

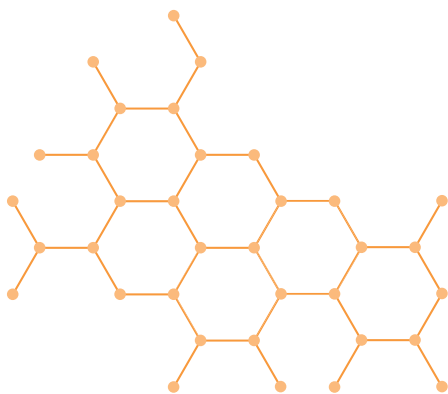


Programa de Control de Leishmaniasis

Normas, pautas y procedimientos para el diagnóstico y control

República Bolivariana de Venezuela
Ministerio del Poder Popular para la Salud **2019**





Programa de Control de Leishmaniasis

Normas, pautas y procedimientos para el diagnóstico y control

República Bolivariana de Venezuela
Ministerio del Poder Popular para la Salud **2019**

© 2019 República Bolivariana de Venezuela - Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud

Todos los derechos reservados

Depósito Legal: M12019000320

ISBN: 978-980-6678-09-5

Tiraje: 1ª edición en español – 2019 – 2.000 ejemplares

Autor Institucional:

Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud

Participación Técnica:

Ministerio del Poder Popular para la Salud
Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina "Dr. Jacinto Convit"

Proyecto Gráfico:

Arte Impreso HM, C.A.

Créditos o derechos a fotografías de portada:

- Cely Ávila © Cely Ávila / PANAFOSA (hexágono en la base de portada)
- [Kateryna Kon] © 123RF.com (Promastigotes de leishmania, ilustración 3D, en el hexágono superior de portada)

Ficha Bibliográfica

Ministerio del Poder Popular para la Salud.
Programa de Control de Leishmaniasis. Normas, pautas y procedimientos para el diagnóstico y control / Ministerio del Poder Popular para la Salud et al. – Caracas: Ministerio del Poder Popular para la Salud, 2019.
196p.: il.

ISBN: 978-980-6678-09-5

1. Leishmaniasis 2. Leishmania 3. Enfermedades Transmisibles 4. Enfermedades Infecciosas I.
Ministerio del Poder Popular para la Salud II. Organización Panamericana de la Salud

(Clasificación NLM: WR 350)

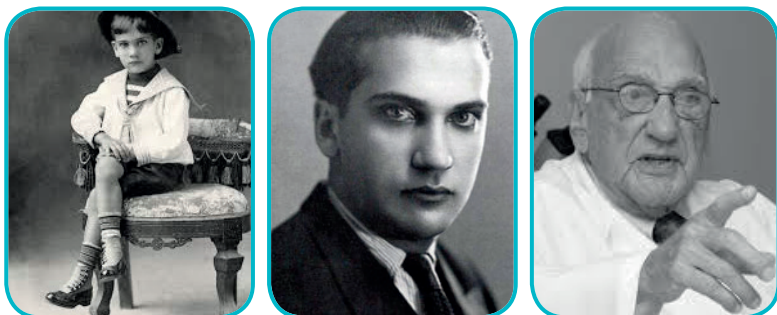
Presentación

El Dr. Jacinto Convit se planteó el reto de crear un centro de investigaciones científicas, es así como nació el Instituto de Dermatología que posteriormente se llamó Instituto de Biomedicina de Caracas (IBC), el cual dirigió desde el año 1972. El 2 de julio de 1973 este organismo se convirtió en la sede del Centro Internacional de Investigación y Adiestramiento sobre lepra y enfermedades afines de la Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. En la actualidad lleva como nombre Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit» (SAIBJC), organismo adscrito al Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS).

Cuenta con el apoyo de 32 servicios denominados Servicios de Dermatología Sanitaria Regionales (SDSR), los cuales están distribuidos a lo largo del territorio nacional, en 22 de las 24 entidades federales en que se encuentra dividido el país, –solo los estados Amazonas y Delta Amacuro no cuentan con servicios–.

El Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit», como ente encargado de la atención de las enfermedades tropicales como la leishmaniasis, la lepra y la oncocercosis, ha llevado a cabo la redacción de este documento para el fortalecimiento del Programa Nacional de Control de la Leishmaniasis, mediante la revisión de la información sobre esta enfermedad, con el fin de crear y actualizar las normas, pautas y procedimientos para la prevención, vigilancia epidemiológica y control.

Este manual es producto del trabajo de una red integral de investigadores, clínicos y personal de salud y en él se resumen los aspectos clínicos, epidemiológicos, parasitológicos, de prevención y control de la enfermedad en sus diferentes formas clínicas, con el fin de brindar las herramientas necesarias al personal de salud para el diagnóstico y la implementación adecuada del tratamiento oportuno, y para todas aquellas personas interesadas en contribuir en la lucha contra esta enfermedad endémica.



Jacinto Convit García nació en La Pastora, Caracas, el 11 de septiembre de 1913. Médico y científico venezolano, dedicó su vida a la investigación de la lepra y la leishmaniasis. Fundó un centro de investigaciones científicas, inicialmente llamado Instituto de Dermatología, al que posteriormente se le denominó Instituto de Biomedicina de Caracas (IBC), el cual dirigió desde 1972 hasta 2014.

Fue miembro fundador de la Sociedad Venezolana de Dermatología y Venereología, de la Sociedad Venezolana de Alergología y de la Sociedad Venezolana de Salud Pública. En su trayectoria de investigación científica fue merecedor de muchos reconocimientos, entre los que destaca el Premio Príncipe de Asturias de Investigación Científica y Técnica en 1987 y fue nominado al Premio Nobel de Medicina en 1988, además de participar en reuniones científicas y escritos en revistas nacionales e internacionales. Falleció el 12 de mayo de 2014 a la edad de 100 años.

Listado protocolar

Ministerio del Poder Popular para la Salud

Carlos Alvarado

Ministro del Poder Popular para la Salud

Marisela Bermúdez

Viceministra de Redes de Salud Colectiva

José Manuel García

Director General de Epidemiología

Harland Schuler

Director General del Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina
«Dr. Jacinto Convit».

José Ramón Guevara

Director de los Programas de Control de Leishmaniasis y Lepra.
Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».

Organización Panamericana de la Salud /

Organización Mundial de la Salud

José Moya

Representante OPS / OMS

Autores

Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».
Ministerio del Poder Popular para la Salud

José Ramón Guevara

Médico Epidemiólogo.
Director de los programas de Control de Leishmaniasis y Lepra

María Eugenia Ortega Moreno

Licenciada en Inspección en Salud Pública. Sección de Leishmaniasis.
Profª instructora. Escuela de Salud Pública,
Universidad Central de Venezuela

Doris Carolina Belizario Ochoa

Licenciada en Inspección en Salud Pública. Sección de Leishmaniasis

Wilmen Alexis Galindo Martínez

Licenciado en Inspección en Salud Pública. Sección de Leishmaniasis

Bailde García Guevara

Socióloga. Especialista en Educación en Salud y Participación Social.
Estudios Internacionales de Salud Comunitaria Formación
en Metodología de Investigación, Planificación y Diseño de Indicadores
de Gestión

Antonio Salgado Sabel

Ingeniero de Sistemas, especialista en S.I.G. y epidemiología espacial
o panorámica. Coordinador de la Unidad de Informática

Manuel Hernández

Médico Epidemiólogo Unidad de Epidemiología

María Argelia Polegre

Coordinadora del Laboratorio de Bioquímica-Producción de Vacunas

Olga Zerpa

Médica Dermatóloga. Especialista en Leishmaniasis

Marian Ulrich †

PhD. Coordinadora del laboratorio de Inmunología II

Jacinto Convit †

Médico. Director del Instituto de Biomedicina

Emilia Negrón

Médica Veterinaria. Coordinadora del Bioterio del Instituto de Biomedicina

Belkis Blanco

Médica Dermatóloga, adjunta al Servicio Central de Dermatología Sanitaria

Alexis Fernández

PhD. Coordinador del Laboratorio de Inmunología II

Harland Schuler

Médico Epidemiólogo. Director General del Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit». MPPS

Universidad Central de Venezuela – Instituto de Biomedicina**Noris Rodríguez**

PhD. Coordinadora del Laboratorio de Ingeniería Genética.
Prof^a titular, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela

Maira Cabrera González

PhD. Coordinadora del Laboratorio de Inmunoparasitología.
Prof^a agregada, Universidad Central de Venezuela

Félix J. Tapia

Master of Philosophy. Coordinador del Laboratorio de Biología Molecular. Prof. asociado, Universidad Central de Venezuela

Orquídea Rodríguez

Licenciada en Bioanálisis. Laboratorio de Biología Molecular.
Prof^a instructora, Universidad Central de Venezuela

Martín Sánchez

PhD. Coordinador del laboratorio de Biología Celular.
Prof asistente, Universidad Central de Venezuela

Universidad de Carabobo. Cátedra de Parasitología**María Dora Feliciangeli de Piñero †**

Entomóloga. Profesora de la Universidad de Carabobo y del Instituto de Altos Estudios «Arnoldo Gabaldón». Investigadora, miembro del Instituto de Investigaciones Biomédicas (BIOMED)

**Hospital Luis Ortega, Servicio de Pediatría.
Porlamar, estado Nueva Esparta****Margarita Benítez**

Médica Pediatra

Comité técnico revisor

Ministerio del Poder Popular para la Salud

Marisela Bermúdez

Médica epidemióloga. Viceministra de Redes de Salud Colectiva

José M. García

Médico epidemiólogo. Director General de Epidemiología

Fátima Garrido

Médica epidemióloga. Directora de Vigilancia Epidemiológica

Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit». Ministerio del Poder Popular para la Salud

Lucibel Crespo

Médica dermatóloga. Jefe del Servicio Central – Lepra

Rosabel González

PhD. Directora de Investigación

Hospital José María Vargas de Caracas, servicio de Infectología

Manuel Guzmán Blanco

Médico especialista. Jefe del Servicio de Infectología del Hospital José María Vargas de Caracas. Prof. de la Universidad Central de Venezuela

Joseph A. González

Médico internista, residente de Infectología del Hospital José María Vargas de Caracas

**Organización Panamericana de la Salud /
Organización Mundial de la Salud**

Ana Nilce Elkhoury

Asesora regional de Leishmaniasis

Ángel M. Álvarez

Asesor de Enfermedades Transmisibles y Determinantes Ambientales
de la Salud

Ariel Karolinski

Asesor en Salud Familiar, Promoción de la Salud y Curso de Vida

Carlos D. Torres Amarilla

Asesor en Inmunización Integral de la Familia

Joel Caraballo

Consultor en Redes de Servicios de Salud

José Moya

Representante de OPS/OMS

Mal Hi Cho

Asesora en Sistemas y Servicios de Salud

Sabina Rodríguez

Consultora de Comunicaciones

Tulia Hernández Muñoz

Consultora de Vigilancia y Análisis de Situación de Salud

Samantha Y. O. B. Valadas

Especialista en soporte a proyectos de leishmaniasis

Contenido

ACRÓNIMOS Y SIGLAS	19
PUNTOS A TOMAR EN CUENTA	23
GLOSARIO	27
PRESENTACIÓN	31
LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA	31
LEISHMANIASIS VISCERAL	31
ANTECEDENTES	33
EPIDEMIOLOGÍA	35
PROGRAMA DE CONTROL DE LEISHMANIASIS EN VENEZUELA	41
Estructura y funcionamiento del Programa de Control de la Leishmaniasis en Venezuela	43
Componentes y actividades	44
I) Fortalecimiento de la asistencia médica	44
II) Control epidemiológico de LC y LV	47
III) Educación para la salud	50
IV) Investigaciones	51
AGENTE CAUSAL	57
Caracterización de los parásitos del género <i>Leishmania</i> (LV)	57
Taxonomía de la <i>Leishmania</i> spp.	58
Análisis de isoenzimas	59
Anticuerpos monoclonales	60
Digestión de ADN de kinetoplasto con enzimas de restricción	60
Hibridación molecular	61
ESPECTRO CLÍNICO DE LA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA EN VENEZUELA	63
Leishmaniasis cutánea localizada (LCL)	65
Leishmaniasis intermedias	66
Leishmaniasis cutánea intermedia (LCI)	66
Leishmaniasis cutánea mucosa (LCM)	67
Leishmaniasis cutánea diseminada (LD)	69
Leishmaniasis cutánea difusa (LCD)	70
Leishmaniasis tegumentaria y coinfección con VIH	72
Leishmaniasis visceral (LV)	73
Leishmaniasis visceral y VIH-sida	79

RESERVORIO	83
Leishmaniasis visceral canina	84
Inmunología de la leishmaniasis visceral canina	87
Vector	90
INMUNOLOGÍA DE LA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA	95
Mecanismo de transmisión	95
Espectro clínico de la leishmaniasis cutánea	96
Inmunología de la leishmaniasis en modelos experimentales	97
Inmunología de la leishmaniasis humana	98
La respuesta inmunológica cutánea	98
Respuesta inmune periférica	100
Perspectivas	102
INMUNOPATOGENIA DE LA LEISHMANIASIS VISCERAL	103
MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO	105
Generalidades sobre los Métodos de Diagnóstico	107
Diagnóstico de leishmaniasis cutánea americana	107
Aplicación de Pruebas Cutáneas (Leishmanina)	109
Leishmanina: Preparación y Constitución	111
Interpretación de los Resultados de la Leishmanina	112
Condiciones Previas para la Realización de Exámenes Diagnósticos	113
Métodos directos para el diagnóstico de la leishmaniasis cutánea americana	114
Frotis	114
A) Frotis por escarificado	114
B) Frotis por aposición	116
C) Frotis por linfa	116
Procedimiento para la preparación e identificación de las láminas a emplear en los frotis	116
A) Procedimiento de limpieza	116
B) Procedimiento de Identificación	116
Método de Coloración con Giemsa para la Visualización de Amastigotes en Frotis (Aposición, Escarificado, Linfa)	118
Preparación de la solución para la coloración	118
Procedimiento de coloración	118
Pasos a seguir para la coloración de Giemsa	119
Lectura, Evaluación y Reporte del Examen Directo (Frotis)	120
Histopatología	121
Cultivo	121

Métodos Indirectos para el Diagnóstico de la Leishmaniasis Tegumentaria Americana	123
Identificación taxonómica de parásitos del genero <i>Leishmania</i> responsables de producir la leishmaniasis cutánea en Venezuela	123
Métodos utilizados en la caracterización taxonómica de <i>Leishmania</i>	124
Análisis de isoenzimas (<i>Multilocus Enzyme Electrophoresis</i> , MLEE)	124
Anticuerpos monoclonales	124
Identificación de especies de <i>Leishmania</i> mediante análisis de restricción del ADN del kinetoplasto (ADNk)	125
Hibridación molecular	126
Identificación molecular de especies de <i>Leishmania</i> mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	128
Inoculación en animales de experimentación	131
MÉTODOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA LEISHMANIASIS VISCERAL	135
Diagnóstico	135
Diagnóstico de laboratorio	135
TRATAMIENTO ANTILEISHMÁNICO	139
Tratamiento de Leishmaniasis en Venezuela	141
Leishmaniasis Tegumentaria Americana	141
Antimoniato de Meglumina (Glucantime®)	141
Presentación y composición	142
Indicaciones	142
Requisitos indispensables para iniciar el tratamiento con antimoniatos de meglumina	142
Dosificación y vía de administración	142
Contraindicaciones	143
Efectos colaterales	143
Seguimiento de pacientes en tratamiento con Glucantime®	143
Antimoniato de Meglumina Vía Intralesional	144
Inmunoterapia (IMT)	145
Tratamientos Alternativos para la Leishmaniasis Tegumentaria	146
Tratamientos de segunda línea	146
ANFOTERICINA B	146
ANFOTERICINA B LIPOSOMAL	146
ANFOTERICINA B DESOXICOLATO	146
MILTEFOSINE	147
Efectos colaterales	148
Tratamiento de Casos Especiales	149
Embarazadas	149
Etapa de lactancia	149
Pacientes con alteraciones electrocardiográficas	149
Pacientes con VIH y otras causas de inmunosupresión	149

Pacientes mayores de 50 años	149
Pacientes con nefropatías, hepatopatías o cardiopatías	149
Tratamiento - Leishmaniasis Visceral	150
Tratamiento de primera línea	150
Criterios de cura	152
Recaídas	152
Tratamiento - Segunda Línea	152
Tratamiento de la Leishmaniasis Visceral – VIH/SIDA	154
Tratamiento de casos especiales de leishmaniasis visceral	155
ES IMPORTANTE RESALTAR EL VALOR DE LA EDUCACIÓN PARA LA SALUD	157
Educación para la salud y participación social en leishmaniasis	159
Aspectos contextuales/conceptuales de la educación para la salud y la participación social en el marco de la prevención y control de la leishmaniasis en Venezuela	159
¿Cómo se materializan las iniciativas de educación para la salud?	161
Monitoreo del proceso educativo	162
Evaluación del programa de educación y participación comunitaria en leishmaniasis	162
REFERENCIAS	163
ANEXOS	181



Parte del equipo de la Sección de Leishmaniasis del SAIBJC junto con personal del comité técnico revisor y representantes de la OPS responsables de la revisión de este manual.



Acrónimos y siglas

AP:	Aposición
ESC:	Escarificado
Ficha L1:	Ficha registro de casos leishmaniasis 1
IBC:	Instituto de Biomedicina de Caracas
LCA:	Leishmaniasis cutánea americana
LCL:	Leishmaniasis cutánea localizada
LCI:	Leishmaniasis cutánea intermedia
LCM:	Leishmaniasis cutánea mucosa
LCD:	Leishmaniasis cutánea difusa
LD:	Leishmaniasis diseminada
LI:	Leishmaniasis intermedia
LT:	Leishmaniasis tegumentaria
LV:	Leishmaniasis visceral
LVC:	Leishmaniasis visceral canina
MPPS:	Ministerio del Poder Popular para la Salud
OPS / OMS:	Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud
ORL:	Otorrinolaringología
PCR:	Reacción en cadena de polimerasa (Polymerase Chain Reaction, por sus siglas en inglés)
SAIBJC:	Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»
SDSR:	Servicio de Dermatología Sanitaria Regional
SisLeish:	Sistema de Información Regional sobre la Leishmaniasis
SIS:	Sistema de información en salud
SIG:	Sistema de información geográfica





"Un médico, un hombre de ciencias, no puede quedarse encerrado en cuatro paredes. Tiene que salir a la calle y ver cuáles son las necesidades de la gente"

Dr. Jacinto Convit





Puntos a tomar en cuenta

La leishmaniasis es una enfermedad infecciosa NO contagiosa, causada por un parásito del género *Leishmania* y transmitida por un vector del género *Lutzomyia*.

No todas las úlceras son leishmaniasis, es importante tomar en cuenta la epidemiología (procedencia de zona endémica o no), confirmación parasitológica, la respuesta inmunológica (respuesta a la leishmanina) y no únicamente la clínica.

La leishmanina es una prueba de orientación que jamás debe ser usada como prueba diagnóstica, ya que lo que nos indica es una respuesta celular ante el posible contacto con el parásito.

Los frotis tienen una alta sensibilidad; sin embargo, dependerá de factores como el tiempo de evolución (a menor tiempo mayor sensibilidad), la habilidad del personal que toma la muestra, lesiones sobreinfectadas, entre otros, por lo que solo se deberá tomar en dos ocasiones. De resultar negativo se deberá realizar otro método de confirmación parasitológica, como la biopsia, o pensar en otra patología.

La leishmaniasis es una enfermedad de denuncia obligatoria semanal (Reporte semana epidemiológica), que amerita, además, el llenado de la ficha de registro de caso (ficha L1).

Todo paciente que acuda a un centro de salud con síndrome febril y hepatoesplénico se debe considerar como un posible caso de leishmaniasis visceral, por lo que amerita el descarte de esta enfermedad, sobre todo si proviene de zonas endémicas.

Ante la sospecha de un caso de leishmaniasis cutánea se debe realizar un examen físico de piel y mucosas. Si están presentes las lesiones mucosas se debe solicitar interconsulta con el especialista de ORL.

Para realizar un diagnóstico de leishmaniasis se deben tomar en cuenta los aspectos clínicos, epidemiológicos, inmunológicos y parasitológicos.

El tratamiento de primera línea para Venezuela es el antimonial pentavalente (Glucantime®) y el de segunda línea es la anfotericina B.

El programa de vigilancia para todas las formas clínicas de leishmaniasis implica la detección temprana de los casos y su tratamiento inmediato y oportuno.

En los casos de leishmaniasis cutánea se debe sensibilizar al paciente sobre la importancia de los aseos locales de las lesiones diariamente.

El seguimiento de los casos de leishmaniasis cutánea debe hacerse por un período de 5 años para realizar detección temprana de los posibles casos de leishmaniasis mucosa.

Los pacientes, después de curados clínicamente, deberán asistir a control una vez al mes, luego cada tres meses durante un año (4 controles), cada seis meses (2 controles), y por último una vez al año hasta completar los cinco años.

Cada estado del país cuenta con un Servicio de Dermatología Sanitaria Regional.

La educación para la salud tanto a los pacientes como a las comunidades organizadas es importante para implementar las medidas de prevención y control de la enfermedad.



Desde la creación del Programa Control de Leishmaniasis en Venezuela, un equipo multidisciplinario constituido por personal médico, inspectores en salud pública, enfermería, analistas y de secretaría han trabajado en pro de los pacientes y las poblaciones afectadas por la leishmaniasis.



Glosario

Ag-rK39: antígeno recombinante del parásito *Leishmania spp.* que produce leishmaniasis visceral, reconocido por los anticuerpos presentes en el suero / sangre de pacientes y personas infectadas por esos parásitos.

Agente: fuerza o sustancia (animada o inanimada) que por presencia o por ausencia puede iniciar o perpetuar un proceso patológico o una alteración de la salud.

Agente infeccioso: organismo, principalmente microscópico (bacterias, virus, parásitos), además de helmintos y otros microparásitos, capaces de producir infección o enfermedades infecciosas.

Amastigote: forma evolutiva de un parásito de la familia *Trypanosomatidae* (ej. *Leishmania*) que se caracteriza por ausencia de flagelo libre y se encuentra en el hospedador vertebrado.

Anticuerpo: glicoproteína producida por los linfocitos B que se unen de manera específica a un antígeno.

Antígeno: porción o producto de un agente biológico capaz de estimular la formación de anticuerpos específicos al penetrar en un organismo.

Caso: persona o animal infectado o enfermo, o individuo objeto de un estudio de salud.

Caso confirmado: persona o animal del cual se ha aislado e identificado un agente productor de enfermedad o que tiene alguna otra evidencia de laboratorio de la presencia de un agente infeccioso.

Caso presuntivo: persona o animal con un síndrome clínico indicador de una enfermedad, pero sin confirmación de laboratorio del agente etiológico.

Diagnóstico: es el procedimiento por el cual se identifica una enfermedad o cualquier condición de salud-enfermedad.

Diagnóstico clínico: es el resultado del examen médico a partir de síntomas (experiencias físicas subjetivas negativas que refiere el paciente), signos (los hallazgos objetivos que detecta el médico) y los hallazgos de exploraciones físicas complementarias realizadas.

Diagnóstico diferencial: conocimiento producto de la evaluación crítica comparativa de las manifestaciones de una enfermedad con las de otras enfermedades.

Diagnóstico clínico epidemiológico: es el producto de la evaluación clínica del paciente sumado a la información relacionada con la enfermedad a nivel de la población, como su distribución en el espacio y tiempo, distribución por edad, sexo, profesiones, prevalencia estacional y el análisis de sus relaciones con las diversas características de los individuos y su medio ambiente.

Educación para la salud: estrategia educativa orientada a favorecer un estilo de vida saludable mediante la promoción de actitudes y hábitos responsables con la salud propia y la del entorno.

ELISA (Enzyme Linked Immuno System Assay): Ensayo Inmuno Enzimático (por sus siglas en inglés). Prueba serológica útil en el diagnóstico de la leishmaniasis visceral.

Endemia: número habitual de casos de una enfermedad en una población en un determinado tiempo.

Enfermedad: desviación del estado normal de salud asociado con una secuencia característica de signos y síntomas y causada por un agente etiológico específico.

Enfermedad infecciosa: enfermedad de los hombres o de los animales que resulta como consecuencia de la invasión de su cuerpo por agentes patógenos y de la reacción de los tejidos a estos agentes o a las toxinas generadas por ellos.

Epidemia: número de casos de una enfermedad por encima de lo esperado para una población en un tiempo dado.

Epidemiología: estudio de la salud-enfermedad en las poblaciones humanas.

Flebótomo: subfamilia de dípteros nematóceros de la familia *Psychodidae*. Son hematófagos y su picadura es el medio de transmisión de la leishmaniasis.

Fuente de infección: ser vivo (hombre o animal) que alberga y disemina un agente infeccioso.

Inmunidad: propiedad del sistema inmunitario de proteger o resistir al daño de microorganismos o de cualquier agente o elemento antigénico potencialmente dañino.

Incidencia: número de casos nuevos de una enfermedad que ocurren dentro de una población dada durante un período de tiempo específico.

Infección: es la entrada y desarrollo o multiplicación de un agente infeccioso en el organismo de una persona o un animal. Infección no es sinónimo de enfermedad infecciosa; el resultado puede ser inaparente o manifiesto.

Investigación: estudios realizados para adquirir conocimientos acerca de un proceso de salud, mediante observación y experimentación.

Kala-azar: término que significa «fiebre negra» por la pigmentación de la piel en los enfermos con leishmaniasis visceral en la India.

Letalidad: es una expresión de la gravedad de la enfermedad que se manifiesta por la frecuencia de defunciones entre los pacientes o personas enfermas. Puede expresar la característica general en relación con un área, una enfermedad o una clase de enfermedades.

Morbilidad: es un término genérico que expresa el número de personas enfermas o casos de una enfermedad en relación con la población en un tiempo dado. La expresión cuantitativa de la morbilidad se obtiene mediante tasas de incidencia, y a veces mediante tasas de prevalencia.

Mortalidad: es un término genérico que expresa la frecuencia de defunciones en el total de habitantes (enfermos y sanos) en un período de tiempo.

Paciente o enfermo: persona que sufre de una dolencia; en este texto se limita a la persona que padece un ataque clínicamente reconocible de una enfermedad transmisible.

PCR (Polymerase Chain Reaction): reacción en cadena de polimerasa, por sus siglas en inglés. Prueba de biología molecular. Se puede distinguir además la especie del parásito. Útil en el diagnóstico de la leishmaniasis.

Prevención: medidas a tomar para minimizar el riesgo de determinada enfermedad.

Parásito: ser vivo que se nutre a expensas de otro. Es un organismo pequeño que vive sobre o dentro de otro grande y a expensas de este.

Promastigote: forma del ciclo biológico de un parásito de la familia *Trypanosomatidae* (ej. *Leishmania*) que se caracteriza por presencia de un flagelo libre y se desarrolla y multiplica en el flebótomo, su insecto vector.

Reservorio de agentes infecciosos: son reservorios los hombres, animales, plantas, suelo o materia orgánica inanimada, en los que el agente infeccioso vive y se multiplica, y de los que depende principalmente para su subsistencia, reproduciéndose de manera que puede ser transmitido a un huésped susceptible. El hombre es el reservorio más frecuente de los agentes infecciosos patógenos al hombre mismo.

Riesgo: posibilidad de que una persona con características específicas (edad, sexo, estado inmunitario) adquiera una enfermedad dada.

Sospechoso: persona cuya historia médica, síntomas o posible exposición a un riesgo o a una fuente de infección sugiere que puede tener, o estar desarrollando, alguna enfermedad.

Susceptible: cualquier persona o animal que se supone no posee resistencia contra un agente patógeno determinado y que por esta razón puede contraer la enfermedad si se expone a la infección por ese agente.

Tasa: número de veces que sucede un acontecimiento en un lugar y un tiempo determinado dividido entre el número de veces que el mismo acontecimiento puede suceder.

Tira reactiva con Ag-rK39 (*dipstick*): prueba inmunocromatográfica específica para diagnóstico de leishmaniasis visceral.

Transmisión: transferencia directa (contacto o difusión de gotitas) o indirecta (transmitida por vectores, por vehículos o por el aire) de un agente infeccioso desde un reservorio hasta un huésped susceptible.

Vector: ser vivo (principalmente un artrópodo) que sirve de vehículo al agente infeccioso por diseminación, por inoculación a un susceptible o por ambos medios a la vez.

Vía de diseminación: medio a través del cual un agente infeccioso pasa de una fuente de infección a un susceptible.

Vigilancia de la enfermedad: esta, a diferencia de la vigilancia de personas, consiste en el examen atento y constante de todos los aspectos relacionados con la existencia y propagación de una enfermedad que interesan para su control eficaz.

Vigilancia de personas: es la práctica de control médico (u otro personal de salud) estrecho de los contactos, sin restringir sus movimientos, a fin de promover un pronto reconocimiento de la infección o enfermedad en tales contactos, en caso de ocurrir.

Zoonosis: infección o enfermedad infecciosa transmisible en condiciones naturales entre los animales vertebrados y el hombre.



Presentación

La leishmaniasis americana es una enfermedad infecciosa que presenta un espectro clínico, histopatológico e inmunológico variable, y que requiere para su control de la participación de diferentes direcciones y departamentos dependientes del Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS).

