográfica y las características morfológicas y biológicas (crecimiento del parásito en medios de cultivo, lugar de desarrollo en el vector...), entre otras (Grimaldi y tesh, 1993)

*Leishmania* es un género de Protozoos, perteneciente al orden *Kinetoplastida* y a la familia *Trypanosomatidea*.

#### **Clasificación Taxonómica**

<b>Reino:</b>	PROTISTA
<b>Subreino:</b>	PROTOZOA
<b>Fylum:</b>	SARCOMASTIGOPHORA
<b>Subfylum:</b>	MASTIGOPHORA
<b>Clase:</b>	ZOOMASTIGOPHOREA
<b>Orden:</b>	KINETOPLASTIDA
<b>Suborden:</b>	TRYPANOSOMATINA
<b>Familia:</b>	TRIPANOSOMATIDAE
<b>Género:</b>	<i>Leishmania ssp.</i> <sup>6</sup>

En la actualidad se diferencia el género *Leishmania* en dos subgéneros en función de su localización en el insecto vector:

<sup>5</sup> FELIX, V. 1984. Estudio preliminar de Leishmaniosis visceral canina en Colombia municipio de Ovejas, Sucre.

<sup>6</sup> P. Jorge, Ezquerria A, 2001

- ✓ Subgenero *Leishmania* cuyo ciclo biológico se desarrolla en la parte media o anterior del tubo digestivo del vector (reproducción suprapilórica).
- ✓ Subgenero *Viannia* que se multiplica en la parte posterior del tracto digestivo del vector antes de desplazarse a la parte anterior (reproducción peri pilórica).

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 *flebótomos* (Viejo Mundo) y *Lutzomya* (Nuevo Mundo) (Quiroz Romero, H. 1999).

De acuerdo a la clasificación de Rioux y Lanotte (1993), se diferencian las siguientes especies (Dedet y Pratlong, 2003): (Ver anexos)

Subgénero *Leishmania* (Presentes en el Viejo y Nuevo Mundo).

- ✓ Complejo: *Leishmania donovani*

*Leishmania donovani*

*Leishmania infantum*

*Leishmania chagasi*

Complejo: *Leishmania trópica*

*Leishmania trópica*

*Leishmania killicki*

- ✓ Complejo: *Leishmania major*

- ✓ Complejo: *Leishmania aethiopica*

*Leishmania aethiopica*

- ✓ Complejo: *Leishmania mexicana*

*Leishmania mexicana*

*Leishmania amazonensis*

*Leishmania garnhami*

*Leishmania pifanoi*

*Leishmania venezuelensis*

Subgénero: Viannia (Presentes en el nuevo mundo)

✓ Complejo: *Leishmania braziliensis*

*Leishmania braziliensis*

*Leishmania peruviana*

*Leishmania colombiensis*

✓ Complejo: *Leishmania guyanensis*

*Leishmania guyanensis*

*Leishmania panamiensis*

(Se acepta la sinonimia de algunas de ellas como *L. infantum* = *L. chagasi*)

Dado que los caracteres extrínsecos de clasificación son variables por depender de las relaciones entre parásito, vector y hospedador, la necesidad de caracterizar mejor las diferentes poblaciones de *Leishmania* hace que se adopten criterios de clasificación basados en los datos obtenidos de la aplicación de técnicas bioquímicas y moleculares fundamentadas en características intrínsecas del parásito. Los dos métodos de clasificación en la actualidad son los análisis electroforético de isoenzimas y los métodos genotípicos basados en estudios de ADN parasitario.

### 1.3.2 Formas Evolutivas, Ciclo Vital y Transmisión.

Las leishmanias son parásitos diheteroxenos con polimorfismo evolutivo cuyo ciclo biológico se cierra con 3 formas morfo evolutivas:

✓ **Amastigota:**

Formas inmóviles redondeadas u ovoides que miden entre 1.5 y 5 micras de diámetro. No poseen flagelos al ser observadas en el microscopio de luz, aunque al electrónico se observa un flagelo rudimentario. Se localizan intracelularmente dentro de los macrófagos de los huéspedes vertebrados (hombre o animales reservorios).

Están provistos de un núcleo con cariosoma central y un cinetoplasto que son fácilmente observables al microscópico de luz empleando la coloración de Wright o Giemsa. El citoplasma se tiñe de azul claro, el núcleo de un color púrpura y el cinetoplasto, en forma de barra, también se ve de un color púrpura o un color morado más intenso.

Los amastigotes se dividen por fisión binaria en el interior de las células parasitadas, llevándolas finalmente a la ruptura con liberación de nuevos amastigotes que infectarán a otros macrófagos en los cuales se repite el proceso. Los amastigotes son la fuente de infección de los vectores transmisores de la enfermedad.

✓ **Promastigota.**

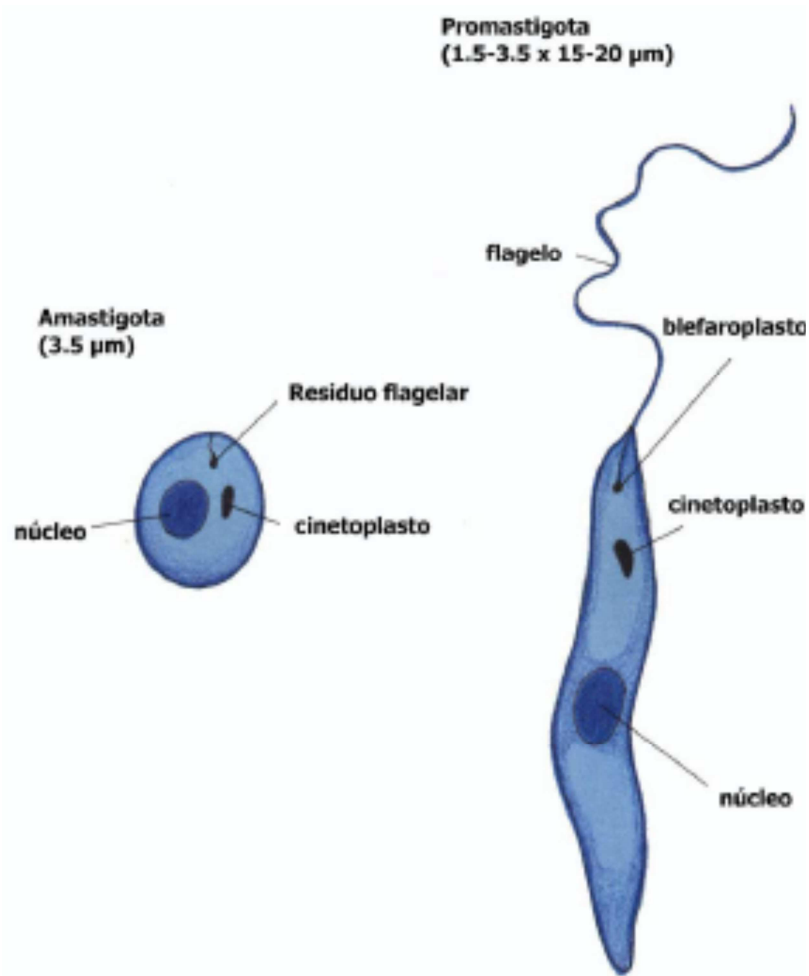
Fusiforame, de 16 a 18  $\mu\text{m}$  de longitud, posee núcleo central y blefaroplasto situado en posición muy anterior al núcleo, de donde se origina el flagelo que, sin formar membrana ondulante, emerge por la porción más anterior del parásito; ésta forma se encuentra en el mosquito trasmisor y en medios de cultivo.<sup>7</sup>(Rodríguez, 2004)

✓ **Paramastigota:**

Forma extracelular alargada de una longitud de entre 5 y 10  $\mu\text{m}$ , con núcleo anterior, kinetonúcleo al lado y flagelo anterior libre, presente en el tubo digestivo del vector.

---

<sup>7</sup> Atlas de Parasitología Médica, Autor: Rodríguez, 1a ed., 2004; pág. 10-12, McGraw-Hill.



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

#### Ciclo De Vida De *Leishmania* spp.

La Leishmaniosis es transmitida por las hembras de los flebótomos (mosquito); este ingiere el parasito cuando pica a un hospedador infectado con el fin de ingerir sangre con la que alimentarse y desarrollar sus huevos. En su interior, *Leishmania* se multiplica activamente en su estomago e intestino. El parasito experimenta una compleja serie de modificaciones morfológicas y funcionales que le llevan a diferenciarse desde un estado promastigote, que evita la expulsión sujetándose a las microvellosidades intestinales, hasta un forma metacíclica, incapaz de unirse a las paredes intestinales y que migra a las paredes bucales, pasando por el estadio paramastigote.

Los promastigotes metacíclicos se sitúan en la región bucal o trompa del vector, desde donde pasaran al hospedador vertebrado a través de la picadura.

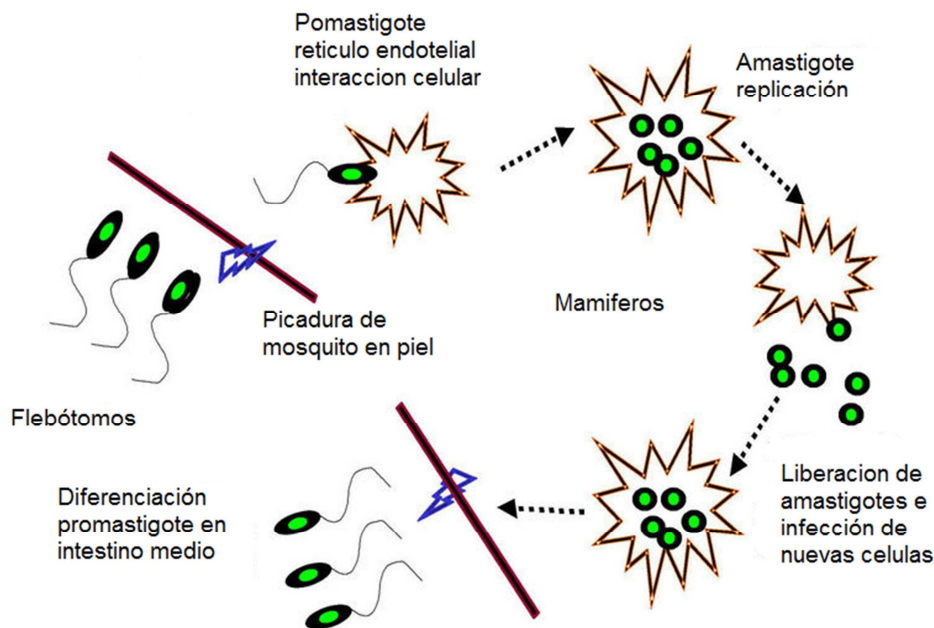
Con cada picadura del flebótomo entran en la dermis del hospedador vertebrado entre 10 y 200 promastigotes metacíclicos, algunos de los cuales son destruidos por los leucocitos y eosinófilos, mientras que otros son englobados en una vacuola parasitofora en el interior de los macrófagos. Aquí, el parásito se transforma en forma amastigota y se divide activamente hasta que dicho macrófago estalla. Los parásitos se liberan e invaden otros macrófagos vecinos en el interior de los cuales siguen multiplicándose. Desde aquí se diseminan a través de la piel o del torrente sanguíneo y linfático por órganos ricos en células macrofágicas como son la médula ósea, el hígado y el bazo principalmente.

*Excepcionalmente se ha comunicado la transmisión mecánica mediante la mosca *Stomoxys calcitrans* (contaminada al alimentarse en úlceras infectadas por *Leishmania* y posarse posteriormente en heridas no infectadas de seres humanos (Alvar, 2001). También se ha observado otras formas de transmisión entre humanos que no requieren el paso por el vector. El Kala-azar congénito ha sido descrito ocasionalmente en niños de madres infectadas con *L. donovani* en áreas endémicas (Low y Cooke, 1926) y por *L. infantum* en Francia (Blanc y Robert, 1984). La transmisión sexual se ha descrito en una mujer que no había salido de las islas británicas cuyo marido había contraído la leishmaniosis años antes en el norte de África (Symmers, 1960). La transmisión directa entre adictos a las drogas por vía parenteral (ADVP) por compartir jeringas está ampliamente estudiada (Alvar, 1994, Cruz et al., 2002, Molina et al., 2003, Cruz et al., 2006). En la leishmaniosis canina también se ha descrito la transmisión directa a través de transfusión (Owens et al., 2001) y la vertical en tres cachorros nacidos de un hembra con leishmaniosis crónica (Mancianti y Sozzi, 1995). El hecho de aislar el parásito en el semen de perros infectados hace pensar que la transmisión sexual puede ser posible en el perro aunque se desconoce el relieve epidemiológico que ésta pueda tener (Riera Valladares, 1996)<sup>8</sup>*

---

<sup>8</sup> Laura Iniesta Gonzales, Tesis "DIAGNOSTICO DE LA LEISHMANIOSIS CRIPTICA EN EL PERRO. EXPRESION ISOTIPICA E IDIOTIPICA DE LOS ANTICUERPOS PRODUCIDOS EN DISTINTAS FASES DE LA INFECCION" AÑO, 2007

Figura 2. Ciclo de Vida Leishmania spp.



## 1.4 EL VECTOR

### 1.4.1 Morfología, Ciclo De Vida y Etapas En El Hospedador.

La vehiculación de las especies del género *Leishmania* se realiza a través de dípteros nematóceros de la Familia *Psychodidae*, subfamilia *Phlebotominae*. Se distribuyen preferiblemente en zonas intertropicales y templadas. En el Nuevo Mundo todas las especies pertenecen al género *Lutzomyia* y en el Viejo Mundo al género *Phlebotomus*.

De las más de 600 especies de flebotominos descritas, únicamente unas 30 son vectoras probadas o sospechosas de transmitir las leishmaniosis.

La capacidad transmisora de estas especies está relacionada con su tropismo trófico. (*P. perniciosus*, principal vector de *L. infantum* en la Península Ibérica, no posee una marcada afinidad por el hospedador sino que es oportunista y tiende a alimentarse de aquellos animales a los que tiene mayor acceso). En áreas periurbanas existe un mayor riesgo de transmisión a los humanos por estar estos en mayor proporción, mientras que en las áreas rurales esta transmisión a los humanos se reduce debido a la mayor proporción de especies animales. También se ha descrito cierta zoofilia para *P. ariasi* y una

preferencia por los perros sobre los humanos en aquellos lugares en los que se encuentran los dos.<sup>9</sup>

En el Salvador al occidente del país en la región fronteriza con Honduras y Guatemala, se han identificado ocho especies de flebótomos en la zona, y se sospecha que el vector es *Lutzomyia longipalpis*, el cual es bien conocido en la región.

En 1960 se realizó un estudio de vectores que demostró la existencia de ocho especies entre las que predominaba *Lu. longipalpis*. Las otras especies eran *Lu. evansi*, *Lu. cayennensis*, *Lu. cruciata*, *Lu. barretto*, *Lu. deleoni*, *Lu. gomezi* y *Lu. chiapaensis*.

### Morfología de la Lutzomyia

En el estado adulto, las Lutzomyias son pequeños insectos que miden de 2 a 5 m.m. de longitud y se caracterizan por presentar el cuerpo y las alas densamente cubiertos de pelo, aparatos bucales aparentemente largos, adaptados para chupar sangre, patas largas<sup>10</sup>

Son conocidos con algunos nombres comunes en las diferentes regiones del país tales como: Palomilla, arenilla, mosco blanco, manta blanca y jején.<sup>11</sup>

A diferencia de los mosquitos hematófagos, que pasan ciertas fases de su ciclo en el agua, las Lutzomyia desarrollan todas las fases inmaduras de su ciclo de vida (huevo, larva y pupa) en la tierra, hasta llegar a su estado adulto.

Tienen un período de vida en la naturaleza de 20 a 30 días, tanto los machos como las hembras, se alimentan de los jugos y sustancias azucaradas de las plantas. Las hembras son hematófagas y se alimentan de la sangre de una variedad de vertebrados, entre los que se incluyen el hombre, animales silvestres y domésticos, zorros, roedores, perezosos, marsupiales, osos hormigueros, equinos, perros, cerdos y aves de corral.

Durante el día estos insectos permanecen en abrigos naturales; las hembras generalmente inician sus actividades en horas crepusculares y nocturnas en

---

<sup>9</sup> Laura Iniesta Gonzales, Tesis "DIAGNOSTICO DE LA LEISHMANIOSIS CRIPTICA EN EL PERRO. EXPRESION ISOTIPICA E IDIOTIPICA DE LOS ANTICUERPOS PRODUCIDOS EN DISTINTAS FASES DE LA INFECCION" AÑO, 2007

<sup>10</sup> Op. Cit. PINEDA, P.; PINZON, J. 1.994. Pág. 23

<sup>11</sup> Registro en Unidad de Salud de San Ildefonso



busca de los huéspedes para alimentarse de sangre, lo hacen extradomiciliariamente y algunas ingresan a las viviendas.

El radio de vuelo es generalmente corto, desplazándose de 200 a 300 metros aunque pueden llegar por el viento más lejos. La hembra oviposita por cada vez de 20 a 100 huevos, en sitios con adecuada humedad y materia orgánica. Las larvas eclosionan de 6 a 12 días y su desarrollo completo puede durar de 20 a 60 días dependiendo de diferentes factores. Luego se transforma en estado de pupa y permanece inmóvil por un período de 7 a 14 días, al cabo de los cuales emerge el insecto adulto macho o hembra.

#### Ciclo de vida del vector

El ciclo de vida del parásito se compone de un vector artrópodo del género *Lutzomyia* y de un hospedero mamífero, en los cuales se desarrollan las dos formas parasitarias conocidas del protozoo; promastigote en el artrópodo y amastigote en vertebrados.