Leishmaniasis tegumentaria americana

La leishmaniasis tegumentaria americana (LTA) es una enfermedad infecciosa causada por parásitos protozoarios intracelulares de la familia *Trypanosomatidae* del género *Leishmania spp.*; se transmite al ser humano por la picadura de insectos vectores del género *Lutzomyia*. Esta enfermedad depende de la patogenicidad del parásito y de la respuesta inmunológica del huésped susceptible, por lo que puede presentar un espectro clínico variable que en Venezuela abarca desde formas simples, caracterizadas por úlceras y denominada leishmaniasis cutánea localizada (LCL), pasando por un polo intermedio en el que encontramos la leishmaniasis cutánea mucosa (LCM) y la leishmaniasis cutánea intermedia (LCI), formas emergentes como la leishmaniasis diseminada (LD), hasta la forma más severa de la enfermedad denominada leishmaniasis cutánea difusa (LCD). (Convit *et al.*, 1993; Zerpa O. *et al.*, 2013; Ortega-Moreno *et al.*, 2014b).

Leishmaniasis visceral

La leishmaniasis visceral (LV) o *kala-azar*, es una enfermedad infecciosa, parasitaria, potencialmente mortal, con amplia distribución geográfica tanto en el Viejo como en el Nuevo Mundo. Su permanencia es asegurada por la existencia de una cadena epidemiológica constituida por fuentes de infección, agentes transmisores y hospedadores susceptibles.

Esta forma de la enfermedad, al igual que la cutánea, va a depender de varios factores, como la respuesta inmune del huésped, la virulencia y la carga parasitaria. Los niños de las áreas endémicas presentan mayor riesgo de contraer la enfermedad, debido a que la malnutrición es un factor de gran importancia para desarrollar esta patología.





Antecedentes

La LTA es una enfermedad antigua. En pictografías indígenas precolombinas aparecen representaciones humanas con características semejantes, sin embargo, no es hasta principios de 1903 cuando William Boog Leishman descubrió en Londres los corpúsculos ovoides causantes de esta enfermedad. En Venezuela, en 1917, Juan Iturbe y Eudoro González describieron clínicamente el primer caso de leishmaniasis cutánea (García Rivas L., 1994). En la década de los cuarenta se hizo el primer reporte de leishmaniasis tegumentaria difusa, y en 1974, Jacinto Convit y María E. Pinardi plantearon la existencia de un espectro clínico con dos formas polares de leishmaniasis cutánea: una forma benigna o localizada (LCL) y una forma maligna o polo difuso (LCD), con formas intermedias en el medio de este espectro (Convit et al., 1974; Panzarelli Herrera A et al., 1993).

En el año 1958, el para entonces Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (MSAS) le asignó a la División de Lepra, dirigida desde el año 1946 por el Dr. Convit, la responsabilidad de realizar los estudios epidemiológicos y de formular y ejecutar el Programa de Lucha Contra la Leishmaniasis. En ese momento se creó en dicha división una Sección de Investigación de Micosis y Leishmaniasis en el medio rural. Esta asignación por parte del MSAS se debió a la gran capacidad de penetración rural demostrada por la División de Lepra y al hecho de que su personal especializado venía realizando estudios epidemiológicos y clínicos de la enfermedad desde la década de los años cuarenta, por ser la leishmaniasis una enfermedad con manifestaciones cutáneas y un espectro clínico e inmunológico similar al de la lepra. Las actividades de control fueron realizadas a través de los servicios antileproso, los cuales en el año 1962 se denominaron Servicios de Dermatología Sanitaria Regionales (SDSR). Ese mismo año la División de Lepra pasó a ser la División de Dermatología Sanitaria. Esta división pasó a formar parte del Instituto de Dermatología, actual Instituto de Biomedicina, fundado en 1971.

La leishmaniasis visceral es conocida en la India desde el siglo XIX, pero fue Leishman (1903) quien describió la *Leishmania* en muestras de bazo tomadas a un soldado irlandés proveniente de la India, identificándola como formas degeneradas de *Trypanosoma*. También Charles Donovan (1903) describió tres casos de fiebre negra o *kala-azar* provenientes de la India, donde observó flagelados que no se parecían a los tripanosomas descritos por Leishman. Ese mismo año, Charles Louis Alphonse Laveran y Félix Mesnil (1903) estudiaron las muestras de Donovan, y señalaron que este flagelado era nuevo, por lo cual lo llamaron *Piroplasma donovani* en honor a Donovan. Sin embargo, Ronald Ross (1903) examinó más adelante el mismo material y creó un nuevo género al que denominó *Leishmania* en honor a Leishman.

En América, la LV fue descrita por primera vez por Luis Migone (1913) en La Asunción, Paraguay, en un paciente proveniente de Mato Grosso, Brasil. Aristides Marques da Cunha y Evandro Chagas (1937) proponen el nombre de *Leishmania chagasi* para el agente causal de LV en este continente.

En Venezuela, Arminio Martínez Niochet y Adolfo R. Pons (1941) dieron a conocer el primer caso autóctono procedente de Las Mercedes, estado Guárico, y años después, en 1970, José W. Torrealba publicó su tesis doctoral en la cual describió un total de 174 casos registrados en el país en el período de 1941-1969, distribuidos en los estados Zulia, Guárico, Cojedes, Carabobo, Aragua, Trujillo, Lara, Falcón, Portuguesa, Anzoátegui, Monagas, Bolívar, Sucre y Nueva Esparta y en Distrito Federal. Posteriormente, han sido registrados casos aislados en diferentes entidades federales. El comportamiento epidemiológico de la enfermedad permite definirla como una endemia rural que puede desplazarse a zonas urbanas marginales (Aguilar *et al.*, 1998; Zulueta *et al.*, 1999; Zepa *et al.*, 2003).



Epidemiología

A nivel mundial esta enfermedad es endémica en 98 países, presentándose casos principalmente en el continente americano, la zona del Mediterráneo, Asia central y el Oriente Medio, en donde se estima que la incidencia anual es de 0,7 y 1,2 millones de casos, respectivamente (OPS, 2013; Ortega Moreno *et al.*, 2014a). Países como Brasil y Colombia en América, Afganistán, la República Islámica de Irán y la República Árabe de Siria en Asia y Argelia en el continente africano, registran más de dos terceras partes del total de casos nuevos de leishmaniasis cutánea en el mundo (OMS, 2015).

La leishmaniasis es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una enfermedad desatendida, puesto que afecta principalmente a las poblaciones más pobres en el mundo, residentes en zonas rurales remotas, barrios suburbanos marginales o poblaciones ubicadas en zonas de conflicto, recibe poca atención en las prioridades de la salud pública (OMS, 2017), sobre todo en los países en desarrollo. Se considera que hay 350 millones de personas en riesgo de contraer la infección y cada año se producen dos millones de casos nuevos. En las Américas, la leishmaniasis constituye un grave problema de salud pública debido a su amplia distribución geográfica y a su complejo ciclo de transmisión que comprende diferentes especies de parásitos, reservorios y vectores.

En las Américas, un total de 940.396 nuevos casos de la leishmaniasis cutánea (LC) y mucosa (LM) fueron reportados por 17 de los 18 países endémicos, en el período de 2001-2017, con un promedio anual de 55.317 casos. La serie histórica de 17 años muestra que en el 2015 se registró el menor número de casos nuevos (46.074) en la región, dado principalmente por la reducción de 45 %, 42 % y 35 % de los casos en Costa Rica, Panamá y Colombia, respectivamente. Sin embargo, a partir del 2016 se observa el incremento de casos en la región, a pesar de Brasil presentar en ese año una reducción de 35 %.

En el 2017, 49.959 casos fueron reportados a la Organización Panamericana de la Salud (SisLeish - OPS/OMS) por 17 países endémicos, una vez que Guyana Francesa sigue reportando los datos directamente a Francia. En general, hubo una disminución del número de casos en 9 de los países endémicos. Sin embargo, el número total de casos en la región se mantuvo estable comparado al 2016, debido al aumento ocurrido en Brasil (38 %), Costa Rica (94 %), México (88 %) y Ecuador (36 %).

De acuerdo con los datos registrados en el SisLeish, 99,9 % (49.354) de los casos informaron la variable sexo, de los cuales 68,7 % (34.305) de los casos correspondieron al sexo masculino. Para los grupos de edad, 99,6 % (49.744) de los casos presentaron esta variable, donde 14,35 % (7.168) de los casos de la región ocurrieron en niños menores de 10 años; 7 países (Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela, Guatemala y Surinam) presentaron una proporción

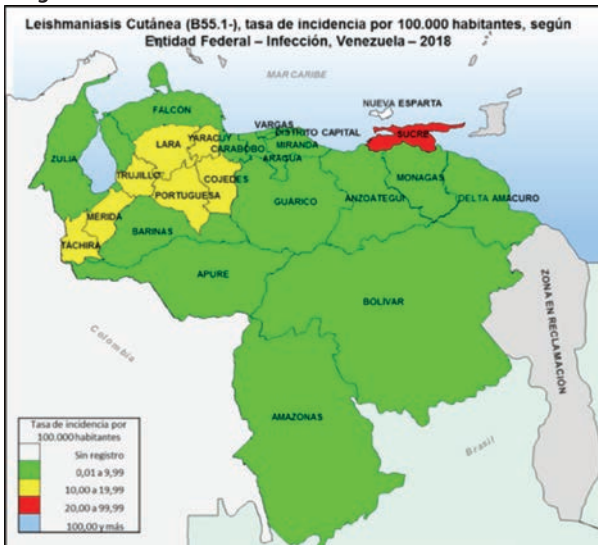
entre 10-20 % de casos en menores de 10 años, 2 (Honduras y Nicaragua) entre 20-30 % y 3 (Costa Rica, El Salvador y Panamá) > 30 % (OPS-OMS, 2019).

En América la enfermedad es causada por diferentes especies de Leishmanias. La leishmaniasis es transmitida a los humanos y animales por insectos de la familia *Psychodidae*, y se mantiene por el ciclo zoonótico de la enfermedad.

En Venezuela, según el archivo del Registro Nacional de casos de leishmaniasis cutánea del Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit», desde 1958 hasta el año 2018 se han registrado un total de 87.767 casos, reportándose en 23 de las 24 entidades federales con excepción del estado Nueva Esparta, con un promedio de 1.419 casos por año (MPPS - SAIBJC, 2019).

En los últimos años se ha apreciado una tendencia ascendente en el número de pacientes, a pesar de existir un subregistro, tanto por fallas en la notificación de casos de los servicios de salud que tratan la enfermedad sin reportarla como por pacientes que no asisten a los servicios médicos debido a la poca accesibilidad que tienen a los mismos o a la curación espontánea de las lesiones en un bajo porcentaje de pacientes. La tasa de incidencia registrada en los últimos 5 años en Venezuela ha presentado una ligera tendencia ascendente. El año 2018 finalizó con una tasa de 8,27 casos por cien mil habitantes (figura 1); los estados más afectados por la leishmaniasis cutánea en el país son: Sucre, Cojedes, Lara, Trujillo y Yaracuy, con tasas variables entre 28,5 y 15,5 por cada cien mil habitantes por año (MPPS - SAIBJC, 2019).

Figura 1. Focos de leishmaniasis cutánea en Venezuela - 2018.



Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».



La forma clínica más frecuente en el país es la leishmaniasis cutánea localizada con el 98 % de los casos totales a nivel nacional, seguida por la leishmaniasis cutánea mucosa o mucocutánea con un 1 %, la leishmaniasis cutánea intermedia (LCI) con un 0,7 %, leishmaniasis cutánea difusa con el 0,2 % y 0,1 % la leishmaniasis diseminada, forma emergente de la enfermedad.

Las formas cutáneas afectan a ambos sexos, con mayor predominio en el sexo masculino. Con respecto a la edad, los grupos de 15-24 años tienen una mayor incidencia, lo cual puede relacionarse con las actividades que desempeñan estos grupos, que los hacen más susceptibles a las picaduras de vectores.

Hay un cierto predominio de la enfermedad en personas que laboran en actividades agrícolas y en aquellas ocupaciones que de manera esporádica o permanente tienen estrecha relación con áreas boscosas endémicas. En algunas zonas donde el crecimiento demográfico es importante y aparecen nuevas áreas urbanizadas (zonas tradicionalmente endémicas pero no habitadas) el grupo afectado, desde el punto de vista de su ocupación, es muy variado. En cuanto al área de residencia, las poblaciones más afectadas son aquellas que generalmente habitan en áreas rurales.

La LV es una enfermedad sistémica grave que si no es diagnosticada y tratada es fatal. En las Américas, la LV es endémica en 12 países, con un reporte de 59.769 nuevos casos en el periodo del 2001-2017, resultando en un promedio de 3.516 casos por año. Cerca de 96 % (57.582) de los casos fueron reportados por Brasil. Sin embargo, países suramericanos como Argentina, Colombia, Paraguay y Venezuela están entre aquellos con mayor registro de casos. Por otro lado, algunos países de Centro América como Honduras y Guatemala que presentaban anteriormente casos esporádicos de LV, reportaron en los últimos años un incremento o registro anual constante de casos, respectivamente (OPS-OMS, 2019).

En el 2017, se registraron 4.239 nuevos casos de LV, que representa un aumento regional de 26,4 % en comparación al 2016, dado al aumento de 28 % de los casos en Brasil. Además, en Centro América ocurrió un incremento de nuevos casos en El Salvador y una expansión geográfica en Honduras. Por otro lado, hubo una disminución de 21 % y 47 % en el número de casos en Colombia y Paraguay, respectivamente. La incidencia de LV en las Américas fue de 5,23 y 0,74 casos por 100.000 habitantes, considerando respectivamente, la población de áreas de transmisión y población total de los países con ocurrencia de LV. De los países, Guatemala presentó el mayor incremento en la incidencia cuando se compara con la de 2016. En la región se registraron casos en 9 países, distribuidos en 56 departamentos/estados y 1029 municipios (1 - 409 casos), lo que representa una expansión geográfica de la enfermedad (OPS-OMS, 2019).

En cerca de 100 % de los casos informaron las variables sexo y edad al SisLeish, donde 64,6 % (2.739) fueron del sexo masculino y el grupo de edad más afectado fue entre los $\geq 20 < 50$ años (32,8 %), seguido de los menores de 5 años (31,1 %) y mayores de 50 años (17 %). En Honduras, Guatemala y El Salvador, 100 % de los casos ocurrieron en niños menores de 5 años, y 79,3 % y 72,50 % en el mismo grupo etario en Colombia y Venezuela, respectivamente.

En el 2017, 7,97 % (338) de los casos presentaron coinfección LV-VIH, lo que representa una disminución del porcentaje de casos comparado con el 2016 (10,13 %). La serie histórica muestra un incremento de la tasa de letalidad de LV a partir del 2014 en la región. Sin embargo, presenta una discreta disminución en el 2017 con 7,55 % (OPS-OMS, 2019).

En Venezuela desde 1990 hasta 2018 se registraron 805 casos de leishmaniasis visceral en 14 de las 24 entidades federales: Anzoátegui, Aragua, Bolívar, Carabobo, Cojedes, Falcón, Guárico, Lara, Monagas, Nueva Esparta, Portuguesa, Sucre, Trujillo y Yaracuy. La tasa de incidencia registrada en el año 2018 fue de 0,14 casos por cien mil habitantes (figura 2), siendo los estados más afectados Nueva Esparta, Sucre, Lara, Aragua, Anzoátegui y Guárico con tasas variables entre 3,83 y 0,11 por cien mil habitantes (MPPS - SAIBJC, 2019).

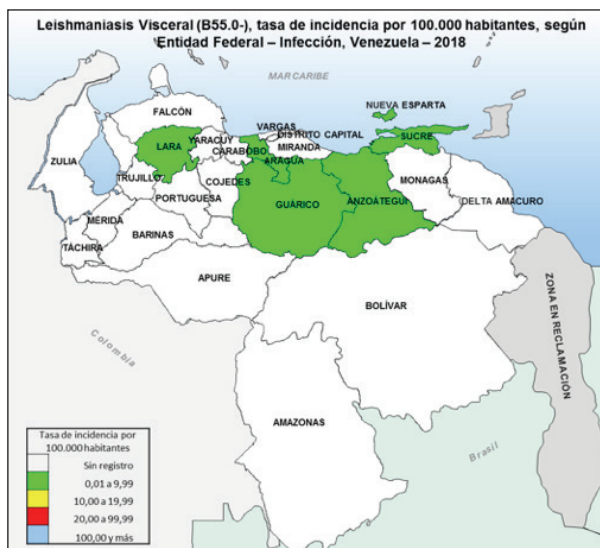


Figura 2. Focos de leishmaniasis visceral en Venezuela - 2018

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».



La letalidad en el país en el período 2012-2018 fue del 12,41 %. En cada entidad federal la letalidad presentó grandes variaciones en los años estudiados, desde años sin letalidad hasta otros que mostraron valores del 23,68 %. Estas variaciones quizás tienen que ver con el escaso número de casos registrados cada año (Zerpa *et al.* 2003). El sexo masculino es más afectado que el femenino, y con respecto a la edad, los menores de quince años representan el 73,8 % de los casos, de los cuales el 83,2 % están por debajo de los cinco años, lo que significa que el mayor número de pacientes con LV son niños.

La aparición de casos de LV en algunas zonas urbanas de estos estados crea un pronóstico epidemiológico de importancia, debido a la grave situación que pudiera presentarse en las ciudades si no se toman las medidas sanitarias pertinentes (figura 3).



Figura 3. Área endémica de leishmaniasis visceral en la isla de Margarita, estado Nueva Esparta

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».

Zerpa *et al.* (2003) publicaron los resultados de encuestas serológicas realizadas en 3.025 perros de Guárico, Nueva Esparta, Carabobo, Yaracuy, Falcón, Aragua, Sucre, Cojedes, Anzoátegui, Lara, Portuguesa, Trujillo y Bolívar, las cuales mostraron el 13,2 % de positividad del antígeno rK39, un antígeno altamente específico derivado de *Leishmania chagasi*. El estado con mayor porcentaje de perros positivos fue Nueva Esparta, con un 28,5 %, seguido de Lara, con un 6,8 %, mientras, en Carabobo, Portuguesa, Yaracuy y Bolívar no se detectaron casos de perros positivos, a pesar de haberse registrado casos humanos en estas entidades.

Durante el período 1998-2017 han sido examinados 34.602 caninos en las 15 entidades federales endémicas para leishmaniasis visceral en el territorio venezolano. Los sueros fueron analizados mediante ELISA con antígeno recombinante rK39. Los resultados mostraron que el 12,4 % de la población canina es positivo para LV.

El establecimiento de un programa que permita definir el riesgo a que están sometidas estas poblaciones, para actuar oportunamente en el caso de un diagnóstico positivo, mantener una vigilancia epidemiológica estrecha del vector, el reservorio y el agente, así como medir de acuerdo con la dinámica de la población los pronósticos de ocurrencia de la enfermedad en zonas urbanas, son elementos necesarios para su control.

PROGRAMA DE CONTROL DE LEISHMANIASIS EN VENEZUELA

El Programa de Control de Leishmaniasis en Venezuela tiene como objetivo disminuir la morbilidad en los casos de leishmaniasis cutánea y la morbimortalidad por leishmaniasis visceral en las áreas endémicas de Venezuela, y establecer medidas para su vigilancia, prevención y control sobre la transmisión y desplazamiento hacia las áreas de mayor población, fortaleciendo las investigaciones que permitan un mayor conocimiento de la enfermedad.





Estructura y funcionamiento del Programa de Control de la Leishmaniasis en Venezuela

El programa de control tiene como actividades fundamentales las siguientes:

- Fortalecer la asistencia médica mediante la estandarización de métodos diagnósticos, esquemas de tratamiento, abastecimiento de recursos y seguimiento de los casos.
- Estimular el diagnóstico precoz de casos humanos.
- Establecer medidas de control en áreas de riesgo, en las zonas donde se denuncie la existencia de casos y en las que requieren vigilancia entomológica y control del reservorio.
- Desarrollar un sistema de vigilancia epidemiológica que abarque todo el país y, fundamentalmente, las áreas de riesgo.
- Implementar estrategias de educación para la salud y participación comunitaria a través de actividades dirigidas al conocimiento de los signos y síntomas de la enfermedad, y lograr la participación activa de la población en las medidas de control.
- Realizar investigaciones operacionales que contribuyan a incrementar el conocimiento de la enfermedad: diagnóstico, tratamiento y medidas para su control.

El Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit» es por parte del MPPS el ente regulador de este programa y ejerce esta función a través de un equipo de trabajo a nivel nacional, dirigido por un médico e integrado por inspectores de salud pública, personal de enfermería, bioanalistas, médicos veterinarios, entomólogos y sociólogos, quienes, conjuntamente con el personal de los estados, realizarán los controles epidemiológicos y las evaluaciones del programa.

En los diversos estados se conformarán grupos de trabajo con representantes de epidemiología, salud ambiental, zoonosis, educación para la salud, servicios de dermatología sanitaria y los representantes de los servicios de salud de las zonas endémicas.

El Ministerio del Poder Popular para la Salud, mediante las diferentes direcciones de la organización, será el responsable de proporcionar los recursos necesarios para establecer el diagnóstico, tratamiento y atención a los enfermos de leishmaniasis cutánea y visceral, al igual que para el control de vectores y reservorios.

Componentes y actividades

I. Fortalecimiento de la asistencia médica

Para el cumplimiento de los objetivos del Programa, en los aspectos relacionados con el fortalecimiento de la asistencia médica, se establecen los siguientes puntos:

- A. Funciones básicas para la Red Integrada de Salud del Sistema Público Nacional de Salud.**
1. Red de Atención Comunal de Salud (Consultorios Populares tipo 1, Consultorios Populares tipo 2, Consultorios Populares tipo 3).
 - Referir a la Red de Atención Ambulatoria Especializada aquellos casos sospechosos de LC (interconsulta con el Servicio de Dermatología Sanitaria).
 - Los casos sospechosos de LV deberán ser remitidos a la Red de Atención Hospitalaria.
 - Aplicar medidas generales para la recuperación del paciente.
 2. Red de Atención Ambulatoria Especializada (Ambulatorios urbanos tipo II y III, clínicas populares, centros especializados de atención).
 - El Servicio de Dermatología Sanitaria deberá realizar interrogatorio y evaluación física para comprobar si el paciente es un caso presuntivo. Llenado de hoja de evolución.
 - Confirmación diagnóstica de los casos presuntivos, utilizando los métodos establecidos en el presente manual por el SDR.
 - A los casos confirmados de leishmaniasis se les llenará la historia médica y se les asignará el número que les corresponda de acuerdo con la organización de cada SDR (ver anexos).
 - Establecer el tratamiento para la recuperación general del paciente, así como el específico para la enfermedad según las normas del manual.
 - En caso de resistencia al tratamiento de primera línea, referir al paciente a la Red de Atención Hospitalaria.
 - Notificación de los casos por parte de los Servicios de Dermatología Sanitaria a Epidemiología Regional y al SAIBJC a través del reporte epidemiológico semanal (ver anexos).



3. Red de Atención Hospitalaria: Según el territorio que atienden (Hospital Comunal y/o Municipal, Hospital Estatal, Hospital Regional, Hospital Nacional). Según la complejidad de la asistencia (Hospital General tipo I, II, III y IV).
 - Centralizar la atención médica de los enfermos de LV para las etapas de verificación diagnóstica y tratamiento. Solicitar interconsulta con el SDSR
 - Corrección del tratamiento de la enfermedad y atención a las posibles complicaciones, en caso de ser necesario.
 - Realizar estudios especiales.

B. Consolidación de la base diagnóstica

1. Creación o designación de un laboratorio por estado, provisto de los insumos indispensables para establecer el diagnóstico de LV en el menor tiempo posible.
2. Adiestrar al personal de estos laboratorios en el manejo de los métodos de diagnóstico de LC y LV.
3. Fortalecimiento de los laboratorios de referencia para la confirmación diagnóstica de LC y LV en el Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».

C. Abastecimiento del medicamento

Las Direcciones Regionales de Salud y el Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit» son los organismos que deben suministrar el medicamento específico: antimonial pentavalente (Glucantime®) a los hospitales, mediante la gestión de los Servicios de Dermatología Sanitaria Regional. En dichos SDSR se mantendrá un stock que garantice el tratamiento de los casos que se presenten. La solicitud de reposición del stock lo realiza el SDSR de cada estado, en función de la denuncia de los casos y previo envío del modelo oficial (Anexo 9).

D. Normas técnicas y organizativas para la atención del enfermo

Estas condicionan la realización del diagnóstico, y los criterios que se deben aplicar por parte de las unidades de salud para atender al enfermo de leishmaniasis.

Especificaciones sobre el diagnóstico

Diagnóstico serológico

A toda persona sospechosa de leishmaniasis visceral se le debe tomar una muestra de 3 cm³ de sangre periférica, la cual debe ser centrifugada, y el suero obtenido enviado al Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit» si no se dispone de facilidades locales para realizar el diagnóstico.

El suero obtenido del centrifugado de la muestra de sangre deberá ser trasladado en un tubo tapa roja, sin coagulante, y no requerirá refrigeración –puede ser transportada a temperatura ambiente– siempre que la muestra sea enviada inmediatamente, de lo contrario puede emplearse una cava refrigerada. La muestra deberá ser enviada lo más pronto posible para garantizar un diagnóstico inmediato y oportuno, ya que hay que recordar que la LV es una enfermedad de alta letalidad si no es diagnosticada prematuramente.

Identificación parasitológica

En los casos de LV, la toma de la muestra de médula ósea debe ser efectuada en los hospitales de referencia por el hematólogo, quien realizará un directo en una lámina portaobjeto a fin de verificar la presencia de formas amastigotas del parásito. La coloración con Giemsa y la lectura microscópica del examen directo de la punción de médula ósea deberá realizarlas el hematólogo o cualquier personal con experiencia en observación de amastigotes de Leishmanias.

Identificación parasitológica para casos especiales o para fines de investigaciones

Cuando se requiera identificar o preservar la especie de *Leishmania*, una vez el hematólogo realice la punción de médula ósea colocará el material en medios para cultivos o en envases para PCR (reacción en cadena de la polimerasa) que serán enviados al SAIBJC.

Los medios para cultivo son tubos con un medio agar sangre de conejo. Una vez colocada la muestra, los tubos deben mantenerse a temperatura ambiente. Los medios para PCR son tubos Eppendorf con un medio buffer, los cuales se conservarán a temperatura ambiente hasta el momento de colocar la muestra; una vez colocada se conservarán congelados.

Tanto los medios para cultivo como para PCR serán suministrados por diferentes laboratorios del SAIBJC, por lo tanto cuando algún servicio requiera realizar toma de muestras para cultivo o PCR se gestionará el envío de ambos medios a través de los Servicios de Dermatología Sanitaria, los cuales notificarán a la Sección de Leishmaniasis del SAIBJC.

No se recomienda la punción esplénica o hepática por las complicaciones que pueden acarrear al paciente. Para los niños se recomienda la punción tibial y para los adultos, la ilíaca. No obstante, esto dependerá del estado general del enfermo y de la habilidad del hematólogo, que es el profesional especializado para la realización de este procedimiento.

La toma de muestra para el diagnóstico de LC se debe regir por las normas de este manual, tales como frotis y biopsias.



La capacitación del personal que efectuará la fijación, coloración y lectura de los directos se realizará en el Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit», al igual que el control de calidad en la lectura del 100 % de las láminas positivas y el 10 % de las negativas.

Tratamiento

Debe instituirse inmediatamente después de confirmarse el diagnóstico, siguiendo el esquema propuesto por la OPS / OMS tal como está descrito en este manual (tratamiento de leishmaniasis en Venezuela).

II. Control epidemiológico de LC y LV

Control del área de riesgo

Vigilancia epidemiológica

Notificación del caso. Todo caso sospechoso de LC y LV debe ser notificado por el personal de salud a la Dirección de Epidemiología Regional y al Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit». Una vez confirmado el diagnóstico, se procede a la denuncia oficial ante las instancias anteriormente citadas, y los Servicios de Dermatología Sanitaria son los responsables de la elaboración de las fichas correspondientes (fichas L1-Cutánea y L1-Visceral), que deberá ser enviada al nivel central (SAIBJC) (ver anexos).

Definición del área de riesgo. La delimitación del área de riesgo se efectúa tomando en cuenta los siguientes aspectos:

- Aparición de casos de LC y LV en humanos.
- En los casos de leishmaniasis visceral la zona rural debe abarcar un kilómetro a la redonda a partir del caso humano detectado, y en el área urbana doscientos metros, tomando en cuenta que este radio debe ampliarse si aparecen canes con serología positiva.
- La delimitación del área de riesgo debe ser hecha por el epidemiólogo del Área de Salud Integral Comunitaria, en colaboración con el Servicio de Dermatología Sanitaria que lo notificará al departamento de Zoonosis Regional y a Salud Ambiental.

Elaboración del censo de población y vivienda. El censo debe realizarse en las viviendas que se hallan dentro del área de riesgo, y es preciso tomar en cuenta tanto la población humana como la canina (LV). Se debe elaborar el croquis de la localidad y numerar las casas. El epidemiólogo, en colaboración con el equipo de trabajo del Servicio de Dermatología Sanitaria, es el encargado de coordinar esta actividad.

Búsqueda activa de casos sospechosos. La búsqueda activa de casos se realizará en cada una de las viviendas ubicadas en áreas de riesgo, al igual que en los consultorios populares, ambulatorios, consultas de pediatría y de medicina interna en cuya zona de influencia se encuentre el foco de LV, con

el fin de detectar todo síndrome febril prolongado procedente del área de riesgo. Estos casos se reportarán a la Dirección de Epidemiología del estado, al Departamento de Educación para la Salud y a los consultorios populares, ambulatorios y servicios correspondientes.

Control de vectores

La eliminación de vectores es fundamental para el control de la leishmaniasis. Debe ser implementada por la población ubicada en áreas endémicas, a la cual se debe dar previamente una educación sanitaria que le permita conocer el riesgo al cual está sometida y la induzca a participar de manera responsable, sostenida y activa en la prevención y control de la enfermedad. Para ello se elaborará y distribuirá material informativo asequible a toda la comunidad.

Las medidas recomendadas para evitar el contacto hombre-vector son la utilización de mosquiteros de malla muy fina –especialmente para los niños–, y repelentes (espirales de piretroides) dentro del domicilio. Recientemente se comenzaron a fabricar collares impregnados con deltametrina para colocárselos a los perros que residen en áreas endémicas, con el objetivo de reducir el número de picadas y disminuir de este modo la transmisión. El uso de estos collares no puede ser una medida rutinaria en Venezuela debido a su elevado costo y a las limitaciones de importación, pero podría interesar a los criadores de perros de raza.

Es de vital importancia mantener limpias las áreas adyacentes a la vivienda –hasta unos cien metros alrededor. Los residuos sólidos y orgánicos deben ser eliminados y la vegetación baja debe mantenerse bien podada y limpia, para evitar que los vectores se refugien en ella y se acerquen más fácilmente a las casas. Los responsables de promover estas actividades son la Dirección Regional de Epidemiología y el Servicio de Dermatología Sanitaria, mientras que la Dirección de Salud Ambiental se encarga de la lucha antivectorial con métodos químicos específicos para reducir las poblaciones de plaga, tomando en cuenta estudios previos acerca de los hábitos de picadura (endofilia y endofagia) y de la dinámica poblacional (fluctuaciones estacionales) de los adultos en los diferentes focos.

Control de reservorios

Estudios realizados en Brasil arrojan resultados contradictorios en lo que concierne a la efectividad de la eliminación de perros infectados como medida de control de la LV a largo plazo. El hecho de que la enfermedad tenga un período de infección subclínica relativamente largo, y que haya casos asintomáticos que sin embargo, constituyen posibles focos de infección, son factores que dificultan la aplicación de esta medida en áreas geográficas extensas. En todo caso, los perros infectados representan una fuente de contagio que requiere de una sostenida vigilancia, y aquellos a los que se les haya comprobado la infección deben ser eliminados.



Los pasos para el control de reservorio en caso de LV son:

- Censo de los perros en el área de riesgo.
- Toma de muestras de sangre periférica para examen serológico a todos los perros en el área de riesgo (debe realizarse casa por casa).
- Se toman de 1 a 2 cc de sangre y se coloca en tubos de ensayo tapa roja, previamente identificados con el número del registro del animal. La sangre se centrifuga y el suero obtenido se envía al laboratorio correspondiente para ser procesado. Es importante que esta actividad se realice simultáneamente con la vacunación antirrábica, con el objeto de incentivar la participación comunitaria.
- Los perros examinados deben ser registrados en una ficha que contenga la dirección, nombre del dueño, nombre del perro, edad, número de la muestra de sangre y resultado del examen clínico. Este procedimiento debe ser repetido cada año con los perros que resulten con serología negativa y con los nuevos que habiten en el área.
- Debido a que en la actualidad no se conoce un tratamiento eficaz para curar esta enfermedad en el perro, todos los que presenten serología positiva deben ser sacrificados utilizando una inyección intracardiaca o endovenosa de 5 a 10 cc de cloruro de potasio.
- La eliminación de los perros positivos se realizará luego de comunicar a la familia la situación epidemiológica y las características de la enfermedad (modo de transmisión, evolución, y medidas que se deben tomar con el enfermo y el reservorio). Se recomienda cremar o enterrar los cadáveres de estos animales en lugares previamente escogidos por las autoridades correspondientes.
- El tratamiento usado en humanos no debe ser aplicado a los perros, ya que se corre el riesgo de que el parásito se haga resistente a los medicamentos.
- Los responsables de esta actividad son los departamentos de Zoonosis.

Información estadística

El Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit» es el responsable de analizar y procesar la información a nivel central, para lo cual se vale del sistema de información diseñado con este propósito. Estos análisis se compartirán con el Viceministerio de Redes de Salud Colectiva y la Dirección General de Epidemiología. La recolección de datos se inicia con el asentamiento del caso en la ficha de reporte de casos nuevos, en la cual se recoge la información fundamental acerca del enfermo. Estas fichas deben ser elaboradas por triplicado: una se envía al Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit», otra al Servicio de Epidemiología Regional y la tercera queda en el Servicio de Dermatología Sanitaria local, con el fin de que las tres instancias realicen los análisis epidemiológicos correspondientes.

El reporte de los casos en el Epi 12 (notificación semanal obligatoria) debe ser enviado a la Dirección Regional y Nacional de Epidemiología, a través del Sistema de Información en Salud (SIS).

III. Educación para la salud

Es importante señalar la complejidad que supone definir conceptualmente esta expresión si queremos ser exhaustivos en todas sus implicaciones y funciones, ya que acoge al ser humano en su totalidad, de forma holística, y también a su contexto en una doble dimensión, ecológica y social. No podría entenderse con ambos términos; si fundamentamos bien los conceptos de educación y salud, podremos considerar de forma más sólida cuál es el sentido actual de dicha expresión.

Esta herramienta debe permitir al trabajador de salud entender la capacidad que tienen el paciente o las comunidades de interpretar lo que les está ocurriendo en este momento, en relación con la enfermedad.

¿Qué hacer para educar a la población que padece la enfermedad y la que se encuentra en riesgo de padecerla?

- A. Informar acerca de la existencia de la leishmaniasis en el área.
- B. Advertir sobre las manifestaciones clínicas de la enfermedad.
- C. Informar cómo se transmite la enfermedad.
- D. Sensibilizar al paciente sobre la importancia que tienen los aseos locales de las lesiones cutáneas diariamente.
- E. Proporcionar conocimientos básicos sobre el insecto - vector.
- F. Incentivar a la comunidad para que acuda a los servicios de salud ante cualquier manifestación de la enfermedad.
- G. Alertar y vigilar el estado de salud del perro, reservorio en el caso de leishmaniasis visceral.
- H. Recomendar acudir a los servicios de zoonosis para el chequeo de los perros.
- I. Organizar a la comunidad para realizar actividades de limpieza de basura y de eliminación de la maleza alrededor de las casas.
- J. Realizar reuniones con los comités de salud en las áreas endémicas para estudiar el abordaje de la población en materia de educación para la salud.



IV. Investigaciones

Las investigaciones operacionales deben ser estimuladas y apoyadas por las diferentes instituciones involucradas en este plan, pues a través de ellas se obtiene un conocimiento más amplio de la enfermedad, lo cual permite un mayor dominio sobre sus mecanismos de acción, vías de transmisión y esquemas de tratamiento.

Por esta razón, es vital hacer llegar rápidamente a los médicos los resultados de estas investigaciones, de forma que se reviertan en beneficio de la comunidad.

Indicadores de vigilancia y evaluación del programa

¿Evaluar para qué?

1. Para planificar y direccionar el programa.
2. Conocer si estamos acertados en las acciones.
3. Justificar el uso de recursos.
4. Además de satisfacer al encargado del programa, muestra a la alta gerencia, la capacidad y eficiencia del subalterno.

Indicadores:

- De estructura, para adecuar los recursos a la necesidad.
- De proceso, para adecuación de las actividades y servicios a los objetivos.
- De resultados, para consecución de los objetivos.
- De estrategia, para evaluar la pertinencia de los objetivos del programa.

Indicadores de estructura:

- **Distribución geográfica de casos de Leishmaniasis Cutánea Localizada (LCL) y Leishmaniasis Visceral (LV).** Mostrado en mapa digital o en físico. Relacionados con los SDSR.
- **Índice vectorial por foco para LV** (antes de fumigación y posterior).
- Porcentaje de reportes semanales enviados y recibidos de los SDSR, distribución según características de tiempo, espacio y persona.
- Canal endémico semanal de LC.

Indicadores de proceso:

$$\% \text{ SDRS funcionando} = \frac{\text{SDRS funcionando}}{\text{\# SDRS existentes}} * 100$$

(Norma=100 %)

$$\% \text{ Médico SDRS} = \frac{\text{\# médicos en SDRS}}{\text{Total SDRS existentes}} * 100$$

(Norma=100 %)

$$\% \text{ Médico SDRS con entrenamiento} = \frac{\text{\# médicos entrenados SDRS}}{\text{Total médicos en SDRS}} * 100$$

(Norma=100 %)

Indicadores de resultados:

$$\% \text{ casos confirmación} = \frac{\text{\# casos Dx clínica y epidemiología/ Laboratorio}}{\text{Total casos en el mismo Lapso}} * 100$$

(Norma= del 80 al 95 % confirmado por laboratorio)

$$\text{Tasa incidencia} = \frac{\text{\# casos nuevos en el periodo}}{\text{Total población}} * 100.000 \text{ Hab}$$

(Norma: Disminuir LC en Niños < 10 años en el 50 %
e Incidencia de LV en el 50 %)

$$\text{Tasa prevalencia} = \frac{\text{\# casos nuevos + conocidos en el periodo}}{\text{Total población}} * 100.000 \text{ Hab}$$

$$\text{Tasa letalidad} = \frac{\text{\# Defunciones por LCL o LV en el periodo}}{\text{Total casos en el periodo}} * 100$$

(Norma: disminuir muertes por LC en el 90 % y LV en el 50 %)

$$\% \text{ Casos LV investigados} = \frac{\text{\# casos LV investigados en el periodo}}{\text{Total población}} * 100$$

(Norma= 95 % investigados)

$$\% \text{ Casos tratados} = \frac{\text{\# casos que recibieron tratamiento}}{\text{Total casos en el periodo}} * 100$$



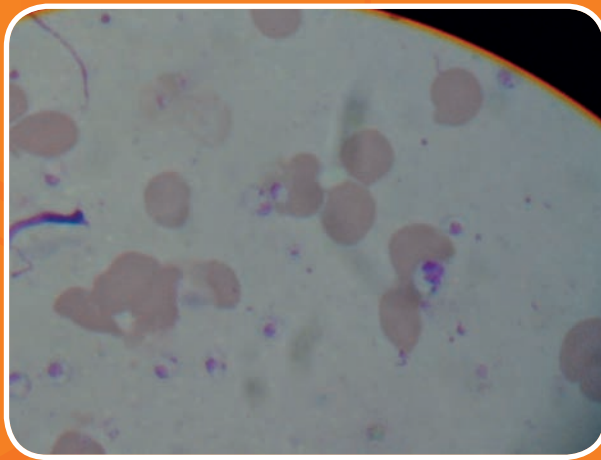
Indicadores de estrategia:

Revisión anual de la pertinencia de los objetivos de este manual con los objetivos logrados.

Tabla 1. Responsabilidad por indicador según el nivel local o central

NIVEL LOCAL	NIVEL CENTRAL (BIOMEDICINA)
de resultados	de resultados
de estructura	de estructura
	de proceso
	de estrategia





La leishmaniasis es causada por parásitos intracelulares que solo pueden ser visualizados a través del microscopio óptico.





Agente causal

La leishmaniasis es causada por parásitos protozoarios pertenecientes a la familia *Trypanosomatidae* del género *Leishmania spp.* Las *Leishmanias* son parásitos intracelulares obligados, realizan su ciclo biológico en el vector en forma flagelada (promastigote), multiplicándose en el tubo digestivo del insecto, y de forma no flagelada (amastigotes), en el tejido del huésped vertebrado, donde se multiplican.

Al alimentarse de la sangre de un vertebrado, el vector infectado inocula con su saliva los promastigotes que se encuentran en la probóscide. Cuando los parásitos entran en la circulación sanguínea son fagocitados por los macrófagos que, al tratar de eliminarlos, liberan hidrolasas lisosomales y activan la cascada de metabólicos derivados del nitrógeno. El tipo y la evolución de la enfermedad dependerán de la respuesta inmune del hospedador y de la virulencia de la cepa del parásito infectante (Rondón AJ *et al.*, 2001).

En Venezuela se ha demostrado que *L. braziliensis* y *L. mexicana* son las especies de *leishmania* mayormente implicadas en la producción de la leishmaniasis cutánea (Rodríguez N *et al.* 2001).

En cuando a la leishmaniasis visceral fue identificada la *L. chagasi* (= *L. infantum*) en muestras de pacientes y perros procedentes de los estados Nueva Esparta y Trujillo (Moreno *et al.*, 1984), (Zerpa *et al.*, 2001), mientras que la *L. amazonensis*, *L. columbiensis* y *L. mexicana* han sido ocasionalmente reportadas como productoras de leishmaniasis visceral en América. La *L. infantum* es el agente etiológico causante de la enfermedad más importante en Europa, y en la India es la *L. donovani* (Alvar J, 1997).

Caracterización de los parásitos del género *Leishmania*

Los parásitos del género *Leishmania* invaden las células del sistema retículo-endotelial, tales como macrófagos, médula ósea, células del bazo y las células de Kupffer en el hígado. Se piensa que el tropismo de estos parásitos se debe en parte a la temperatura óptima que requieren los amastigotes para su crecimiento, observándose que los parásitos que tienen preferencia por una temperatura de 35 °C causan manifestaciones cutáneas y mucocutáneas, mientras que los que tienen preferencia por 37 °C ocasionan las manifestaciones viscerales de la enfermedad.

Durante su ciclo de vida, estos parásitos presentan dos formas diferentes. La forma promastigote –flagelada, alargada, extracelular– se desarrolla en el tracto digestivo del vector invertebrado, y sus medidas varían considerablemente, dependiendo de la etapa en que se halle durante la división. Estos valores oscilan entre 10 y 20 x 1,5-3 µm (largo x ancho), siendo el flagelo mucho más largo que el cuerpo.

La forma amastigote –redondeada u ovalada, sin flagelo e inmóvil– se desarrolla en los fagocitos mononucleares del hospedador vertebrado, y sus medidas oscilan entre 2,5 x 1,5 y 6,8 x 4,5 μm , dependiendo del tipo de célula parasitada.

Taxonomía de la *Leishmania* spp.

Los parásitos son protozoarios pertenecientes al género *Leishmania*, agrupados en los subgéneros *Leishmania* y *Viannia*, subreino *Protozoa*, phylum *Sarcomastigophora*, orden *Kinetoplastida*, familia *Trypanosomatidae* (figura 4), lo que incluye especies digenéticas como *Leishmania* y *Trypanosoma*. Actualmente se reconocen alrededor de 22 especies diferentes de *Leishmania* que causan la enfermedad en el humano, de las cuales 15 especies circulan en las Américas.

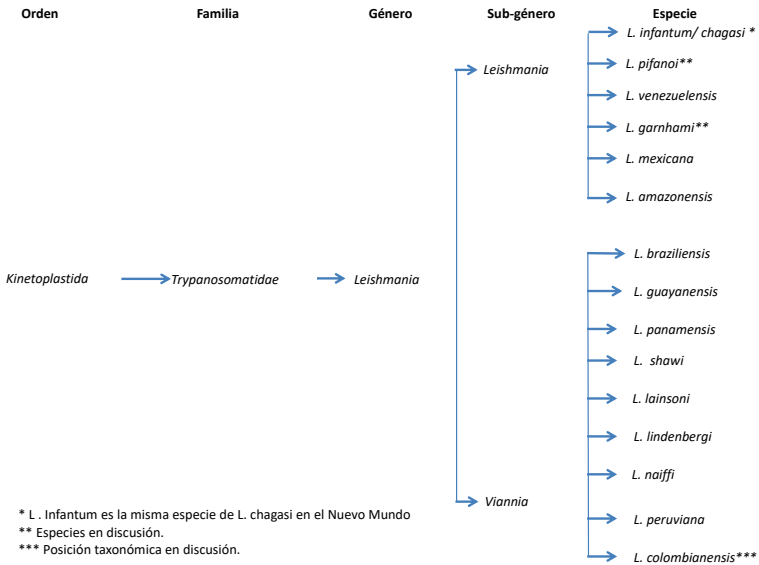


Figura 4. Especies de *Leishmanias* en las Américas.

Fuente: OPS / OMS, 2015



Estas especies son imposibles de diferenciar mediante observación directa al microscopio, por lo que se requiere la aplicación de diversas técnicas para lograr la identificación del parásito que produce una determinada forma clínica de la enfermedad.

Para identificar las distintas especies del parásito (*L. donovani*, *L. chagasi*, *L. infantum*) que ocasionan la leishmaniasis visceral es necesario, en primer lugar, aislarlo, lo cual se puede hacer a través de medios de cultivo líquidos tales como RPMI (Gibco), M199 (Gibco), Schneider's, medios de cultivo bifásicos tales como NNN, o medio agar base sangre.

Una vez aislado el parásito a partir de muestras de sangre, nódulo linfático, hígado, bazo o médula ósea, se puede proceder a la caracterización taxonómica del mismo.

Tradicionalmente, la taxonomía de *Leishmania* estuvo fundamentada en aspectos clínicos y epidemiológicos de la enfermedad en el humano, así como en las características biológicas de los parásitos en animales de laboratorio y en los vectores. Esta clasificación, basada en características extrínsecas del parásito, ha sido reforzada en los últimos años por criterios que involucran características intrínsecas del mismo, tales como los caracteres genéticos. Estos criterios genético-moleculares son el fundamento de distintas técnicas bioquímicas, biológicas e inmunológicas, de las cuales las más utilizadas son: análisis de isoenzimas, reacciones con anticuerpos monoclonales, análisis de esquizodemos, estudios de hibridación molecular y amplificación enzimática del ADN, o reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando nucleótidos especie-específicos para la amplificación (Alvar J, 1997).

Análisis de isoenzimas

Actualmente, uno de los procedimientos universalmente aceptados para la identificación de diferentes aislados de *Leishmania* es el análisis de isoenzimas (Bulle *et al.*, 2002). Las especies de *Leishmania* pueden ser caracterizadas según las diferencias en la movilidad electroforética de múltiples enzimas usadas como marcadores. Esto es posible debido a que la estructura primaria de las enzimas está determinada genéticamente, y existen muchas de estas proteínas que, a pesar de cumplir la misma función en distintos organismos, difieren en su composición de aminoácidos. Tal diferencia se refleja en la carga eléctrica neta y, por tanto, en la movilidad electroforética de las enzimas. Los patrones obtenidos reciben el nombre de zimodemos. Esta técnica ha permitido identificar por lo menos treinta y seis zimodemos diferentes de *Leishmania infantum* (Troiani *et al.*, 1998).

La mayoría de los aislados de distintos orígenes han sido identificados como zimodemo MON-1, en el caso de infección visceral, y MON-24 cuando se trata de aislados dermatópicos. La diversidad de infección con otros zimodemos ha sido especialmente notable en las coinfecciones con *Leishmania*/HIV.

Utilizando otra metodología aún más sensible (análisis de microsátelites), ha sido posible identificar trece genotipos distintos de *L. infantum* MON-1 (Bulle *et al.*, 2002), lo cual muestra la enorme diversidad genética de esta especie de microorganismos. Evidentemente, la definición de una «especie» presenta grandes dificultades a los interesados en la taxonomía de las Leishmanias, pero criterios tan sencillos como la clínica y la epidemiología no han perdido su vigencia en una clasificación simple y práctica de los aislados.

La clasificación de la *Leishmania chagasi* y la *Leishmania infantum* amerita un comentario adicional. A pesar de las discusiones a veces acaloradas al respecto, aumenta la tendencia a pensar que no hay criterios para definir las como dos especies diferentes (Mauricio *et al.*, 2000). Este consenso plantea que la *L. infantum* fue introducida en el Nuevo Mundo hace unos quinientos años, con la llegada de los primeros colonizadores y sus perros.

Anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos son inmunoglobulinas capaces de reconocer los determinantes antigénicos de una molécula dada, y constituyen una herramienta importante para la identificación de aislados y especies. Esta técnica consiste en la utilización de anticuerpos específicos dirigidos contra antígenos de la membrana del parásito. El uso de anticuerpos monoclonales ha permitido el reconocimiento de las distintas especies de *Leishmania*, tanto en el Nuevo como en el Viejo Mundo (Alvar, 1997). Sin embargo, algunos anticuerpos pueden mostrar reactividad cruzada al reconocer antígenos comunes en especies distintas, por lo que es necesario complementarla con otros métodos. Esta metodología tuvo gran importancia en la taxonomía de las Leishmanias hace relativamente pocos años, pero actualmente su uso está limitado a pocos centros de referencia.

Digestión de ADN de kinetoplasto con enzimas de restricción

El ácido desoxirribonucleico (ADN) de kinetoplasto corresponde al ADN mitocondrial de protozoarios parásitos, tales como los de los géneros *Trypanosoma* y *Leishmania*. La heterogeneidad en la secuencia de sus bases (adenina, timina, guanina y citosina) ha permitido utilizarlo para caracterizar las diferentes especies, mediante el análisis de los patrones generados después de digerir este ADN con enzimas de restricción (análisis de esquizodemos). La técnica consiste en la separación, mediante geles de poliacrilamida o agarosa, de los fragmentos generados al digerir el ADN. La separación electroforética resulta en un perfil de restricción (esquizodemo), que es característico para cada especie, lo que convierte a esta técnica en un marcador bioquímico confiable para la identificación de parásitos hemoflagelados. El análisis de esquizodemos permite la identificación de las diversas especies de *Leishmania*.



Hibridación molecular

La hibridación molecular es una técnica muy valiosa que se fundamenta en la homología existente entre dos muestras dadas de ácidos nucleicos, debido a la complementariedad entre sus bases. Esta complementariedad es evidenciada por la detección de moléculas marcadas.

Generalmente, la hibridación se lleva a cabo sobre un soporte sólido (membrana de nitrocelulosa). La sonda (fragmento de ADN de secuencia conocida) puede estar marcada previamente con radioactividad o con marcadores luminiscentes. Los ensayos de hibridación más utilizados en la identificación de *Leishmania* son:

- A. Southern blot: Consiste en la transferencia de fragmentos de ADN generados por la digestión con enzimas de restricción a papel de nitrocelulosa que luego es expuesto a la sonda marcada.
- B. Dot blot: Es una técnica sencilla en la que el ADN es colocado directamente sobre el papel de nitrocelulosa; también se puede utilizar el parásito previamente lisado. Después de un procedimiento de fijación al aire, denaturación y renaturación, el papel de nitrocelulosa es expuesto a la sonda marcada para la detección de la especie del parásito.

Las técnicas de análisis de esquizodemos e hibridación molecular con sondas específicas son ampliamente utilizadas para la identificación concreta de las distintas especies del parásito *Leishmania* que causan la leishmaniasis, tanto cutánea como visceral, en el Nuevo y Viejo Mundo. En el Instituto de Biomedicina se utilizan estas técnicas para los estudios epidemiológicos y de identificación de las distintas especies de *Leishmania* que producen la enfermedad en el humano, en las distintas áreas geográficas del país.



Características	Forma benigna	Forma intermedias		Forma emergente	Forma maligna	Forma visceral
	LCL	LCI	LCM	LD	LCD	LV
Clinicas	Lesiones tipo úlceras únicas o múltiples en el sitio de picadura del vector	Lesiones cutáneas ulceradas de aspecto verrugoso, y lesiones satélites	Lesión infiltrativa de aspecto granulomatoso a nivel de la mucosa nasal, que puede extenderse a la mucosa de la faringe y/o de la laringe	Pequeñas y múltiples lesiones cutáneas en número mayor a 10, localizadas en diferentes zonas de la superficie corporal, que aparecen sin relación al sitio de la picadura del vector	Múltiples lesiones tipo nódulos o placas no dolorosas, diseminadas por la superficie corporal	Fiebre prolongada, hepatoesplenomegalia, pérdida de peso, anemia
Inmunológicas	Buena respuesta de tipo celular, la leishmanina positiva oscila entre 10 y 20 milímetros	Respuesta celular alta (hiper-reactor), los valores de la leishmanina oscilan entre los 25 - 30 milímetros	Respuesta celular alta (hiper-reactor), los valores de la leishmanina oscilan entre los 25 - 30 milímetros	Pobre respuesta inmune celular. La reacción a la leishmania es predominantemente positiva (> 10 milímetros), aunque por la deficiente respuesta celular en algunos casos esta reacción puede ser negativa	Ausencia de respuesta de tipo celular, con una reacción a la prueba de leishmanina con tendencia a la negatividad (0 milímetros)	Esta prueba es negativa durante la LV activa, pero se torna positiva unos meses después del tratamiento y curación clínica del paciente
Parasitológicas	Se observan amastigotes en frotis	Son de difícil diagnóstico por la escasez de parásitos	Escasos amastigotes y difíciles de identificar, el Dx se realiza por biopsia caracterizada por la presencia de un infiltrado mixto linfohistoplasmocitario, normalmente difuso	En frotis se observan pocos o ausencia de parásitos. La histopatología se caracteriza por la presencia de un granuloma por agente vivo donde no se observan leishmanias	Presencia de abundantes macrófagos vacuolados llenos de leishmanias	Se observan amastigotes en frotis de punción de médula ósea
Respuesta al Tratamiento	Buena respuesta, con tasas de curación alrededor del 90 %	Difícil tratamiento	Difícil tratamiento	Buena respuesta	Difícil de tratar debido a la poca respuesta a los tratamientos antileishmánicos	Buena respuesta al tratamiento

ESPECTRO CLÍNICO DE LA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA EN VENEZUELA

La LTA se presenta desde el punto de vista clínico en múltiples formas y cuando se toman en cuenta sus características histopatológicas e inmunológicas, conforman lo que se ha dado en conocer como el espectro clínico-inmunohistopatológico de la LTA.





Leishmaniasis cutánea localizada (LCL)

En el polo benigno de la leishmaniasis encontramos la leishmaniasis cutánea localizada, que representa alrededor del 98 % del total de casos y se caracteriza desde el punto de vista clínico por la presencia de lesiones tipo úlcera, únicas o múltiples, en cualquier localización anatómica, predominando en áreas expuestas (figura 5). Estas úlceras, si no se complican con infección secundaria, son de crecimiento lento, por lo general son de formas redondeadas, con bordes eritemato-infiltrados y fondo plano granulomatoso, con escasa secreción serosa. En la mayoría de los casos, la piel perilesional es normal y son raras las lesiones satélites. Las linfangitis o adenopatías se presentan con más frecuencia si hay infección secundaria asociada y es en estos casos en los cuales la lesión ulcerada también es dolorosa, de lo contrario es normalmente indolora. Es importante el porcentaje de estas lesiones que presentan infección secundaria, que puede ser leve, moderada o grave. Afortunadamente, en la mayor parte de los casos la infección es leve y fácilmente tratable. La infección secundaria es más frecuente en personas que realizan labores agrícolas.

Desde el punto de vista inmunológico, la LCL se caracteriza por presentar buena respuesta de tipo celular, con respuesta a la prueba inmunológica de hipersensibilidad retardada (leishmanina) que oscila entre 10 y 20 milímetros. Solamente un 5 % de los pacientes con LCL son hiperreactores.

Desde el punto de vista histopatológico, la LCL presenta un granuloma leishmánico caracterizado por un infiltrado macrofágico a nivel de la dermis, con grado variable de diferenciación epitelioides. Este infiltrado puede ser difuso o focal y se encuentra rodeado o invadido por una cantidad variable de células linfoides y células plasmáticas. Se observa de escaso a moderado número de células gigantes tipo Langhans y también, con relativa frecuencia, amastigotes en el interior de los macrófagos. En estos casos la respuesta al tratamiento es buena, encontrándose tasas de curación de alrededor del 90 %.

En el caso de LCL, las posibilidades de diagnóstico diferencial son muchas, sin embargo, las más frecuentes en nuestro medio son úlceras infecciosas postraumáticas, úlceras infecciosas por picadura de insectos, úlceras varicosas, carcinomas, micosis profundas (esporotricosis y cromomicosis) y tuberculosis cutánea.



Figura 5. Leishmaniasis cutánea localizada

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».

Leishmaniasis intermedias

En el área intermedia del espectro de la LTA se encuentra el grupo de formas clínicas conocidas como leishmaniasis intermedias (LI), que abarca las formas de leishmaniasis cutánea intermedia y la leishmaniasis cutánea mucosa.

Leishmaniasis cutánea intermedia (LCI)

La LCI es una forma descrita únicamente en Venezuela por Convit (Convit *et al.*, 1974). Se caracteriza por presentar lesiones cutáneas ulceradas, únicas o múltiples, con fondo de aspecto verrugoso (figura 6). Es de difícil diagnóstico por la escasez de parásitos que se presentan en ella, además de difícil tratamiento.

Desde el punto de vista inmunológico se caracteriza por la respuesta celular alta de los pacientes (hiperreactores), es decir, presentan una respuesta a la prueba inmunológica de hipersensibilidad retardada (leishmanina) por encima de 30 milímetros.