#### 1.5 HOSPEDADORES VERTEBRADOS

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

Para *L. infantum* las especies involucradas como reservorios son fundamentalmente canidos, entre los que, junto con el perro, destacan el zorro (*Vulpes vulpes*) cuya prevalencia de infección en algunas zonas y aislamiento de *L. infantum* es muy similar a la del perro, el lobo (*Canis lupus*) y el chacal (*Canis aureus*). La baja densidad de estos animales y su lejanía del humano los relega a un plano muy secundario como reservorios. Sin embargo, los recientes hábitos peri domésticos de los zorros sugieren que estos animales pueden tener un papel importante como reservorios que el tradicionalmente asignado. Otros reservorios citados son los roedores (*Rattus spp.*, *Apodemus sylvaticus*...). A lo largo de los años *L. infantum* se ha asociado a distintas especies animales tales como: el cordero (*Ovis aries*), el huron (*Mustela putorius furo*), el caballo (*Equus caballus*), las cabras (*Capra aegagrus hircus*),

las ovejas (*Ovis aries*) y el gato (*Felis silvestris catus*). Todos ellos con un vector asociado, *Lutzomyia longipalpis*. Sin embargo, no esta clara la veracidad, la identidad de la especie de leishmania encontrada en algunos casos ni el verdadero papel como reservorio de algunos de estos animales. Sin duda, el reservorio domestico mas importante es el perro (*Canis lupus familiaris*), cuyo papel como tal se ha aceptado desde el principio de la enfermedad en países como España. El perro actúa como un hospedador amplificado que durante la infección provee al vector de una rica fuente de parásitos localizados a nivel cutáneo y sanguíneo (Lainson, 1988)

### 1.6 SITUACIÓN DE LEISHMANIOSIS EN LAS AMÉRICAS

En las Américas (Acha, P.; Szyfres, B. 1988), 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 del parasito, el agente etiológico de la Leishmaniosis de los perros a veces se denomina simplemente *L. canis*. La prevalencia en los perros puede ser alta. En 270 perros de áreas endémicas de Río de Janeiro, Brasil, Santos et al. (1998) encontraron que 31.5% presentaban lesiones agudas o crónicas, 25,1% resultaron positivos a la prueba de Inmunofluorescencia indirecta y 40.5% resultaron positivos a la prueba cutánea.

En el viejo mundo, (Acha, P.; Szyfres, B. 1988), los perros son afectados por *L. trópica*, que causa una enfermedad cutánea en el hombre, y por las subespecies de *L. donovani* excepto los aislados de la India que causan una enfermedad visceral en los humanos.

Cualquiera que sea la especie que causa la infección, los perros presentan con frecuencia tanto manifestaciones cutáneas como viscerales. En las áreas endémicas también se pueden encontrar equinos con *Leishmaniosis* que presentan lesiones nodulares, y a veces costras o úlceras, limitadas al pabellón de la oreja o las áreas vecinas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha señalado el papel del hombre como reservorio". El papel jugado por la respuesta inmunitaria parece fundamental en el desarrollo de la enfermedad'.<sup>12</sup>

Se estima que ocurren cada año 2 millones de nuevos casos en todo el mundo (1.5 millón de casos de leishmaniosis cutánea y 500.000 casos de leishmaniosis visceral); la prevalencia estimada total es de 12 millones de personas infectadas. El impacto de las leishmaniosis en la salud pública probablemente esté subestimado. (Consulta de expertos OPS/OMS sobre leishmaniosis visceral en las Américas)

En los últimos 10 años, el número de personas afectadas por las distintas formas clínicas de la leishmaniosis en el continente americano ha aumentado notablemente, sobre todo en América Central y en algunas zonas de América del Sur. Esto se debe en gran parte a la irrupción del hombre en las regiones selváticas, en el caso de la leishmaniosis cutánea y mucocutánea, y a la urbanización desordenada, en el de la Leishmaniosis visceral (OPS "Epidemiología y control de la leishmaniosis en las Américas por país o territorio").

### *1.6.1 Leishmaniosis Visceral*

En las Américas, la leishmaniosis visceral (LV) se presenta desde el sur de los Estados Unidos de Norte América hasta el norte de la Argentina en el sur. Su mayor incidencia se manifiesta en el Nordeste de Brasil, pero se encuentra en la mayoría de las zonas semi-áridas de la Región. Recientemente se han descubierto focos de transmisión en áreas más húmedas. Esta enfermedad se asocia sobre todo con la desnutrición y, en zonas rurales, con la presencia de perros.

---

<sup>12</sup> Alberto Arnedo Pena, Juan B Bellido Blasco. "LEISHMANIASIS EN CASTELLÓN: ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE LOS CASOS HUMANOS, VECTOR Y RESERVORIO CANINO"



En Venezuela (Bonfante-Garrido et al., 1981) se examinaron 116 burros: 28 tenían una o más lesiones ulcerosas y 17 (15%) resultaron positivos a la observación microscópica. Por el comportamiento en hamsters y medios de cultivo, los autores clasificaron al agente como *L. braziliensis*. En general las manifestaciones en animales silvestres son inaparentes por el complejo *L. mexicana* producen alteraciones de la piel, sobre todo en la base de la cola y, en ocasiones, en las orejas y dedos. Las lesiones consisten en tumores con pérdida de pelo o, a veces, ulceraciones en las que se pueden comprobar la presencia de amastigotes.

**El Salvador**, entre 1905 y 1952 se diagnosticaron cuatro casos autóctonos de LV 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.

Según datos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) (1996) 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%.

### 1.6.2 *Leishmaniosis Cutánea*

La leishmaniosis cutánea está presente en todos los países desde el sur de los Estados Unidos hasta el norte de la Argentina, Centro y Suramérica, con excepción de Chile, Uruguay y las islas del Caribe.

Figura 4. Mapa Distribución Mundial de *Leishmania* Cutánea (Fuente O.M.S 2005)



Constituye un grave problema de salud pública, a nivel mundial. Aunque de baja mortalidad, constituye motivo de incapacidad física temporal; a veces incluso definitiva.

**En Afganistán**, con unos 67 500 afectados, la ciudad de Kabul alberga la mayor concentración de casos de leishmaniosis cutánea del mundo. Esa cifra representa la tercera parte de los 200 000 casos que hay en el Afganistán. (Organización Mundial de la Salud, OMS)

**En Venezuela**, de acuerdo a datos del Servicio de Dermatología Sanitaria del Ministerio de Salud y Desarrollo Social, entre los años 1994 y 2003 se reportaron 23961 casos, lo que representa un promedio de casi 2400 casos por año, siendo los estados mas afectados: Lara (4157 casos acumulados), Miranda (2962 casos acumulados), Trujillo (2690 casos acumulados), Mérida (2263 casos acumulados), Sucre (2112 casos acumulados), entre otros.

A nivel mundial, la Organización Mundial de la Salud reporta a las leishmaniosis endémicas en 88 países en los cinco continentes, con un total de 350 millones de personas en riesgo; se cree que en el mundo existen 12 millones de personas afectadas.

**En Nicaragua** municipio de Wiwilí la incidencia de Leishmaniosis fue muy numerosa, En el año 2003, cursando con el 40% de los casos totales del departamento de Jinotega, en el año 2004 hasta el mes de mayo los casos han disminuido en un 3% con un total en el periodo de estudio de 178 casos de Leishmaniosis cutánea y Mucocutánea.

Los casos presentes se diagnosticaron por: Clínica, frotis Directo, PCR y con la Prueba de Montenegro.<sup>13</sup>

La leishmaniosis cutánea (LC) simple consiste en una o mas ulceras cutáneas que aparecen entre 1.5 días y varios años (excepcionalmente) después de la picadura de Un flebótomo infectado. Estas ulceras pueden ser pequeñas (< 0,25 cm) o muy grandes (> 30 cm). Clásicamente, la lesión es de bordes elevados y de centro papuloso y húmedo, pero puede manifestarse en formas irregulares. En algunos casos hay afección linfática, lo que indica la diseminación de la enfermedad. En ciertas clases las lesiones pueden ser vegetativas o verrugosas. Pueden aparecer lesiones satélites a partir de una lesión primaria.

Según el agente etiológico, estas heridas pueden curarse espontáneamente, responder a tratamiento o ser difíciles de tratar con medicamentos. Muchas veces ocurre una recaída debido a un tratamiento incompleto. Hasta la fecha, en las Américas no hay registros científicamente documentados de resistencia a los medicamentos antimoniales. Los agentes etiológicos incluyen todas las leishmaniosis aisladas del hombre, incluida *Leishmania chagasi*.

**En Argentina** la mayor parte de los casos de leishmaniosis cutánea notificados provienen de las provincias de Tucumán, aquí se encontraron perros con leishmaniosis cutánea, y en Salta aparecieron perros con ulceras en el escroto y lesiones en las orejas. El parasito aislado es *L. braziliensis*, identificado por isoenzimas. También se han encontrado equinos infectados. En los focos periurbanos, el vector más probable en las zonas peri domésticas es *Lutzomyia intermedia*. Los casos mucocutáneos son relativamente comunes.

---

<sup>13</sup> <http://www.minsa.gob.ni/enfermeria/PDF/61.pdf>

**En Bolivia** se ha registrado leishmaniosis cutánea, mucocutánea y cutánea difusa, y las tres formas clínicas están ampliamente difundidas.

En los valles de los Yungas y en el departamento de La Paz, se determinó que el agente etiológico aislado de 24 casos humanos era *L. braziliensis*. No se conoce ningún reservorio, aun cuando se estudiaron 500 animales.

En la región de Yapacani, en el departamento de Santa Cruz, en 236 personas examinadas se encontraron dos úlceras y seis cicatrices, y en 12% de los casos las pruebas intradérmicas con *leishmania* dieron resultados positivos.

No se conoce el reservorio, si bien se examinaron 76 roedores y marsupiales de esta zona que resultaron negativos. Un roedor, *Oryzomys capito*, fue hallado infectado recientemente, y el parásito fue identificado como *L. amazonensis* mediante electroforesis de isoenzimas. No se ha identificado ningún vector en esta zona.

**En Brasil** la leishmaniosis cutánea y mucocutánea está muy difundida en el Brasil. En 24 de los 26 estados se han registrado casos de LC. Los otros dos estados, Rio Grande do Sul y Santa Catarina, notifican casos esporádicamente. Los estados que notificaron el mayor número de casos de LC en un período de cinco años (más de 10 000 casos) son Ceará, Maranhão, Pará, Bahía, Rondonia, Mato Grosso y Amazonas. Entre 1984 y 1993 se registraron 119 683 casos, con un pico en 1987, cuando se registraron 26 611 casos. En 1987, 1988 y 1989 se notificaron más de 20 000 nuevos casos por año.

Durante el período 1991- 1993, el Programa de Control de la Leishmaniosis (PCL), de la Fundación Nacional de Salud (antigua SUCAM) del Ministerio de Salud Pública, trabajó en recomendaciones específicas que el PCL ha incorporado en las guías para el control de la leishmaniosis cutánea: Controlar los focos urbanos de leishmaniosis cutánea, Examinar 100% de los perros domésticos y sacrificar todos los perros infectados en las áreas de riesgo, Garantizar la disponibilidad de medicamentos al 100% de los casos detectados, así como medicinas alternativas para el 100% de los casos resistentes, Identificar, observar y controlar el 100% de los focos urbanos, estimular y apoyar a las instituciones de investigación para establecer métodos de prevención eficaces, mantener a la población informada sobre la enfermedad y estimular la participación activa en las actividades de control.



- ✓ Leishmaniosis Cutánea y visceral en perros de una comunidad rural en el noreste de Brasil.<sup>14</sup>

Un estudio epidemiológico basado en la comunidad se llevó a cabo en una zona rural en el noreste de Brasil, donde la leishmaniosis visceral es endémica, pero el principal vector *Lutzomyia longipalpis* nunca ha sido hallado. Cuarenta y un perros fueron revisados por una prueba de Inmunofluorescencia indirecta de anticuerpos (IFAT) para detectar la presencia de anticuerpos anti-*Leishmania* y 12 (29,3%) de ellas fueron positivas. Uno de los perros positivos IFAT-también fue positiva para los amastigotes de *Leishmania* en la citología de médula ósea y de *Leishmania infantum* en tiempo real de reacción en cadena de polimerasa (PCR) en sangre. Un perro IFAT-negativo fue positivo para *L. infantum* por PCR en la médula ósea y otros de amastigotes de *Leishmania* en la piel manchada, frotis. Cuando la prueba de *L. braziliensis* por PCR, 20 perros fueron positivos. Teniendo en cuenta todas las pruebas diagnósticas, la prevalencia estimada de infección del género *Leishmania* en la población canina rural estudiada fue de 58,5%. No hubo diferencia significativa en la IFAT-positividad en relación con la edad, el sexo y el estado clínico de los perros. Cuando la prueba de *L. infantum* por PCR en tiempo real, en 20 de garrapatas recolectadas de perros IFAT-positivos fueron todos negativos. Este estudio muestra un alto nivel de exposición a la *Leishmania* spp. Infección en perros de una comunidad rural en el noreste de Brasil. En general, los resultados no son compatibles con la participación de las garrapatas como vectores de *L. infantum* en este ámbito, que es probable que sea transmitida por *Lutzomyia* spp. distintos de *L. longipalpis*. Por último, este estudio destaca que el uso de IFAT en zonas donde tanto *braziliensis* *L. infantum* y *L.* están presentes deben retirarse para evitar el sacrificio innecesario de los perros que están realmente infectados sólo por *L. braziliensis*.<sup>15</sup>

**En Colombia,** “Medellín está ubicado el PECET - Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales- de la Universidad de Antioquia; El director de este centro universitario de investigación médica de Medellín, Iván

---

<sup>14</sup> [www.pubmed.com](http://www.pubmed.com)

<sup>15</sup> [www.pubmed.com](http://www.pubmed.com) Copyright © 2010 Elsevier BV Todos los derechos reservados.

Darío Vélez (galardonado el año pasado con el premio Alejandro Ángel), ha dicho que la leishmaniosis -enfermedad tropical característica de las zonas selváticas- ha llegado a grandes centros urbanos del país. Según estadísticas de los servicios nacionales de salud, este país andino presenta unos ocho mil quinientos casos anuales de leishmaniosis, dos mil de ellos en personal militar. El PECET advirtió de que la incidencia de la leishmaniosis en Colombia es mayor, porque por cada caso que es informado, diez no llegan a los registros oficiales. El conflicto armado interno fue mencionado por el científico como el factor que más ha incidido en la expansión de la enfermedad, que causa úlceras que destruyen la piel de las personas que la contraen. Los datos sobre esta enfermedad en Colombia se vienen publicando en el Boletín Epidemiológico Nacional. También hace unos años se publicó un trabajo de investigadores nacionales sobre el tema (Corredor A, Boshell J, et al. Distribución y etiología de leishmaniosis en Colombia. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 1990, 43(5): 203-43).<sup>16</sup>

**En Perú,** “La leishmaniosis es endémica en los valles interandinos, así como en el llano amazónico del Perú. Se presentan dos formas principales de leishmaniosis tegumentaria, definida principalmente por características geográficas y clínicas; la leishmaniosis andina o uta, y la leishmaniosis selvática o espundia (Arias et al., 1996).<sup>17</sup>

En Pampas Grande Perú (Medina, R. G. y col. 2000) un total de 83 perros provenientes de 7 caseríos, fueron muestreados. Estos animales fueron sometidos a 3 pruebas diagnósticas de leishmaniosis cutánea: frotis-coloración Giemsa, determinación de anticuerpos en suero mediante Inmunofluorescencia indirecta (IFI) e intradermorreacción canina (IDR). Los resultados indicaron 3.6% de animales positivos a frotis-coloración Giemsa e IFI, y 8.4% de animales reactivos positivos a IDR. Se concluye que la infección por *Leishmania* en perros del distrito de Pampas Grande está presente en al menos 5.4% de la población canina del lugar.

---

<sup>16</sup> <http://www.encolombia.com/medicina/materialdeconsulta/Tensiometro49-1.htm>

<sup>17</sup> Guicela Medina R.<sup>1</sup>; Amanda Chávez V.<sup>2</sup>; Gloria Minaya G.<sup>3</sup>; Elizabeth G.O. Barbosa-Santos<sup>4</sup> y Gloria Espinoza Z., Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú (jul. /dic. 2002) v.13.

“Esta enfermedad va en aumento en el país. La incidencia anual por detección pasiva en 1978 fue de 9.1 casos por cada 100,000 habitantes, y para 1992 fue de 15,000 nuevos casos. Investigaciones realizadas en áreas de leishmaniosis cutánea proponen como reservorios de la uta a pequeños roedores silvestres y a caninos domésticos.

Estudios realizados en el Perú sostienen que el perro podría actuar como reservorio sinantrópico secundario de la uta (OMS, 1984; Llanos-Cuentas et al., 1999; Soulsby, 1987). En este sentido, Llanos-Cuentas et al. (1999) aislaron *Leishmania* peruviana de aspirados nasales y de biopsias de perros asintomáticos en villas endémicas de los andes peruanos y encontraron sangre de perro en los intestinos de los mosquitos vectores *Lutzomyia peruensis* y *Lutzomyia verrucarum* capturados dentro de las casas.

Pirmez et al. (1988) infectaron perros con promastigotes de *Leishmania braziliensis* (provenientes de lesiones en perros naturalmente infectados) encontrando que las lesiones desarrolladas en la leishmaniosis tegumentaria canina experimental son similares a las lesiones de leishmaniosis cutánea humana. Estas lesiones comienzan con la formación de una pápula, la cual incrementa su tamaño y finalmente se ulcera. “(Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, *loc. cit.*)

### **En El Salvador, Leishmaniosis cutánea (LC) y mucocutánea.**

La leishmaniosis mucocutánea (LMC), también llamada “espundia”, se manifiesta por la destrucción severa de las membranas nasofaríngeas. Esta forma de leishmaniosis Normalmente no responde bien al tratamiento con medicamentos antimoniales, y muchas veces requiere series múltiples de aplicaciones. La metástasis a los tejidos

Mucosos puede ocurrir simultáneamente con una lesión crónica de LC, o puede presentarse hasta 24 años después de la infección original. Los agentes etiológicos Aislados de pacientes con LMC son *L. braziliensis* y *L. panamensis*.

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. Entre 1954 y 1984 se registraron solamente 20

casos nuevos, todos en menores de 8 años. ([MSPAS] Manual de *Leishmaniosis* Laboratorio “Dr. Max Bloch”).

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

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 otros 54 casos autóctonos 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 y con atentados perpetrados en el norte del país. No se conoció la especie del parásito con que se relacionaron los casos. 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***. (MSPAS, 1996)

En San Ildefonso municipio del Departamento de San Vicente, desde 1974 hasta el año 2009 se han registrando 285 casos de *Leishmaniosis* cutánea; desde 2004 hasta el año 2009 se han registrado 51 nuevos casos todos diagnosticados positivos mediante frotis y la prueba de Montenegro en la Unidad de Salud de dicho municipio.