Desde el punto de vista histopatológico, presenta cambios inflamatorios celulares similares a la forma localizada, con menos diferenciación epiteloide y más alteraciones a nivel de la epidermis. Este grupo de pacientes representan aproximadamente el 0,7 % del total de LTA.



Figura 6. Leishmaniasis cutánea intermedia.

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».

Diganóstico diferencial

Tuberculosis cutánea

Cromomicosis

Esporotricosis

Sarcoidosis

Lepra

Leishmaniasis cutánea mucosa (LCM)

Los pacientes con LCM presentan lesión infiltrativa de aspecto granulomatoso, principalmente a nivel de la mucosa nasal, pero esta lesión puede extenderse hasta la mucosa de la faringe o de la laringe, frecuentemente con infección secundaria, que juega un importante papel en sus manifestaciones clínicas (figura 7). En casi todos los casos existe el antecedente de una lesión cutánea, reciente o antigua, tratada o no.

Desde el punto de vista inmunológico, en aproximadamente un 50 % de los casos se aprecia una reacción alta mediada por células (hiperreactores), lo que genera una respuesta exacerbada a la prueba inmunológica de hipersensibilidad retardada (leishmanina) con valores por encima de 30 milímetros.

Desde el punto de vista histopatológico, la LCM se caracteriza por la presencia de un infiltrado mixto linfohistoplasmocitario, normalmente difuso o en focos mal definidos. Los macrófagos presentan de leve a moderado grado de diferenciación epiteloide y los amastigotes son escasos y difíciles de identificar. Este grupo conforma aproximadamente el 1 % del total de pacientes con LCA en el país.



Figura 7. Leishmaniasis cutánea mucosa

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».

Diagnóstico diferencial

Área nasal: traumatismos, infecciones bacterianas, sífilis, uso de cocaína, intoxicación por cromo, granuloma maligno medio facial, paracoccidiodomicosis, pólipos nasales, rinosporidiosis, lepra, carcinoma espinocelular y basocelular.

Paladar y laringe: carcinomas, paracoccidiodomicosis, tuberculosis.

Tomando en cuenta el número de patologías con la que se debe hacer el diagnóstico diferencial es importante realizar exámenes complementarios para definir el diagnóstico. Estos estudios incluyen: serología para hongos, pruebas intradérmicas, estudio micológico, bacteriológico y para micobacterias, Rx de tórax, tomografía axial computarizada de nariz y senos paranasales y estudio histopatológico.



Leishmaniasis cutánea diseminada (LD)

La LD es una forma emergente de la enfermedad que se caracteriza por la aparición de múltiples lesiones cutáneas localizadas en diferentes zonas de la superficie corporal, puede llegar a comprometer la mucosa nasal (figura 8) y es una variante poco común de la LTA.

Desde el punto de vista inmunológico se produce una pobre respuesta inmune celular, que permite la diseminación no controlada del parásito, lo que produce la aparición de múltiples lesiones en piel. La reacción a la prueba inmunológica de hipersensibilidad retardada (leishmanina) es predominantemente positiva (>10 milímetros), aunque por la deficiente respuesta celular en este grupo de pacientes, en algunos casos esta reacción puede ser negativa.

Histopatológicamente se caracteriza por la presencia de un granuloma por agente vivo en el cual no se observan Leishmanias, descrito como un granuloma macrófago indiferenciado y con discreto grado de diferenciación epiteloide difuso y focal invadido por numerosas células linfoides y plasmáticas, o por la presencia de dermis con denso infiltrado granulomatoso poco diferenciado, con histiocitos vacuolados, células con tendencia a la diferenciación epiteloide, linfocitos y células plasmáticas, con presencia de Leishmanias. Actualmente en Venezuela este grupo conforma apenas el 0,1 % aproximadamente del total de casos de la LTA, lo cual puede deberse a un subregistro de estos casos o desconocimiento sobre esta forma emergente de la enfermedad.



Figura 8. Leishmaniasis cutánea diseminada.

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».

Diagnóstico diferencial

Linfomas cutáneos

Micosis profunda

Xantomatosis

Leishmaniasis cutánea difusa (LCD)

En el otro extremo del espectro clínico de la LTA se encuentra el polo maligno conocido como leishmaniasis cutánea difusa (LCD), el cual se caracteriza desde el punto de vista clínico por la presencia de lesiones tipo nódulos o placas no dolorosas, únicas o múltiples, de distribución asimétrica, diseminadas por la superficie corporal (figura 9) de largo tiempo de evolución. Se ha observado que esta forma de la enfermedad suele aparecer en edades tempranas de la niñez.

Desde el punto de vista inmunológico se caracteriza por ausencia de respuesta del tipo celular, con una reacción a la prueba inmunológica de hipersensibilidad retardada (leishmanina) con tendencia a la negatividad (0 milímetros) y desde el punto de vista histopatológico, por la presencia de un granuloma tipo macrofágico con abundantes macrófagos vacuolados llenos de Leishmanias.

Esta forma de leishmaniasis es difícil de tratar debido a la poca respuesta a los tratamientos antileishmánicos. Este grupo representa menos del 0,2 % del total de pacientes con LTA.



Figura 9. Leishmaniasis cutánea difusa.

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».



Diagnóstico diferencial

Lepra lepromatosa

Linfomas cutáneos

Neurofibromatosis

Xantomatosis

Leishmaniasis tegumentaria y coinfección con VIH

La asociación VIH con *Leishmania* en un mismo paciente termina acelerando el avance de ambas enfermedades. La destrucción de las células T CD4+ (Th), como resultado de la progresión del VIH, provoca la disminución de la respuesta humoral de tipo Th1 cambiando a Th2, dando como consecuencia que el huésped infectado sea más susceptible a una serie de infecciones oportunistas como la leishmaniasis, debido a una inhibición de la producción de IFN- γ y un aumento de IL-4 e IL-10, lo que implica una deficiencia de la capacidad leishmanicida en los macrófagos. Además, las infecciones parasitarias contribuyen a la progresión de VIH a sida, ya que la activación de las células inmunes por parte del parásito ocasionan la proliferación de estas, teniendo como consecuencia la multiplicación del virus.

La pandemia de VIH/sida ha modificado el curso natural de la infección por *Leishmania*, incrementando el riesgo (100-1000 veces) de producir leishmaniasis visceral en las zonas endémicas. La coinfección se ha reportado en 35 países alrededor del mundo, en donde del 2 al 12 % de todos los casos de LV se asocian a la infección con VIH. En Brasil han demostrado la coinfección frecuente entre LV y VIH/sida, a través de estudios que arrojan una proporción de coinfección alrededor del 50 %. En un estudio realizado en el año 2013 en Venezuela se encontró que no existen diferencias en las manifestaciones clínicas de LC como de LV en los pacientes VIH positivos, independientemente de la especie de *Leishmania* involucrada. En este reporte se encontró que el 81 % de los casos con coinfección presentaron LC/VIH y el 19 % padecieron LV/VIH, patrón que se encuentra a nivel mundial, siendo la incidencia global de LC mayor que la de LV.

Se debe alertar cuando el paciente presenta LC/VIH en cualquiera de sus formas clínicas, ya que existen informes de que algunas especies de *Leishmania* dermatropas cambian su tropismo cuando el paciente está inmunosuprimido por acción del VIH e invaden órganos internos. La información sobre la incidencia y prevalencia del VIH-sida en Venezuela es escasa, por lo que el análisis epidemiológico de la situación de esta enfermedad es limitado.

Debido a que las características clínicas de los pacientes con coinfección no difieren de aquellos que no presentan infección por VIH, los médicos y todo el personal de salud, tanto en los servicios de salud públicos como los privados, deben considerarse obligados a pensar en la posibilidad de la presencia de una coinfección cuando se presentan casos VIH positivos en pacientes que proceden de zonas endémicas de leishmaniasis.



Leishmaniasis visceral (LV)

Se estima que un alto porcentaje de los individuos infectados por *Leishmania* que habitan en áreas endémicas pueden presentar enfermedad subclínica, caracterizada por un aumento transitorio de anticuerpos anti-*Leishmania*, sin manifestaciones clínicas evidentes, o con algunos síntomas muy leves que generalmente pasan inadvertidos (Braz *et al.* 2002).

La manifestación de la enfermedad depende de varios factores, entre los que se incluyen la respuesta inmune del huésped, virulencia y carga parasitaria (Kafetzis, 2003). También se ha demostrado que los niños de áreas endémicas presentan mayor riesgo de contraer la enfermedad que los adultos; así mismo, la malnutrición es un factor de susceptibilidad muy importante para desarrollar leishmaniasis visceral.

Las manifestaciones clínicas clásicas en el humano incluyen fiebre prolongada, hepato-esplenomegalia franca, pérdida de peso, anemia y otros signos clínicos inespecíficos.

El comportamiento de la LV varía de acuerdo con las regiones geográficas. En la India y en África, por ejemplo, la enfermedad afecta mayormente a pacientes entre la segunda y tercera década de la vida. En la India se ha observado poca respuesta al tratamiento con antimoniales, y un 5 % de los casos presenta una forma cutánea de la enfermedad después del tratamiento, denominada leishmaniasis dérmica post-*kala-azar*, caracterizada por la presencia de máculas, placas y nódulos generalizados que contienen abundantes parásitos (Zijlstra & El Hassan, 2001; 1994). Estos enfermos actúan como reservorios de parásitos y, por tanto, son capaces de mantener la transmisión de la enfermedad. Aparentemente no hay asociación con reservorios de otra especie, pues se trata de una antroponosis cuyo agente causal es la *Leishmania donovani*, siendo la mortalidad, con frecuencia, muy alta.

En el Mediterráneo, el comportamiento de la LV es parecido al observado en los últimos años en Venezuela, y el grupo etario más afectado es el de los niños de entre uno y cuatro años de edad (Zerpa *et al.*, 2003; Kafetzis, 2003). Se trata de una zoonosis cuyo reservorio identificado es el perro. Tiene buena respuesta terapéutica y el agente etiológico es la *L. infantum* (Alvar *et al.*, 1997).

El período de incubación es difícil de determinar, debido a la imposibilidad de establecer con exactitud la fecha de la picadura del vector. Algunos autores señalan que varía de dos semanas a ocho meses después de la exposición, aunque se han establecido períodos de incubación de hasta diez años (Neves, 1975).

El inicio de la enfermedad puede ser repentino, como ocurre con frecuencia en los niños pequeños, o insidioso en los niños más grandes, adolescentes y adultos.

El doctor Witremundo Torrealba, cuya tesis doctoral registra el mayor número de casos estudiados en nuestro país, divide los síntomas y signos de la leishmaniasis visceral en fundamentales (figura 10) y secundarios.

Signos y síntomas fundamentales

- Fiebre: es el signo más constante; aunque se han descrito casos en los que no se manifestó la elevación de la temperatura. Varía de 37 a 40 °C (Wyler, 1992). Según Torrealba, los períodos de elevación de la temperatura alternan con períodos de moderada elevación y hasta apirexia. En Venezuela, la fiebre es un signo constante, presente en el 100 % de los casos diagnosticados. Frecuentemente se observa la existencia de dos picos diarios seguidos por acentuada sudoración.
- Esplenomegalia: se manifiesta en casi todos los pacientes a los que se diagnostica LV. Es el hallazgo más llamativo cuando se realiza la exploración física, y el que induce a sospechar que se trata de esta enfermedad. La variación de series reportadas alcanza desde el 95 hasta el 100 % (Lita *et al.*, 2002; Werneck *et al.*, 2003). El bazo crece gradualmente, de modo que, por lo general, es solo al final del primer mes cuando se puede palpar con facilidad. Algunas veces alcanza proporciones enormes y puede extenderse finalmente al interior de la pelvis. Inicialmente, este órgano es móvil y de crecimiento vertical; luego se dirige a la línea media del abdomen y se torna inmóvil. Con frecuencia su palpación no es dolorosa. La consistencia es blanda en etapas tempranas y dura en pacientes crónicos. La esplenomegalia se debe a la hiperplasia de las células reticuloendoteliales, a la existencia de linfocitogénesis y a la producción de histiocitos. Después del tratamiento y la curación, el órgano suele volver a su tamaño normal.
- Hepatomegalia: junto con la esplenomegalia y la fiebre, el aumento de tamaño del hígado es otro de los signos fundamentales. Aunque no esté presente en todos los enfermos, algunas series reportan desde el 66 hasta el 93 % de hepatomegalia en pacientes afectados con leishmaniasis visceral. Según Torrealba, en Venezuela hasta un 94 % de los pacientes presentaron hígado palpable por debajo del reborde costal. En los casos en los que este síntoma no estaba presente, la evolución de la enfermedad era relativamente corta. Cuando el hígado es palpable, la superficie es lisa, blanda y, en raras ocasiones, ligeramente doloroso al tacto. El incremento de tamaño del hígado obedece a las mismas causas que originan la esplenomegalia y la linfadenopatía.



- Linfadenopatías: es un signo comúnmente asociado a la LV y se halla presente en un 36 a 84 % de los pacientes. Frecuentemente es generalizada, y los nódulos, firmes y móviles, no son dolorosos a la palpación.
- Palidez cutáneomucosa: es causada por la anemia severa. Se observó, en diferentes series, entre el 69 % y el 100 % de los enfermos.
- Pérdida de peso: aunque difícil de precisar, debido a que no se da en todos los casos, es uno de los signos clásicos de LV. Ocurre lenta y progresivamente, y puede culminar en caquexia si no hay intervención oportuna. La causa de la pérdida de peso es desconocida, aunque en su génesis puede influir la disminución de la ingesta de alimentos, el aumento del metabolismo (el cual está mediado por citocinas), mala absorción intestinal y la presencia de otras enfermedades intercurrentes.



Figura 10. Hepatomegalia y esplenomegalia en pacientes con leishmaniasis visceral
Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».

Signos y síntomas secundarios

- Respiratorios: Torrealba advierte que es difícil atribuir directamente a la *Leishmania* los trastornos respiratorios hallados en estos pacientes. Sin embargo, estos cuadros se observan con mayor frecuencia en casos de evolución crónica, en los que el paciente presenta un estado de inmunosupresión avanzado que lo hace susceptible a infecciones respiratorias intercurrentes, bacterianas y virales. Por otra parte, hay autores que consideran que la neumonitis intersticial es una manifestación de leishmaniasis visceral.
- Trastornos gastrointestinales: según algunos autores, los síntomas gastrointestinales no son específicos de la leishmaniasis visceral. Sin embargo, la diarrea ha sido referida hasta en un 45 % de los enfermos. Puede manifestarse como un síndrome disintérico, que suele ir acompañado con sangre en las heces (Wyler, 1992). La diarrea se produce por enteritis ocasionada por la infección de *Leishmania*, o por infecciones intercurrentes como amibiasis, shigellosis o salmonelosis.

- Epistaxis: puede estar presente antes de iniciarse la terapia antimonial o, por el contrario, exteriorizarse después, sobre todo cuando se usa Pentostam. El sangrado puede ser severo y comprometer la vida del paciente. En su patogénesis están involucrados diferentes factores, tales como disminución de los elementos sanguíneos debido a la infección leishmanial de la médula ósea, o a la presencia de Leishmanias en la mucosa nasal.
- Anorexia: estudios como los realizados por Zijlstra *et al.* En 1994 reportan la pérdida del apetito como síntoma frecuente de la enfermedad.
- Debilidad y fatiga: pueden ocurrir y se encuentran relacionadas con la anemia.

Manifestaciones menos frecuentes

- Ictericia: es poco frecuente. Se desconoce si es causada por la presencia de Leishmanias en el hígado o por enfermedades intercurrentes como hepatitis viral.
- Edema: pueden aparecer en casos avanzados y su origen es la hipoalbuminemia y la anemia que suelen estar asociadas con la enfermedad. Por lo general se localiza en los pies y en la cara, en la cual puede ir acompañada de hipopigmentación difusa.
- Alteraciones psiquiátricas: algunos pacientes manifiestan brotes psicóticos que desaparecen después del tratamiento anti-*Leishmania*. Se han descrito también estados depresivos, los cuales pueden ser coincidentes.
- Alteraciones neurológicas: se ha descrito sensación de ardor en los pies y ataxia cerebelosa.

Manifestaciones en la piel

A menudo se encuentran manifestaciones cutáneas. En la India, particularmente, la apariencia gris oscura de la piel del enfermo da lugar al nombre de *kala-azar* (fiebre negra, en hindi). Esta pigmentación es poco frecuente en los pacientes de Sudán, en quienes suele observarse hiperpigmentación del área umbilical y pliegues axilares. La patogénesis de los cambios pigmentarios es desconocida. Además, aunque con poca frecuencia, se pueden observar en la piel leishmaniomas, es decir, úlceras únicas o múltiples en el sitio de inoculación del parásito, que pueden preceder a la clínica de LV. Aparentemente solo se han observado en Asia Central y en África. La piel puede ser también afectada por infecciones de hongos y virus como el herpes.

En algunos casos tratados de LV puede presentarse un trastorno cutáneo denominado leishmaniasis dérmica post *kala-azar*, que se da cuando los parásitos no han sido erradicados del todo. En la leishmaniasis de la India se encuentra esta complicación en una proporción del 12 al 17 % de los casos, y con frecuencia aparece varios años después del tratamiento (Zijlstra, 1994).



En la enfermedad africana es menos común, y ocurre a menudo durante el tratamiento en alrededor del 2 a 3 % de los pacientes, curándose de manera espontánea en pocos meses. Se caracteriza por lesiones hipopigmentadas, eritematosas o nodulares en cara, tórax, cuello y nalgas. En ocasiones las lesiones nodulares en la cara semejan la lepra lepromatosa. Se cree que las lesiones se deben a una forma modificada de infección por *L. donovani*, en la cual los parásitos no son capaces de invadir las vísceras y se alojan entonces en la piel. Al parecer, estas alteraciones tienen relación con la respuesta inmunitaria del huésped, y el cambio a un tropismo cutáneo podría coincidir con la recuperación de la enfermedad visceral y desaparecer con la recaída. En las Américas, la ocurrencia de leishmaniasis dérmica post *kala-azar*, es muy rara.

Complicaciones de la LV

Las principales complicaciones –entre ellas hemorragias y sobreinfección que pueden culminar con la muerte del paciente– son consecuencia de una disminución de los elementos sanguíneos debida a la infección leishmanial de la médula ósea y al hiperesplenismo. La anemia, la leucopenia y la trombocitopenia son comunes. La hipoalbuminemia, hipergammaglobulinemia (fundamentalmente de IgG), complejos inmunes circulantes, y factor reumatoide son hallazgos de laboratorio asociados. Se produce glomerulonefritis por complejos inmunes, con proteinuria y hematuria microscópica, aunque la enfermedad renal es infrecuente. Son inusuales la amiloidosis secundaria y la fibrosis hepática que llevan a la hipertensión portal.

Sin tratamiento, suele ocurrir la muerte del paciente como resultado de complicaciones infecciosas –entre ellas neumonía, tuberculosis, disentería y septicemia–, o como consecuencia de la anemia y hemorragias.

Diagnóstico diferencial

En la etapa aguda debe diferenciarse del paludismo, tuberculosis miliar, salmonelosis, esquistosomiasis aguda, absceso hepático amibiano y tífus agudo. En las etapas crónicas puede imitar a la esquistosomiasis hepatoesplénica, brucelosis, síndrome de esplenomegalia tropical, leucemia linfocítica crónica, linfomas, histiocitosis maligna, hipertensión portal, anemia hemolítica y enfermedad de depósito de glucógeno. La leishmaniasis cutánea post *kala-azar* puede ser confundida con el pian, la sífilis y la lepra.

Alteraciones de laboratorio

En la LV podemos encontrar pancitopenia, pero la severidad con la cual es afectada cada una de las líneas celulares es variable.

- Anemia: es evidente. Las cifras de hemoglobina (Hb) son menores a 8 g/dl. Niveles bajos de Hb se relacionaron con desenlaces fatales. La anemia puede ser microcítica, macrocítica o normocítica. Frecuentemente se observan anisocitosis, poiquilocitosis y policromasia, al igual que deficiencia de hierro y de folato. Hay acortamiento de la sobrevivencia de eritrocitos como resultado de varios factores: anemia hemolítica, con Coombs positivo e hiperesplenismo.
- Leucopenia: cifras de 2.000-3.000 GB/mm³, con neutropenia, linfocitosis relativa y ausencia casi total de eosinófilos, excepto cuando se acompaña de una infección por helmintos.
- Trombocitopenia: ha sido observada en un rango de 127+/- 69 x 10³.
- Proteínas séricas: la albúmina en suero es a menudo menor de 3 g/100 ml, y los valores de globulinas son mayores de 5 g/100 ml. La mayor parte son IgG de la sub clase IgG1 e IgG3. La relación albúmina/globulina se encuentra invertida. Después del tratamiento regresan a sus niveles normales.
- Factor reumatoide y complejos inmunes circulantes: se ha demostrado su presencia.
- Urea y electrolitos séricos: suelen encontrarse dentro de límites normales.
- Pruebas de funcionalismo hepático: pueden hallarse alteradas, con elevaciones de ALT y AST hasta cinco veces sus valores normales, y elevación de GGT de hasta tres veces sus valores normales. Los niveles de bilirrubina total y directa suelen ser normales.
- Orina: se ha observado albuminuria en el 40 a 75 % de los pacientes, al igual que proteinuria y hematuria microscópica en casos de glomerulonefritis por complejos inmunes, aunque la enfermedad renal es infrecuente.



Leishmaniasis visceral y VIH-sida

El primer caso de asociación de leishmaniasis visceral y VIH-sida fue reportado en España (de la Loma, 1985). Desde entonces esta asociación ha sido ampliamente estudiada, debido a que se ha convertido en un problema de salud pública para la OMS. La superposición de estas dos enfermedades es altamente endémica en Brasil, y en el sur de Europa se ha comprobado que hasta el 9 % de los pacientes con sida desarrollan también LV (Alvar, 1996). Otros estudios señalan que se han encontrado amastigotes de *Leishmania* hasta en el 17 % de los pacientes infectados con HIV (Pineda, 1998). Por otro lado, los datos disponibles en las Américas muestran que el 10 % de los pacientes con LV son HIV positivos (OPS - OMS, 2018).

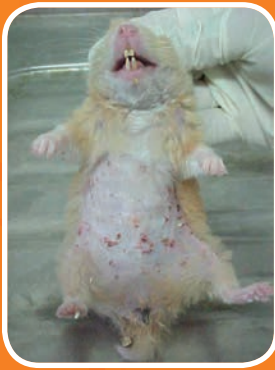
En Venezuela, Loyo *et al.* (2002) describen cuatro casos de LV, causada por *L. braziliensis*, en pacientes con infección por HIV. Estos enfermos desarrollaron lesiones cutáneas, mucosas y viscerales. La *Leishmania* y el HIV pueden infectar y multiplicarse en macrófagos, y ambos pueden alterar la respuesta inmune. Recientes estudios indican que la leishmaniasis puede inducir la activación de HIV latente en monocitos y células T. Así mismo, el HIV puede aumentar el crecimiento intracelular de *Leishmania* en los macrófagos (Tumbarello *et al.*, 2000).

La destrucción de las células T CD4+ ayudadoras es el factor fundamental en la disminución de la función inmune que ocurre con la progresión de la infección por HIV. Esta condición inmunológica hace al huésped más susceptible de adquirir infecciones oportunistas fatales. A la inversa, las infecciones parasitarias podrían influenciar la susceptibilidad de infección por HIV y la progresión de la misma.

Ambos patógenos, *Leishmania* y HIV, utilizan los mecanismos inmunoreguladores del sistema inmune del huésped para su propia propagación. La activación inmune crónica y las interacciones inmunes mediadas por citocinas inducidas por un patógeno pueden alterar la evolución de la enfermedad en personas concurrentemente infectadas con otro patógeno. Por lo tanto, la coinfección *Leishmania*-HIV puede afectar el curso de una o ambas enfermedades y contribuir a establecer «un círculo vicioso» de multiplicación descontrolada de ambos agentes, profundizando la inmunosupresión y progresión de la enfermedad. De allí la importancia de tomar medidas que limiten la extensión de dichas infecciones (Tumbarello *et al.*, 2000), como son el uso de terapia antirretroviral y terapia antileishmánica.

Dentro de las manifestaciones clínicas de la coinfección LV-HIV descritas por Alvar en 1997, encontramos fiebre en el 90 % de los pacientes, esplenomegalia en el 73 %, leucopenia en el 83 %, trombocitopenia en el 76 % y anemia en el 90 %.

Debe sospecharse de leishmaniasis visceral cuando los pacientes con infección por HIV habiten en áreas endémicas de LV, y el diagnóstico debe establecerse luego de comprobar la presencia del parásito en muestras obtenidas de la médula ósea, el hígado o el bazo, ya que los tests serológicos solo son positivos en la mitad de los pacientes con coinfección (Kafetzis, 2003).



En Venezuela la leishmaniasis tiene un curso predominantemente zoonótico, en el cual varias especies de animales silvestres y domésticos son reservorios del parásito.





Reservorio

Los reservorios son organismos en cuyo interior se desarrolla o mantiene el parásito. Al alimentarse de ellos, los vectores se infectan y transmiten la enfermedad a otros seres, manteniendo así el ciclo de transmisión de la leishmaniasis. En las Américas la enfermedad tiene un curso predominantemente zoonótico, en el cual varias especies de animales silvestres y domésticos son reservorios del parásito.

Entre los reservorios conocidos están los cánidos salvajes (zorros y chacales), el oso perezoso (*Choloepus spp.* y *Bradypus spp.*) y los perros domésticos. En América, se han encontrado infectados el zorro cangrejero (*Cerdocyon thous*), los marsupiales didelfideos (Lainson *et al.* 2002) y el perro doméstico (*Canis familiaris*). Se considera que este último es el reservorio principal de la leishmaniasis visceral (WHO, 1990).

En Venezuela, han sido identificadas varias especies de roedores como reservorios para la leishmaniasis cutánea, entre los que se encuentran las especies *Rattus-rattus*, *Arvicanthis*, *Psammomys*, *Meriones*, *Akodon*, *Oryzomys*, *Proechimys* (figura 11).

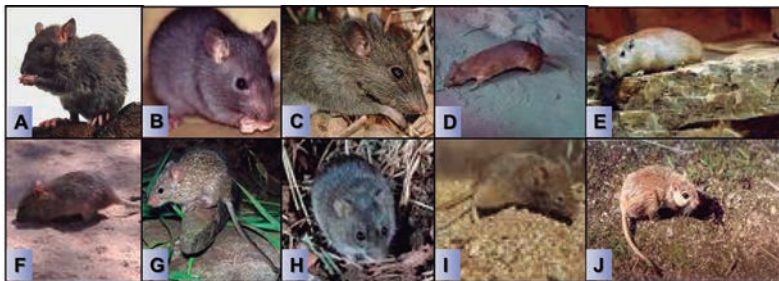


Figura 11. Especies de roedores salvajes reservorios de LCA. Especie *Rattus rattus* (A, B, C). Especie *Proechimys* (D). Especie *Psammomys* (E). Especie *Arvicanthis* (F, G). Especie *Oryzomys* (H). Especie *Akodon* (I). Especie *Meriones* (J)

Fuente: Imágenes tomadas de Internet

En Venezuela solo ha sido identificado el perro como reservorio y fuente de infección de la leishmaniasis visceral (Torrealba, 1970; Zerpa *et al.*, 2000, 2003; Zulueta *et al.*, 1999). Actualmente se trabaja en la búsqueda de reservorios silvestres.

Leishmaniasis visceral canina

La leishmaniasis visceral es una zoonosis en la que el perro actúa como huésped-reservorio. La transmisión se realiza de un perro enfermo a uno sano a través de la picadura de un insecto vector. La seroprevalencia de leishmaniasis visceral canina varía de acuerdo a los factores ecológicos de las diversas regiones. Estudios recientes señalan que en Italia la prevalencia se sitúa entre el 14,5 % y el 24 %, en Francia entre el 3 y el 17 % y en España entre el 5 y el 18 % (Alvar *et al.*, 2001; Moreno & Alvar, 2002). Zerpa *et al.* (2003) describen un 13,2 % de positividad serológica en perros estudiados en áreas endémicas de Venezuela. En el año 2002, estos mismos autores señalaron hasta un 33 % de animales positivos en focos activos del estado Nueva Esparta. Una situación parecida ha sido reportada en focos de Jacobina, Brasil, donde el 19 % y el 36 % de los perros estudiados resultaron positivos (Ashford *et al.*, 1998; Pimentel *et al.*, 2015).

Algunas evidencias indican que el 15 % de los animales infectados son capaces de recuperarse sin tratamiento (Alvar *et al.*, 1997), mientras que otros mantienen una infección subclínica durante mucho tiempo sin evolución a la enfermedad activa. En el perro, el cuadro clínico está caracterizado por una gran diversidad de signos y lesiones, que dependen del estado inmune del animal, del grado de infección, del tiempo de evolución de la enfermedad y de los órganos afectados (Cairó, 1997).

El período de incubación de la leishmaniasis visceral en el perro varía de dos a doce meses, y la vida media de un canino que la padezca es de dos a tres años (Alvar *et al.*, 1995).

Los signos clínicos de la enfermedad comprenden adenomegalia, lesiones en el pelo, la piel y las uñas, hepato-esplenomegalia y alteraciones renales (figura 12).

- **Adenomegalia:** particularmente ganglios poplíteos y preescapulares. Con menor frecuencia ganglios submaxilares, retrofaríngeos e inguinales. El examen clínico evidencia aumento de tamaño. Son duros e indoloros a la palpación. En esta fase podemos encontrar parásitos en el tejido ganglionar.



- **Piel:** los signos cutáneos, muy característicos en la leishmaniasis canina, pueden ser discretos o exuberantes y son la consecuencia de alteraciones producidas por el parásito alojado en la dermis. Pueden ser:
 - Hiperqueratosis: pérdida de elasticidad de la piel, la cual se torna dura y rugosa y adquiere el aspecto de la piel de los paquidermos.
 - Con frecuencia se observan soluciones de continuidad en la piel del animal enfermo.
 - Dermatitis furfurácea: escamas blanquecinas, semejantes a hojuelas de avena, que al principio son pequeñas y luego aumentan de tamaño. Pueden presentarse con una distribución localizada, particularmente en el borde del pabellón auricular, región periorbital y hocico, pero también en otras partes del cuerpo. Estas lesiones son producidas por hiperplasia de la capa basal de la epidermis debido a la presencia de los parásitos.
 - Exulceraciones: alteraciones superficiales de forma irregular que sangran fácilmente y están revestidas por una costra serohemática. Se localizan en la cabeza, borde del pabellón auricular, hocico, región periorbital y en los miembros, particularmente en las articulaciones.
 - Ulceraciones: de forma y bordes regulares, lisos, fondo granuloso, con frecuencia eritematovioláceas. El parásito puede ser aislado de los bordes de la lesión. Con mayor frecuencia están localizadas en las articulaciones de la parte superior de los miembros anteriores y posteriores y en las articulaciones de las patas.
 - Nódulos subcutáneos: son tumoraciones circunscritas en la dermis y tejido subcutáneo, localizadas con mayor frecuencia en las regiones dorsal, escapular, torácica y femoral. También en estas lesiones es común encontrar *Leishmania*.
 - Prurito: a diferencia de las dermatitis producidas por hongos o ectoparásitos, en la leishmaniasis visceral no se verifica prurito.
- **Pelo:** sin brillo, frágil, se parte fácilmente al ser halado y tiende a caerse, lo cual origina áreas de alopecia localizadas en la región periorbitaria, hocico, pabellones auriculares, cuello, tórax, tuberosidades óseas y cola. Finalmente se extiende a todo el cuerpo del animal.
- **Uñas:** es frecuente la perionixis, es decir, la inflamación de la matriz ungueal. Esta también se encuentra parasitada y sufre una alteración patológica denominada onicogrifosis, que es un encurvamiento y engrosamiento de las uñas debido a un crecimiento continuo. Son frágiles y quebradizas y, por tanto, el animal no las puede utilizar. A esto se suma hipersensibilidad e hiperqueratosis de las almohadillas plantares.

- **Membranas mucosas:** conjuntivitis, queratitis e iritis. En la mucosa nasal pueden aparecer exulceraciones que llegan a extenderse desde el hocico hasta las fosas nasales. La acentuada trombocitopenia causada por esta enfermedad ocasiona epistaxis con sangramiento nasal importante. Puede haber úlceras en la parte interna de los labios, encías y carrillos.
- **Bazo:** las alteraciones en el bazo son variables y no se corresponden con la carga parasitaria. Puede ocurrir esplenomegalia franca o se puede palpar un aumento de tamaño discreto y de consistencia dura.
- **Hígado:** habitualmente presenta hepatomegalia.
- Pueden observarse otras alteraciones como melena, atrofia muscular, y alteraciones articulares que producen disturbios en la locomoción.

En la fase terminal de la enfermedad pueden producirse nefritis, paresias, parálisis, hiperestesia e hipoestesia con congestión de las meninges, caquexia y finalmente la muerte del perro.



Figura 12. Manifestación de leishmaniasis visceral canina: (1 y 2) áreas alopécicas, (3) úlceras, (4 y 5) onicogriposidad, (6) pérdida de peso.

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina "Dr. Jacinto Convit".



Los exámenes de laboratorio revelan la existencia de anemia, leucopenia y trombocitopenia por afectación del sistema hematopoyético. Los depósitos de inmunocomplejos a nivel de los glomérulos producen elevación de la urea y la creatinina, lo cual causa, finalmente, insuficiencia renal con proteinuria y uremia. Constantemente se observa hiperproteinemia con inversión de la relación albúminas/globulinas.

El diagnóstico de leishmaniasis visceral canina puede realizarse mediante la detección de anticuerpos específicos en suero a través de diferentes técnicas, entre las que destacan la ELISA (Reed, 1996; Zerpa *et al.*, 2000) y la inmunofluorescencia directa (Reed, 1996). Estos métodos de diagnóstico serológico son más sensibles que la búsqueda directa del parásito en muestras de médula ósea y, sin duda, pueden realizarse con mayor facilidad, lo que los convierte en la mejor herramienta para estudios de control epidemiológico.

No existe tratamiento efectivo para la leishmaniasis canina, ya que las drogas utilizadas en humanos no curan definitivamente a estos animales, por lo cual hay recaídas en todos los casos. Para evitar el desarrollo de parásitos resistentes, la OMS (1996) recomienda que las drogas usadas para el tratamiento de la LV humana no sean utilizadas en caninos.

Inmunología de la leishmaniasis visceral canina

La respuesta inmune en perros infectados con *Leishmania infantum* / *L. chagasi* resulta en un amplio rango de expresiones, tanto humorales como celulares, que varía según la condición clínica del animal. Ciertos estudios apoyan una asociación entre los signos de la enfermedad visceral en perros, la progresión de la enfermedad y el establecimiento de la inmunidad mediada por células (IMC) (Abranches *et al.*, 1991; Moreno *et al.*, 1999; Pinelli *et al.*, 1999; 2000; Solano-Gallego *et al.*, 2000). Los mecanismos involucrados en la generación de protección o susceptibilidad en perros son aún desconocidos. Si luego de la infección se establece una efectiva inmunidad mediada por células, esta es capaz de controlar la infección y el animal permanece asintomático. Por el contrario, cuando no se da esta respuesta la enfermedad progresa, y aparecen signos y síntomas evidentes en los perros (Pinelli *et al.*, 1994; Moreno y Alvar, 2002). En estos casos, los parásitos se diseminan en la médula ósea, el hígado y el bazo, lo cual hace que la enfermedad se torne crónica y potencialmente fatal, ya que una respuesta inmune descontrolada por parte del hospedador ocasiona que estos órganos se vean seriamente afectados.

La ausencia de inmunidad celular específica contra el parásito ha sido demostrada en perros sintomáticos infectados de manera natural o experimentalmente, con una reducida respuesta linfoproliferativa al estimular linfocitos T frente a antígenos de *Leishmania in vitro* (Moreno *et al.*, 1999). Esto se corresponde, además, con una depresión de la proporción de linfocitos T CD4+ en sangre periférica de perros sintomáticos, en comparación con

perros no infectados (Moreno *et al.*, 1999; Pinelli *et al.*; 1999, Solano-Gallego *et al.*; 2000).

Estudios *in vitro* e *in vivo* en células mononucleares de sangre periférica en infecciones experimentales sugieren la asociación de una respuesta de linfocitos T tipo Th1 con resistencia a desarrollar LVC. Las células mononucleares de sangre periférica provenientes de animales asintomáticos responden a mitógenos y antígenos del parásito con una elevada producción de las INF- γ IL-2 y TNF- α (Pinelli *et al.*, 1994), mientras que los perros sintomáticos muestran una respuesta elevada del tipo Th2, con producción de IL-4, IL-6 e IL-10, y una elevada producción de anticuerpos (Pinelli *et al.*, 1994; Moreno y Alvar, 2002). Adicionalmente, se determinó que los anticuerpos del isotipo IgG, IgG1 e IgG2 anti-*Leishmania* fueron considerablemente más altos en perros sintomáticos que en perros asintomáticos, y que el isotipo IgG2a asociado a una respuesta Th1 es comúnmente detectado en perros asintomáticos (Nieto, 1999).

En contraste con estos hallazgos, un estudio similar realizado en Brasil, en el que se analizaron aspirados de médula ósea provenientes de perros infectados naturalmente, no demuestra una asociación clara entre la expresión de citocinas tipo Th2, la respuesta humoral y linfoproliferativa con la progresión de la enfermedad visceral. A pesar de encontrar una correlación positiva entre los signos clínicos y la expresión de IL-4, así como con los niveles de IgG anti-*Leishmania*, no se encontró relación con la respuesta celular u otras citocinas. Además, los niveles de IL-10 en perros con enfermedad severa resultaron similares a los de los controles no infectados, por lo que se descarta un papel inmunosupresor de la IL-10 en perros infectados naturalmente (Quinnell *et al.*, 2001).

La interacción entre los linfocitos T y las células presentadoras de antígeno (células dendríticas y macrófagos) es fundamental para el establecimiento de una respuesta inmune organizada contra los patógenos en general. Es evidente que los patógenos intracelulares como la *Leishmania* modulan la función del macrófago y alteran la interacción con el linfocito T para evadir la respuesta inmune (Solbach y Laskay, 1996).

Los macrófagos juegan un papel fundamental en la respuesta inmune contra la *Leishmania*, ya que, aparte de actuar como células hospedadoras de los parásitos, lo hacen como células presentadoras de antígenos. Dependiendo de su capacidad para responder a las citocinas provenientes de la interacción con el linfocito T durante el curso de la enfermedad, pueden activarse y eliminar a los patógenos mediante la producción de óxido nítrico (ON) y otros compuestos intermediarios del oxígeno reactivo (Fang, 1997). La producción de ON en macrófagos caninos desempeña un papel importante en la actividad anti-*Leishmania*.



Si bien los estudios realizados a partir de muestras de sangre periférica proveen una aproximación general al estatus inmunológico del animal a nivel sistémico, es primordial recalcar que no necesariamente reflejan lo que ocurre en los órganos blancos del huésped. Análisis de biopsias de hígado y bazo realizados por nuestro grupo proponen la existencia de una inmunidad órgano-específica para LVC en perros infectados naturalmente (Sánchez *et al.*, 2001). Los resultados de este estudio demuestran una elevada carga parasitaria y mayor proporción de células infectadas en hígado y bazo en perros sintomáticos, infectados naturalmente con *L. infantum* / *L. chagasi*, que en perros asintomáticos. Estas diferencias en la carga parasitaria, además de estar asociadas con los signos clínicos, se relacionan con cambios en la composición y estructura de células inmunocompetentes de hígado y bazo. La presencia en perros asintomáticos de granulomas bien definidos, contentivos de una elevada proporción de linfocitos T CD4+ y CD8+ efectores, así como la expresión de moléculas de adhesión y activación asociadas a la expresión de moléculas de clase II del complejo principal de histocompatibilidad, sugiere el establecimiento de una inmunidad celular eficiente, que permite a estos animales permanecer infectados con una baja carga parasitaria, y mostrando pocos signos clínicos e incluso ninguno. En contraste, la ausencia de granulomas maduros en el hígado y la marcada depresión de linfocitos T, moléculas de adhesión, activación e integrinas en los perros sintomáticos, pudieran ser determinantes en la diseminación del parásito y, eventualmente, en la muerte del animal (Sánchez *et al.*, 2001).

A pesar de que las diferencias en la respuesta del bazo en perros sintomáticos y asintomáticos no son tan marcadas como las observadas en el hígado, se evidenció también una pérdida parcial de la arquitectura de dicho órgano, coincidiendo además con una mayor proporción de macrófagos infectados y una menor proporción de linfocitos T CD4+ CD44+ en perros sintomáticos. En este sentido, es importante destacar que la inmunidad a la LVC puede variar según la raza del perro, su grado de susceptibilidad o resistencia a adquirir la enfermedad, y mostrará además características particulares en los distintos órganos blancos, que deberán ser consideradas al utilizar agentes terapéuticos inmunomoduladores o en el desarrollo de vacunas.

El hecho de ser el perro el principal reservorio de las especies de *Leishmania* que causan la enfermedad en los humanos, lo hacen un modelo ideal para el estudio y desarrollo de nuevas terapias y vacunas capaces de reducir los riesgos de infección en humanos y proteger a los perros de reinfecciones. Una vacuna efectiva debe inducir una inmunidad celular fuerte y duradera, y su poder protector debe evaluarse al cabo de los años, para apreciar que haya dado como resultado un bajo índice de infección de perros vacunados con respecto a los controles. En la actualidad, se encuentran en proceso de experimentación vacunas cuyos resultados parciales son promisorios en el laboratorio, mas no necesariamente en el campo, a gran escala.

La vacunación de promastigotes muertos de *L. infantum* inducen una elevada producción de IFN- γ y ON en sangre periférica, al igual que un incremento en la fagocitosis y actividad leishmanicida de macrófagos (Panaro *et al.*, 2001). Igualmente, en un estudio realizado en Brasil en el que emplearon el ligando de fucosa-manosa, se pudo observar una respuesta celular efectiva y duradera, ya que todos los perros vacunados mostraron inmunidad celular. Al cabo de dos años, solo un pequeño porcentaje (el 8 %) reveló algunos signos de leishmaniasis (Da Silva *et al.*, 2000). Recientemente se ha demostrado que la combinación de BCG y una proteína quimérica formada por fusión genética de cinco determinantes antigénicos de cuatro proteínas de *Leishmania* es capaz de conferir protección a perros infectados experimentalmente con *L. infantum*, con un 90 % de efectividad y protección clínica (Molano *et al.*, 2003), lo cual abre una perspectiva para el uso de esta combinación en estudios más amplios, y posiblemente en protocolos de vacunación a mediana y gran escala en áreas endémicas.

Vector

Los vectores que transmiten la leishmaniasis son dípteros de la familia *Psychodidae*, género *Lutzomyia*, comúnmente llamados flebótomos, y conocidos popularmente según la zona geográfica en la que se localicen, recibiendo diferentes nombres como angoletas, tarrayitas, palomillas, jején, rui-rui, entre otros, y generalmente no los asocian a la transmisión de la leishmaniasis.

La *Lutzomyia* realiza un ciclo biológico completo, comprendido por las etapas de huevo, cuatro estadios larvarios, pupa y adulto, durante todo el año. Dependiendo del clima este ciclo se cumple entre 1,5 y 3 meses aproximadamente. Las formas inmaduras son terrestres, su hábitat abarca desde la selva húmeda hasta regiones muy áridas, con una distribución hasta los 1.500 metros sobre el nivel del mar, tienen actividad crepuscular y nocturna durante la cual se alimentan de sangre de animales y humanos y son atraídos por la luz.

Los adultos son dípteros pequeños de entre 2 y 5 mm, según las especies. Se reconocen por tener el cuerpo densamente cubierto de pelos, color amarillento, patas largas, alas lanceoladas, de color uniforme, sin manchas, erectas hacia arriba y atrás. Realizan vuelos cortos dando pequeños saltos, poseen una probóscide desarrollada como aparato picador-chupador, únicamente las hembras son hematófagas, por lo que solo ellas son capaces de transmitir los parásitos al perforar la piel de los vertebrados para alimentarse de sangre, mientras que los machos son fitófagos.

La saliva de los mosquitos posee sustancias tensoactivas y antiplaquetarias, como la aspirasa y las desintegrinas, que provocan la extravasación de sangre en el punto de la picadura y permiten que fluya con facilidad por el canal alimenticio. Tiene péptidos vasodilatadores, maxadilan, CGRP (péptido



relacionado con el gen de la calcitonina, por sus siglas en inglés) y otros componentes que inhiben la aparición de antígenos por los macrófagos, facilitando así el éxito de la inoculación del parásito en el huésped. Por otra parte, las repetidas picaduras de insectos estimulan una respuesta inmune contra los antígenos salivales, lo que sugiere que en áreas endémicas las exposiciones previas a picadas de mosquitos no infectados pudieran influenciar la susceptibilidad a la infección por *Leishmania*.

Desde el punto de vista epidemiológico, la correcta identificación de los vectores reviste particular importancia, puesto que en algunas regiones se han encontrado especies antropofílicas, pertenecientes a un mismo complejo y, por lo tanto, morfológicamente indistinguibles. Es el caso del complejo *longipalpis*, que agrupa a por lo menos cuatro especies vectoras de leishmaniasis visceral en el Nuevo Mundo. Sus características fisiológicas y bionómicas, como hábitos de picadura (endofilia y endofagia), horas de actividad, etc., pueden variar de una región a otra y, por tanto, condicionar los diferentes patrones epidemiológicos de la enfermedad.

Los criterios comúnmente aceptados para definir a una especie como vector de leishmaniasis incluyen (WHO, 1990):

1. Antropofilia
2. Coincidencia espacial de vectores y parásitos
3. Encuentro reiterado de la infección natural con parásitos indistinguibles de los que circulan entre reservorio y hospedador susceptible
4. Desarrollo del parásito en el vector hasta la forma metacíclica infectante
5. Capacidad de transmisión del parásito a un hospedador susceptible en condiciones experimentales

Han sido descritas alrededor de 800 especies de flebotomos distribuidas entre el Viejo y el Nuevo Mundo, las cuales se agrupan en 6 géneros, según la clasificación más aceptada: *Phlebotomus*, *Sergentomyia* y *Chinius* en el Viejo Mundo y *Lutzomyia*, *Brumptomyia* y *Warileya* en el Nuevo Mundo (Young D.G & Duncan M., 1994; OMS, 2010).

En Venezuela se han identificado aproximadamente 100 especies de *Lutzomyias* (entre las que transmiten las diferentes especies de parásitos causantes tanto de las formas de leishmaniasis cutánea como de la forma visceral), de las cuales se ha descrito que unas 30 especies son antropofílicas (Felicangeli D., 2014), cuyas características fisiológicas y bionómicas pueden variar de una región a otra, condicionando los patrones epidemiológicos de la enfermedad, como es el caso de los hábitos de picadura (endofilia y endofagia), horas de actividad, entre otras.

Sobre la base de estos criterios es posible afirmar que *Lutzomyia longipalpis sensu lato* y *L. Evansi* están involucrados en la transmisión de la enfermedad, tal como ha sido demostrado en varios focos de LV situados en el estado Aragua (Felicangeli *et al.*, 1999), Carabobo (Aguilar *et al.*, 1998) y Nueva Esparta (Felicangeli *et al.*, 1998).

Entre las especies de vectores que se ha demostrado transmiten la enfermedad, con base en la infección natural y en la relación encontrada entre hombre/vector/reservorios, se encuentran los siguientes:

- *Lutzomyia evansi**
- *Lutzomyia longipalpis**
- *Lutzomyia pseudolongipalpis**
- *Lutzomyia flaviscutellata*
- *Lutzomyia olmeca reducta*
- *Lutzomyia olmeca bicolor*
- *Lutzomyia rangelifana*
- *Lutzomyia gomezi*
- *Lutzomyia ovallesi*
- *Lutzomyia panamensis*
- *Lutzomyia spinicrassa*
- *Lutzomyia migonei*
- *Lutzomyia trinidadensis*
- *Lutzomyia youngi*
- *Lutzomyia anduzei*
- *Lutzomyia umbratilis*

*Especies de vectores reconocidas en la transmisión de leishmaniasis visceral (LV).

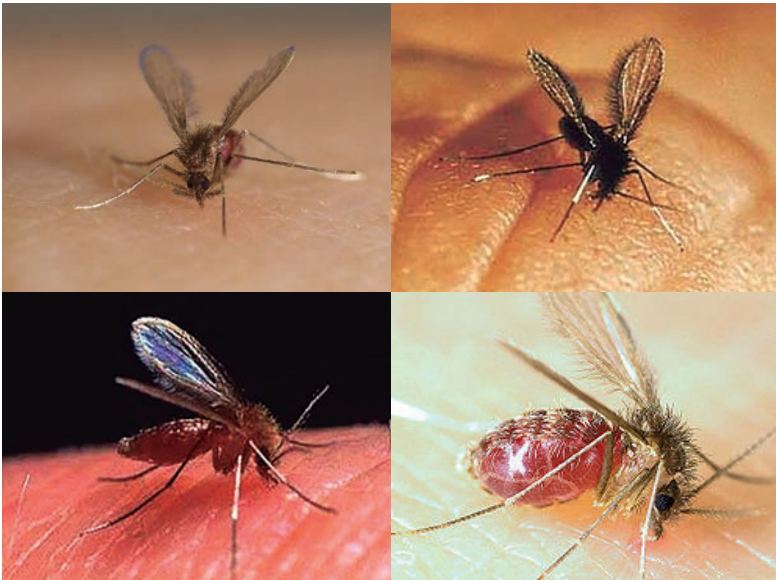


Figura 13. Especies de *Lutzomyia*.
Fuente: Imágenes tomadas de internet



Dra. Marian Ulrich

Nació en Helena, Montana, EE. UU., el 19 de mayo de 1936.

Realizó su doctorado (Ph.D.), en la Escuela de Medicina, Dpto. de Microbiología Médica de la Universidad de Stanford en Palo Alto, California, EE. UU. (1964).

Desde el año 1966 trabajó con el Dr. Jacinto Convit en el área de investigación de los aspectos inmunológicos como las características de la respuesta serológica, la relación parásito/hospedero y la inmuno-epidemiología de las enfermedades tropicales como la leishmaniasis cutánea y visceral. Se convirtió en la coordinadora del laboratorio de Inmunología II del Instituto de Biomedicina, realizó importantes trabajos que han sido publicados en revistas y libros nacionales e internacionales, además de numerosas investigaciones presentadas en congresos nacionales e internacionales.

Falleció en Caracas el 16 de mayo del año 2008.





Inmunología de la Leishmaniasis Tegumentaria

Los conocimientos sobre la respuesta inmunológica en la leishmaniasis tegumentaria americana (LTA) derivan de estudios en modelos experimentales y en pacientes con las diversas manifestaciones de la enfermedad. En estos, los estudios de diferentes componentes de la respuesta inmunitaria en las lesiones, así como en los experimentos *in vitro*, han aportado información valiosa en el esclarecimiento de los mecanismos que definen las diferentes respuestas inmunológicas observadas en las distintas manifestaciones de la leishmaniasis. En esta sección vamos a referirnos a los distintos resultados obtenidos por nuestros grupos de investigación y otros investigadores, en las lesiones, así como en las evaluaciones de elementos inmunológicos en el suero y en linfocitos u otros grupos celulares de sangre periférica de pacientes, luego del cultivo *in vitro* en presencia de antígenos de *Leishmania spp.*

Mecanismo de transmisión

La transmisión se inicia cuando la hembra del vector se alimenta de sangre del vertebrado, incluyendo al humano, y a la vez inocula promastigotes metacíclicos (10-200 parásitos). Muchos de los promastigotes libres son destruidos por los leucocitos polimorfonucleares y por los eosinófilos, pero algunos son unidos por receptores de los macrófagos dérmicos y de los que llegan reclutados al sitio de la infección y son rápidamente internalizados (Wilson *et al.*, 1987).

Existen evidencias que indican que la saliva del vector exacerba la enfermedad e incrementa el número de parásitos en la lesión (Belkaid *et al.*, 1998). Al ser fagocitados, los promastigotes quedan englobados en los fagolisosomas, donde se transforman en la forma amastigote. Estos se multiplican dentro de este compartimiento ácido intracelular y eventualmente lisan las células que los contienen, quedando libres para invadir las células mononucleares adyacentes.

Además de los macrófagos, los neutrófilos, los monocitos y las células de Langerhans pueden ser infectados por los parásitos *Leishmania* (Blank *et al.*, 1993; Scott y Novais, 2016). Estas células dendríticas son las principales células presentadoras de antígenos de la piel. Al captar al antígeno, migran a los ganglios linfáticos más cercanos, donde estimulan a los linfocitos T vírgenes para que se diferencien en linfocitos T efectores y de memoria. Se ha evidenciado que las células dendríticas pueden albergar al parásito en el interior del ganglio linfático por largos periodos de tiempo y de esta manera contribuir en mantener la inmunidad protectora. Sin embargo, en estados de inmunosupresión pueden constituir un foco de reinfección.

Espectro clínico de la leishmaniasis cutánea

La leishmaniasis cutánea americana presenta un espectro de manifestaciones que poseen características clínicas, histológicas e inmunológicas bien definidas. En un extremo se encuentra la leishmaniasis cutánea localizada (LCL), forma resistente que tiende a resolverse espontáneamente. En el extremo opuesto se encuentra la forma más susceptible de la enfermedad: la leishmaniasis cutánea difusa (LCD). Entre ambos están la leishmaniasis cutánea intermedia o cutánea crónica (LCI) y la cutánea mucosa (LCM) (Convit *et al.*, 1972; Convit *et al.*, 1993; Díaz *et al.*, 2002).

La LCL se caracteriza por lesiones dérmicas ulceradas limitadas y ocasionalmente múltiples. Generalmente aparece en el sitio de la picadura del insecto vector. El análisis histológico de la lesión muestra una estructura de granuloma inmunológico, con una marcada infiltración de linfocitos y escasos parásitos. Estos pacientes desarrollan una respuesta inmunitaria eficiente frente al parásito, tal y como se evidencia en las pruebas dérmicas de Montenegro o leishmanina, así como en los ensayos de transformación linfoblástica frente a antígenos de *Leishmania spp.* (Castés *et al.*, 1983). Diferentes especies de los subgéneros *Leishmania* y *Viannia* son los causantes de esta forma de leishmaniasis.

La LCD se caracteriza por nódulos no ulcerados, a menudo diseminados por toda la superficie cutánea; aunque se aplique la terapia adecuada son frecuentes las recidivas. Histológicamente, sus granulomas presentan numerosos macrófagos vacuolados, repletos de parásitos y escasos linfocitos, como consecuencia de una anergia selectiva frente a *Leishmania*, demostrada para estos pacientes en las pruebas *in vivo* e *in vitro* de inmunidad celular contra el parásito (Castés *et al.*, 1983). Solo especies del subgénero *Leishmania* han sido aisladas de las lesiones de esta forma de leishmaniasis tegumentaria (Convit *et al.*, 1993).

La LCM, forma intermedia más estudiada, se manifiesta por la aparición de lesiones destructivas en la cavidad oral, nasal o faríngea, luego de meses o años de la resolución de una lesión localizada (Convit *et al.*, 1993). En el 50 % de los pacientes el granuloma es una mezcla de linfocitos y macrófagos con baja carga parasitaria. En contraste, en la LCI no hay compromiso mucoso y las lesiones pueden ser simples o múltiples de desarrollo atípico, placas, lesiones verrugosas o múltiples úlceras (Zerpa *et al.*, 1999). Los pacientes con LCM desarrollan una respuesta inmunitaria celular frente al parásito exacerbada, la cual se piensa es la mediadora de la patología observada en ellos (Castés *et al.*, 1983; Convit *et al.*, 1993). En cuanto a los pacientes LCI, son positivos a la prueba de Montenegro (Zerpa *et al.*, 1999; Díaz *et al.*, 2002) en la mayoría de los casos con respuestas hiperreactivas (mayor a 20 mm). Parásitos del subgénero *Viannia* son los agentes causales de la LCM, mientras que en los pacientes con LCI se han descrito especies de los subgéneros *Leishmania* y *Viannia*.



Inmunología de la leishmaniasis en modelos experimentales

Los modelos murinos de leishmaniasis han jugado un importante papel en el desarrollo del conocimiento que se tiene sobre los mecanismos inmunológicos asociados con resistencia o susceptibilidad a la enfermedad. El patrón de enfermedad producido por la inoculación de parásitos *Leishmania* en cepas de ratones con diferentes orígenes genéticos puede variar ampliamente, dependiendo de factores determinados genéticamente tanto en el hospedador como en el parásito. La infección de animales resistentes (CBA, CH3 o C57BL/6) con *L. major* o *L. mexicana* produce una lesión, no ulcerada, que cura espontáneamente en 20 a 30 semanas después del reto parasitario.

Estos animales desarrollan respuestas de anticuerpos y de hipersensibilidad tardía (HT) (Grimaldi *et al.*, 1980; Pérez *et al.*, 1979). Los ratones susceptibles, BALB/c, infectados con las mismas cepas de *Leishmania* producen lesiones nodulares que no curan, que evolucionan hacia la visceralización y producción de metástasis. Estos animales no desarrollan respuesta de HT, pero sí producen anticuerpos (Alexander y Phillips, 1978; Alexander y Kaye, 1985; Pérez *et al.*, 1979, Sánchez *et al.*, 1993). Existe consenso en que el modelo de leishmaniasis cutánea experimental producido por *L. mexicana* o *L. major* es un buen modelo para el estudio de la LCL humana. Sin embargo, no parece existir un buen modelo para el estudio de la LCD y la LCM.

Las respuestas inmunitarias mediadas por linfocitos T cooperadores-inductores CD4+ juegan un papel fundamental en la resistencia frente a la leishmaniasis (Scott *et al.*, 1991a). La existencia en el ratón de dos subpoblaciones de linfocitos T CD4+, denominadas Th1 y Th2, caracterizadas por perfiles diferentes de citocinas, ha sido ampliamente confirmada (Mosmann *et al.*, 1986). Estas células juegan un papel fundamental en el desarrollo de infecciones parasitarias. En la leishmaniasis cutánea murina la diferencia entre resistencia y susceptibilidad reside a nivel de la expansión de los linfocitos T CD4+ Th1 o Th2.