([MSPAS] Manual de *Leishmaniosis* Laboratorio “Dr. Max Bloch”)

En El Salvador en el año 2008 (Alberto E. y Arteaga C.) Se realizó un estudio para establecer la participación de los cánidos domésticos del municipio de San Ildefonso como reservorio de la enfermedad, dicha investigación se propuso identificar la presencia de amastigotes de *Leishmania spp* en frotis de aspirado ganglionar, además de identificar la presencia de promastigotes de *Leishmania spp* en cultivo de aspirado ganglionar de perros domésticos. Todo esto con el fin de establecer el porcentaje de cánidos domésticos del municipio

de San Ildefonso con presencia de *Leishmania spp.* Los resultados obtenidos de las muestras tomadas resultaron negativos tanto en frotis como en cultivo, pudiendo deberse en ambos casos a que las pruebas diagnósticas utilizadas son de baja sensibilidad y especificidad, a pesar de que el 86.07% de los cánidos presentaban sintomatología compatible con la enfermedad, y que el estudio se realizó en un área donde la leishmaniosis humana se considera endémica.

Según datos de Consultas Ambulatorias atendidas en los establecimientos del Ministerio de Salud a nivel nacional (MSPAS+FOSALUD 2007-2008) Las consultas atender de casos de *Leishmania spp.* (*L. inespecífica*, *L. cutánea*, *L. muco cutánea*, y *L. visceral*) han ido en aumento de una tasa del 0.32% (2007) a 0.83% (2008).

CUADRO 1. Consulta Ambulatoria atendida en los establecimientos del Ministerio de Salud. Período del 01/01/2007 al 31/12/2007

Código	Diagnóstico	Consultas Masculina	Tasa	Consultas femenina	Tasa	Total Consultas	Tasa
B55.9	Leishmaniosis, no especificada	6	0.17	9	0.25	15	0.21
B55.1	Leishmaniosis cutánea	4	0.11	2	0.06	6	0.08
B55.0	Leishmaniosis visceral	0	0	1	0.03	1	0.01
B55.2	Leishmaniosis mucocutánea	0	0	1	0.03	1	0.01
	Totales	10	0.29	13	0.36	23	0.32

CUADRO 2. Consulta Ambulatoria atendida en los establecimientos del Ministerio de Salud. Período del 01/01/2007 al 31/12/2008

Código	Diagnóstico	Consultas masculina	Tasa	Consultas femenina	Tasa	Total Consultas	Tasa
B55.9	Leishmaniosis, no especificada	14	0.40	28	0.78	42	0.59
B55.1	Leishmaniosis cutánea	7	0.20	3	0.08	10	0.14
B55.0	Leishmaniosis visceral	1	0.03	4	0.11	5	0.07
B55.2	Leishmaniosis mucocutánea	0	0.00	2	0.06	2	0.03
	Totales	22	0.63	37	1.02	59	0.83

### 1.6.3 Leishmaniosis Cutánea Difusa

La leishmaniosis cutánea difusa (LCD) es una forma diseminada que afecta la mayor parte del cuerpo del paciente, semejante a la lepra lepromatosa. Es rara (menos de 500 casos notificados en todo el mundo), y el paciente presenta un defecto inmunológico específico.

Una característica de la LCD es que la enfermedad es crónica recidivante (no Existe cura). Todas las lesiones son riquísimas en parásitos. La incidencia de la LCD es baja, pero se encuentran casos desde México hasta el Brasil. Se desconoce su fisiopatogenia, pero se estima que puede ser consecuencia de una deficiencia inmunológica específica en combinación con un parásito relativamente no inmunogenico. Las lesiones no están aisladas por una pared de linfocitos, como en las lesiones clásicas de borde elevado, y por este motivo no se ulceran, a no ser que sean traumatizadas. De esta manera los parásitos no están restringidos y pueden dispersarse por la superficie de la piel, particularmente en las partes con temperaturas mas bajas. Los agentes etiológicos asociados con esta forma son *L. amazonensis* y *L. mexicana*.

## 1.7 DESCRIPCIÓN DE LOS TIPOS DE LEISHMANIA

En nuestro entorno, la leishmaniosis humana se presenta fundamentalmente bajo formas clínicas como son cutánea, mucosa y visceral.

### 1.7.1 Leishmaniosis Cutánea

#### *La Enfermedad en el hombre*

- ✓ **-Sinonimia:** Botón de Alepo, de Bagdad o de Delhi, furúnculo oriental, espundia, uta, úlcera del chiclero o de Baurú, pián-bosque, buba.
- ✓ **-Etiología:** En el viejo mundo *L. trópica*, *L. major*, *L. aethiopica* y en el nuevo mundo Complejo mexicana (*L. braziliensis*, *L. panamensis* y *L. mexicana*)
- ✓ **-Diagnóstico diferencial:** Entre los diagnósticos diferenciales de la Leishmaniosis cutánea deben considerarse:
  - Lesiones ulcerosas:** Ulceras traumáticas, úlceras vasculares, piógenas,

esporotricosis fija y linfangítica, paracoccidiodomicosis, TBC cutánea, úlceras por micobacterias atípicas, pioderma gangrenoso y tumores malignos ulcerados.

**-Lesiones papulosas, nodulares o en placas:** Picaduras de insecto con formación de granuloma, enfermedad de Hansen, sarcoidosis, psoriasis.

**-Lesiones verrugosas:** Cromomicosis, tuberculosis verrugosa, histoplasmosis, lobomicosis, carcinomas espinocelulares.

**-Formas linfangíticas:** Esporotricosis, úlceras por micobacterias atípicas<sup>18</sup>

✓ **-Distribución**

La enfermedad se presenta en el Noreste de la India y Paquistán, el Oriente Medio, el Sur de Rusia, el litoral del Mediterráneo y África, toda Sur América a excepción de Chile.

✓ **-Formas clínicas de presentación**

**-L. major.** Causa la Leishmaniosis rural o húmeda, que ocurre en regiones semidesérticas y desérticas. La lesión se inicia con una pápula sobre la cara y extremidades, zonas expuestas y evoluciona hacia una úlcera húmeda. Las lesiones pueden ser múltiples por extensión directa o por los vasos linfáticos.

La enfermedad dura de 2 a 8 meses pudiendo finalizar por una curación espontánea por fibrosis.

**-L. trópica.** Causa la Leishmaniosis seca, ocurre en áreas urbanas y periurbanas. La pápula inicial se desarrolla lentamente hacia úlcera tardando en establecerse. El curso de la enfermedad es largo.

**-L. aethiópica.** Causa tres tipos de lesiones; el botón o forúnculo oriental, la forma mucocutánea y la cutánea difusa, de evolución lenta con o sin ulceraciones tardías. Su duración es de 1 a 3 años o más.<sup>19</sup>

**-L. mexicana.** Se aísla muy poco en el hombre, produce la úlcera del chiclero o baya unas pocas semanas.

**-L. braziliensis.** Causa la clásica espundia de los bosques húmedos de Brasil, presentándose metástasis a la orofaringe, causa gran desfiguración, puede prolongarse durante muchos años y puede llegar a causar la muerte.

<sup>18</sup> SALUDCOOP, E.P.S. 2.000. Salus Holos. No. 11. Pág. 40, 41.

<sup>19</sup> Op. Cit, SOULSBY, E. 1.987. Pág 555, 556.

### ✓ -Manifestaciones clínicas

Esta es una enfermedad polimórfica de la piel y de las membranas mucosas, comienza con una pápula que se agranda y típicamente se transforma en úlcera indolora (Fig.). Esta se caracteriza por la presencia de lesiones ulcerosas que pueden ser únicas o múltiples y de duración limitada, indoloras (en la forma cutánea simple) o lesiones nodulares múltiples (tipo difuso).<sup>20</sup>

Con ciertas cepas del Hemisferio Occidental, pueden ocurrir, incluso años después de curarse la lesión primaria, aun sin que esta se haya identificado, lesiones mucocutáneas (espundia) que afectan las membranas nasofaríngeas. Esta última forma puede resultar mortal.



**FIGURA 5.** Úlcera de Leishmaniosis cutánea.

**FUENTE:** MINISTERIO DE SALUD 1993. Atlas Lepra, Leishmaniosis y Tuberculosis. Pág. 18.

Las formas clínicas varían desde lesiones cerradas como pápulas, nódulos y placas que pueden ser de aspecto verrugoso hasta las formas abiertas como la úlcera franca, la úlcera vegetante.

La úlcera típica es redondeada, de bordes elevados, eritematosos, acordonados, con centro granulomatoso, limpio y base infiltrada. Regularmente son indoloras, de crecimiento lento y se asientan sobre piel sana. Cuando hay sobre infección bacteriana se tornan dolorosas, de fondo sucio, secreción

---

<sup>20</sup> Op. Cit, SALUDCOOP, E.P.S. Pág. 34



purulenta, recubiertas por costra de aspecto melisérico, eritema en su periferia y signos inflamatorios locales.<sup>21</sup>

La forma linfangítica se presenta cuando la úlcera se acompaña de nódulos que siguen el trayecto de los vasos linfáticos que drenan la lesión inicial de la piel y generalmente son cerrados aunque también pueden ulcerarse.

- ✓ **-Diagnóstico:** Se hace mediante la identificación microscópica de las formas no flageladas (amastigotes), en frotis teñidos de material obtenido por raspado o aspiración de los bordes de las lesiones; también mediante cultivo en medios apropiados. La reacción intradérmica (reacción de Montenegro) utilizando material proveniente de las formas flageladas (promastigotes), generalmente se vuelve positiva al principio de la enfermedad. La prueba serológica de Inmunofluorescencia indirecta ha demostrado su valor práctico.<sup>22</sup>
- ✓ **-Histopatología:** Los cambios histopatológicos que caracterizan la Leishmaniosis guardan un patrón general que permite sospecharla y reflejan la relación entre la multiplicación del parásito y la respuesta inmune del paciente.<sup>23</sup>

En el tipo cutáneo existe una formación granulomatosa constituida por linfocitos, plasmocitos e histiocitos. La forma cutánea difusa tiene un alto índice de presentación de macrófagos parasitados, escasez de linfocitos y una total ausencia de ulceraciones y necrosis.<sup>2425</sup>
- ✓ **-Inmunidad:** Es mediada por la inmunidad celular, en las formas iniciales es baja. El infiltrado de linfocitos y plasmocitos aumenta progresivamente a medida que evoluciona la lesión y sigue siendo abundante hasta el final.
- ✓ **-Modo de transmisión:** Por lo común, por la picadura de Flebotomus hembra infectantes (jejenes). Después de alimentarse de un huésped, las formas de flagelo se desarrollan en el intestino y en el plazo de 8 a 20 días estas están presentes formas infectantes que se inyectan durante la picadura o contamina la excoriación causada por esta última.

<sup>21</sup> Op. Cit. SALUDCOOP E.P.S. 2.000. Pág. 37

<sup>22</sup> HARRISON. 1.994. Principios de Medicina interna. Pág 1041, 1042

<sup>23</sup> Op. Cit. SALUDCOOP. E.P.S. 2.000. Pág. 60

<sup>24</sup> Op. Cit. SALUDCOOP. E.P.S. 2.000. Pág. 60 - 63

<sup>25</sup> O.M.S. 1.984. Las Leishmaniasis. Pág. 17 -18

En el hombre, los organismos pierden sus flagelos, y las formas amastigotes se multiplican en histiocitos hasta la ruptura de las células propagándose a otros histiocitos.

- ✓ **Período de incubación.** De unos cuantos días a unos meses.
- ✓ **Período de transmisibilidad.** Mientras haya parásitos en las lesiones; en los casos no tratados, un año o más. La cura espontánea es la regla cuando se trata de infecciones por *L. trópica* y *L. mexicana*; salvo cuando está afectado el pabellón de la oreja. En el caso de *L. brazilensis* la cura puede ser muy lenta. Se desconoce la duración del período de infecciosidad del vector.
- ✓ **Susceptibilidad y resistencia.** La susceptibilidad probablemente es general. Es común la inmunidad después de curarse las lesiones. Las infecciones ocultas pueden activarse años después de la infección primaria.
- ✓ **Reservorios:** Roedores salvajes, chucha o zarigüeya, rata de agua o doméstica, puerco espín, marsupiales, canidos a menudo incluyendo el perro doméstico.
- ✓ **Enfermedad en los animales:** Se presenta en animales domésticos y silvestres, en roedores se encuentran hinchazones con pérdida de pelo, alteraciones de la piel, especialmente en la base de la cola y ocasionalmente en orejas y dedos, uñas deformadas alargadas (onicogrifosis). Sin embargo, también pueden presentarse parásitos dispersos por la piel sin presentar lesiones en ésta. En los perros no hay lesiones o son insignificantes, aunque algunos estudios demuestran que se encuentran lesiones únicas o múltiples en escroto, nariz, orejas y extremidades (bilateral).<sup>26</sup> 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).

### **-DIAGNOSTICO CLÍNICO DE LEISHMANIA SSP EN CANIDOS.**

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:

---

<sup>26</sup> ACHA, P. 1.986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. Pág 621

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 autentico desafío para el diagnóstico clínico (GRADONI, L. 2002).

- **Tratamiento:** Los tratamientos de elección para las diferentes formas clínicas de las Leishmaniosis son las sales de antimonio pentavalente.

- Antimoniato de N-metil glucamina (Glucantime\*)
- Stibogluconato de sodio (Pentostam\*)
- Pirimetamina (daraprina)
- Clorhidrato de Quinacrina
- Anfotericina B
- Pamoato de cicloguanilo (camolar).<sup>27</sup>

✓ -**Medidas preventivas:** Aplicación periódica de insecticidas de acción residual. Esta debe cubrir la parte exterior e interior de las puertas y otras aberturas si la infección se presenta en viviendas.

- Eliminación de basureros
- Destrucción de animales identificados como reservorios.
- Evitar la entrada de personas a zonas infectadas por flebótomos.
- Utilizar repelentes y ropa protectora.

---

<sup>27</sup> Op. Cit. SALUDCOOP. E.P.S 2.000. Pág. 42 - 45

✓ **-Control del paciente, de los contactos y del medio ambiente inmediato.**

- Notificación a la autoridad local de salud.
- Debe protegerse al paciente contra picaduras de flebotomus, mediante telas metálicas, finas y mosquiteros o rociando los lugares que rodean al paciente con insecticidas de acción residual.
- Identificación de los contactos
- Investigación de los contactos y de la fuente de infección determinando el ciclo de transmisión e interrumpiéndolo.

En zonas de alta incidencia, debe hacerse todo lo posible por controlar la enfermedad, proporcionando los medios de diagnóstico, emprendiendo campañas de tratamiento en masa y aplicando medidas contra los flebótomos y mamíferos huéspedes reservorios.

### 1.7.2 *Leishmaniosis Visceral*

#### *La enfermedad en el hombre*

- ✓ **Sinonimia:** Fiebre Dum-dum, Kala-azar, fiebre esplénica infantil, esplenomegalia tropical, enfermedad del bulto o plato.
- ✓ **-Etiología:** *Leishmania donovani*. Este se clasifica en dos subespecies:  
*L.d Infantum*. Y *L. d. Chagasi*.
- ✓ **-Diagnóstico diferencial:** La Leishmaniosis visceral debe considerarse entre los diagnósticos diferenciales de todo síndrome febril prolongado con esplenomegalia. Las entidades a considerar incluyen: el síndrome de esplenomegalia tropical, la TBC con compromiso del bazo, la sífilis visceral con hepato-esplenomegalia, la tripanosomiasis americana (chagas), la brucelosis, la salmonelosis, la septicemia, la endocarditis bacteriana, la histoplasmosis sistémica, los linfomas, las leucemias y otras neoplasias, las anemias hemolíticas y la sarcoidosis.<sup>28</sup>
- ✓ **-Distribución:** Zonas rurales de la mayoría de las regiones tropicales y subtropicales del mundo.
- ✓ **- Formas clínicas de presentación:**

---

<sup>28</sup> SALUDCOOP.E.P.S. 2.000. Manual de capacitación interna para los profesionales de la salud de Saludcoop. De: Salusholos. No. 11. Pág. 35 - 67.

**L. V. Endémica.** Afecta especialmente a los niños, el grupo de edad que más afecta es de 1 a 4 años por todo el mundo, esta enfermedad se observa también en adolescentes. Cursa con fiebre, malestar, pérdida de peso, hepatoesplenomegalia, anorexia y puede durar entre 10 días a 1 año.

**L. V. Esporádica.** Las personas no nativas de cualquier edad que penetre en una zona endémica. La fiebre suele empezar en forma abrupta, entre tres semanas y dos años después de la exposición. Avanza en forma aguda con escalofríos, fiebre alta ondulante, sudor copioso, pérdida de peso y malestar profundo.

**L. V. Epidémica.** Todas las edades son susceptibles, excepto los que sufrieron la enfermedad anteriormente, la forma aguda es muy rara. Se cree que la enfermedad subclínica es mayor que la clínica.<sup>29</sup>

- ✓ **-Manifestaciones clínicas:** Esta es una enfermedad infecciosa generalizada, crónica que se caracteriza por fiebre, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía, anemia con leucopenia, y emaciación y debilidad progresiva. (Fig.).



**FIGURA 6.** Niño de 10 años con Hepatoesplenomegalia.

**FUENTE:** MINISTERIO DE SALUD. 1.993. Atlas Lepra, Leishmaniosis y Tuberculosis. Pág. 26.

Si no se trata es por lo general una enfermedad mortal. La fiebre se inicia en forma gradual o brusca, con curso prolongado e irregular, a menudo con dos exacerbaciones al día; se observan períodos alternos de apirexia y de fiebre

<sup>29</sup> Op. Cit. O.M.S. 1.984. Pág. 10 - 14

baja. Esta es una infección oportunista en áreas donde se convive con el VIH.<sup>30</sup>

- ✓ **-Diagnóstico:** Por observación de amastigotes intracelulares, en frotis teñidos de materiales obtenidos de médula ósea, bazo, hígado, ganglios linfáticos, sangre o por recuperación del parásito.
  - Biopsia hepática y del bazo.
  - Punción de un ganglio linfoide.
  - Test de aglutinación directa.
  - ELISA con un 98% de sensibilidad.
  
- ✓ **-Histopatología:** Se caracteriza por que el hígado presenta hipertrofia e hiperplasia de las células de Kupffer y granulomas en los espacios porta, constituidos por macrófagos que contienen amastigotes y abundantes plasmocitos. En el bazo se observa hiperplasia de los folículos linfoides, congestión severa de sinusoides y frecuentes macrófagos con amastigotes.<sup>31</sup>
  
- ✓ **-Inmunidad:** Los individuos recuperados de Leishmaniosis normalmente quedan inmunes a la reinfección. Los antígenos de *Leishmania* no son específicos; se encuentran varios grados de reacción cruzada.<sup>32</sup> La susceptibilidad es general, tiene inmunidad duradera pero el restablecimiento de una *L. cutánea*, no confiere inmunidad contra el Kala-azar. Esta inmunidad está dada por las reacciones mediadas por células. Desde los primeros síntomas de la infección se pueden detectar anticuerpos y en el transcurso de la enfermedad aumentan junto con los anticuerpos específicos, ya que hay elevación de las gama-globulinas con reducción de las albúminas. Los anticuerpos humorales no son esterilizantes y la aparición de la cura es concomitante con la de la inmunidad celular, la hipersensibilidad retardada y la resistencia a la reinfección.<sup>33</sup>

---

<sup>30</sup> Op. Cit. HARRISON. 1.0994. Pág. 1042

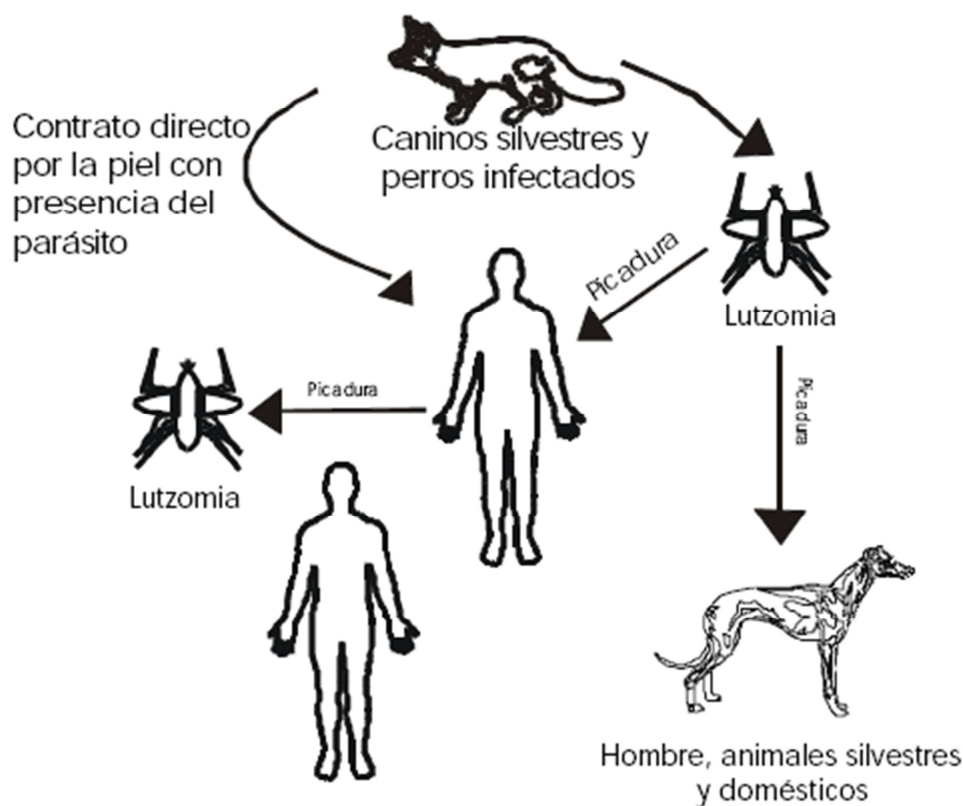
<sup>31</sup> Op. Cit. SALUDCOOP. E.P.S. 2.000. Pág. 64

<sup>32</sup> QUIROS, H. 1.994. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Pág.

88

<sup>33</sup> O.p. Cit. CORREDOR, A. ; Et al. 1.982. pág. 8.

- ✓ **-Modo de transmisión:** La puerta de entrada del parásito al hombre o a los animales es la piel, por la picadura de jejenes infectantes del género *Phlebotomus*. Las formas promastigotes del parásito invaden las células del sistema reticulo-histiocitario local, se reproducen bajo la forma de amastigotes y luego se diseminan por vía linfática, con linfadenopatía observada en algunos pacientes o por vía sanguínea, para localizarse en los macrófagos de la médula ósea, el hígado y el bazo, cuyo compromiso gradual, crónico, llega a ser masivo, lo cual explica las manifestaciones clínicas de la enfermedad.<sup>34</sup> (ver fig.).



**FIGURA 7.** Ciclo de transmisión de la Leishmaniosis visceral.

**FUENTE:** MINISTERIO DE SALUD. 1.999. Manual de enfermedades zoonótica, Pág. 81.

- ✓ **-Período de transmisibilidad.** Los parásitos persisten en la sangre o en la piel del mamífero, huésped reservorio. Se ha notificado transmisión directa

<sup>34</sup> Op. Cit. MINISTERIO DE SALUD. 1.994. Pág. 52

de una persona a otra y transmisión por transfusión de sangre, por contacto sexual o por mordedura de animales infectados de laboratorio.

- ✓ **-Susceptibilidad y resistencia.** La susceptibilidad es general, tiene inmunidad duradera pero el restablecimiento de una L. cutánea no confiere inmunidad contra el Kala-azar o L. visceral.
- ✓ **-Reservorios:** El perro se considera como el principal reservorio doméstico de Leishmaniosis visceral. Este sufre la enfermedad y la muerte por invasión del parásito. En Colombia los animales silvestres como zorros, roedores la chucha o zarigüeya son los más aceptados como los reservorios de la Leishmaniosis. En los animales silvestres la enfermedad se presenta en las siguientes especies: Ciertos roedores (*Arvicanthis niloticus luctuosus*, *Acomys albigena*) en el mundo; ardillas de tierra (*Xerus rutilus*), jerbos (*Tatera robusta*) y algunos carnívoros (*Felisserval phillipsi*, *Genetta genetta senegalensis*), zorro (*Vulpes vulpes*), lobo (*Canis lupus*), chacal (*Canis aureus*) y el puerco espín (*Hitrix hirsutirostrissatunini*).<sup>35</sup> En la India el hombre es el único reservorio conocido.

#### ✓ **-Enfermedad en los animales**

El período dura de 3 a 7 meses pudiendo o no tener manifestaciones clínicas que contribuyan al diagnóstico de un animal sano, infectado o enfermo. La intensidad del parasitismo no tiene relación directa con el cuadro clínico; pudiéndose observar animales muy parasitados con síntomas leves.

La infección del zorro es análoga a la del perro y pueden hallarse animales con infecciones clínicamente inaparentes y otros con diferentes formas de la enfermedad.<sup>36</sup>

#### ✓ **-Enfermedad en el perro**

Al igual que en los humanos, el Kala-azar de los caninos domésticos es de carácter focal; ambos en general se afectan simultáneamente, aunque pueden haber focos en las que se reporta infección canina, sin que la haya en los humanos.

<sup>35</sup> Op. Cit, SOULSBY, J. Pág. 552 - 554

<sup>36</sup> Op. Cit. ACHA, P. 1.986. pág. 396



La evolución es crónica y muchos animales manifiestan anorexia, fiebre irregular, polipnea, apatía, palidez de las mucosas y emaciación; en algunos casos hay edemas en diferentes partes del cuerpo y hemorragias por los orificios naturales.

Las lesiones a la necropsia consisten en desaparición de tejido adiposo, Esplenomegalia, hepatomegalia, médula ósea de consistencia gelatinosa, color rojo intenso, linfadenopatía, y muchas veces, ulceraciones en el intestino.

Son frecuentes la conjuntivitis y la queratitis; a menudo se presenta un crecimiento exagerado de uñas, lo cual se atribuye el estado de postración en que se encuentra el animal, y en este caso no sufren desgaste.

- ✓ **-Manifestaciones cutáneas.** Las lesiones cutáneas son más frecuentes y aparentes. Hay una hiperqueratosis generalizada, con afinidad por la cara y almohadillas plantares, se produce descamación periocular. Además existen en áreas depiladas con descamación purpúrea, principalmente en las articulaciones y pliegues de la piel. A veces se observa pequeñas úlceras en la nariz, pabellón auricular y dorso; también en la mucosa nasal y bucal.<sup>37</sup>
- ✓ **-Manifestaciones oculares.** Los signos oculares se pueden asociar con la enfermedad general o se presentan en forma aislada. Las manifestaciones dominantes son la queratoconjuntivitis crónica y la queratouveítis. Es típica la presencia de “gafas de blefaritis” con escamosis y alopecia. La conjuntivitis aguda es la regla, aunque se describió la conjuntivitis nodular. Se observa uveítis (La **uveítis** se define como la inflamación de la úvea, lámina intermedia del ojo que se encuentra entre la esclerótica y la retina. Las reacciones inmunológicas complicantes en el ojo pueden continuar durante años.<sup>38</sup>
- ✓ **-Manifestaciones locomotoras.** Los disturbios locomotores pueden ser secundarios a neuralgias, poliartritis, polimiositis, almohadillas plantares fisuradas, úlceras interdigitales o periostitis osteolítica o proliferativas. La sinovitis en la leishmaniosis canina, por lo usual se asocia con un infiltrado de grandes cantidades de macrófagos ocupados con cuerpos de *Leishmania*. La poliartritis inmuno mediada tipo II también puede verse en asociación con la infección.

---

<sup>37</sup> Op. Cit. ETTINGERS, S.; FELDMAN, E. 1.997. pág. 643 - 644

<sup>38</sup> Op. Cit. ETTINGERS, S.; FELDMAN, E. 1.997. pág. 480

### **-Tratamiento**

- Gluconato sódico de antimonio (Pentostan)
- Antimoniato de meglumina (Glucantima)
- Pentamididna.
- Anfotericina B que es la segunda droga de elección en el tratamiento de esta enfermedad.

### ✓ **-Nuevos tratamientos**

- Lípidos asociados a la anfotericina B
- Inmunoterapia: tiene acción anti-leishmania usando el interferón, que hace disminuir la dosificación de antimonios requeridos para inhibición o muerte de la *Leishmania*.<sup>39</sup>

### ✓ **-Métodos de control**

- ✓ **Medidas internacionales.** Programas coordinados de control entre países vecinos, donde la enfermedad sea endémica. Centros colaboradores de la OMS.

- ✓ **Medidas preventivas:** Similar a las de *L. cutáneas*.

- Eliminación de mosquitos vectores, a veces se combina con la erradicación de malaria y chagas.
- Se usan sprays o rociadores que tengan DDT, MALATHION, PROPOXUR, Y DIAZINAS en áreas endémicas, haciendo que la población de vectores baje notablemente.
- También se usan repelentes que tengan dietiltuluoamida.
- Control del paciente, de los contactos y del medio ambiente inmediato.
- Se debe hacer un control imperativo y asintomático de los pacientes seropositivos.

- ✓ **Medidas en caso de epidemia.** Las medidas eficaces de control deben incluir, un conocimiento del ciclo de transmisión, seguida de la adopción de medidas prácticas para detener la propagación de la enfermedad.

---

<sup>39</sup> Op. Cit. SALUDCOOP. E.P.S. 2.000. Pág. 42 – 49

### 1.7.3 *Leishmaniosis Mucocutanea*

La Leishmaniosis de la mucosa naso-orofaríngea es relativamente poco frecuente. Los primeros síntomas son epistaxis, eritema y edema de la mucosa basal y luego una progresiva destrucción ulcerativa de la zona naso-orofaríngea. El tratamiento con antimonio pentavalente es moderadamente eficaz cuando la enfermedad está en los primeros estadios, pero puede fracasar en situaciones más avanzadas.

-**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 metastásica 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.

-**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).

## 1.8 LEISHMANIOSIS CANINA

La leishmaniosis canina presenta un carácter endémico en los países de la cuenca mediterránea. Su papel en la transmisión se conoce desde principios de siglo, pocos años después de que se descubriera el parásito en infecciones humanas. En 1908, Nicolle halló en Túnez perros infectados de manera natural. En España y concretamente en Cataluña, en 1913, Pittaluga mencionó el primer caso de leishmaniosis canina en el Delta del Ebro. Posteriormente, en

1936, Sanchez Botija cito el hallazgo de *L. infantum* en piel sana de perros asintomáticos.

La leishmaniosis canina (CanL) es una enfermedad crónica víscero–cutánea causada por *L. infantum* (= *L. chagasi*), donde el perro actúa como reservorio. En algunos casos, los parásitos del complejo *L. braziliensis*, *L. major* y *L. trópica* se han aislado de este hospedador.

Se ha estudiado la importancia del sexo, la edad y la raza del animal en relación con la presentación de la enfermedad. Algunos autores no encuentran que el sexo sea un factor determinante. En cambio otros autores observan un incremento de la prevalencia de la enfermedad con la edad y una disminución en el grupo de mayor edad explicado por el incremento de la muerte de los animales más viejos.

En cuanto a la raza, se considera que todos los perros son susceptibles de infectarse, aunque se ha encontrado que los animales con mayor grado de selección son más susceptibles, y por otro lado, que algunas razas han desarrollado cierto grado de resistencia como es el caso de los podencos ibicencos.



FIGURA 8. RAZA CANINA PODENCO IBICENCO

La mayoría de los estudios epidemiológicos de prevalencia e incidencia de leishmaniosis en el perro se basan en encuestas serológicas. Los datos de

seroprevalencia encontrados en dichas encuestas llevadas a cabo en el área mediterránea oscilan dependiendo de la región.

En el cuadro 3. se exponen algunos de los resultados encontrados. Estos resultados son difíciles de comparar entre sí debido a diversos factores como son la región estudiada, la técnica diagnóstica aplicada, el tamaño de la muestra, el criterio de selección...

Un gran número de los casos infectados se presentan de forma subclínica, lo que ha dado en llamarse leishmaniosis críptica. La importancia de estas leishmaniosis crípticas ha originado numerosas controversias, Algunos autores consideran que únicamente los perros con síntomas son infectivos para los flebótomos y que la capacidad infectante para el vector por parte de los perros sin sintomatología aparente es muy reducida, sin embargo otros no encuentran variaciones significativas en el porcentaje de flebótomos infectados al ponerlos en contacto con perros de sintomatología muy variada.

Estudios serológicos han revelado un gran número de animales seropositivos asintomáticos. El seguimiento de estos animales ha demostrado que varios de ellos se encuentran en la fase pre patente de la infección y que incrementan sus títulos de anticuerpos en subsiguientes extracciones. Otros se encuentran en la fase regresiva de la enfermedad y sus niveles de anticuerpos decrecen en los meses siguientes, y un tercer grupo mantienen sus niveles de anticuerpos sin desarrollar la enfermedad durante varios años. Algunos de estos estudios llevados a cabo en poblaciones de perros manifiestan que el número de animales con tasas bajas de anticuerpos, que no alcanzan el umbral de positividad establecido, es muy elevado, alcanzando el 40% de la población. La evolución crónica de la enfermedad en el perro, la existencia de formas crípticas, la posibilidad de auto limitarse, la variable respuesta humoral del hospedador y la frecuencia de la infección en el reservorio de zona endémica permite establecer múltiples hipótesis para explicar esta baja tasa de anticuerpos específicos: fase pre patente de la enfermedad, leishmaniosis críptica, débil respuesta inmune, memoria inmunológica de una infección de una infección auto limitada, respuesta humoral frente al parásito inoculado repetidamente sin lograr establecerse... La posibilidad de discernir entre una y otra situación tiene un valor diagnóstico y epidemiológico notable. (Laura Iniesta Gonzales, 2007)

Cuadro 3. Prevalencia de la leishmaniosis canina en el área Mediterránea y Península Ibérica según estudios serológicos:

PAÍS	ÁREA	PREVALENCIA	REFERENCIA
Croacia	Split	42,85%	Živičnjak <i>et al.</i> , 2005
Francia	Alpes	3,2 - 17%	Jambou <i>et al.</i> , 1986
Grecia	Atenas	22,4%	Sideris <i>et al.</i> , 1999
	Noroeste	24,4%	Papadopoulou <i>et al.</i> , 2005
Italia	Apulia	14,4%	Brandonisio <i>et al.</i> , 1992
	Liguria	30,3%	Zaffaroni <i>et al.</i> , 1999
	Toscana	23,9%	Pozio <i>et al.</i> , 1981
Marruecos	Montañas del Rif	21%	Rami <i>et al.</i> , 2003
Portugal	Évora	3,9%	Semiao-Santos <i>et al.</i> , 1995
	Lisboa	8,4%	Abranches <i>et al.</i> , 1991b
Andalucía	Almería	15%	Morillas Márquez <i>et al.</i> , 1992
	Córdoba	23,7%	Martínez Cruz <i>et al.</i> , 1990
	Granada	8,8%	Reyes <i>et al.</i> , 1988
	Málaga	34,6%	Morillas Márquez <i>et al.</i> , 1996
Aragón	Calatayud	13%	PCPL, 1991
	Zaragoza	8,7%	Castillo Hernández <i>et al.</i> , 1985
Castilla la Mancha	Toledo	8,7%	Benito y Alvar, 1989
Castilla y León	Salamanca	10 - 15%	Encinas Grandes <i>et al.</i> , 1988
Cataluña	Barcelona	29,5%	Botet <i>et al.</i> , 1987
Comunidad Valenciana	Alicante	23%	Brazal <i>et al.</i> , 1990
	Castellón	5,1%	Arnedo Pena <i>et al.</i> , 1994
	Valencia	12,8%	Lluch y Soriano, 1990
Extremadura	Cáceres	12,6%	Nieto <i>et al.</i> , 1989
Galicia	Orense	7,5%	Amusátegui <i>et al.</i> , 2004
	Santiago	1,6%	PCPL, 1991
	Valdeorras	29,2%	Amusátegui <i>et al.</i> , 2004
Islas Baleares	Mallorca	14%	Matas y Rovira, 1989
Madrid	Madrid	8%	PCPL, 1991
	Madrid norte	5,25 %	Amela <i>et al.</i> , 1995
Navarra	Navarra	4,4%	PCPL, 1991
Región de Murcia	Murcia	2,4%	Segovia y Martín-Luengo, 1985

PCPL: Programa de Control y Prevención de la leishmaniosis de 1991.