La infección de *L. major* o *L. mexicana* de ratones resistentes conduce a la inducción preferencial de linfocitos tipo Th1 que secretan IL-2, IFN γ - y TNF- α , los cuales activan a los macrófagos para la eliminación intracelular de los parásitos, vía la síntesis de óxido nítrico (Liew *et al.*, 1990; Theodos *et al.*, 1991, Díaz *et al.*, 2003). En contraste, la infección con esos mismos parásitos en ratones susceptibles conduce a la activación de linfocitos Th2 productores de IL-4 e IL-10, que regulan en forma negativa la activación de macrófagos (Scott *et al.*, 1989). En la figura 14 se muestra el modelo murino de leishmaniasis cutánea americana, producto de la infección de ratones susceptibles (BALB/c) y resistentes (C57BL/6) con *L. mexicana* cepa MHOM/BZ/82/BEL21 y la respuesta de linfocitos T predominante.

Varios factores han sido implicados en lo que puede conducir a un linfocito T CD4+ a diferenciarse en Th1 o Th2 luego de la infección leishmánica: 1) el tipo de células presentadoras de antígeno (Rossi-Bergmann *et al.*, 1993); 2) Los valores de citocinas endógenas (Heinzel *et al.*, 1994; Scott, 1991b) y 3) la naturaleza del antígeno reconocido (Scott, 1989).

Por su parte, los linfocitos T CD8+ también han sido divididos en dos subpoblaciones funcionales, basadas en su patrón de secreción de citocinas (Bloom *et al.*, 1992; Scott y Novais, 2016). Existen evidencias de que las células T CD8+ también pueden contribuir a la resolución de la leishmaniasis cutánea mûrida, sugiriéndose que su efecto protector puede estar ligado a su habilidad para producir IFN- γ .



Figura 14. Modelo mûrido de la leishmaniasis cutánea americana.

Inmunología de la leishmaniasis humana

La respuesta inmunitaria en humanos con LTA es más compleja que la caracterizada en los modelos experimentales. Sin embargo, diferentes estudios realizados por numerosos grupos de investigación, han caracterizado diferentes patrones de respuesta inmunológica a lo largo del espectro de la LTA.

La respuesta inmunológica cutánea

La piel es una parte importante del sistema inmunológico y donde ocurren una serie de respuestas complejas. Por esta razón, la piel ha sido considerada como un órgano inmunológico autosuficiente, compuesto de células inmunocompetentes (ej. células de Langerhans o células dendríticas epidérmicas, queratinocitos y linfocitos T); la unidad perivascular dérmica (ej. células endoteliales, pericitos vasculares, linfocitos T, mastocitos y dendrocitos dérmicos); y citocinas interactuantes y quimocinas (Tapia *et al.*, 1996).



Los dos tipos de células presentadoras de antígeno (CPA) localizadas en la epidermis son las células de Langerhans y los queratinocitos. Las células de Langerhans son miembros de la familia de células dendríticas y son las CPA presentes en la epidermis y en otros epitelios estratificados.

En contraste, los queratinocitos solo se transforman en células inmunocompetentes activas después de un estímulo cutáneo (Auböck *et al.*, 1986; Breathnach *et al.*, 1983). Ambos grupos celulares participan en la generación del proceso inflamatorio expresando moléculas clase II del complejo principal de histocompatibilidad (MHC-II) y moléculas de adhesión, ambas necesarias para la migración y retención de las células inflamatorias (Auböck *et al.*, 1986; Breathnach *et al.*, 1983; Tapia *et al.*, 1996). Las células de Langerhans y los queratinocitos también producen citocinas, que pueden contribuir con la migración de linfocitos T epidermotrópicos. Estas citocinas incluyen la IL-1, IL-6, IL-8, factor estimulador de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF), factores de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y beta (TNF- β) (Nickoloff, 1988). Además, recientemente se ha podido demostrar que los queratinocitos son capaces de presentar antígenos a linfocitos T en una forma MHC-II restringida, aumentando así su contribución a la inmunidad celular local (Mutis *et al.*, 1993). Estas evidencias asignan un papel importante a la epidermis en la iniciación de los procesos inflamatorios.

Los procesos de inmunorregulación en piel ocurren en tres fases: reclutamiento, retención/proliferación y recirculación (Nickoloff, 1988). La fase de reclutamiento involucra la extravasación de leucocitos a través de la unidad perivascular dérmica y la subsecuente migración de estas células hacia la epidermis. La fase de retención/proliferación comprende la interacción entre células de Langerhans, queratinocitos, linfocitos T epidermotrópicos y citocinas, y la subsecuente proliferación de linfocitos T y formación de un granuloma o infiltrado dérmico. La fase de recirculación es activada después de la eliminación de la injuria cutánea, e involucra la bajarregulación de señales accesorias provenientes de las células de Langerhans y los queratinocitos. Los procesos de inmunorregulación pueden ser afectados por factores como la naturaleza del antígeno, las CPA epidérmicas, los linfocitos T efectores y las citocinas. Nickoloff (1988) muestra cómo los defectos en las señales accesorias de la epidermis conducen al desarrollo de procesos inflamatorios en piel, y propone tres modelos de la enfermedad activa en piel: 1) El modelo citotóxico, en el cual se da la fase efectora de la respuesta inmunitaria, característico de LCL; 2) El modelo tolerogénico, caracterizado principalmente por la falta de participación del queratinocito como célula inmunocompetente accesoria, lo cual promueve un estado de anergia selectiva, característico de LCD; y 3) El modelo proinflamatorio, caracterizado por estancamiento de células inflamatorias en piel como consecuencia de pocas señales accesorias por parte de las células de Langerhans y excesiva expresión de ICAM-1 por los queratinocitos, característico de LCM.

Respuesta inmune periférica

La forma LCL se asocia con el predominio de respuestas de tipo Th1. Las células mononucleares (CMN) de estos pacientes, cultivadas en presencia de antígenos crudos de *Leishmania spp.* Evidencian un incremento en la expresión del receptor para la IL-2 (CD25+) y en la producción de IFN- γ (Rada *et al.*, 1987; Castés *et al.*, 1988). También se han determinado concentraciones significativas de TNF- α y de óxido nítrico (NO) en el suero de estos individuos (Castés *et al.*, 1993; Cabrera *et al.*, 2003). En un estudio reciente, se evidenció un incremento significativo en el porcentaje de linfocitos T CD4+ t-bet+. Este último es un factor de transcripción que permite la identificación de linfocitos T CD4+ Th1 (Rodríguez *et al.*, 2012). El IFN- γ y el TNF- α , producto de la respuesta Th1, actúan en sinergia para promover la activación óptima de los macrófagos para eliminar al parásito *Leishmania* mediante la activación de iNOS (óxido nítrico sintasa). El NO puede difundir a través de las membranas celulares y de esta manera promover la eliminación de los parásitos dentro de las células que están produciendo NO, así como en las de las células vecinas (Scott y Novais, 2016). Además, se ha demostrado en esta forma de la LTA la presencia de otro subtipo de linfocitos T: los Th17. Un estudio realizado por Bacellar y colaboradores en Brasil (2009) evidenció la producción significativa de IL-17 por parte de las CMN (células mononucleares) de pacientes estimuladas con antígenos solubles de *L. braziliensis*. En estudios recientes hemos detectado en sangre periférica la presencia de linfocitos T CD4+ ROR γ t y concentraciones significativas de IL-22 (factores relacionados con linfocitos Th17), todo ello sugiere la coexistencia de linfocitos Th17 con Th1, que conducen a la eliminación del parásito y al control de la infección (Rodríguez *et al.*, 2012; Cabrera *et al.*, 2015).

Diferentes estudios de la inmunidad periférica en la forma susceptible, LCD, han revelado el predominio de respuestas de tipo Th2 en ellos. En ese sentido, se demostró que los linfocitos de estos pacientes eran incapaces de expresar el receptor para la IL-2 y producir IL-2 e IFN- γ (marcadores de activación y proliferación celular). En respuesta al antígeno de *Leishmania* (Rada *et al.*, 1987; Castés *et al.*, 1988). Sin embargo, estas células sí podían activarse efectivamente frente a un antígeno no relacionado con el parásito como el PPD y la PHA, mitógeno de células T. También se han detectado en estos pacientes altos niveles séricos de IL-5 (Castés *et al.*, 1996). En estudios posteriores se demostró que una alta proporción de pacientes con LCD (52 %) se asoció con niveles moderados de TNF- α y de óxido nítrico en el suero, los cuales no contribuyen con la curación de las lesiones (Castés *et al.*, 1993). Más recientemente, pudimos evidenciar en estos pacientes una producción significativa de citocinas reguladoras (IL-10 y TGF- β) por parte de linfocitos de sangre periférica estimulados con antígenos crudos de *Leishmania spp.*, lo cual podría explicar en parte la supresión de la respuesta celular contra el parásito observada en los mismos (Terán-Ángel *et al.*, 2010).



Además, en LCD se observan títulos elevados de anticuerpos en comparación con las otras formas de leishmaniasis cutánea. Ulrich y colaboradores (1995) demostraron el predominio de IgG4 *Leishmania* específicas en un alto porcentaje de pacientes con LCD. Otras investigaciones han evidenciado concentraciones significativas del receptor soluble de baja afinidad para IgE (sCD23), así como IgE total y anti-*Leishmania spp.* en el suero de estos pacientes. Estos anticuerpos IgG4 e IgE se relacionan con la IL-4, no son protectores y reflejan el predominio de una respuesta de tipo Th2 en esta forma polar de la LTA (Cabrera *et al.*, 2003). Es posible que algunos factores, como el componente genético del huésped y la especie del parásito, pudieran estar involucrados en la susceptibilidad para desarrollar LCD.

Los pacientes que conforman el área intermedia del espectro de la LTA (LCM y LCI) presentan una fuerte respuesta mediada por células. Si bien los estudios realizados en las lesiones de ambas formas de la enfermedad han mostrado la coexistencia de respuestas de tipo Th1 y Th2 (Cáceres-Ditmar *et al.*, 1993); los ensayos en sangre periférica han documentado la exacerbación de la respuesta Th1 en estos pacientes con LCM (Bacellar *et al.*, 2002). Los leucocitos de estos individuos expresan en forma elevada el receptor para la IL-2 y producen altas concentraciones de IFN- γ en respuesta a los antígenos crudos de *Leishmania spp.* Ellos también tienen elevadas concentraciones séricas de TNF- α e IL-5 y una baja producción *in vitro* de IL-10 frente al parásito (Castés *et al.*, 1993; Cabrera *et al.*, 2000; Bacellar *et al.*, 2002). También hemos observado una significativa proporción de linfocitos T reguladores (CD4+FoxP3+) en sangre periférica (Rodríguez *et al.*, 2012). Sin embargo, se ha demostrado una disminución en la expresión de los receptores de la IL-10 (Faria *et al.*, 2009), por lo cual esta citocina está limitada en su función reguladora de la respuesta inflamatoria presente en estos pacientes.

Además, se ha demostrado una elevada producción *in vitro* de IL-17 por parte de las CMN de pacientes con LCM en respuesta al antígeno soluble de *L. braziliensis* (Bacellar *et al.*, 2009). Posteriormente, Boaventura y colaboradores (2010) evidenciaron un considerable infiltrado de neutrófilos y citocinas relacionadas con las células Th17 en lesiones de pacientes LCM, presumiblemente mediando daños tisulares por la acción de los neutrófilos y la liberación de proteinasas. En apoyo a estas observaciones, en los pacientes LCM demostramos tanto *in vivo* como *in vitro* una elevada respuesta de IL-6 y TGF- β , citocinas relacionadas con la diferenciación de los linfocitos T al fenotipo Th17 (Wilson *et al.*, 2007). Recientemente, el grupo evidenció un significativo porcentaje de neutrófilos en muestras de secreción nasal de pacientes con LCM, acompañado de concentraciones séricas significativas de CXCL8 (IL-8), la cual es quimioatrayente de los neutrófilos (Lugo *et al.*, 2014).

En contraste con la forma de LCM de la LTA, la respuesta inmunitaria en los pacientes con LCI ha sido menos estudiada en sangre periférica. A nivel sistémico observamos en estos individuos una concentración sérica

significativa de IFN- γ respecto a los individuos sanos, acompañado de una baja concentración de óxido nítrico, mientras que en respuesta a *L. braziliensis*, las CMN de estos pacientes mostraron una producción significativa de IFN- γ , pero inferior a la producida por las CMN de los sujetos con LCM. Bajo estas mismas condiciones experimentales, la IL-2 y el TNF- α estuvieron disminuidos en ellos (LCI) con respecto a los LCM. Rodríguez y colaboradores (2012) evidenciaron la presencia de linfocitos CD4+ tbet+ y CD4+ROR γ t en muestras de sangre periférica de individuos con esta forma clínica de LTA, lo cual sugiere la coexistencia de linfocitos T de tipo Th1 y Th17. En cuanto a las citocinas reguladoras, la producción *in vitro* de las mismas fue disminuida en el caso de TGF- β o ausente en cuanto a la IL-10 (Terán-Ángel *et al.*, 2010).

En los casos de LD, a pesar de que no se ha esclarecido la patogénesis, estudios han demostrado la ausencia de respuesta inmune mediada por células, con disminución en las células T CD4+ en sangre periférica, con una ausencia de respuesta por parte de estas células al antígeno de *leishmania*, con una baja producción de IFN- γ , TNF- α , IL-5 e IL-10. Esta disminución en la respuesta de células T y la producción anormal de quimiocinas puede estar asociada a la difusión del parásito en estos pacientes (Ortega-Moreno *et al.*, 2014b).

Perspectivas

Al ser la leishmaniasis una enfermedad transmitida por vectores, la dolencia (desde el punto de vista del parásito *Leishmania*) es tan eficiente que se ha constituido en un modelo de infección con manifestaciones clínicas, parasitológicas e inmunológicas ideales para comprender la relación entre cualquier patógeno y su huésped mamífero.

La alta densidad y variabilidad de las Leishmanias y sus vectores, aunado al cambio climático y la creación de nuevos urbanismos en el hábitat de los vectores, señalan lo lejos que están las soluciones efectivas para el control de esta enfermedad. Comprender la inmunopatogénesis de la enfermedad ciertamente permitirá elaborar nuevos esquemas terapéuticos y vacunas.



Inmunopatogenia de la Leishmaniasis Visceral

Usualmente, la leishmaniasis visceral se inicia cuando un flebótomo hembra infectado pica a un hospedero susceptible. Se han reportado pocos casos en que la enfermedad haya sido transmitida por transfusiones sanguíneas, relaciones sexuales o a través de la placenta, durante el embarazo. Potentes vasodilatadores –como la maxadilan–, producidos por los flebótomos, facilitan el inicio de la infección cutánea local. Hay cierta evidencia de que la *L. chagasi* (= *L. infantum*) no activa significativamente los mecanismos de quimiotaxis e inflamación cutánea local. Esta característica, más otras particularidades intrínsecas del parásito (por ejemplo, óptima temperatura para su replicación), conduce a una patología sistémica, en contraste con lo que ocurre con las Leishmanias dermatóricas.

Las formas promastigotes metacíclicas o infectantes son susceptibles a mecanismos líticos (complemento) presentes en el suero. Por lo tanto, su sobrevivencia depende de la fagocitosis por células macrófagas. La activación de la cascada del complemento, con deposición de sus componentes en la superficie del parásito, facilita la fagocitosis mediante receptores en la membrana de los macrófagos. Una vez fagocitados por macrófagos, los parásitos se convierten rápidamente en las formas aflageladas o amastigotes, muy resistentes a las condiciones ácidas intracelulares, y se inicia la replicación intracelular del parásito por fisión binaria.

Igualmente, hay fagocitosis de *Leishmania* por células dendríticas cutáneas, pero aparentemente sin multiplicación significativa de los parásitos en estas. Es probable que las células dendríticas jueguen un papel fundamental en la elaboración de antígenos de *Leishmania*, dando inicio a una respuesta inmunológica específica que determinará las consecuencias de la infección cutánea inicial. Si la respuesta inmunológica es de tipo Th1, los linfocitos CD4+ específicos producen mediadoras (por ejemplo, interferón gamma) que activan los macrófagos y otros componentes de la inmunidad mediada por células, proceso que conduce a la muerte de los parásitos y a la curación o a la limitación de la enfermedad a un proceso subclínico que puede durar muchos años. En cambio, el desarrollo de una respuesta Th2 favorece la síntesis de anticuerpos, pero estos no destruyen los parásitos intracelulares. La interleuquina-10, producida durante una respuesta Th2, también inhibe el desarrollo de una respuesta eficaz de activación macrófagica.

Si no hay una respuesta inmunológica Th1 vigorosa que active los macrófagos y elimine los parásitos en la lesión cutánea inicial, los macrófagos infectados se diseminan por todo el cuerpo y la infección se establece en el sistema reticuloendotelial, sobre todo en el bazo, hígado (células de Kupffer), médula ósea y ganglios linfáticos, donde hallan condiciones óptimas para establecerse e iniciar el proceso patológico. La división de las células macrófagicas in situ, el reclutamiento de otras células, la hiperplasia y la multiplicación de

células plasmáticas contribuyen a la formación de granulomas y al aumento del tamaño de los órganos afectados (hepatomegalia y esplenomegalia), secuestro de glóbulos rojos en el bazo y otros trastornos de estructura y función. La hiperplasia de macrófagos en la médula ósea favorece la pancitopenia característica de la enfermedad. La síntesis de grandes cantidades de anticuerpos conduce a la formación de inmunocomplejos asociados con glomerulonefritis. La patología sistémica conduce a la muerte a un 90 % de los pacientes no diagnosticados o tratados oportunamente.

La prueba cutánea con leishmanina mide la hipersensibilidad retardada, una de las manifestaciones de la reactividad inmunológica Th1. Esta prueba es negativa durante la LV activa, pero se torna positiva unos meses después del tratamiento y curación clínica del paciente. Esta observación demuestra que la reacción Th2 arriba descrita es transitoria, y no persiste sino en presencia de un gran número de parásitos. No se conocen con certeza los factores que favorecen el desarrollo de una reacción Th1 o Th2 inicial, pero el estado de nutrición, la intensidad de la exposición al parásito y la presencia de otras infecciones intercurrentes han sido mencionados como factores de riesgo.

Se estima que puede haber entre treinta y cien casos subclínicos de LV por cada caso clínico. Este estimado tiene como base fundamental la constatación de reacciones positivas frente a la leishmanina sin manifestación clínica alguna (Desjeux, 1996), lo cual sugiere que existen al menos tres respuestas frente a la infección: algunas personas son excepcionalmente susceptibles y desarrollan la enfermedad, otras posiblemente son totalmente resistentes, y otras demuestran cierta resistencia que permite mantener la infección subclínica durante un largo período de tiempo. Cualquier inmunodeficiencia significativa en el último grupo, la infección con HIV, puede conducir a la activación de la enfermedad.



MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO





Generalidades sobre los Métodos de Diagnóstico

Diagnóstico de leishmaniasis cutánea americana

El diagnóstico se realiza desde dos puntos de vista:

1. **Diagnóstico presuntivo:** basado en los datos clínicos, inmunológicos y epidemiológicos.
2. **Diagnóstico definitivo:** con base en exámenes de laboratorio, que son determinantes para la aplicación del tratamiento específico, el cual se realiza a través de métodos directos.

El diagnóstico presuntivo orienta en cuanto a si se está o no frente a un caso de LCA y qué procedimientos técnicos se deben emplear para alcanzar el diagnóstico definitivo.

Los aspectos clínicos están basados en la descripción clínica de la lesión, el criterio inmunológico se basa en los resultados obtenidos con la aplicación de la prueba inmunológica de hipersensibilidad retardada (prueba de Montenegro o Leishmanina: LEM-279; $6,25 \times 10^6$ parásitos/mL; Instituto de Biomedicina). Esta prueba cutánea solo se aplica a los pacientes que tengan lesión o lesiones con uno (1) o más meses de evolución. Su lectura se realiza a las 48 horas.

Para la OMS se considera una prueba reactiva cuando el diámetro de la induración es igual o mayor a 5 mm; sin embargo, en Venezuela se ha observado un grado de sensibilidad a la prueba de leishmanina desarrollada en el Instituto de Biomedicina con induraciones iguales o mayores a 10 mm (dependiendo de la forma clínica) en los pacientes con LCA, siempre que la misma sea aplicada al mes de evolución de la aparición de la lesión inicial.

Estos resultados deben ser interpretados tal como se describe y NUNCA deben ser tomados como diagnóstico definitivo de leishmaniasis, la prueba de leishmanina se utiliza como herramienta de apoyo en el diagnóstico y en estudios epidemiológicos para determinar el contacto previo con el parásito; **sin embargo, no permite la distinción de infecciones actuales de infecciones anteriores.**

Los aspectos epidemiológicos serán orientadores en el diagnóstico y por tanto deben ser investigados de manera minuciosa, y están dirigidos hacia las zonas endémicas donde posiblemente se infectó la persona.

El diagnóstico definitivo se realizará por medio de la visualización del agente causal, ya sea en su forma de amastigote o de promastigote, a través de métodos directos. Son varios los procedimientos que se pueden efectuar para alcanzar este diagnóstico; sin embargo, solo se aceptará como

diagnóstico parasitológico definitivo la observación de los parásitos bien sea de las formas **amastigotas** en frotis o de **promastigotes** en medios de cultivo.

La sensibilidad de los métodos directos de demostración del parásito varía del 60 al 95 % en cultivos y frotis, respectivamente, en pacientes con leishmaniasis cutánea localizada y es del 100 % en los pacientes con leishmaniasis cutánea difusa. Cuando no se consiga la visualización del protozoo por estas técnicas se pueden utilizar los métodos indirectos, que son técnicas más sofisticadas que requieren ser procesadas en centros de referencia.

En caso de ser imposible la confirmación parasitológica, el diagnóstico debe ser establecido reuniendo varios de los siguientes criterios: el paciente procede de un área endémica, la clínica es altamente sugestiva de leishmaniasis, la biopsia de piel reporta la presencia de un granuloma por agente vivo, la leishmanina es positiva (mayor de 10 milímetros) y se descartan otras enfermedades granulomatosas.



Aplicación de Pruebas Cutáneas (Leishmanina)

Tanto el procedimiento de aplicación como el de lectura de leishmanina y PPD (derivado proteico purificado, por sus siglas en inglés) son similares, solo varían en el lugar en que son aplicadas. Para efectos del Programa Control de Leishmaniasis en Venezuela, la leishmanina se aplica en el antebrazo izquierdo y cuando sea necesario aplicar la prueba de PPD, esta se colocará en el antebrazo derecho, recordando que el PPD es una prueba cutánea empleada para tuberculosis y que se colocará únicamente en caso de utilizarse la inmunoterapia como tratamiento de elección.

El lugar exacto de aplicación de ambas pruebas es la región media, en la cara anterior de su correspondiente antebrazo, a una distancia aproximada de 4 traveses de dedo del pliegue anterior al codo.

Solo en aquellos casos en que por cualquier motivo no se pueda usar uno de los antebrazos se aplicarán las pruebas en el disponible, aplicando una en el lugar habitual y la otra 4 traveses de dedo por debajo de ella. Esto debe ser escrito de forma muy clara para evitar confusiones a la hora de la lectura.

Estas pruebas consisten en tomar 0,1 ml de la solución correspondiente con una inyectora de tuberculina con aguja 25G y por vía intradérmica aplicarla en el lugar antes descrito, garantizando la formación de una pápula pálida similar a la corteza de una naranja redondeada (figura 15). Para lograrlo se introduce la aguja con el bisel hacia arriba, lo más superficial que se pueda, y manteniendo la aguja en esa posición se introduce lentamente el líquido. Se deben emplear inyectoras desechables, una por paciente y por prueba, y el volumen muerto que quede en la inyectora (aproximadamente 0,05 ml) se debe desechar. La lectura del resultado de esta prueba se realizará 48 horas después de la aplicación.



Figura 15. Aplicación de la prueba intradérmica – leishmanina.

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

El procedimiento de lectura se realizará a través de la técnica del bolígrafo, que permite medir la induración mas no el eritema que normalmente se forma. Esta técnica consiste en colocar un bolígrafo en un punto distante (1-2 cm) del borde externo de la reacción cutánea, que previamente se ha visto y palpado. El bolígrafo debe estar colocado en un ángulo de aproximadamente 45 grados sobre la piel y desplazarlo hacia el centro de la reacción cutánea ejerciendo moderada presión. En cuanto se advierta resistencia al avance se debe detener el bolígrafo (esto indica el borde de la reacción). Se repite esta operación en el lado contrario y luego dos veces más en un eje perpendicular al primero. Esto nos permite medir tanto el diámetro horizontal como el vertical, midiendo la distancia que existe entre los bordes internos y opuestos de las 4 líneas, realizadas con regla calibrada en milímetros. Se reporta primero el diámetro horizontal seguido del diámetro vertical, ambos expresados en milímetros (mm) (figura 16).



Figura 16. Lectura de prueba intradérmica – leishmanina a las 48 horas.
Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».



Leishmanina: preparación y constitución

La leishmanina utilizada en Venezuela en el Programa Control de la Leishmaniasis es un producto hecho en el país con base en la cepa LEM- 279 $6,25 \times 10^6$, la cual está tipificada en el Centro Nacional de Referencia sobre Leishmaniasis por el profesor Jean Pierre Dedet, de la Universidad Montpellier en Francia, laboratorio de Parasitologie, Mycologie and Immunologie Parasitaire. De los resultados emanados de dicho laboratorio, el parásito identificado es de la especie *Leishmania mexicana pifanoi* (figura 17).



Figura 17. Leishmanina utilizada en Venezuela en el Programa de Control de la Leishmaniasis es un producto hecho en el país con base en la cepa LEM- 279 $6,25 \times 10^6$

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

Estos parásitos se cultivan en un medio líquido esencial mínimo (MEM) suplementado con suero fetal al 2,5 %. Se recolectan una vez crecidos y se realiza el conteo ajustándolo a una concentración de $6,25 \times 10^6$ parásitos por ml, se envasan en frascos color ámbar, en volúmenes de 3,0 ml, y estos se esterilizan por autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante 20 minutos, realizando en cada uno de estos pasos el control micológico y microbiológico, obteniendo un producto de parásitos inactivados por autoclave libre de otros patógenos.

Este producto es mantenido entre 4 a 8° desde el momento de su producción hasta el momento de uso. Cada frasco rinde un total aproximado de unas 25 dosis. Para Venezuela el laboratorio encargado de la producción de la leishmanina es el laboratorio de Bioquímica-Producción de Vacunas ubicado en el Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».

Interpretación de los resultados de la Leishmanina

En los casos de leishmanina menor de 5 milímetros

1. Verificar el tiempo de evolución de las lesiones. Si es menor de un mes el resultado es esperable. Si es mayor de un mes se debe pensar en la posibilidad de otro diagnóstico. Reevaluar los aspectos clínicos, inmunológicos y epidemiológicos ante la posibilidad de que se trate de una LCD.
2. Verificar si el producto (leishmanina) está en buen estado, si se ha conservado la cadena de frío y si no existieron inconvenientes en el momento de su aplicación.

En los casos de leishmanina con valores entre 5 y 20 milímetros

1. Si la lesión permanece activa y es compatible con LC, se corroborará con el resultado parasitológico.
2. Si no se alcanza un diagnóstico parasitológico positivo de una lesión activa, se revisará nuevamente al paciente buscando lesiones antiguas compatibles con LC que expliquen la positividad de la leishmanina, y se evaluarán los aspectos epidemiológicos, tales como tiempo de residencia prolongada en áreas endémicas que pudiesen explicar infecciones subclínicas capaces de despertar una respuesta inmune celular. Evaluar por histopatología otros posibles diagnósticos.
3. Si clínicamente se sospecha de otra etiología, realizar los exámenes necesarios para corroborarla.

En los casos de leishmanina mayor de 20 milímetros (21 milímetros o más)

1. Si se tiene el diagnóstico parasitológico y se trata solo de una lesión cutánea, se realizarán evaluaciones mensuales con énfasis en la esfera de otorrinolaringología por la posibilidad de desarrollo de lesión mucosa, en especial si se trata de pacientes provenientes de áreas endémicas de LCM.
2. Si no se tiene un diagnóstico parasitológico (frotis o cultivo positivo) de la lesión cutánea, reevaluar la clínica y realizar la biopsia para histopatología que permita corroborar el diagnóstico de LCL, LCI u otro diagnóstico. Examen minucioso de la esfera de otorrinolaringología por la posible coexistencia de la lesión cutánea con una lesión mucosa (tabla 2).

**Tabla 2. Interpretación de los resultados – Leishmanina a las 48 horas.
Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».**

VALOR DE LA LEISHMANINA (milímetros)	INTERPRETACIÓN
Menor de 5	Negativa
Mayor o igual a 5	Indica respuesta de inmunidad celular
Entre 10 y 20	Positiva
Entre 21-30	Hiperreactor



Condiciones previas para la realización de exámenes diagnósticos

Lesión libre de infección secundaria

En los casos en que el paciente asista a su primera consulta presentando una lesión libre de infección secundaria, los exámenes diagnósticos podrán ser realizados ese mismo día.

Lesión infectada secundaria

Si, por el contrario, se presenta un paciente con lesiones infectadas secundariamente, es recomendable que se le indique tratamiento durante un periodo de 10 a 15 días previos a la toma de la muestra para cualquier estudio diagnóstico. Este tratamiento dependerá del grado de infección secundaria que presente la lesión y a tal efecto, se clasificarán en lesiones con infección secundaria leve, moderada y grave.