Leishmaniosis canina es generalizada en América del Sur, donde ha habido una serie de especies de *Leishmania* aisladas o caracterizadas molecularmente de los perros. La mayoría de los casos de leishmaniosis

canina es causada por *Leishmania infantum* (sin. *Leishmania chagasi*) y *Leishmania braziliensis*. El único vector bien establecido de los parásitos *Leishmania* a los perros en América del Sur es *Lutzomyia longipalpis*, el principal vector de *L. infantum*, pero muchas otras especies de flebotomos flebotominas podrían estar implicados. Desde hace algún tiempo, la leishmaniosis canina ha sido considerada como una enfermedad rural, pero hoy en día está bien establecido en las grandes áreas urbanizadas. Investigaciones serológicas revelan que la prevalencia de anticuerpos anti-*Leishmania* en perros podría alcanzar más del 50%, siendo de hasta un 75% en los focos de alta endemicidad. Muchos aspectos relacionados con la epidemiología de la leishmaniosis canina (por ejemplo, factores que aumentan el riesgo de desarrollo de la enfermedad) en algunos países sudamericanos con excepción de Brasil no se entienden bien y se debe estudiar más a fondo. Una mejor comprensión de la epidemiología de la leishmaniosis canina en América del Sur sería útil para el diseño sostenible y el control y prevención de la infección por *Leishmania* en perros y seres humanos.<sup>40</sup>

En una encuesta serológica de *leishmania infantum* y *Trypanosoma cruzi* en 365 perros de áreas urbanas de países de América del Sur tales como: Brasil (São Paulo), Colombia (Bogotá), las muestras de suero fueron examinadas por la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se detectó anticuerpos IgG Anti-*Leishmania* en 5 de los 107 de Brasil (4,7%) y en 4 de 258 perros (1,6%) de Colombia. Los títulos oscilaron entre 1:25 a 1:100. No se detectaron Anti-*T. cruzi* en ninguno de los perros de Brasil ni Colombia. Los resultados muestran una baja prevalencia de anticuerpos anti-*Leishmania* y libres de infección por *T. cruzi* en las poblaciones caninas. El estudio sugiere que los perros juegan un papel limitado en la propagación de *L. infantum* y *T. cruzi* en estas áreas urbanas de Brasil y Colombia.<sup>41</sup>

En otro estudio sobre detección de *Leishmania infantum* cinetoplasto minicircle ADN (KDNA) recogidos en garrapatas de perros infectados en zonas rurales del sur de Italia (Sitio A) y Nordeste de Brasil (sitio B) entre marzo y octubre de

---

<sup>40</sup> [WWW.PUBMED.COM](http://WWW.PUBMED.COM), Departamento de Salud Pública Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Bari, 70010 Valenzano, Bari, Italia. filipe.vet @ globo.com.

<sup>41</sup> [WWW.PUBMED.COM](http://WWW.PUBMED.COM), Facultad de Medicina, Departamento de Patología y Medicina de Laboratorio, CB # 7525, Sala 805 Edificio Brinkhous-Bullitt, Universidad de Carolina del Norte en Chapel Hill, Chapel Hill, NC 25799-7525, EE.UU..

2007 fueron recolectadas garrapatas en 26 perros positivos a anticuerpos anti-*Leishmania* (uno en el sitio A y 25 desde el sitio B); Todas las 95 garrapatas recolectadas fueron morfológicamente identificados como *Rhipicephalus sanguineus*. Tras la identificación, su ADN genómico fue extraído y procesados por la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para la detección de *L. infantum* kDNA. De las glándulas salivares de las garrapatas (una de cada cinco hembras y otras de cinco machos) se encuentran en un perro de un sitio y probado por una PCR convencional fueron positivos. Por lo tanto, se necesitan más estudios para evaluar la competencia de las garrapatas como vectores de parásitos *Leishmania* de perro a perro.”<sup>42</sup>

## 2. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

Para la *Leishmania Cutánea* no hay un método específico que pueda ser adoptado como definitivo en la detección y diagnóstico de infecciones por *Leishmania*, y el método usado depende de la aplicación. Los métodos para el diagnóstico de la LCA disponibles actualmente están basados principalmente en características clínicas y epidemiológicas, la detección del parásito (extendidos de lesión, cultivo e histopatología) y en métodos serológicos<sup>6</sup>. Adicionalmente, los métodos moleculares son una alternativa específica y sensible tanto en el diagnóstico de la enfermedad, como en la detección de *Leishmania* en tejidos de animales silvestres, para su incriminación como reservorios, y en las Lutzomyias para su incriminación como vectores.

Una de las herramientas moleculares más comúnmente utilizada es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), método sensible y específico, para el cual se han identificado múltiples blancos susceptibles de ser amplificados. De entre todos estos posibles moldes, el DNA del cinetoplasto (kDNA) representa un blanco ideal para la PCR, debido a que los minicírculos del cinetoplasto, componente del kDNA, se encuentran en un alto número de copias (10.000 por

---

<sup>42</sup> Dantas-Torres F, Lorusso V, Testini G, de Paiva-Cavalcanti M, Figueredo LA, Stanneck D, Mencke N, Brandão-Filho SP, Alves LC, Otranto D, 2007. "Detection of *Leishmania infantum* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from Brazil and Italy." PubMed - as supplied by publisher



parásito) y contienen regiones variables y conservadas que permiten la identificación y la diferenciación de especies de *Leishmania*.

El kDNA, que es el DNA mitocondrial de los tripanosomátidos, está compuesto de maxicírculos y minicírculos concatenados. Los maxicírculos codifican RNAr y RNAm y los minicírculos codifican RNAg (RNA guía), los cuales especifican las secuencias editadas en los RNAm de los maxicírculos.

Todos los minicírculos del kDNA de tripanosomátidos poseen una o varias regiones altamente conservadas (RC) y una o varias regiones variables. Particularmente dentro de las especies de *Leishmania*, se pueden encontrar tres bloques de secuencia conservada (BSC) dentro de las RCs: BSC1 (AGGGGCGTTC), BSC2 (CCCCGTTC) y el BSC3 (GGGGTTGGTGTA).

El BSC1 y el BSC3 son casi idénticos en todas las especies investigadas a la fecha, mientras que el BSC2 es menos universal. Esta organización de los minicírculos permite utilizar varias estrategias para la amplificación de los minicírculos por PCR como método diagnóstico.

Una de la estrategias es amplificar un fragmento de aproximadamente 120pb, utilizando como molde los bloques de secuencia conservada 1 y 3, asegurando que ambos primers estén orientados hacia el interior de la región conservada<sup>8</sup>. Al amplificar el fragmento conservado del minicírculo, utilizando los bloques de secuencia conservada como molde, se busca una alta sensibilidad para la detección del parásito, sin embargo, no se obtiene ninguna información acerca de la especie de *Leishmania* implicada en la infección.

Otra estrategia es utilizar los bloques de secuencia conservada 1 y 3 como molde para los primers, en este caso ambos orientados hacia fuera de la región conservada. De esta manera se obtiene un fragmento de entre 600pb hasta 750pb, que representa la región variable del minicírculo del kinetoplasto y que permite la caracterización hasta especie del parásito en las especies del subgénero *Leishmania* en función del tamaño de la banda.

Para las especies del subgénero *Viannia*, al utilizar los bloques de secuencia conservada 1 y 3 como molde, se obtienen fragmentos de 650pb para todas las especies que hacen parte del complejo *L. braziliensis* (*Leishmania braziliensis*, *L. panamensis* y *L. guyanensis*). Esta similaridad en el tamaño de la región

variable se debe quizás a que estas especies comparten al menos una clase de minicírculos, con una alta similitud en sus regiones variables, hecho que se evidenció adicionalmente por la hibridación entre sondas de *L. panamensis* con muestras de campo de *L. guyanensis* y viceversa. Sin embargo, no es del todo clara la homogeneidad en el tamaño del fragmento obtenido y es necesario tener en cuenta las relaciones evolutivas de las tres especies analizadas. Utilizaron regiones alrededor de los bloques de secuencia conservada 1 y 2 como molde, obteniendo una primera amplificación de toda la región variable y de parte de la región conservada, para luego realizar una PCR anidada con primers complementarios a los bloques 1 y 3, buscando la amplificación de la región variable de todas las clases de minicírculos presentes en muestras de pacientes. Con esta estrategia tampoco se pudo distinguir, con base en el tamaño de las bandas, el complejo *L. braziliensis* de *Leishmania mexicana*.

Finalmente, también se han utilizado los bloques de secuencia conservada 2 y 3 para la amplificación de kDNA. Sin embargo, el producto de 750pb, que es específico de especies del subgénero *Viannia* no permite conocer la especie a la que pertenece la región variable de minicírculo amplificada.

### *2.1 Identificación Del Agente*

Cuando en el hombre y en los animales afectados se presentan los síntomas clínicos y las lesiones características, la demostración del parásito en frotis teñidos de aspirados esplénicos, de médula ósea y de nódulos linfáticos, o en raspados cutáneos y en biopsias tisulares, constituyen un diagnóstico positivo. Si la infección es de un grado bajo, la detección del parásito es solo posible mediante intentos de aislamiento in vitro o in vivo o por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Como existen pocas diferencias entre las distintas especies, cualquier *Leishmania* aislada debe identificarse por métodos moleculares, bioquímicos e inmunológicos. Varios centros en el mundo utilizan en la actualidad la caracterización de isozimas, ADN y antígenos para identificar el agente.<sup>43</sup>

---

<sup>43</sup> Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004

Los métodos de rutina disponibles para el diagnóstico de la leishmaniosis son el examen clínico de casos sospechosos, el diagnóstico parasitológico y el inmunodiagnóstico. Sin embargo, la demostración del parásito es el único medio de confirmar la enfermedad de modo concluyente. En LV y CanL se recomienda el aislamiento e identificación del parásito de las biopsias (nódulos linfáticos, médula ósea, y aspirados del bazo) junto a pruebas moleculares y de inmunodiagnóstico. Para la confirmación de LC (mediante raspado de las lesiones o aspiración con aguja del borde de la lesión) es necesario el diagnóstico parasitológico, ya que ni el examen clínico ni la serología resultan adecuados. Los frotis del material de las biopsias se tiñen con tinción de Giemsa y se examinan al microscopio a 600–1.000 aumentos. El material también debe cultivarse en medios apropiados a 22–26°C.

Las características morfológicas de los amastigotes (en hospedadores humanos y mamíferos) y de los promastigotes (hospedadores invertebrados y en cultivo) son las siguientes:

- *Amastigote*: pequeño cuerpo intracelular redondeado u oval, de 1,5–3 x 2,5–6,5 µm, localizado en las vacuolas del citoplasma de los macrófagos. No existen flagelos libres. El organismo tiene un núcleo relativamente grande y un cinetoplasto que consiste en un cuerpo alargado y un cuerpo basal puntual.
- *Promastigote*: organismo extracelular alargado, de 15–20 x 1,5–3,5 µm con un único flagelo de 15–28 µm de longitud, que sale de las proximidades del cinetoplasto en la parte anterior. El núcleo se sitúa centralmente.

La elección de los métodos de aislamiento y de cultivo dependerá de las circunstancias inmediatas y de la capacidad técnica y la experiencia del personal de laboratorio. El aislamiento *in vitro* presenta ciertas ventajas respecto a los métodos *in vivo*: los cultivos son positivos más rápidamente (5–30 días en comparación con los meses que tardan las lesiones en aparecer en un animal) y los materiales son menos costosos. Sin embargo, para el aislamiento *in vitro*, las técnicas utilizadas deben llevarse a cabo en condiciones estériles estrictas; por tanto, no es siempre realizable en condiciones de campo. Por desgracia, no existe todavía un medio de cultivo “universal” en que crezcan con facilidad todas las leishmaniosis y es casi imposible predecir qué medio será el más apropiado para el crecimiento de un

aislamiento particular de *Leishmania*. Cada laboratorio tiene que encontrar el medio más adecuado entre los medios bifásicos de agar sangre y los medios de cultivo de tejidos suplementados con suero fetal bovino.

Los organismos de pacientes con LV y LMC pueden ser muy difíciles de cultivar. A veces, incluso cuando el aislamiento inicial tiene éxito, los parásitos pueden morir cuando se subcultivan. Esto parece especialmente frecuente cuando el aislamiento inicial se hace en medio rico. A menudo esto se puede superar si los subcultivos se realizan en medios nutritivos menos ricos, como el NNN, o unos de los medios semisólidos, como el “Evans mojado” o el agar sangre semisólido de Locke.

El hámster (*Misocricetus auratus*) es el animal más utilizado para aislamientos *in vivo*. En caso de detectar parásitos dermatotrópicos, las suspensiones de tejidos o los aspirados se inoculan intradérmicamente en la nariz y/o los pies. Cuando se sospecha que el material está infectado con parásitos que causan LV, se debe hacer la inoculación preferiblemente por la ruta intraperitoneal. La infección que resulta se hace aparente semanas o meses después por el desarrollo de un nódulo o úlcera en el sitio de la inoculación, y en el caso de parásitos viscerotrópicos la infección se evidencia meses después por la infección masiva de los órganos internos. El examen de frotis de suspensiones de tejidos/aspirados de hámster mostrará amastigotes con tinción de Giemsa. Para el diagnóstico de *L. major* se usan generalmente ratones BALB/c.

En muchos centros se están utilizando varias técnicas para identificar las diferentes especies, subespecies y cepas de *Leishmania*.

a) La caracterización de isozimas: es el método más común (1, 13, 27, 34). Esta técnica requiere un gran número de parásitos. Los principios de la electroforesis de enzimas son los siguientes: se extraen los enzimas solubles de los organismos crecidos en medio para cultivo en masa (medio BHI, medio MEM/FCS/EBLB [medio mínimo esencial/suero fetal bovino/caldo de Evans con sangre lisada], medio *Drosophila* de Schneider).

b) La técnica del anticuerpo monoclonal (MAb): se aplica al análisis y clasificación de especies y subespecies de *Leishmania* tanto del Nuevo como del Viejo Mundo. Para la producción de anticuerpos, se inmunizan ratones BALB/c con preparaciones de membranas de promastigotes o amastigotes. Después se seleccionan y se clonan por diluciones limitantes los cultivos de

hibridoma que secretan anticuerpo. La especificidad para las cepas de *Leishmania* se determina por Inmunofluorescencia o por pruebas inmunoradiométricas. Estos análisis deben ser cuantitativos, pues la cantidad de un mismo antígeno superficial puede variar entre distintas especies de *Leishmania*. Se han utilizado también anticuerpos monoclonales en técnicas inmunohistoquímicas con aplicación a los tejidos de las biopsias.

c) El análisis del ADN del cinetoplasto con enzimas de restricción: se basa en el análisis, mediante electroforesis en gel, de los fragmentos que generan las endonucleasas en el abundante ADN mitocondrial que constituye el cinetoplasto. El patrón electroforético que se obtiene, conocido como “huellas” de restricción, es un marcador del orgánulo a nivel genotípico que permite la identificación y clasificación de las cepas de *Leishmania* en esquizodemos – poblaciones que tienen secuencias similares en el ADN del cinetoplasto. Esta técnica también requiere un gran número de parásitos (1 x 10<sup>10</sup>).

d) Las sondas de hibridación de ADN: son un instrumento prometedor cuyo principio es permitir que las secuencias marcadas del ADN nuclear o del cinetoplasto, de una sola cadena, procedentes de cepas estándar bien caracterizadas, se encuentren e hibriden con secuencias de ADN homólogas de un aislado de *Leishmania* desconocido. Solo las secuencias de ADN complementario formarán ADN de cadena doble, que se puede detectar por autoradiografía si la sonda está marcada radiactivamente, o por una reacción inmunoenzimática. Estas técnicas son lo suficientemente sensibles como para identificar 10<sup>2</sup>–10<sup>3</sup> organismos depositados en filtros de nylon. Se necesitan muchos menos parásitos (<10) para la identificación por la técnica de hibridación *in situ*.

e) En la actualidad se utilizan los métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)<sup>44</sup> :

Conocida como **PCR** por sus siglas en inglés (*Polymerase Chain Reaction*), es una técnica de biología molecular desarrollada en 1986 por Kary Mullis,<sup>1</sup> cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo; en teoría basta partir de una única copia de ese fragmento original, o molde.

---

<sup>44</sup> Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004

Esta técnica sirve para amplificar un fragmento de ADN; su utilidad es que, tras la amplificación, resulta mucho más fácil identificar con una muy alta probabilidad virus o bacterias causantes de una enfermedad, identificar personas (cadáveres) o hacer investigación científica sobre el ADN amplificado. Estos usos derivados de la amplificación han hecho que se convierta en una técnica muy extendida, con el consiguiente abaratamiento del equipo necesario para llevarla a cabo.

Todo el proceso de la PCR está automatizado mediante un aparato llamado termociclador, que permite calentar y enfriar los tubos de reacción para controlar la temperatura necesaria para cada etapa de la reacción; Muchos termocicladores modernos hacen uso del efecto Peltier, que permite tanto calentar como enfriar los tubos simplemente invirtiendo la corriente eléctrica. Los tubos usados para PCR tienen una pared muy fina, lo que favorece una buena conductividad térmica, permitiendo que se alcance rápidamente el equilibrio térmico. Casi todos los termocicladores tienen un sistema que calienta la tapa de cierre con el fin de evitar la condensación sobre los tubos de reacción.

Por lo general, la PCR es una técnica común y normalmente indispensable en laboratorios de investigación médica y biológica para una gran variedad de aplicaciones. Entre ellas se incluyen la clonación de ADN para la secuenciación, la filogenia basada en ADN, el análisis funcional de genes, el diagnóstico de trastornos hereditarios, la identificación de huellas genéticas (usada en técnicas forenses y test de paternidad) y la detección y diagnóstico de enfermedades infecciosas.

En medicina, la PCR se emplea fundamentalmente como herramienta de diagnóstico (Coleman y Tsongalis, 2006):

-Permite el genotipar la especie o especies que provocan un determinado cuadro infeccioso: para ello, se amplifica una zona del genoma bacteriano cuyo producto de PCR posea unas características de tamaño o temperatura de fusión que permitan identificarlo de forma inequívoca. En el caso de infecciones virales que implican la integración del genoma del patógeno en el ADN del hospedador, como es el de la infección por VIH, la PCR cuantitativa posibilita la determinación de la carga viral existente y por tanto, del estadio de la enfermedad.<sup>5</sup>

-La PCR también se puede usar en revisiones médicas rutinarias, como en los servicios de donantes de sangre, para test de rutina. A través de esta técnica se pueden detectar infecciones peligrosas en el donante (como VIH o Hepatitis B) mientras aún están en el periodo de incubación. Dada la sensibilidad de los test de PCR se pueden tomar muestras colectivas o "pools" (por ejemplo, 96 pruebas individuales). Si una de estas muestras colectivas da positivo, se toman a partir de ella muestras progresivamente menores hasta que se encuentra el causante.

-El diagnóstico de enfermedades hereditarias presentes en el genoma es un proceso largo y complicado que puede acortarse significativamente gracias a la PCR. Cada uno de los genes prueba se pueden amplificar mediante sus correspondientes primers y posteriormente secuenciar para detectar la existencia de mutaciones.

Para diagnosticar y/o identificar *Leishmania* en muestras procedentes de humanos o de perros; en esencia, las técnicas desarrolladas para detectar organismos en biopsias recientes o congeladas, o para identificar aislamientos de *Leishmania*, comprenden: (a) digestión del material con proteinasa K y extracción de ADN; (b) amplificación del estándar por PCR utilizando secuencias oligonucleotídicas seleccionadas del gen del ARNr de la subunidad pequeña como molde, minicírculos del ADN del cinetoplasto u otras secuencias altamente repetitivas del ADN genómico; (c) análisis de los productos de amplificación en geles de agarosa al 1–2%. Se puede realizar una PCR anidada o semianidada utilizando cebadores internos de las secuencias anteriores para aumentar la sensibilidad. En la LV humana, la PCR tiene una sensibilidad comparable a la de los métodos de cultivo, pero suministra resultados mucho más deprisa. En la CanL, la eficacia diagnóstica de la PCR en comparación con la serología depende del curso natural de la enfermedad, siendo la sensibilidad mayor poco después de la infección (88%) y decayendo después (50%). En la LC y LMC americana, la PCR parece ser más sensible que cualquier otro método de diagnóstico recomendado previamente.

Pruebas De Diagnostico Serológicas

### Definición De Serología:

Es un examen del líquido seroso de la sangre (suero, el líquido transparente que se separa cuando la sangre se coagula) que se utiliza para detectar la presencia de anticuerpos contra un microorganismo.

En otras palabras, la serología se refiere al estudio del contenido de anticuerpos en el suero. Ciertos microorganismos estimulan al cuerpo para producir estos anticuerpos durante una infección activa. En el laboratorio, los anticuerpos reaccionan con los antígenos de formas específicas, de tal manera que se pueden utilizar para confirmar la identidad del microorganismo en particular.

Existen varias técnicas serológicas que se utilizan dependiendo de los anticuerpos de los cuales se sospecha entre las que se pueden mencionar aglutinación, precipitación, fijación del complemento, anticuerpos fluorescentes y otras.

La serología es el método de diagnóstico preferido para la leishmaniosis canina y la LV, incluso durante las primeras fases de la enfermedad. En las formas subclínicas, los casos seropositivos se confirman por diagnóstico parasitológico o por PCR. La serología tiene menos valor en la LC y LMC. De entre las diversas técnicas inmunológicas disponibles, la prueba de Inmunofluorescencia indirecta y el enzimoimmunoensayo son las más adecuadas. Los antígenos para serodiagnóstico deben prepararse en el laboratorio, aunque actualmente se están evaluando algunos productos comercializados.

Actualmente se usan varias pruebas serológicas para detectar anticuerpos anti-*leishmania*. Los valores de sensibilidad indicados abajo para cada prueba se aplican, no obstante, a individuos que no están inmunocomprometidos. Se ha descrito un alto porcentaje de pacientes con LV que están co-infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y que son seronegativos para anticuerpos contra leishmaniosis.

#### a- Prueba de Inmunofluorescencia indirecta

La prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) es de amplio uso por su facilidad. Es específica de género, aunque se han descrito reacciones cruzadas significativas en individuos infectados con *Tripanosoma cruzi*. Para estos



casos, serían más apropiadas pruebas serológicas basadas en antígenos específicos recombinantes de *Leishmania*. En áreas libres de la enfermedad de Chagas, la prueba IFI para el diagnóstico clínico de LV o CanL tiene una sensibilidad del 96% y una especificidad del 98%, lo que es similar a la del enzimoimmunoensayo (ELISA). Aunque se pueden usar como antígenos los amastigotes de cortes congelados o frotis de órganos infectados, los promastigotes cultivados representan la fuente de antígeno más común.

b- Enzimoimmunoensayo

Los ensayos ELISA se pueden hacer con suero o con un volumen medido de sangre. La sangre se recoge por punción con aguja en tiras de papel absorbente adecuado y se deja secar. La muestra se diluye y se prueba a una dilución única determinada previamente para dar una especificidad y sensibilidad aceptables. Esta prueba se puede utilizar para estudios epidemiológicos en condiciones de campo.

El método ELISA es útil para diagnosticar la leishmaniosis del Viejo y del Nuevo Mundo. No existe o hay poca reacción cruzada con otras enfermedades y, dependiendo de la cepa de *Leishmania* utilizada, la sensibilidad varía del 86% al 99%.

Se considera que una versión de ELISA, llamada prueba de análisis por ensayos Falcon y enzimoimmunoensayo (FAST-ELISA), que utiliza bolas recubiertas de antígeno, es una prueba sensible, específica y adaptable a las condiciones de campo para la CanL visceral, con sensibilidad y especificidad que son comparables a las de las pruebas IFI y ELISA. La sangre completa o el plasma se pueden evaluar rápidamente sin el uso de un microscopio o de un espectrofotómetro. Para el diagnóstico en ELISA de la CanL, se ha utilizado un antígeno del promastigote soluble en detergente en vez de lisados totales. El detergente fue Tritón X-100 y extracto proteico se protegió con inhibidores de proteasas. Utilizando este método, la sensibilidad del ELISA aumentó hasta el 99,5%, mientras que su especificidad fue comparable con la de la prueba IFI (97%).

Los métodos ELISA descritos anteriormente se basan en preparaciones antigénicas crudas. Más recientemente, se ha descrito un antígeno recombinante de una proteína clonada de *L. chagasi*, llamada rK39, que es

muy reactiva con sueros de casos de leishmaniosis visceral humana y canina cuando se emplea en un formato ELISA. Utilizando 25–50 ng del antígeno, se detectó un 99% de especificidad y de sensibilidad para pacientes humanos inmunocompetentes con LV clínica y para perros con enfermedad parasitológica demostrada. En pacientes positivos para HIV el ELISA–K39 mostró mayor sensibilidad (82%) que la prueba IFI (54%). El antígeno K39, que posee una estabilidad y reproducibilidad notables, se produce ahora comercialmente.

c- Prueba de aglutinación directa

Una prueba DAT modificada para la detección de anticuerpos específicos contra leishmaniosis en hospedadores caninos resulta muy adecuada para trabajos epidemiológicos y ecológicos de campo a gran escala y para el diagnóstico de CanL, mostrando una sensibilidad del 100% y una especificidad del 98,9%. La fiabilidad de esta prueba se ha mejorado tratando los sueros de ensayo con 0,2 M de 2–mercaptoetanol e incubándolos a 37°C.

d- Contra—inmunolectroforesis (CIEP)

El principio general de esta prueba es que el movimiento de la mayoría de las moléculas de proteína es hacia el ánodo, excepto las gamma–globulinas, que se mueven hacia el cátodo. Esta propiedad se utiliza en la prueba de contra–inmunolectroforesis (CIEP). El anticuerpo se mueve hacia el cátodo bajo el flujo electrosmótico y los antígenos cargados negativamente se mueven hacia el ánodo y precipitan en contacto con el antisuero.

Se aplica una corriente de aproximadamente 8 mAmp (miliamperios) y después de 2–3 horas se examina el porta para líneas de precipitación. La prueba CIEP es un diagnóstico fiable y en el caso de CanL ha dado mejores resultados que el ELISA.

e) Prueba De Hipersensibilidad Retardada

La prueba cutánea de la *leishmania* es útil para determinar la distribución de las infecciones humanas, y sirve para distinguir casos inmunes o no inmunes. La prueba es positiva en LC, LMC y LV curada, pero es negativa en la LV activa. Requisitos para las vacunas y los materiales de diagnóstico: No hay en la actualidad ninguna vacuna eficaz disponible para uso en humanos y perros.

La hipersensibilidad retardada es una característica importante de todas las formas de leishmaniosis humanas y se puede medir por la prueba de la *leishmania*, también conocida como la reacción de Montenegro. La prueba cutánea de la *leishmania* no tiene valor diagnóstico para la CanL.

Requisitos Para Las Vacunas Y Los Materiales De Diagnóstico:

No hay en la actualidad ninguna vacuna eficaz disponible para uso en humanos y perros.

## 2. JUSTIFICACION

El Salvador cuenta con zonas que reúnen las condiciones óptimas para el parásito *Leishmania spp.*, garantizando el desarrollo completo y continuo del ciclo biológico de éste en cánidos domésticos.

En San Ildefonso, municipio de San Vicente, desde 1974 se han venido registrando casos de la enfermedad y estos van en aumento. Actualmente no existe ningún método profiláctico específico y los tratamientos quimioterapéuticos no poseen la eficacia deseable; la grave carga financiera que supone su costo sume en un círculo vicioso de enfermedad-pobreza-malnutrición-enfermedad a los que la padecen.

La cantidad de perros con sintomatología de la enfermedad persiste en el municipio; a pesar de conocer la existencia de ***Leishmania spp*** en humanos, con el empleo de pruebas de alta especificidad y sensibilidad como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) se obtendría un indicativo de fuerza para sospechar de su papel en el ciclo epidemiológico de la enfermedad.

En el caso de obtener resultados positivos sobre esta parasitosis en los perros, esta investigación sería de gran ayuda para que las autoridades competentes tomen las medidas correspondientes en el control de estos animales.

### 3. HIPOTESIS

Hi: En los cánidos domésticos de dos cantones de San Ildefonso, departamento de San Vicente se puede demostrar que el perro se puede estar comportando como un hospedero infectivo para las Lutzomyias, utilizando las pruebas de diagnóstico de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

## 4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

### 4.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la presencia de *Leishmania spp* en canidos domésticos del área rural en dos cantones del municipio de San Ildefonso a través de las pruebas Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para establecer su posible participación en el ciclo de la enfermedad.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la presencia de *Leishmania* en biopsias de oreja de perros domésticos por la técnica de PCR.
- Identificar la presencia de anticuerpos Anti- *Leishmania* en sueros de caninos por la técnica de IFI.
- Establecer la posible relación entre la positividad y la presencia de signos clínicos de la enfermedad.
- Establecer la posible relación entre la positividad de los canidos y los antecedentes de enfermedad de sus propietarios.
- Analizar el posible comportamiento del canido como un hospedero infectivo para las Lutzomyias y el posible papel del canido en el ciclo epidemiológico de la enfermedad.

## 5 MATERIALES Y METODOS

### 5.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL MUNICIPIO DE SAN ILDEFONSO

La cabecera municipal del pueblo de San Ildefonso se encuentra a 25.5 Km al este de la ciudad de San Vicente. La comprensión territorial del departamento forma parte de tres cuencas hidrológicas, como son la del río Lempa, una parte del río Jiboa y río Jalponga. De acuerdo con la altitud sobre el nivel del mar, el departamento presenta a nivel general dos tipos de clima, tierra caliente o sabana tropical caluroso, en su mayor parte y tierra templada o clima tropical de las alturas. La flora está constituida por bosque húmedo subtropical, húmedo subtropical fresco, muy húmedo subtropical y muy húmedo montano bajo, con una temperatura mínima prevista de 20° C y la máxima de 31° C y humedad relativa de 59%. El municipio es un territorio de 136.37 km<sup>2</sup> y una población que oscila entre 10.000 a 12.000 habitantes. Tiene carácter agrícola, ganadero y de pesca, con un desarrollo comercial mediano de productos; cuenta con servicios de salud, escuela y servicios de educación media, agua potable, energía eléctrica, así mismo la población realiza pozos artesanales para conservar agua en tiempo seco para el ganado. El municipio esta clasificado en pobreza extrema severa. (Datos Unidad de Salud San Ildefonso)

### 5.2 FAUNA SILVESTRE DEL MUNICIPIO DE SAN ILDEFONSO

Especies como la iguana (*Iguana iguana*) y el garrobo (*Ctenosaura similis*), venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*); el tepezcuintle (*Agouti paca*), el pizote (*Nasua narica*), el armadillo (*Dasypus novemcinctus*), los mapaches (*Procyon lotor*), los zorrillos (*Mephitis macroura*, *Conepatus mesoleucus*), ciertas especies de víboras, como la *Crotalus* spp. y de especies de loros, muchas de ellas para consumo local y otras para comercio de ejemplares vivos para colecciones o mascotas, ratón cosechador (*Reithrodontomys fulvescens*), ratón de cola crestada (*Habromys lophurus*), rata de madera mexicana (*Neotoma mexicana*), zorrillo nariz de cerdo (*Conepatus mesoleucus*), coyote (*Canis latrans dickeyi*), gato zonto (*Herpailurus yaguarondi*), cuche de monte

(*Tayassu tajacu*), *Gallina de monte (Dendrortyx leucophrys centroamericana*, *Guachoca*), *Zopilote Rey*, *Rey Zope (Sarcoramphus papa)*.<sup>45</sup>

### 5.3 DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en tres cantones: Lajas y Canoas y San Lorenzo del municipio de San Ildefonso, departamento de San Vicente, El Salvador.

Según información obtenida de la Unidad de Salud de San Ildefonso, de los cantones con mayor incidencia de casos de personas que han sido diagnosticadas con la enfermedad se procedió a tomarlos como punto de referencia para llevar a cabo la investigación. El estudio fue descriptivo estimando la población a través de un muestreo de tipo dirigido a animales de los cantones antes mencionados.

Para la toma de muestras se seleccionaron 1) animales en hogares donde existan casos positivos en humanos y perros con lesiones; 2) animales en casas con casos de leishmaniosis en personas y animales sin lesiones. El número de muestras a tomar por vivienda dependerán de la cantidad de cánidos que existan en ellas y en ningún momento sobrepasarán dos muestras por vivienda.

Se extrajo sangre de la vena radial y safena de los animales para ser sometidas a la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y muestras de la oreja de animales con lesiones cutáneas.

Con el uso de una encuesta para caracterizar la población canina y recopilar información de los perros a muestrear. Se tomó en cuenta en dicha encuesta: nombre del propietario, existencia de personas diagnosticadas con leishmania en vivienda, número de perros en casa, edad en años, animales con signos clínicos de leishmaniosis y signos clínicos. (Ver en anexos)

### 5.4 DURACION DE LA INVESTIGACION

La investigación se realizó durante los meses de abril a marzo del 2009-2010, dividida en dos fases: Campo (toma de muestras), iniciando la segunda quincena de mayo de 2009, realizada en un término de 3 meses y la fase de

---

<sup>45</sup> <http://www.fao.org/docrep/007/ae159s/AE159S04.htm#TopOfPage>

laboratorio (procesamiento de muestras), realizada en un termino de 3 meses desde enero del 2010 a marzo del mismo año.

### 5.5 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 de tipo dirigido.

### 5.6 DETERMINACION DEL TAMAÑO DE MUESTRA

Aunque para el diseño del muestreo se utilizó el Win Episcopo (Programa epidemiológico orientado a la epidemiología cuantitativa), la fórmula que puede aplicarse para el diseño si no se cuenta con el software mencionado es la siguiente:

$$n = Z^2 p q / L^2 \quad \text{donde,}$$

n	tamaño de muestra	
Z	valor de Z para el nivel de confianza	Z = 1.96 para un 95% de confianza deseado
p	prevalencia estimada	p = 2.5% = 0.025
q	1 - p	q = 98% = 0.975
L	Nivel de precisión	L = 5% = 0.05

Debido a que el tamaño de muestra calculado excede al 5% se utilizo un factor de ajuste:

$$1/n_{\text{ajuste.}} = 1/n + 1/N$$

Resumiendo las operaciones el resultado obtenido fue el siguiente:

**Prevalencia estimada = 2.5%**

**Precisión = 2.5%**

**Nivel de confianza = 95%**

**Tamaño de la muestra = 120 animales.**



## 5.7 CARACTERISTICAS DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES EN ESTUDIO (PERROS) DE LOS CANTONES DEL MUNICIPIO MUESTREADO.

La población de los 137 canidos domésticos muestreados presentaban en su 99.9% similares signos clínicos: pérdida de pelo, alteraciones de la piel especialmente en la base de la cola y ocasionalmente en orejas y dedos, uñas deformadas alargadas (onicogrifosis). Sin embargo, también se observaron parásitos dispersos en la piel y orejas tales como pulgas, garrapatas y ácaros, algunos presentaban lesiones y otros no.

Los signos más comunes observados en la población de perros muestreados fueron anemia, caquexia, letargia y pérdida de peso.

Estos perros posiblemente infectados con *leishmania ssp* podrían pertenecer a tres categorías según la literatura estudiada: 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. Los signos clínicos presentes pueden ser variables, y son similares a aquellos causados por otras enfermedades.

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 musculo-esquelético, que suponen un autentico desafío para el diagnóstico clínico (GRADONI, L. 2002).

## **6 METODOLOGIA DE CAMPO**

### 6.1 TOMA DE MUESTRA SEROLÓGICA Y MOLECULAR.

#### *6.1.1 Procedimiento para toma de muestra suero sanguíneo*

- Se procedió al muestreo tomando como referencia el protocolo de la PECET (Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales). Para la prueba serológica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) el protocolo indica:

- Previo a la toma de la muestra deben tenerse los tubos en los que se colectará la muestra marcados con los datos del canino (Nombre del propietario, nombre del cánido, código, fecha de la toma)
- Se completó un formulario con datos del propietario y de la mascota.
- Se procedió a examinar el mejor sitio para realizar la punción venosa.
- Se hizo un torniquete con ayuda de un auxiliar en el sitio por encima del lugar escogido para realizar la punción venosa
- Se procedió a realizar asepsia con algodón y alcohol antiséptico.
- Se colocó la aguja (21 x 1 ½ pulgadas) en la camisa y se procedió a realizar la punción venosa con la aguja en posición oblicua.
- Una vez se punciono la vena se introdujo el vacuntainer e inmediatamente se insertaba en el tubo sin anticoagulante y se obtuvo la muestra necesaria que fue aproximadamente de un mínimo de 2 ml.
- Cuando la muestra fue suficiente, se retiro el torniquete y se procedió a retirar la aguja haciendo presión posterior con un algodón.
- Una vez tomada la muestra se dejo el tubo a temperatura ambiente en posición inclinada de 45° el tiempo que duro la jornada de campo diario.
- Se transporto en hieleras con sumo cuidado evitando de esta manera que el suero fuera hemolizado.
- Ya en el laboratorio se separó el coágulo formado, con un aplicador de madera estéril. El suero obtenido se deposito en viales de 2mm rotulados para luego ser congelados a -70°C en fríz ers especiales del Laboratorio del Ministerio de Agricultura y Ganadería en el Matasano, Soyapango, durante un periodo que fue comprendido desde la segunda quincena de mayo del 2009 (inicio de fase de campo), hasta el 26 de enero de 2010. Posteriormente las muestras fueron transportadas al laboratorio de Diagnóstico de Leishmaniosis, adscrito al Grupo de Investigación PECET en la Universidad de Antioquia Colombia; en hieleras con espumas congeladas a -70°C (para su conservación), con destino a la docente de la Facultad de Ciencias Agrarias y coordinadora

de la Línea Ecoepidemiológica, Dra. Lina María Carrillo B. quien analizaría las muestras.