1. Infección leve

En estos casos se indicará el aseo local de la lesión, tres (3) veces al día, utilizando una solución antiséptica, de preferencia yodada. de no poder emplearse este tipo de solución se recomendará alguna otra disponible.

2. Infección moderada

En estos casos se indicará el aseo local más un antimicrobiano tópico tal como Bacitracina o Protosulfil, o el que se encuentre disponible.

3. Infección grave

En estos casos se indicará el aseo local, un antimicrobiano tópico y la antibioticoterapia oral. Esta última da buenos resultados con trimetoprim-sulfametoazol a las dosis habituales. Por lo tanto, el tratamiento se debe iniciar con este medicamento, siempre y cuando no existan contraindicaciones.

En los casos de infección grave, en la medida en que sea posible, se realizará cultivo y antibiograma de una muestra de la lesión que se está considerando. Si el trimetoprim-sulfametoazol no da los resultados deseados, se indicará un nuevo tratamiento de acuerdo con el resultado del antibiograma.

Una vez mejoradas las condiciones de la lesión o lesiones se procederá a realizar el procedimiento diagnóstico indicado.

El día que se vaya a realizar el examen se debe escoger, en caso de existir varias lesiones, aquella que tenga menos tiempo de evolución, con menos signos de infección y que presente áreas de infiltración considerables. Antes de proceder a la toma de la muestra se debe realizar un aseo local adecuado.

Métodos directos para el diagnóstico de la leishmaniasis cutánea americana

Los métodos directos son aquellos que permiten aislar los parásitos y visualizarlos a través de muestras de tejidos obtenidos de las lesiones del paciente mediante diferentes métodos: frotis, histopatología o cultivo.

Frotis

Es una muestra que se toma de las lesiones de pacientes con leishmaniasis, consiste en tomar una capa muy fina de tejido de la lesión, extendiéndola sobre una lámina portaobjeto para posteriormente teñirla con una coloración adecuada y analizarla en el microscopio.

El material destinado al frotis puede ser colectado por diferentes procedimientos, por lo tanto, se pueden realizar tres tipos de frotis:

- A. Frotis por escarificado
- B. Frotis por aposición
- C. Frotis por linfa

Los dos primeros tipos se realizan en todas las lesiones abiertas tipo úlceras, mientras que el último estará indicado en casos de lesiones cerradas, tipo placa o nódulos.

A. Frotis por escarificado

Para la realización del frotis por escarificado se debe emplear una hoja de bisturí nro. 15, raspando suavemente el área ulcerada limitante con el borde infiltrado (figura 18). El material obtenido se extiende sobre la lámina portaobjeto en una capa delgada, evitando restos de secreciones y sangre (figura 19).



Figura 18. Toma de frotis por escarificado.
Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»



Figura 19. Extendido de material de lesión sobre la lámina porta objeto.
Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

El examen directo (frotis por escarificado) es la prueba más sensible para el diagnóstico de la leishmaniasis, con una sensibilidad entre un 88 % y un 90 % (Zerpa O *et al.*, 2002), además, por ser un método sencillo, se recomienda ampliamente para los programas de control; sin embargo, deben considerarse algunos factores para mejorar la calidad y la sensibilidad de esta técnica, por lo que se recomienda:

- No realizarlo en los casos de infección de las lesiones: se deberá tratar inicialmente con antibioticoterapia (ver apartado de Condiciones previas para la realización de exámenes diagnósticos).
- Esta técnica es más sensible en pacientes con un periodo de incubación menor a 3 meses: a mayor tiempo de evolución menos probabilidad de observar Leishmanias.
- No se debe emplear en los casos de lesiones mucosas: la toma de muestras de tejido oral o nasal deberá realizarla un especialista en otorrinolaringología.
- El frotis debe ser revisado por personal capacitado en la observación microscópica de formas amastigotas de *Leishmanias*.

IMPORTANTE: en pacientes con características sugestivas de leishmaniasis cutánea que reporten un frotis inicial negativo pero que persistan con las lesiones, procedan de zona endémica y con leishmanina positiva, se podrá repetir esta técnica por lo menos en una ocasión más. En caso de dar negativo el segundo frotis se deberá tomar una biopsia o pensar en otro diagnóstico, ya que hay casos que no presentan las formas parasitarias y son confirmados por la presencia de un granuloma por agente vivo, por lo que la toma de un tercer frotis es innecesaria.

B. Frotis por aposición

El frotis por aposición se realiza en aquellos casos en que se practica la toma de biopsia. Consiste en comprimir suavemente el fragmento tomado de la lesión entre la hoja de bisturí y la lámina portaobjeto. De esta forma, se adhiere parte del tejido a la lámina para su posterior estudio.

La sensibilidad del frotis por aposición es menor en comparación con el frotis por escarificado, debido mayormente al manejo de la muestra durante el proceso de aposición.

C. Frotis por linfa

Se realiza en lesiones cerradas, empleando una hoja de bisturí nro. 15 y una pinza. Se localiza el área más infiltrada de la lesión y con la pinza se presiona a ambos lados, realizando la isquemia hasta que la zona se torne pálida. Posteriormente, con el bisturí se hace una pequeña incisión de unos 5 mm de largo por 2 mm de profundidad, se raspa el área abierta con el borde del bisturí y el material obtenido se coloca suavemente sobre la lámina portaobjeto.

Indistintamente del procedimiento que se emplee para tomar la muestra, la misma debe secarse a temperatura ambiente para ser fijada con metanol hasta que este se evapore, luego teñirla con Giemsa para finalmente ser observada bajo microscopio óptico con objetivo 100X de inmersión.

Procedimiento para la preparación e identificación de las láminas a emplear en los frotis

A. Procedimiento de limpieza

Las láminas portaobjeto, cualquiera que sea su marca comercial, traen una serie de impurezas en su superficie que deben ser eliminadas para que a la hora de realizar un frotis sea de la mayor calidad posible. Puede limpiarse con alcohol al 70 %.

B. Procedimiento de Identificación

Es importante recordar que durante el procedimiento de identificación de las láminas no se les deben colocar los dedos encima, ya que se depositaría grasa, disminuyendo la calidad de la muestra que se toma. Esto puede evitarse si en todo momento se manipula la lámina a través de una gasa.

La identificación de la lámina se debe realizar por medio del empleo de un lápiz punta de diamante y se debe evitar en todo momento el uso de adhesivos y marcadores, ya que, al momento de fijar la muestra con metanol, puede desvanecerse y dificultar su identificación.



La identificación se debe realizar bajo el siguiente esquema:

ESC / AP	
NOMBRE	LOCALIDAD
APELLIDO	FECHA

Frotis por escarificado (ESC) o aposición (AP)

L1 L2	
NOMBRE	LOCALIDAD
APELLIDO	FECHA

Para tomar frotis por escarificado proveniente de diferentes lesiones

Figura 20. Identificación de la lámina con los datos del paciente.
Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

Nota: La línea central que divide los dos (2) tipos de frotis debe ser muy corta para evitar fracturar las láminas.

Método de coloración con Giemsa para la visualización de amastigotes en frotis (aposición, escarificado, linfa)

Para la obtención de una lámina de buena calidad que permita realizar un fácil diagnóstico en leishmaniasis es imprescindible seguir, en primer lugar, las recomendaciones referentes a la preparación de la lámina y las recomendaciones dadas dentro de las pautas para la toma del frotis.

Una vez obtenida la lámina, bien identificada y con material de buena calidad, independientemente del tipo de frotis que se haya realizado (escarificado, aposición, linfa), se debe dejar secar a temperatura ambiente. Seguidamente se cubrirá totalmente la lámina con metanol absoluto, dejándola secar hasta que el metanol se evapore totalmente. Este proceso de fijación con metanol se debe realizar a la mayor brevedad posible, no deben transcurrir más de 4 horas desde el momento de la toma de la muestra. Una vez seca, la lámina se encuentra ya lista para ser coloreada con Giemsa.

Preparación de la solución para la coloración

El colorante de Giemsa viene en una solución concentrada. En cantidades no mayores de 250 mililitros, debe ser filtrado previamente y almacenado en un frasco ámbar. Esta solución filtrada será la utilizada para el proceso de coloración. Si han transcurrido dos meses y no ha sido utilizada completamente debería ser filtrada otra vez para poder emplearla de nuevo.

La solución filtrada de Giemsa debe ser diluida en un buffer pH 7 para coloración. Si bien lo ideal es contar con la solución de buffer para coloración, en caso de dificultad para disponer de esta solución se puede sustituir por agua, bien sea destilada o de grifo, pero con un pH lo más cercano posible a 7.

La solución de coloración se prepara según las siguientes instrucciones:

Utilizar el colorante con las recomendaciones del fabricante, teniendo en cuenta el tiempo y la concentración estandarizada al utilizar cada lote. Ej: solución de Giemsa al 3 % (3 ml de buffer + 2 a 4 gotas de solución madre de Giemsa por lámina), agregar el colorante y evitar que queden burbujas en la muestra. Colorear por 15 minutos.

Actualmente se utiliza una dilución de 4 ml de buffer (o agua) y 2 gotas por cada ml por lámina.

Procedimiento de coloración

Se debe buscar un lugar adecuado para realizar este procedimiento. Puede ser un área provista de un grifo de agua y un vertedero de desechos líquidos (figura 21).



Pasos a seguir para la coloración de Giemsa

1. Se coloca la lámina fijada y seca de forma horizontal.
2. Con una pipeta se añade suficiente volumen de la solución diluida de Giemsa como para que la lámina quede totalmente cubierta.
3. Se dejan transcurrir 15 minutos.
4. Se lava la lámina con agua de grifo, evitando que el chorro caiga directamente sobre la muestra.
5. Se colocan las láminas en una gradilla inclinándolas hasta secar a temperatura ambiente.
6. Finalmente se observa al microscopio óptico con objetivo de inmersión (100 X) para la búsqueda de amastigotes de *Leishmania*.

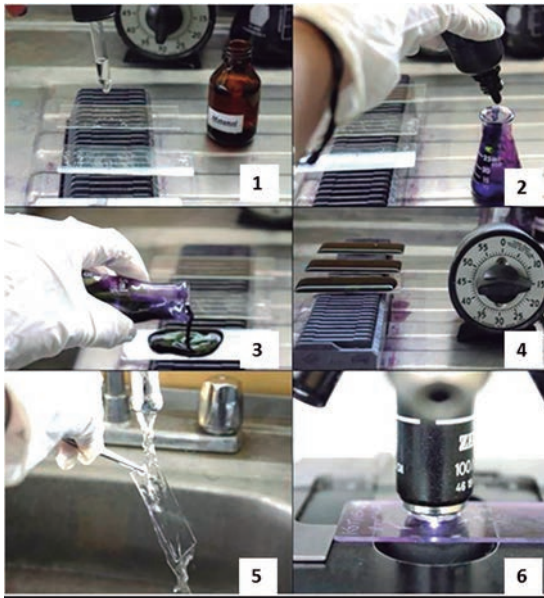


Figura 21. Pasos de la coloración de Giemsa. 1. Fijación con metanol. 2. Preparación del Giemsa. 3. Aplicación del colorante sobre la muestra. 4. Tiempo de la coloración (15 minutos). 5. Retirar el colorante con agua. 6. Observación de la muestra con el microscopio - objetivo 100x

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit».

**** Esta técnica de fijación y coloración es empleada en la actualidad en el Programa de Control de Leishmaniasis en Venezuela. A futuro podría sufrir cambios, según las pautas que dicte la OPS.**

Lectura: evaluación y reporte del examen directo (frotis)

Para efectuar la lectura de los resultados se procederá de la siguiente manera: colocar la lámina sobre el carro del microscopio y enfocar con el objetivo 4X o 10X, localizar la muestra, adicionar una gota de aceite de inmersión sobre la muestra ubicada y enfocar la muestra con el objetivo de 100X.

La muestra se evaluará y se clasificará según las siguientes características del extendido y de la coloración:

- **Muestra óptima:** se observan células con una correcta morfología, leucocitos abundantes, eritrocitos escasos, coloración adecuada de los leucocitos (núcleo de color azul violeta intenso, citoplasma de color azul claro y glóbulos rojos de color rosa pálido).
- **Muestra inadecuada:** la muestra es escasa, hay abundantes glóbulos rojos o bacterias y la coloración no es satisfactoria.

Se deberán revisar por lo menos entre 100 y 200 campos microscópicos del frotis en forma secuencial, deteniéndose en los sitios donde hay abundante reacción leucocitaria, en búsqueda de los amastigotes intra- o extracelulares.

Un resultado es **POSITIVO** cuando se observa claramente la presencia de al menos un amastigote intra- o extracelular, con todas sus características (figuras 22 y 23):

- Núcleo: color azul violeta oscuro
- Cinetoplasto (o kinetoplasto): color violeta intenso
- Membrana celular definida

Un resultado es **NEGATIVO** cuando al recorrer todos los campos de la lámina NO se observan amastigotes de *Leishmania spp.* En la muestra examinada.

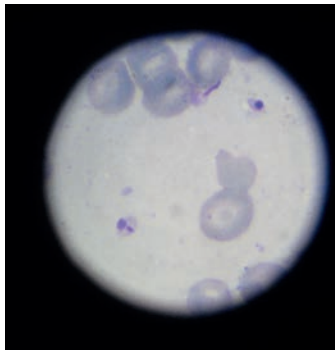


Figura 22. Amastigotes de leishmanias observados bajo objetivo 100X.

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

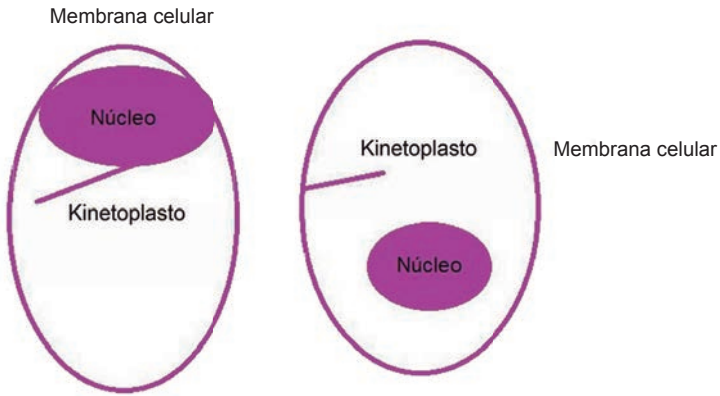


Figura 23. Amastigotes de Leishmanias. Estructuras del parásito: membrana celular, núcleo y kinetoplasto, vistos en diferente posición.

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

Histopatología

Se tomará una muestra para histopatología del borde infiltrado en caso de úlcera. Si la lesión es cerrada se tomará del área más infiltrada.

La biopsia debe conservarse en formol al 10 % y se enviará para su procesamiento y estudio por parte de personal especializado. Debe ser evaluada por un patólogo con conocimientos y los reportes que se considerarán como diagnóstico de LC serán:

- A. Si el reporte concluye que es leishmaniasis, con frotis positivo o negativo, se iniciará el tratamiento.
- B. Si el reporte concluye que es un granuloma por agente vivo con frotis negativo se puede realizar un nuevo frotis. De no alcanzarse un diagnóstico parasitológico positivo se reevaluarán los aspectos clínicos, epidemiológicos e inmunológicos. Si son compatibles con LC, se considerará como tal y se iniciará el tratamiento.

Cultivo

Se realiza cuando se requiere aislar el parásito para establecer su clasificación taxonómica, sensibilidad a medicamentos, estudios epidemiológicos y para diagnóstico. Las muestras son obtenidas por biopsias tomadas de las lesiones de los pacientes y los parásitos son aislados en un medio a base de agar sangre con un 10 % de sangre desfibrinada de conejo y 1.000 UI de penicilina, medio selectivo conocido como NNN por las iniciales de los apellidos de sus creadores, Novy, MacNeal y Nicolle. Los cultivos son mantenidos en estos medios con pases sucesivos semanalmente, y una vez que el parásito se adapta al medio se cultiva masivamente para la extracción de ADN y para criopreservación en nitrógeno líquido. Los promastigotes de *Leishmania* crecen al cabo de varios días. La sensibilidad de este método es de un 52,4 a un 70 %, esta positividad está relacionada con el grado de infección bacteriana secundaria que disminuye las posibilidades de aislamiento del protozoario, a pesar de que se han reducido notablemente los riesgos de contaminación de los medios añadiéndoles pequeñas cantidades de antibióticos, especialmente penicilina, estreptomycinina o terramicina.



Métodos indirectos para el diagnóstico de la Leishmaniasis Tegumentaria Americana

Identificación taxonómica de parásitos del genero *Leishmania* responsables de producir la leishmaniasis cutánea en Venezuela

Las leishmaniasis son un conjunto de enfermedades muy diferentes entre sí, producidas por distintas especies de un protozooario perteneciente al género *Leishmania*.

Estas enfermedades de evolución crónica se caracterizan por comprometer piel, mucosas y vísceras, dependiendo de la especie de *Leishmania* causante y de la respuesta inmune del huésped. Todas tienen en común el agente causal (alguna especie de *Leishmania*), el vector (insectos dípteros hematófagos), el reservorio (vertebrados) y el parasitismo de las células del sistema fagocítico mononuclear (sobre todo macrófagos).

Las leishmaniasis cutánea y mucocutánea son de alta prevalencia en muchas áreas tropicales y subtropicales del mundo, han sido descritas en 24 países de América, extendiéndose desde el sur de los Estados Unidos (Texas) hasta el norte de Argentina (de Moura TR *et al.*, 2005). Esta enfermedad constituye un grave problema de salud pública por los altos costos que representa a nivel psicológico, sociocultural y económico (Alvar J *et al.*, 2006). Mundialmente se estima que existen 200 millones de personas expuestas al riesgo de infección y 300.000 casos anuales de leishmaniasis cutánea (WHO, 2017). Estos aspectos son de gran impacto para que la leishmaniasis, conjuntamente con la malaria, esquistosomiasis, filariasis, tripanosomiasis y la hanseniasis, sea considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de las seis enfermedades tropicales de mayor importancia en términos de investigación para nuevos métodos de prevención, diagnóstico y tratamiento a través del programa de entrenamiento, en el Instituto de Biomedicina.

La identificación de estos parásitos es de suma importancia en términos epidemiológicos, de prevención y control de la enfermedad. De acuerdo a su desarrollo en el tracto digestivo del insecto vector, las distintas especies de *Leishmania* se agrupan en dos subgéneros, *Leishmania* y *Viannia*, siendo este último autóctono de América (Lainson R y Shaw JJ. 1987). Se han descrito varias especies en cada subgénero. En la actualidad se reconocen más de 25 especies de *Leishmania* que causan la enfermedad en el humano. Estas especies son imposibles de diferenciar mediante observación directa al microscopio, por lo que se requiere la aplicación de diversas técnicas para lograr la identificación del parásito que produce una determinada forma clínica de la enfermedad.

Métodos utilizados en la caracterización taxonómica de *Leishmania*

Tradicionalmente la taxonomía de *Leishmania* estuvo fundamentada en aspectos clínicos y epidemiológicos de la enfermedad en el humano, así como en las características biológicas de los parásitos en los animales de laboratorio y en los vectores. Esta clasificación, basada en características extrínsecas del parásito, ha sido reforzada en los últimos años por criterios que involucran características intrínsecas del mismo, tales como los caracteres genéticos del parásito. Los mismos son el fundamento de distintas técnicas tales como análisis de isoenzimas, anticuerpos monoclonales, análisis de restricción, hibridación molecular y amplificación enzimática del ADN o reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando oligonucleótidos especie-específicos.

Análisis de isoenzimas (*Multilocus Enzyme Electrophoresis - MLEE*)

El análisis de isoenzimas consiste en evaluar las diferencias en la movilidad electroforética de múltiples enzimas usadas como marcadores. Esto es posible debido a que la estructura primaria de las enzimas está determinada genéticamente, y existen muchas de estas proteínas que, a pesar de cumplir la misma función en distintos organismos, difieren en su composición de aminoácidos. Tal diferencia se refleja en la carga eléctrica neta y, por tanto, en la movilidad electroforética de las enzimas. Los patrones obtenidos reciben el nombre de zimodemos. Esta técnica es útil para estudiar las relaciones filogenéticas entre aislados de la misma especie (Cupolillo, E *et al.*, 1995).

Esta técnica presenta diversas desventajas para su aplicación, requiere el cultivo masivo del parásito, ya que necesita de grandes cantidades de proteína, es muy laboriosa, el equipamiento necesario es costoso y requiere de personal entrenado. Además tiene un bajo poder discriminativo para las sustituciones nucleotídicas que no cambian la composición de aminoácidos de la proteína, y por tanto la movilidad electroforética permanecerá invariable.

Anticuerpos monoclonales

Otro de los métodos empleados para la identificación de las distintas especies de *Leishmania* son los anticuerpos monoclonales, estos son inmunoglobulinas capaces de reconocer los determinantes antigénicos de una molécula dada y constituyen una herramienta importante para la identificación de aislados y especies. Esta técnica consiste en la utilización de anticuerpos específicos dirigidos contra antígenos de la membrana del parásito. El uso de anticuerpos monoclonales ha permitido el reconocimiento de las distintas especies de *Leishmania*, tanto del Nuevo Mundo como del Viejo Mundo (Grimaldi, G. y Mc Mahon- Pratt D., 1996). Sin embargo, algunos anticuerpos pueden mostrar reactividad cruzada al reconocer antígenos comunes en especies distintas. Esta metodología tuvo gran importancia en la década de los 80, pero actualmente su uso está limitado a pocos centros de referencia.



Con el gran auge que tomó la Biología Molecular a partir de los años 80 se han desarrollado varias técnicas moleculares para la identificación de las distintas especies de *Leishmania* que ocasionan las distintas manifestaciones clínicas de la leishmaniasis. Las más utilizadas son: la hibridación molecular con sondas especie específicas, el análisis con enzimas de restricción y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con oligonucleótidos especie-específicos.

Varias secuencias de ADN, fundamentalmente repetitivas, se han identificado y descrito como marcadores moleculares en la identificación de *Leishmania*, al igual que muchas de ellas han sido utilizadas en la estandarización de algunos ensayos específicos de PCR. Por ejemplo, el ADN de kinetoplasto (ADNk) de Bruijn, MHL y colaboradores (1992), y secuencias de ADN nuclear como las secuencias del mini-exón, la región de los genes de tubulina (Mendoza-León, A.; 2002) y la secuencia única del gen de la glucosa 6-P dehidrogenasa, entre otras.

En el Laboratorio de Ingeniería Genética del Instituto de Biomedicina se utilizan rutinariamente las técnicas moleculares antes mencionadas para la identificación de las especies de *Leishmania* que producen la enfermedad en los pacientes provenientes de todas las áreas endémicas del país, así como para la identificación de los vectores y reservorios de *Leishmania* en Venezuela. Para ello se han desarrollado herramientas moleculares, tanto del ADN nuclear como del ADN de kinetoplasto (Rodríguez *et al.*, 1994; 1997, 2002a, 2002b). En estudios previos se identificó y demostró la especificidad de una secuencia repetida del ADN nuclear para *Leishmania (V) braziliensis*; de esta secuencia se diseñaron oligonucleótidos específicos para los ensayos de PCR.

Identificación de especies de *Leishmania* mediante análisis de restricción del ADN del kinetoplasto (ADNk)

El ADN del kinetoplasto corresponde al ADN mitocondrial de los protozoarios parásitos, tales como *Trypanosoma* y *Leishmania*. El análisis de restricción se basa en la heterogeneidad en la secuencia de las bases que conforman el ADN, lo cual permite utilizarlo para caracterizar las distintas especies, mediante el análisis de los patrones generados después de digerir el ADN del kinetoplasto con enzimas de restricción. La técnica consiste en la separación, mediante geles de poliacrilamida o agarosa, de los fragmentos generados al digerir el ADNk con enzimas de restricción. La separación electroforética resulta en un perfil de restricción (esquizodemo) que es característico para cada especie, lo que confiere a esta técnica una alta confiabilidad en la identificación de las distintas especies de *Leishmania*. La figura 24 es un ejemplo de la aplicación de la técnica en el laboratorio de Ingeniería Genética, para la identificación de Leishmanias aisladas de pacientes con LCL (Rodríguez *et al.*, 2002a). El ADNk se digiere con la enzima HaeIII, los patrones obtenidos con los aislados

de referencia se comparan con los obtenidos en los aislados de pacientes. Se observa la gran diferencia entre *L. (L) mexicana* (líneas 3 y 4) y *L. (V) braziliensis* (líneas 1 y 2). Todos los aislados de pacientes presentan un patrón de restricción idéntico a *L. (V) braziliensis*.

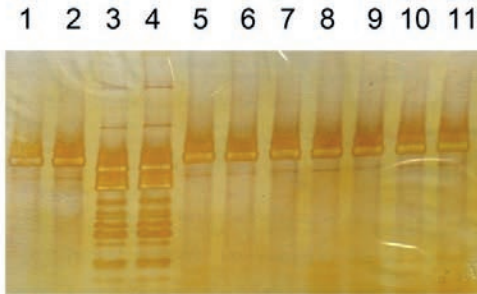


Figura 24. Patrones de comportamiento para la identificación de las distintas especies de *Leishmania*.

Fuente: Laboratorio de Ingeniería Genética. Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

Hibridación molecular

La hibridación molecular es una técnica muy valiosa que se fundamenta en la homología existente entre dos secuencias de ácidos nucleicos, debido a la complementariedad entre sus bases, la cual es evidenciada por la detección de moléculas marcadas.

La hibridación se lleva a cabo sobre una membrana de nitrocelulosa. El fragmento de ADN de secuencia conocida, denominado «sonda», se marca previamente con radioactividad o con marcadores luminiscentes y luego se pone en contacto con el ADN del parásito. La hibridación ocurre si hay homología entre la sonda marcada y el ADN en estudio.

Los ensayos de hibridación más utilizados son:

Southern blot

Este método consiste en la transferencia de fragmentos de ADN generados después de la digestión con algunas enzimas de restricción, que posteriormente es transferido a papel de nitrocelulosa y luego hibridado con la sonda marcada.

La figura 25 es un ejemplo de la hibridación utilizando la técnica del Southern blot. La sonda utilizada, LbJ38 (Rodríguez *et al.*, 1997) es específica para *L. (V) braziliensis*. Las muestras corresponden a aislados de pacientes provenientes de distintas aéreas endémicas de Venezuela.



Figuras 25A y 25B

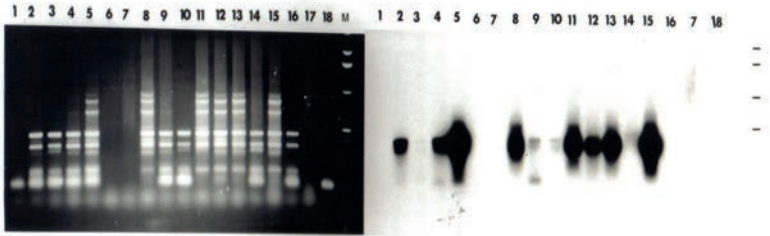


Figura 25A. Electroforesis en gel de agarosa del ADN total obtenido de aislados de *Leishmania* provenientes de pacientes con LCL y aislados de referencia internacional digerido con la enzima Pst I.

Figura 25B. Hibridación de los fragmentos de ADN con la sonda LbJ38 (específica para *Leishmania braziliensis*).

Laboratorio de Ingeniería Genética. Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

Hibridación en *dot blot*

Es una técnica sencilla que consiste en colocar el ADN directamente sobre el papel de nitrocelulosa, después de un procedimiento de fijación al aire, desnaturalización y renaturalización. El papel de nitrocelulosa es expuesto a la sonda marcada (radioactiva o fluorescente) y luego del revelado se obtiene la señal que identifica la especie del parásito. En este caso se utilizó la sonda LbJ38, específica para *L (V) braziliensis* (Rodríguez et al., 1997); (figura 26).

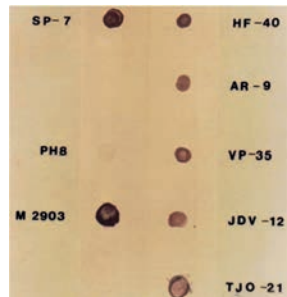


Figura 26. Hibridación en dot blot de ADN total de aislados de pacientes con los respectivos controles *L (V) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903) y *L (L) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8). Marcaje no radiactivo con digoxigenina.

Fuente: Laboratorio de Ingeniería Genética. Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

Identificación molecular de especies de *Leishmania* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR no es una técnica sino un método utilizado en varias técnicas distintas. Las principales variantes del PCR que son utilizadas para el diagnóstico y estudio de la leishmaniasis son la PCR convencional y la PCR en tiempo real (qPCR).

Efectuar una identificación adecuada de especies o un diagnóstico positivo reduce notablemente el riesgo de efectos adversos graves, así como la duración del tratamiento, especialmente en niños. Es, por tanto, muy importante identificar las especies de *Leishmania* empleando la técnica de PCR con muestras clínicas de pacientes, *Lutzomyias* infectadas naturalmente o muestras de animales silvestres y perros domésticos, con resultados que contribuyan a predecir la intensidad de la infección y la tasa de riesgo de expansión de la enfermedad en las áreas endémicas.