FIGURA 9. TOMA DE MUESTRA DE SUERO SANGUINEO

#### 6.1.2 Procedimiento para toma de muestra de biopsia de oreja

**En la toma de biopsias de oreja para diagnostico de Reacción en Cadena a la Polimerasa (PCR) se procedió de la siguiente manera:**

- Se rasuró la región a muestrear con cuidado de no producir cortaduras
- Se desinfectó la piel con alcohol al 70%
- Se Tomaron muestras de 2 mm<sup>2</sup> con bisturís estériles y la ayuda de pinzas para biopsias.
- Luego se incorporaban en viales de 2mm con alcohol al 90%, para ser conservadas y se instalaron en un lugar fresco durante un periodo que fue comprendido desde la segunda quincena de mayo del 2009 (inicio de fase de campo) hasta el 26 de Enero del 2010. Posteriormente las muestras fueron transportadas en hieleras con espumas congeladas a -70°C para su conservación a la Universidad de Antioquia, también en la Facultad de Ciencias Agrarias, de Antioquia, Colombia con la Coordinadora de la Línea Ecoepidemiológica,.

#### 6.2 MATERIALES Y EQUIPO DE CAMPO UTILIZADOS

- ✓ Punch
- ✓ Hojas de bisturí
- ✓ Vacuntainer
- ✓ Jeringas descartables 21x 1/2
- ✓ Crioviales 2ml

- ✓ Agujas
- ✓ Camisas para tubos
- ✓ Desinfectante
- ✓ Alcohol 70°
- ✓ Algodón
- ✓ Gasas
- ✓ Hielera
- ✓ Guantes
- ✓ Tirro
- ✓ Plumón permanente
- ✓ Hielo seco
- ✓ Cicatrizante en sprays
- ✓ Jabón antiséptico
- ✓ Gabachas blancas
- ✓ Lasos
- ✓ Gradias
- ✓ Papelería en general
- ✓ Bolígrafos
- ✓ Tubos de ensayo al vacío
- ✓ Un galón de agua
- ✓ Vehículo

## **7 METODOLOGIA Y RESULTADOS DE LABORATORIO DE LEISHMANIA UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA**

AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN CONSERVADA DE LOS MINICÍRCULOS  
DE KDNA DE **LEISHMANIA SPP.** PARA EL DIAGNÓSTICO DE  
LEISHMANIOSIS CUTÁNEA AMERICANA.

Amplificación de la región conservada de los minicírculos de kDNA

Extracción de DNA

El DNA se purificó con el DNAeasy Blood and tissue kit (QIAGEN®) siguiendo las especificaciones del fabricante. El kit se basa en la capacidad de retener el material genético en columnas de sílica para separarla del resto de componentes celulares. El DNA extraído se cuantificó en el espectrofotómetro Nanodrop 1000 (THERMO SCIENTIFIC®) a una absorbancia de 260nm, que es la óptima para DNA.

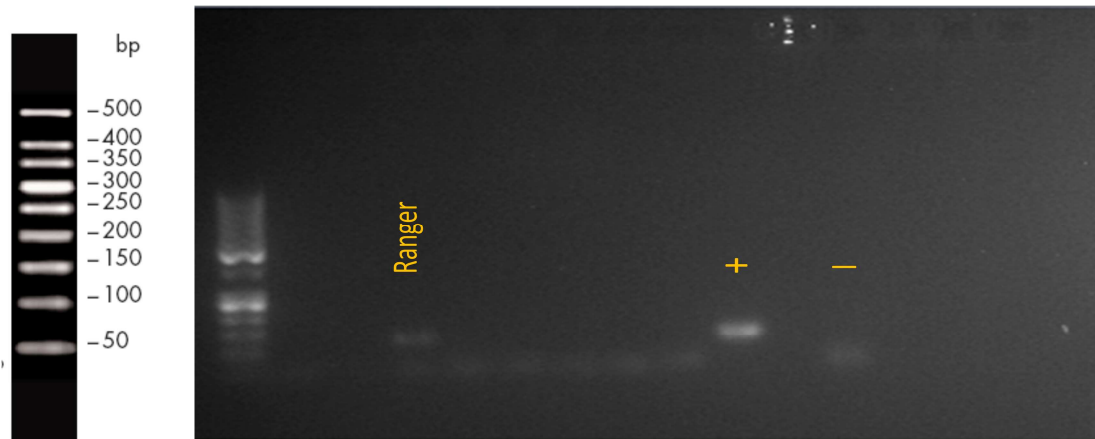
#### PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

Para el diagnóstico, se usaron los oligonucleótidos JW11 Fw (5'-CCC ATT TTA CAC CAA CCC CCA GT-3') y JW12 (5'-GGG TAG GGG CGT TCT GCG AAA-3'), que

Amplifican un fragmento de 120 pb dentro de la región conservada del kDNA del género *Leishmania*. Las condiciones usadas en la PCR convencional son: 0,5 µM de cada uno de los oligonucleótidos, 200µM de cada deoxi-nucleótido, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1X de buffer *Taq* y una unidad de *Taq*Polimerasa (Fermentas®). Se utilizó 1µL de DNA extraído para completar un volumen final de reacción de 25µL. Posterior a una desnaturalización durante 5 minutos a 94°C, el programa de amplificación es de 35 ciclos de: 90 °C durante 1 minuto, 55°C durante 30 segundos y 72 °C por 30 s segundos, con una extensión final de 10 minutos a 72°C. Los productos obtenidos fueron corridos en geles de agarosa al 2% a 80V durante 1hora, teñido con 0,5ug/mL de Bromuro de Etidio. Se utilizó un marcador de peso molecular de 50pb (Fermentas®) y se revelaron en transiluminador ultravioleta para verificar la presencia de DNA de ***Leishmania spp***

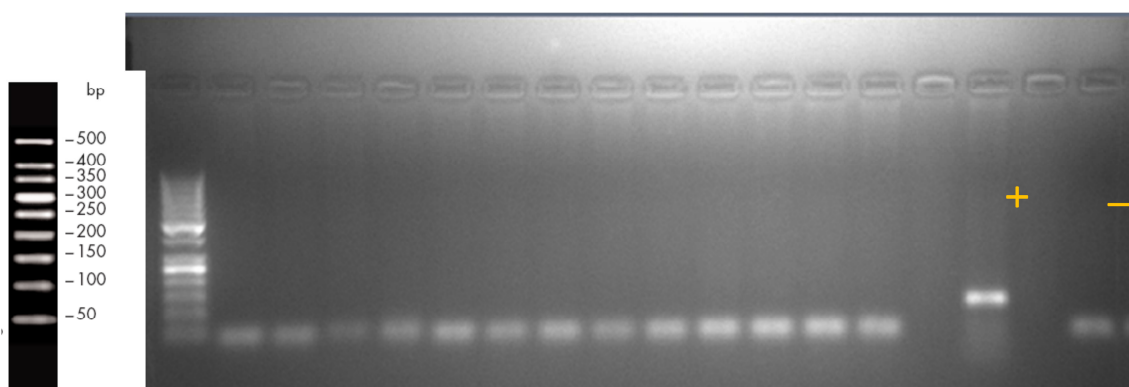
## RESULTADOS

Figura 10. Controles positivos y negativos y DNA extraídos de las muestras de tejidos de los perros.



La grafica muestra los controles positivos y negativos así como el DNA extraídos de las muestras de tejidos de los perros. Observamos un producto de 100 pares de bases obtenido de la muestra identificada como **Ranger** que significa que es positivo para la amplificación de *Leishmania spp.*

Figura 11. Controles positivos y negativos así como el DNA extraídos de las muestras de tejidos de los perros.



La grafica muestra las demás muestras, ningún producto amplificado pudo ser obtenido

### Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

La IFI es una técnica inmunológica que nos permite visualizar de una manera indirecta la unión Ag-Ac. Esta técnica utiliza un anticuerpo secundario marcado con una sustancia fluorescente, el cual reaccionara de una manera especifica con los Acs presentes en el suero del paciente que previamente se han unido a los Ags de *Leishmania* spp. Cuando el fluorocromo se expone a LUV emite fluorescencia que se visualiza por microscopio.

### Obtención del antígeno (promastigotes de *Leishmania*)

- Colectar parásitos en fase estacionaria temprana de crecimiento (5to día de crecimiento) de un cultivo de promastigotes de *Leishmania Viannia panamensis*, en medio 3n modificado, con menos de 10 subpares.
- Lavar los parásitos colectados 3 veces por centrifugación, con PBS pH 7.2 estéril y frio a 3000 rpm por 10 min cada lavado.
- Contar los parásitos antes del ultimo lavado, y posterior al mismo re suspender en formol al 4% en proporción 1:1 (vol. /vol.). En estas condiciones los parásitos son almacenados 4°C hasta su uso.
- Cuando los parásitos van a ser utilizados como fuente de antígenos en la IFI se preparan a una concentración final de  $6 \times 10^6$  p/ml en PBS pH 7.2, frio y estéril.

### Preparación placas IFI

- Las placas para las IFI son lavadas con hipoclorito a 500 ppm y una solución jabonosa durante 15 min, posteriormente se frotan suavemente cada uno de los pozuelos de la placa, se lavan con abundante agua corriente y por ultimo se dejan 1 hora en agua destilada. Después del lavado las placas se secan y se guardan hasta su utilización antes de lo cual son limpiadas cuidadosamente con alcohol.

### Fijación del Antígeno (promastigotes de *Leishmania*) a la placa de IFI

- Seleccionar las placas a utilizar y márcalas con lápiz
- Depositar en cada pozuelo entre 15 y 20 ul del antígeno previamente preparado a una concentración de  $6 \times 10^6$  p/ml.

- Poner las placas sensibilizadas en un lugar seguro a temperatura ambiente durante toda la noche. El número de placas que se sensibilicen dependerá de la cantidad de sueros a analizar.

#### Reacción serológica

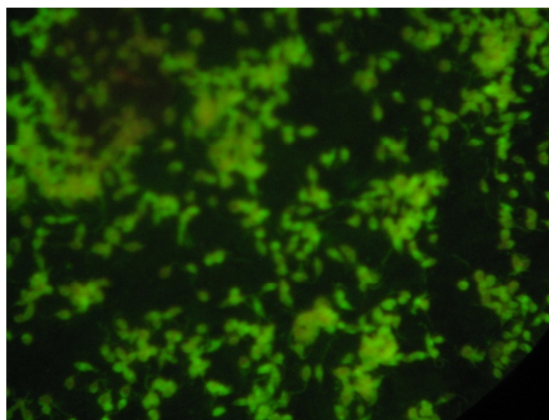
- Preparar diluciones seriadas desde 1:8 hasta 1:128 (utilizando los platos para las diluciones) de los sueros problema y controles, con PBS estéril pH 7.2
- Depositar entre 15 y 20ul de la dilución de los sueros, en los pozos de las placas ya sensibilizadas con el antígeno.
- Incubar durante 45 min a 37°C en cámara húmeda
- Lavar las placas dos veces con PBS pH 7.2 durante 5 min y luego 1 vez con agua destilada por dos min. Para los lavados utilizar los frascos especiales para coloraciones que tienen divisiones para sostener las placas.
- Dejar secar las placas en posición vertical, a temperatura ambiente protegidas del polvo y la luz.
- Preparar el conjugado anti igG humana marcada con fluoresceína (SIGMA F-4512) a una dilución de 1:100 en PBS pH 7.2, mas el colorante de contraste (azul de Evans) también a una concentración de 1: 100 en el mismo volumen.
- Agregar a los pozos donde se esta haciendo la reacción serológica 22 ul del conjugado previamente preparado.
- Incubar a 37°C durante 45 min en cámara húmeda y o scuridad.
- Lavar las placas dos veces con PBS pH 7.2 durante 5min y luego 1 vez con agua destilada por 2 min. Para los lavados utilizar los frascos especiales para coloraciones que tienen divisiones para sostener las placas.
- Dejar secar las placas en posición vertical, a temperatura ambiente protegidas del polvo y la luz.
- Depositar en las placas un poco de glicerol tamponado y cubrir con las laminillas correspondientes, teniendo cuidado de trabajar este último pasó bajo condiciones de oscuridad, para posteriormente proceder a lectura en el microscopio de fluorescencia.



- Leer en un microscopio de fluorescencia con lente de 40x observar la fluorescencia de los promastigotes y registrar en cuaderno de IFI del PECET, la última dilución hasta la cual la fluorescencia persiste. La fluorescencia es positiva cuando los parásitos toman un color verde y es negativa cuando se observan de color rojo marrón.

## Resultados

Figura 12. Fluorescencia de promastigotes de sueros caninos tomados en el Municipio de San Ildefonso.



Cuadro. 4 Positividad serológica de sueros caninos tomados en el Municipio de San Ildefonso.

CODIGO PERRO	TITULO	CODIGO PERRO	TITULO	CODIGO PERRO	TITULO
M57	1:16	M34	1:8	M1	1:8
M118	1:8	M24	1:16	M25	1:16
M116	1:64	M20	1:32	M113	1:8
M124	1:8	M44	1:16	M85	1:16
M98	1:16	M25	1:16	M91	1:64
M73	1:8	M93	1:16	M47	1:8
M74	1:64	M35	1:8	M63	1:8
M45	1:16	M77	1:32	M6	1:8
M61	1:8	M96	1:64	M106	1:8
M122	1:8	M21	1:8	M18	1:16
M115	1:8	M13	1:8	M94	1:16
M114	1:16	M33	1:8	M7	1:8
M48	1:8	M27	1:8	M103	1:8
M55	1:16	M40	1:16	M38	1:8
M69	1:8	M1	1:16	M109	1:32
M80	1:16	M11	1:16	M108	1:32
M123	1:16	M50	1:16	M29	1:8
M99	1:8	M85	1:8	M22	1:16
M16	1:16	M87	1:8	M21	1:16
M84	1:8	M78	1:8	M11	1:8
M102	1:8	M67	1:8	M4	1:32
M92	1:16	M76	1:8		
M111	1:8	M2	1:32		
M88	1:16	M120	1:16		
M117	1:16	M64	1:16		
M32	1:8	M63	1:8		

M91	1:8	M37	1:8		
-----	-----	-----	-----	--	--

La tabla muestra en amarillo los resultados reactivos, una muestra es considerada reactiva cuando aun emite fluorescencia en la dilución 1:32

## 8 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Por primera vez se detectó Leishmaniosis en cánidos en El Salvador ya que en IFI se detectaron anticuerpos IgG Anti-Leishmania en diluciones de 1:32 a 1:64 en 10 de los 126 perros muestreados (7.93%), los cuales son considerados reactores positivos y 1 caso positivo por la prueba de PCR de entre 25 animales muestreados (4%). Las pruebas utilizadas demostraron efectividad en la presencia de animales infectados. La PCR positiva puede dar alguna indicación de que ese perro puede estarse comportando como un hospedero infectivo para las Lutzomyias. La seroprevalencia por IFI (7.93%) no indica que el perro en el área de estudio sea infecto contagioso; solo que estuvo en contacto con el parásito.

Si bien un alto porcentaje de los canidos muestreados presentaron síntomas clínicos compatibles con la enfermedad, los resultados indican que su causa puede ser multi - etiológica. No existe una correlación entre los animales positivos a las pruebas y antecedentes de la enfermedad de sus propietarios.

## 9 CONCLUSIONES

- Se pudo evidenciar a través del empleo de métodos de alta sensibilidad y especificidad como Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) la presencia de *Leishmania spp* en cánidos domésticos.
- Los resultados muestran una baja prevalencia de anticuerpos anti-leishmania por la técnica de IFI sugiriendo que los perros juegan un papel limitado en la propagación de la enfermedad, lo cual no indica un bajo riesgo epidemiológico dada la endemidad demostrada en el humano en ese Municipio. Además la prueba positiva a PCR nos indica que los perros podrían estar siendo infectivos para los vectores
- En esta investigación se establece la eficacia diagnóstica de las pruebas Inmunofluorescencia indirecta y Reacción en cadena de la polimerasa, en comparación a otros métodos de diagnóstico empleados con los mismos fines en estudios previos..
- Por la IFI no se pudo demostrar la relación directa entre la positividad de los canidos con la presencia de la enfermedad en sus dueños. con la técnica de PCR solamente el 3% tenía relación.

## 10 RECOMENDACIONES

- Durante el período de estudio de este tema, se lograron los objetivos planteados y se da pauta para que esta investigación pueda ser útil para estimular otros estudios y poder disminuir la incidencia de esta enfermedad.
- 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 Xenodiagnosis.
- Ejecutar estudios orientados a determinar otras especies animales que puedan actuar como posibles reservorios de *Leishmania*.
- Establecer vínculos internacionales de cooperación a fin de mejorar las capacidades diagnósticas para suplir de esta manera deficiencia de recursos.
- Se necesitan realizar estudios para evaluar la competencia de las garrapatas y pulgas como vectores de parásitos *Leishmania ssp* de perro a perro; En estudios científicos se admite que la investigación no demuestra que estos pueden transmitir directamente la leishmaniosis, pero se destaca que esta posibilidad debe ser investigada.
- En la transmisión de la leishmaniosis la prevención por parte de las autoridades correspondientes debe ir orientada a incrementar el control de los vectores, siendo en el país el más importante *Lutzomyia longipalpis*.
- Al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social dar más énfasis 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.

## 11 BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 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.
- Albar Ezquerro, 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.
- Alberto E., Arteaga C., 2008. Tesis de Grado: "Prevalencia de *Leishmania spp.* En caninos domésticos de dos cantones del municipio de San Ildefonso, departamento de San Vicente, El Salvador.
- Bofante- Garrido, R., E. Melendez, R. Torres, N. Murillo, C. Arredondo, I. Urdaneta. Enzootic equine cutaneous leishmaniasis in Venezuela. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 75:471, 1981.
- David L Heymann, El control de las enfermedades transmisibles, Organización Panamericana de la Salud, Edition: 18, Publicado por Pan American Health Org, 2005
- García Ramos, P. 2001, Zoonosis en Extremadura, Consejería en Extremadura, INDUGRAFIC, Pág. 78-84.
- GRADONI, L. 2002, Laboratorio de Parasitología, Instituto Superior de Sanidad, Roma, Italia. El Diagnóstico de la Leishmaniasis Canina. Consultado en Julio 2008. Disponible en el World Wide Web: <http://www.diagnosticoveterinario.com>
- Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004

- Medina, R. G. Chávez, V.A. Minaya, G. 2000. Manual de procedimientos para el diagnóstico de leishmaniosis. Serie de Normas Técnicas N° 13. 2ª ed. p 11-39. MINSA. Perú.
- MSPAS (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social), 1996, Manual de lucha contra la Leishmaniosis visceral. Organización Mundial de la Salud. División de Lucha contra las Enfermedades Tropicales. Ginebra. Pág. 27-71.
- MSPAS (Ministerio de Salud Pública 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. Pág. 9, 12, 22, 26, 27.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud) 1996, Epidemiología y control de las Leishmaniosis en las Américas por país o territorio. [www.Paho.org/spanish/ad/dpc/cd/epi-y-control.pdf](http://www.Paho.org/spanish/ad/dpc/cd/epi-y-control.pdf)
- (*Revista Control de Plagas de Parasitosis Humanas Bottero-Restrepo. 2009*)
- MOLYNEUX, D.H. and ASHFORD, R.W., 1.983. The biology of trypanosoma and Leishmania, parasites of man and domestic animals. London. Pág. 3
- KIRK, R.; BONAGURA , J. 1.994. Terapéutica veterinaria de pequeños animales. Interamericana – Mc Graw Hill. Pág. 278, 296 - 298, 301, 1183.
- Atlas de Parasitología Médica, Autor: Rodríguez, 1a ed., 2004; pág. 10-12, McGraw-Hill.
- ETTINGER, S.; FELDMAN, E. 1.997. Tratado de Medicina Veterinaria

enfermedades del perro y el gato. 4a Edición. Editorial Intermédica. Buenos Aires Argentina. Pág. 10, 243, 446, 479 – 481, 643 – 644, 2.491.

- PINEDA, P.; PINZÓN, J. 1.994. Caracterización de un Foco de Leishmaniosis Canina en Yacopí Cundinamarca. Universidad de La Salle. Bogotá. Colombia.  
Pág.3-43.
- SOULSBY, E.J.L. 1.987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Séptima edición. Interamericana. México. Pág. 551 - 560.
- SALUDCOOP.E.P.S. 2.000. Manual de capacitación interna para los profesionales de la salud de Saludcoop. De: Salusholos. No. 11.  
Pág. 35 - 67.
- CORREDOR, A.; GALLEGO, J.; TESH, R.; MORALES, A.; FERRO, C.; YOUNG, D.; KREUTZER, R.; BOSHELL, J.; PALAU, M.; CACERES, E.; PELAEZ, D. 1.989. Epidemiology of visceral leishmaniosis in Colombia.De: Am J Trop Med Hyg. Pág.40, 480-486.
- Cairó, J. 1997. Aspectos clínicos de la leishmaniosis canina. *Canis Felis*. 29:53-63
- Amusategui, I., Sainz, A., Rodríguez, F., Tesouro, M.A. 2003. Distribution and relationship between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniosis. *Eur, J. Epidemiol.* 18: 147-156.
- TRAVI, B.L., TABARES, C.J., CADENA, H., FERRO, C., OSORIO, Y. 2001. Canine visceral leishmaniosis in Colombia: relationship between



clinical and parasitologic status and infectivity for sand flies. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene. 64 (3, 4): 119-124.

- Ramirez, j. r., Agudelo, S., Muskus, C., Alzate, J. F., Berberrich, F., Barker D., Velez, I. D. 2000. Diagnosis of Cutaneous Leishmaniosis in Colombia: the Sampling Site within Lesions influences the Sensitivity of Parasitologic Diagnosis. Journal of Clinical, Microbiology. 38 (10): 3768-3773.
  
- Sacks, D., Sher, A. 2002. Evasion of innate immunity by parasitic protozoa, Nat Immunol. 3:1041-1047.
  
- Reithinger, R., Davies, C. R. 1999. Is the domestic dog (*canis familiaris*) a reservoir host of American coetaneous leishmaniosis? A critical review of the current evidence. Am. J. Trop. Med. Hyg. 61 (4): 530-541.
  
- McMahon-Pratt, D., Alexander, J. 2004. Does the *Leishmania major* paradigm of pathogenesis and protection hold for New World cutaneous leishmaniosis or the visceral disease? Immunol Rev. 201:206-24.
  
- Zulueta, A.M., Villarroel, E., Rodríguez, N., Feliciangeli, D.M., Mazzarri, M., Reyes O., Rodríguez, V., Centeno, M., Barrios, R., Ulrich, M.1999. Epidemiologic aspects of American visceral leishmaniosis in an endemic focus in eastern Venezuela. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. 61: (6) 945-950.
  
- Alvar J. 2001. Las leishmaniosis: De la Biología al Control. Laboratorios Intervet S.A., Salamanca. Instituto Carlos III, Madrid.

- Ashford, R.W. 2000. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int. J Parasitology*. 30: 1269-1281.
  
- Desjeux, P. 2001. The increase risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 95: 239-243.

**12 ANEXOS**

## ANEXO N°1

## Consulta Ambulatoria atendida en los establecimientos del Ministerio de Salud

Período del 01/01/2007 al 31/12/2007

## Consultas de Primera Vez

Nivel Nacional

MSPAS+FOSALUD

Código	Diagnóstico	Consultas		Consultas		Total	
		Masculina	Tasa	femenina	Tasa	Consultas	Tasa
B55.9	Leishmaniosis, no especificada	6	0.17	9	0.25	15	0.21
B55.1	Leishmaniosis cutánea	4	0.11	2	0.06	6	0.08
B55.0	Leishmaniosis visceral	0	0	1	0.03	1	0.01
B55.2	Leishmaniosis mucocutánea	0	0	1	0.03	1	0.01
	Totales	10	0.29	13	0.36	23	0.32

## Consulta Ambulatoria atendida en los establecimientos del Ministerio de Salud

Período del 01/01/2007 al 31/12/2008

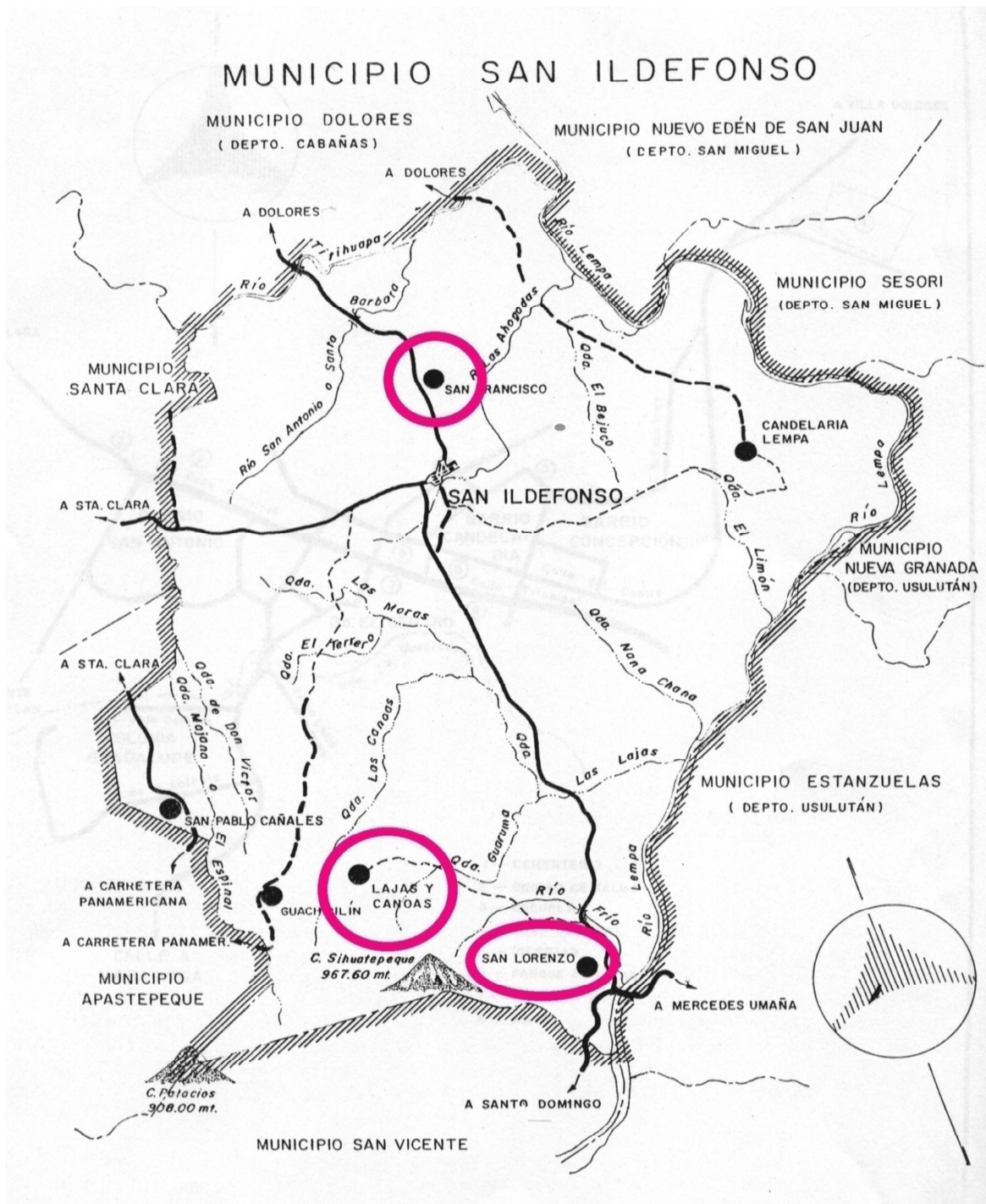
## Todas las consultas

Nivel Nacional

MSPAS+FOSALUD

Código	Diagnóstico	Consultas		Consultas		Total	
		Masculina	Tasa	femenina	Tasa	Consultas	Tasa
B55.9	Leishmaniosis, no especificada	14	0.40	28	0.78	42	0.59
B55.1	Leishmaniosis cutánea	7	0.20	3	0.08	10	0.14
B55.0	Leishmaniosis visceral	1	0.03	4	0.11	5	0.07
B55.2	Leishmaniosis mucocutánea	0	0.00	2	0.06	2	0.03
	Totales	22	0.63	37	1.02	59	0.83

# ANEXO 2 MAPA DE SAN ILDEFONSO



## GLOSARIO

AMASTIGOTE: Forma no flagelada de Leishmania.

DDT: Diclorodifeniltricloroetano, poderoso insecticida, organoclorado que se utilizaba en el control de los mosquitos.

DIETIL TULUOAMINA: Fármaco empleado para repeler insectos.

ELISA: Prueba diagnóstica inmunoenzimática, puede utilizarse para cuantificar y detectar anticuerpos/antígenos.

EMACIACIÓN: Enflaquecimiento extremo por causa morbosa.

HEPATOESPLENOMEGALIA: Aumento simultáneo de hígado y bazo.

HISTIOCITOS: Célula grande fagocitaria del sistema retículo endotelial.

JEJÉN: Nombre vulgar de Dípteros pertenecientes a los Phlebotomus, Lutzomya, Simulium y Culicoides.

LEUCOPENIA: Reducción del número de leucocitos en la sangre.

LINFADENOPATIA: Término común para las afecciones de los ganglios o del tejido linfático.

LUTZOMIA: Nombre científico de la mosca de los arenales.

MALATHION: Plaguicida organoclorado.

O.M.S: Organización Mundial de la Salud.

PHLEBOTOMUS: Nombre científico de la mosca.

PROMASTIGOTE: Parásito intestinal de artrópodos hematófagos (pitos, tábanos).

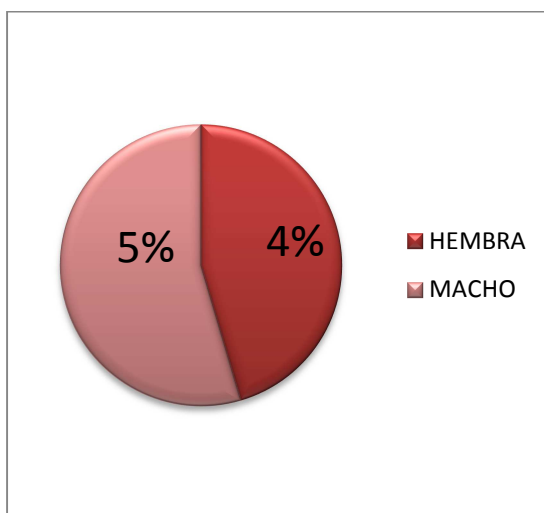
XENODIAGNOSTICO: Método para diagnosticar una infección transmitida por vector, en el cual un insecto libre de patógenos criado en el laboratorio es llevado a succionar sangre de un paciente. El contenido del intestino del insecto se examina después en busca de la presencia del patógeno.

TABLA. INFORMATIVA DE LA CARACTERIZACION DEL MUESTREO

Cantón	N° Vivienda s	Població n Cánidos	Raza	Sexo	Edad	N° muestras	
						Sangr e	Tejid o
<b>San Lorenzo</b>	500	385	Toda s	Ambo s	Toda s	23	4
<b>Lajas y Canoas</b>	250	199	Toda s	Ambo s	Toda s	76	17
<b>Candelari a Lempa (El cumiste)</b>	200	150	Toda s	Ambo s	Toda s	27	4
<b>TOTAL</b>	<b>950</b>	<b>734</b>				126	25

TABLA.  
DE RESULTADOS MUESTRAS POSITIVAS/SEXO DE CANIDOS

IDENTIFICACION POSITIVOS		SEXO	
PRUEBA	IDENT.	HEMBRAS	MACHOS
(IFI)	M4	X	---
(IFI)	M20	X	---
(IFI)	M74	X	---
(IFI)	M77	X	---
(IFI)	M116	---	X
(IFI)	M96	---	X
(IFI)	M91	---	X
(IFI)	M109	---	X
(IFI)	M108	---	X
(IFI)	M2	---	X
(PCR)	2	----	X



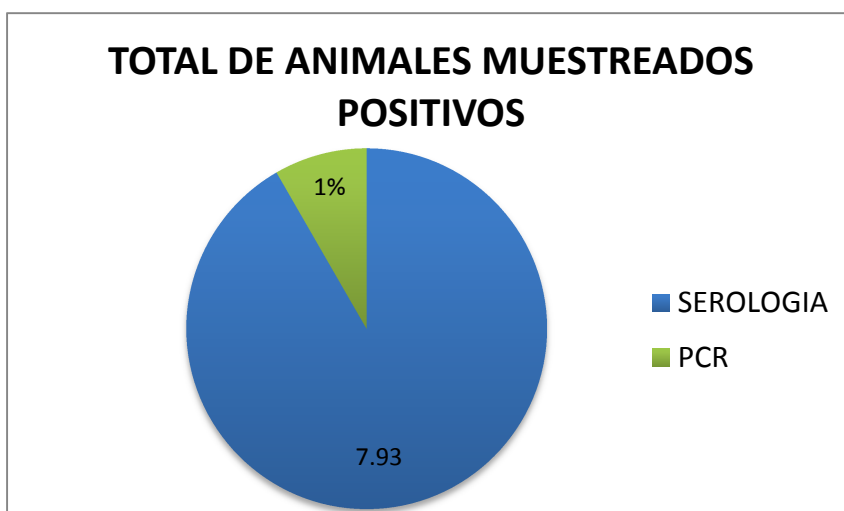
SEXO	
HEMBRA	MACHO
5	6
4%	5%



TABLA.

## TOTAL DE LA POBLACION DE ANIMALES MUESTREADOS

MUNICIPIO Y CANTON	MUESTRAS IFI	ANIMALES MUESTREADOS PARA PCR	MUESTRAS TOMADAS PRUEBA PCR/IFI
SAN LORENZO (EL JICARO)	<b>12</b>	----	<b>4</b>
LAJAS Y CANOAS (LAS LAJAS)	<b>33</b>	----	----
CANDELARIA LEMPA (EL CUMISTE)	<b>27</b>	<b>3</b>	<b>1</b>
SAN LORENZO (LA GUARUMA)	<b>8</b>	----	----
LAJAS Y CANOAS (EL LIMON)	<b>34</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
TOTAL:	<b>126</b>	<b>11</b>	<b>14</b>
TOTAL DE PERROS MUESTREADOS:	<b>137</b>		



TOTAL DE ANIMALES MUESTREADOS POSITIVOS	
SEROLOGIA	PCR
10	1
7.93%	1%

TABLA. EXISTENCIA DE  
PERSONAS DX. CON

LEISHMANIA EN VIVIENDA MUESTREADA.

IDENTIFICACION POSITIVOS		EXISTENCIA DE PERSONAS DX. CON LEISHMANIA EN VIVIENDA MUESTREADA	
PRUEBA	IDENT.	SI	NO
(IFI)	M4	----	----
(IFI)	M20	----	----
(IFI)	M74	----	----
(IFI)	M77	----	----
(IFI)	M116	----	----
(IFI)	M96	----	----
(IFI)	M91	---	----
(IFI)	M109	---	----
(IFI)	M108	---	----
(IFI)	M2	---	----
(PCR)	2	<b>X</b>	----

TABLA. DE LOS ANIMALES POSITIVOS/EDAD EN AÑOS.

IDENTIFICACION POSITIVOS		EDAD EN AÑOS		
		0-1	1-4	4-8
PRUEBA	IDENT.			
(IFI)	M4	X	----	----
(IFI)	M20	----	X	----
(IFI)	M74	----	----	X
(IFI)	M77	X	----	----
(IFI)	M116	X	----	----
(IFI)	M96	----	X	----
(IFI)	M91	X	----	---
(IFI)	M109	X	----	---
(IFI)	M108	----	X	---
(IFI)	M2	----	X	---
(PCR)	2	----	X	----

GRAFICA. DE LOS ANIMALES POSITIVOS/EDAD EN AÑOS.

DE LOS ANIMALES POSITIVOS /EDAD EN AÑOS			
PRUEBA	0-1 a	1-4 a	4-8 a
IFI	5	4	2
PCR	---	1	---
%	4%	4%	2%