Actualmente sabemos que la misión de la PCR es copiar millones de veces una secuencia específica de ADN blanco, mediante una poderosa catálisis llevada a cabo por una enzima conocida como ADN polimerasa, de tal manera que cantidades pequeñas de ADN pueden ser sintetizadas y copiadas eficientemente para analizarse con diferentes propósitos.

El desarrollo de esta técnica permitió estudiar y manipular mejor al ADN, facilitando el establecimiento de protocolos de diagnóstico.

¿Cómo funciona la reacción? Cada ciclo de la PCR se lleva a cabo en tres etapas principales: desnaturalización, hibridación y extensión.

Desnaturalización

En esta etapa, las cadenas de ADN son calentadas y separadas a una temperatura de 95 °C durante 20 a 30 segundos; el tiempo depende de la secuencia del templado, es decir, si la cantidad de G-C es alta, será necesario más tiempo para romper sus uniones, debido a que el apareamiento de estas bases está formado por tres enlaces, uno más que las bases de A-T. Además, depende de la velocidad en la que el termociclador aumenta la temperatura, lo cual varía de acuerdo al modelo del equipo. Al final de esta etapa tendremos las cadenas separadas que servirán como templado para el siguiente paso.

Hibridación

En esta etapa, los primers se alinean al extremo 3' del ADN previamente separado e hibridan con su secuencia complementaria. Para que se forme el complejo templado-primers es importante que la temperatura de hibridación o temperatura melting (T_m) sea la óptima, generalmente entre 50-60 °C. Si el diseño de los primers es el correcto y la temperatura es la adecuada, la estabilidad y especificidad del complejo será eficiente.



Extensión

En esta etapa, la Taq polimerasa actúa sobre el complejo templado-primers y empieza su función catalítica a una velocidad muy rápida; agrega dNTP's (deoxinucleótidos) complementarios para crear las cadenas completas de ADN. La extensión de las cadenas es en dirección de la síntesis del ADN, es decir, de 5' a 3'.

La temperatura óptima para la reacción es de 72 °C, ya que a esa temperatura la enzima es funcional. Al final del ciclo se habrán formado los amplicones con un tamaño dictado por el número total de pares de bases (pb) que deberá ser conocido por el investigador.

En el laboratorio de Ingeniería Genética del Instituto de Biomedicina se viene aplicando la técnica de PCR desde 1987, tanto para el diagnóstico de leishmaniasis como para la identificación de las distintas especies del parásito que produce la LCL en las distintas áreas endémicas del país. Para ello se utilizan oligonucleótidos (primers) derivados del ADN de kinetoplasto, como son los primers B1, B2 que identifican parásitos del subgénero *Viannia* y M1, M2; específicos para el subgénero *Leishmania* (de Brujin *et al.*, 1992), así como también utilizamos primers especie específicos, derivados del ADN nuclear de *Leishmania* (Rodríguez *et al.*, 1997).

El producto amplificado se visualiza en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio. La figura 27 es un ejemplo de la aplicación de la PCR utilizando los primers 3J1 y 3J2, para la identificación especie específica de *Leishmania* a partir de biopsias de pacientes con LCL. El producto de amplificación de 617 pares de bases es específico para *Leishmania (V) braziliensis*.

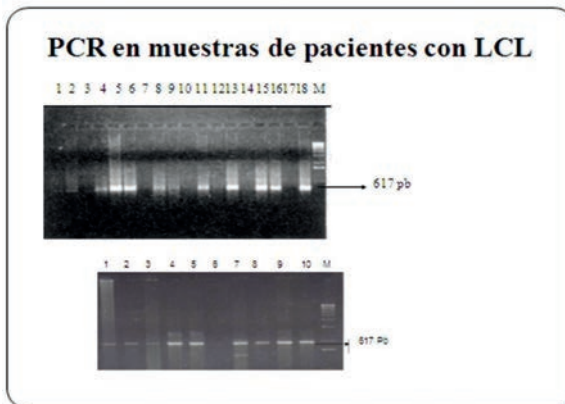


Figura 27. Aplicación de la PCR utilizando los primers 3J1 y 3J2, para la identificación especie específica de *Leishmania*.

Fuente: Laboratorio de Ingeniería Genética. Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

Todas las técnicas descritas se utilizan en el Instituto de Biomedicina para el diagnóstico y la identificación de *Leishmania*; sin embargo, la PCR especie específica con primers derivados del ADN nuclear no requiere del cultivo de grandes cantidades de parásitos; puede realizarse con el ADN total extraído de la biopsia tomada de la lesión del paciente, mostrando alta sensibilidad (80-84 %) para el diagnóstico cuando se le compara con otras técnicas como frotis y cultivo (figura 28) y especificidad del 100 % para la identificación de las especies que producen la enfermedad. Hemos podido determinar que la LCL en Venezuela es producida en el 80 % de los casos por *L (V) braziliensis* (Rodríguez *et al.*, 2002a, 2002b).

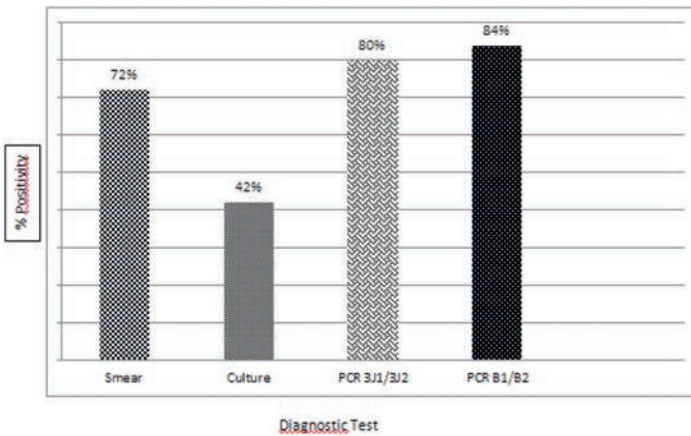


Figura 28 Comparación entre los métodos diagnósticos convencionales y la PCR especie específica.

Fuente: Laboratorio de Ingeniería Genética. Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

La utilización de las técnicas moleculares descritas nos ha permitido identificar las especies de *Leishmania* en pacientes con leishmaniasis, así como la identificación de vectores y reservorios para *Leishmania braziliensis*. En la figura 29 podemos observar la distribución de las distintas especies de leishmanias que, hasta los momentos, se han identificado como las responsables de producir la leishmaniasis cutánea en Venezuela.



DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES DE *LEISMANIA* QUE PRODUCEN LCL EN VENEZUELA

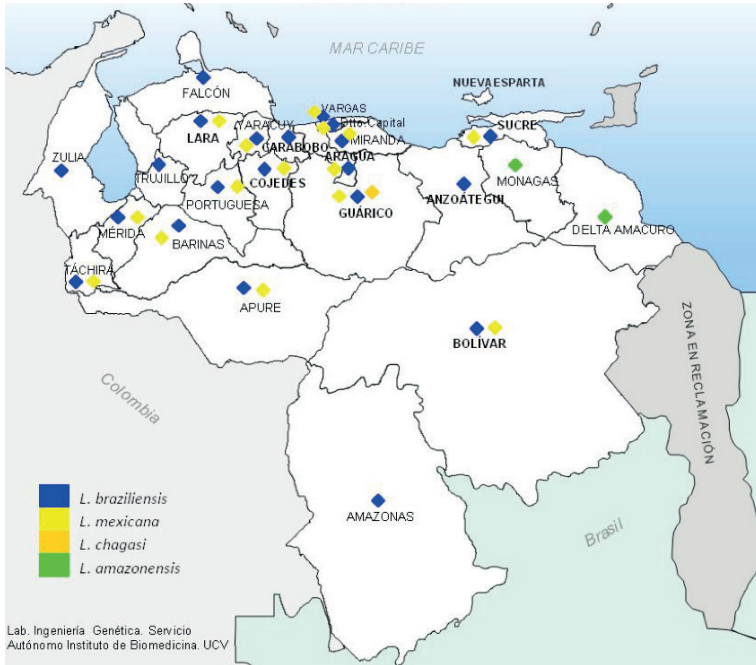


Figura 29. Con la aplicación de los métodos moleculares se obtuvo, con 100 % de especificidad, la distribución de las especies que producen LCL en el país.

Fuente: Laboratorio de Ingeniería Genética. Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

Inoculación en animales de experimentación

Este método se utiliza cuando otros métodos no dan resultados positivos, los animales son sacrificados en dos meses y las muestras obtenidas se someten a las técnicas de reconocimiento del parásito. La inoculación se realiza con material tomado directamente de los pacientes y con suspensión de leptomonas de cultivo en ratas, ratones blancos y en un gran número de hamsters (*Cricetus auratus* y *Cricetus fumentarius*). La infección en animales de laboratorio como procedimiento diagnóstico tiene un valor secundario, ya que los resultados son muy irregulares e inconstantes.





La leishmaniasis visceral puede llegar a ser letal si no es diagnosticada a tiempo, esta forma de la enfermedad afecta principalmente a niños menores de 5 años.





Métodos para el diagnóstico de la Leishmaniasis Visceral

Diagnóstico

1. Epidemiológico: pacientes que procedan de áreas endémicas.
2. Clínico: presencia de signos y síntomas que hagan sospechar leishmaniasis visceral, tales como los que fueron descritos previamente.

Diagnóstico de laboratorio

Se basa en métodos de identificación del parásito y pruebas inmunológicas.

1. Métodos de identificación del parásito

Son los diagnósticos de certeza. Estos procedimientos requieren de la toma de muestras biológicas que permitan visualizar el parásito. El material utilizado es médula ósea obtenida por aspirado o por biopsia.

- **Tinción:** Se realiza un extendido con la muestra de médula ósea y se deja secar al aire. Posteriormente se fija con metanol y se tiñe con Giemsa durante veinte a treinta minutos. Luego se lava la lámina con agua y se visualizan los parásitos a través del microscopio bajo el objetivo de inmersión. Los amastigotes, que son las formas aflageladas del parásito que están presentes en el vertebrado, pueden observarse en el interior de los macrófagos, o dispersos si estas células se han roto. Para confirmar que se trata de *Leishmania*, deben identificarse la membrana celular, el núcleo y el kinetoplasto (figuras 30 y 31).

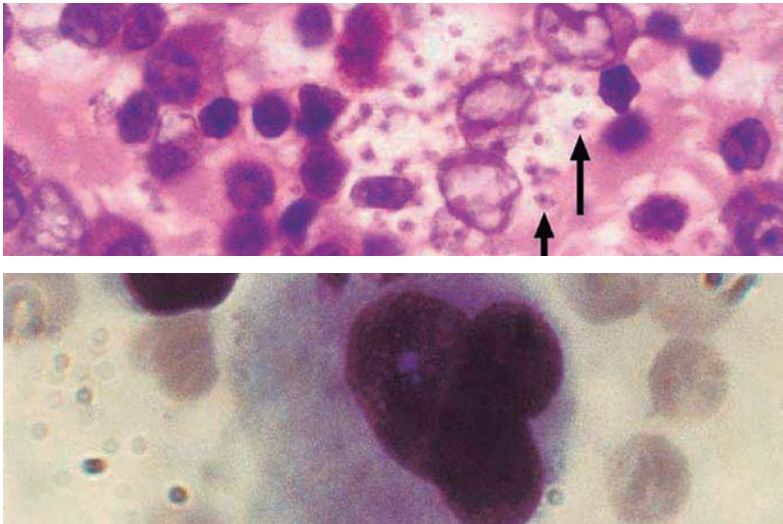


Figura 30. Amastigotes de *Leishmania* en frotis de médula ósea.

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

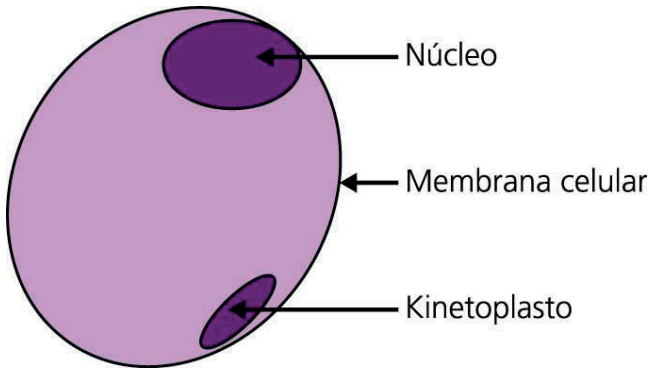


Figura 31. Estructura del amastigote de *Leishmania*: membrana celular, núcleo y kinetoplasto

Fuente: Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit»

- **Cultivo:** medio donde crecen los parásitos en forma flagelar (promastigotes). Con el fin de ratificar la existencia del parásito, se debe hacer un cultivo con parte de la muestra de médula ósea para aislar la cepa. El medio de cultivo más adecuado es agar base sangre (Difco), al cual se le agrega sangre desfibrinada de conejo al 10 % y antibióticos.
- **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR):** el objetivo de esta prueba es la identificación del ADN del parásito infectante. Para ello se utiliza una pequeña cantidad de la muestra de médula ósea que se coloca en un tubo con buffer de lisis. También se puede llevar a cabo con muestras de sangre periférica (0,5 ml), la cual debe colocarse en tubos con EDTA para evitar la coagulación. Esta técnica permite identificar la especie de *Leishmania* responsable de la infección.

2. Inmunodiagnóstico

- **Serología:** inmunoensayo enzimático o ELISA. Esta técnica permite la detección de anticuerpos circulantes contra *L. chagasi* (= *L. infantum*) en suero de pacientes. Se utilizan antígenos específicos (promastigotes de *L. donovani*, y antígenos recombinantes rk39 y rk26 aislados de *L. chagasi* por Reed (Reed, 1996). Es una técnica altamente sensible y específica, con una efectividad de más del 90 % con el uso del antígeno rk39, según lo reportado en diferentes estudios (Maalej, 2003). La reactividad cruzada con otras especies de *Leishmania* limita el uso de promastigotes enteros en pruebas de ELISA para LV. El antígeno rk39 también es utilizado en el ensayo rápido inmunocromatográfico en tiras (*dipstick*). En este caso se tiene una membrana de nitrocelulosa revestida con el antígeno rk39, la muestra de suero migra por acción capilar reaccionando con el antígeno recombinante y formando una



línea roja. En el caso de ser positivo para LV se observarán dos líneas rojas, la correspondiente a la muestra y la del control. Esta prueba rápida es cualitativa y tiene una sensibilidad mayor o igual al 90 %.

- Los niveles de anticuerpos son excepcionalmente elevados en LV, hecho que permite el uso de diversas pruebas serológicas en su diagnóstico. En el Viejo Mundo se utiliza con frecuencia una prueba relativamente sencilla de aglutinación de parásitos muertos, el DAT (test de aglutinación directa, por sus siglas en inglés), que demuestra una sensibilidad del \pm 90 % y se adapta fácilmente a trabajos de campo. Igualmente, la inmunofluorescencia indirecta es usada en algunos laboratorios para el diagnóstico y la evaluación de la respuesta terapéutica.
- **Leishmanina:** mide la respuesta de inmunidad celular; sin embargo, en los casos de LV activa esta prueba es siempre negativa, por eso no es utilizada para apoyar en el diagnóstico de laboratorio. Se utilizan, a manera de antígenos, promastigotes de *Leishmania mexicana* pifanoi obtenidos por cultivos, autoclavados a una concentración de 6,5 por 106 por ml. Se inyecta 0,1 ml del preparado vía intradérmica en el antebrazo izquierdo del paciente y se realiza la lectura de la prueba a las cuarenta y ocho horas utilizando la técnica del bolígrafo, la cual permite medir la induración mas no el eritema. La prueba es reactiva si la induración es igual a 5 mm y positiva cuando es mayor a 10 mm.





TRATAMIENTO ANTILEISHMÁNICO

El tratamiento de las leishmaniasis en el país está basado en las Recomendaciones Terapéuticas para las Américas dictadas por la OPS/OMS, las cuales están fundamentadas en las evidencias de cada país y han sido adaptadas según el escenario que nos caracteriza.





Tratamiento de Leishmaniasis en Venezuela

Leishmaniasis Tegumentaria Americana

En Venezuela, como primera línea para el tratamiento de pacientes con LTA, se emplearán las sales pentavalentes de antimonio que en nuestro país se encuentran disponibles bajo la presentación de **Glucantime®**.

ANTIMONIATO DE MEGLUMINA (GLUCANTIME®)

Su mecanismo de acción es la inhibición de la fosfofructocinasa, lo que bloquea la producción de ATP. Se absorbe rápidamente después de su administración por vía intramuscular y alcanza niveles pico de antimonio aproximadamente a las dos horas. La dosis recomendada por la OMS es de 20 mg/kg/d de antimonio pentavalente por vía intramuscular o intravenosa durante 20 a 30 días (tablas 3 y 4) (OMS, 2010).

Los antimoniales están contraindicados en los pacientes con hipersensibilidad a estos, con arritmias cardíacas y enfermedades hepáticas o renales severas, así como en mujeres en periodo de gestación.

Tabla 3. Esquema de tratamiento sistémico - Antimoniales pentavalentes para leishmaniasis cutánea (primera línea)

Intervención	Forma de administración	Esquema*
Antimoniales pentavalentes	Intravenosa o intramuscular	10 a 20 mg/Sb ⁺⁵ /kg/d de antimoniato pentavalente en dosis única diaria durante 20 días. La indicación de las dosis (10, 15 o 20 mg Sb ⁺⁵) debe hacerse de acuerdo con las evidencias locales. Dosis máxima de 2 ampollas/d para reducir los efectos adversos.

Fuente: OPS/OMS. Recomendaciones para el tratamiento de LA. 2013

Tabla 4. Esquema de tratamiento sistémico – Antimoniales pentavalentes para leishmaniasis mucosa (primera línea)

Intervención	Forma de administración	Esquema
Antimoniales pentavalentes	Intravenosa o intramuscular	20 mg/Sb ⁺⁵ /Kg/d de antimoniato pentavalente en una única dosis diaria por 30 días continuos.

Fuente: OPS/OMS. Recomendaciones para el tratamiento de LA. 2013

(*) Sb: solución base.

Presentación y composición

Se presenta bajo la forma de ampollas inyectables para uso intramuscular o endovenoso, contentivas de 5 ml de solución con 1,5 gr de sal antimonio de meglumina que equivalen a 405 mg de antimonio.

Indicaciones

Se empleará en aquellos pacientes con diagnóstico confirmado de leishmaniasis cutánea en cualquiera de las formas clínicas de la enfermedad (LCL/LCI/LCM/LD/LCD).

Requisitos indispensables para iniciar el tratamiento con antimonios de meglumina (Glucantime®)

1. Evaluación clínica integral.
2. Evaluación cardiovascular.
3. Evaluación de laboratorios, se valorarán exámenes de hematología completa, glicemia, urea, creatinina, transaminasas y fosfatasas alcalinas.

Dosificación y vía de administración

Se emplean dosis diarias de 20 mg de la sal por kg de peso, con un máximo de 3.000 mg por día (2 ampollas), durante 20 días continuos. La OMS recomienda para los casos de LCM la aplicación durante 30 días continuos.

La vía de administración es la intramuscular profunda, aplicada en la región glútea, para lo cual se utilizarán inyectadoras de 5 o 10 cc con aguja 21 x 14/~ o, en los casos que lo amerite, se administrará por vía intravenosa.

El tratamiento se inicia a razón de 20 mg por kg peso/día a toda persona con buen estado de salud general y con evaluación cardiovascular y exámenes de laboratorio sin alteraciones. Si las condiciones generales del paciente son regulares o malas pero la evaluación cardiovascular y de laboratorio no tiene alteraciones se iniciará tratamiento bajo supervisión médica y controles periódicos de laboratorio. Todo menor de 10 años deberá ser ingresado a un centro de salud para recibir el tratamiento bajo supervisión médica.

A los pacientes que el tratamiento les genere malestar general y dolores osteomusculares severos se procederá primero a reducirles las dosis. Si persisten las molestias y el paciente no los tolera se suspenderá el tratamiento. El tratamiento se puede reiniciar después de 15 días de descanso.

Luego de finalizado el tratamiento, los pacientes deben tener un seguimiento para evaluar la respuesta, detectar una eventual recaída o un compromiso mucoso. Para ello se dan las siguientes recomendaciones:

Debe realizarse una evaluación clínica como mínimo al terminar el tratamiento, a los 45 y a los 90 días después de terminado. Por ser visibles, accesibles y



generalmente bien delimitadas, las lesiones cutáneas son fáciles de comparar; para ello, al iniciar el tratamiento se deben medir y registrar debidamente en la historia de cada paciente. de esta manera quien haga el siguiente control tendrá una evidencia cuantificable para determinar si hay respuesta a la terapia. Es frecuente que durante la primera mitad de tratamiento las lesiones no disminuyan o incluso aumenten de tamaño, como consecuencia de procesos inflamatorios asociados con la terapia. Esto no significa falla. En cada visita de seguimiento se debe hacer un examen clínico completo, que incluya evaluación de síntomas y signos de eventual compromiso mucoso. Si la lesión ha disminuido de tamaño no se debe administrar tratamiento adicional. Se debe esperar que entre 45 y 90 días después de terminado el tratamiento la lesión esté completamente cicatrizada. Cuando la lesión es muy grande o el paciente tiene comorbilidad puede haber mayor dificultad para cicatrizar. Si no se observa la curación clínica o en caso de reactivación de la lesión se debe evaluar y considerar un nuevo ciclo de tratamiento.

Contraindicaciones

1. Pacientes embarazadas o con sospecha de embarazo.
2. Pacientes con alteraciones en su función cardíaca, hepática o renal.
3. Pacientes en tratamiento con algún medicamento hepatotóxico o nefrotóxico.
4. En pacientes con cuadros agudos (febriles, crisis asmáticas y otros) no iniciar el tratamiento hasta que hayan mejorado.

Efectos colaterales

Se presentan en un porcentaje importante de los pacientes. Pueden ser ligeros como malestar general, fiebre, dolores musculares etc., o severos, complicándose con alteraciones de la función cardíaca, hepática o renal.

En los casos en que se presenten alteraciones de las funciones renales, hepáticas o cardíacas la suspensión del tratamiento es indispensable y solo se reiniciará una vez normalizadas las mismas.

Se puede observar también intoxicación por antimonio, debido habitualmente a una dosis total alta o por fallas a nivel hepático. Se manifiesta con fiebre asociada a una o más de las siguientes alteraciones: bradicardia, alargamiento del QT, aplanamiento o inversión de la onda T, ictericia grave, insuficiencia renal aguda, anemia, agranulocitosis o polineuritis.

Seguimiento de pacientes en tratamiento con Glucantime®

1. Después de cada tratamiento con Glucantime® se deberán repetir todos los exámenes de laboratorio y la evaluación cardiovascular inicial.
2. En caso de alteraciones de laboratorio, aunque sean leves elevaciones de creatinina, urea, transaminasas o fosfatasas alcalinas, estos exámenes

deberán repetirse en un tiempo prudencial. Mientras no se normalicen no se debe indicar una nueva serie de Glucantime®.

3. En caso de aparición de alteraciones cardiovasculares o exacerbación de alteraciones preexistentes se debe evaluar el caso, en conjunto con el cardiólogo, antes de reiniciar el tratamiento, valorar la reducción de la dosis o las condiciones en las que debe administrarse el tratamiento.

ANTIMONIATO DE MEGLUMINA (GLUCANTIME®) VÍA INTRALESIONAL

Se empleará en pacientes que tengan contraindicaciones para tratamientos sistémicos, bajo estricta vigilancia médica y en ausencia de inmunodepresión.

Esta opción se utilizará únicamente en casos de LCL con lesiones únicas que midan hasta 3 cm de diámetro y cuya lesión se encuentre ubicada en cualquier zona corporal, con excepción de la cabeza y regiones periauriculares (tabla 5).

Se realizarán de 1 a 5 infiltraciones por sesión, dependiendo del tamaño de la lesión; la cantidad a utilizar será la necesaria para cubrirla.

Para la aplicación se debe inyectar en la base y en los bordes de la úlcera una dosis entre 0,5 y 5 ml, hasta producir la palidez completa de la lesión.

Se recomienda realizar las infiltraciones cada 7 días, hasta la curación de la lesión.

Tabla 5. Esquema de tratamiento local – Antimoniales para leishmaniasis cutánea (primera línea)

Intervención	Forma de administración	Esquema
Antimoniales intralesionales	Inyección intradérmica	1 a 5 infiltraciones de 1 a 5 ml por sesión (dependiendo del tamaño de la lesión; la cantidad a utilizar será la necesaria para cubrir la lesión) cada 3 a 7 días

Fuente: OPS/OMS. Recomendaciones para el tratamiento de LA. 2013



INMUNOTERAPIA (IMT)

En Venezuela, la IMT era empleada como el tratamiento para los casos de LCL hasta el año 2012. El antígeno para este tratamiento fue desarrollado en la década de los ochenta por el Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit», como un modelo de antígeno combinado, constituido por una mezcla de promastigotes de *Leishmania mexicana amazonensis* (Lma) inactivados por autoclave (120 °C durante 20 minutos) y BCG (Bacillus Calmette-Guérin) (Convit *et al.*, 2004).

En la actualidad no se está utilizando debido a que el Instituto Nacional de Higiene estableció que este tratamiento debe contar con registro sanitario, como condición indispensable para continuar realizando los análisis de control de calidad. El Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit» está recabando en estos momentos todos los requisitos exigidos para formalizar la solicitud y así poder continuar desarrollando el producto biológico (IMT-Leish) en beneficio de los pacientes con LCL.

Tratamientos Alternativos para la Leishmaniasis Tegumentaria

Tratamientos de segunda línea

- **ANFOTERICINA B**

Es el tratamiento de primera elección en regiones de la India y África para el tratamiento de la LV. El mecanismo de acción de la anfotericina es a través de enlaces con los ésteres de ergosterol presentes en la membrana plasmática de las Leishmanias.

- **ANFOTERICINA B LIPOSOMAL**

La anfotericina B liposomal ha sido utilizada en el subcontinente indio para el tratamiento de la leishmaniasis visceral y en las Américas (Romero *et al.*, 2017), siendo una alternativa eficaz y segura, que ofrece una duración prolongada del efecto terapéutico, lo cual constituye un remedio para el inconveniente principal de todos los otros agentes antileishmánicos.

En el país se utiliza en aquellos casos en los que no se puedan aplicar los antimonioatos de meglumina, bajo estricta vigilancia, debido a los efectos colaterales en el paciente, que pueden abarcar desde flebitis, cefalea, fiebre, astenia, dolores musculares y articulares, hasta vómitos, hipotensión, disnea, hipopotasemia, alteraciones renales y disminución de la filtración glomerular. Se administra por vía endovenosa, en dosis inicial 2 a 3 mg/kg/día hasta una dosis acumulada de 3,5 g de 0,5 mg/kg/d, en solución glucosada al 5 %, en infusión lenta de cuatro a seis horas, y se aumenta al cuarto día, si la dosis es tolerada, a 1 mg/kg/d hasta un máximo de 800 mg de dosis total. La dosis acumulada de la droga no debe ser mayor de 3 gramos (tablas 6 y 7).

- **ANFOTERICINA B DESOXICOLATO**

La anfotericina B desoxicolato se utilizaba en el Nuevo Mundo inicialmente en el tratamiento de los casos de leishmaniasis visceral y de la leishmaniasis mucocutánea y posteriormente, a partir de estudios realizados en los años 90, se empleó en el tratamiento de la LV en el Viejo Mundo, principalmente en la India (Monge-Maillo *et al.*, 2013). La vía de aplicación es intravenosa, en dextrosa al 5 %, en 4 horas, a una dosis de 0,75-1,0 mg/kg/día o interdiario, para un total de 15 a 20 dosis en 30 a 40 días. La dosis total es de 25 mg/kg (Vélez ID *et al.*, 2012).

La anfotericina B desoxicolato presenta efectos adversos como náuseas, vómitos, fiebre, anorexia, tromboflebitis en la zona de aplicación, y también puede llegar a ocasionar efectos más graves como nefropatías, hipocalcemia refractaria, miocarditis e incluso la muerte. Es necesario realizar una prueba de sensibilidad antes de iniciar el tratamiento.



En Venezuela no se encuentra disponible esta forma de anfotericina, por lo que no se tienen reportes de casos tratados y se emplea únicamente la forma liposomal.

Tabla 6. Esquema de tratamiento sistémico – Anfotericina B para leishmaniasis cutánea (segunda línea)

Intervención	Forma de administración	Esquema
Anfotericina B liposomal	Intravenosa	2-3 mg/kg/d hasta 20 a 40 mg/kg dosis total.
Anfotericina B desoxicolato	Intravenosa	0,7 a 1 mg/kg/d hasta 25 a 30 dosis.

Fuente: OPS/OMS. Recomendaciones para el tratamiento de LA. 2013

Tabla 7. Esquema de tratamiento sistémico- Anfotericina B para leishmaniasis mucosa (segunda línea)

Intervención	Forma de administración	Esquema
Anfotericina B liposomal	Intravenosa	2-3 mg/kg/d hasta 20 a 40 mg/kg dosis total.
Anfotericina B desoxicolato	Intravenosa	0,7 a 1 mg/kg/d hasta 25 a 30 dosis.

Fuente: OPS/OMS. Recomendaciones para el tratamiento de LA. 2013

- **MILTEFOSINE**

Se conoce comercialmente con el nombre de Impavido®. Se desarrolló originalmente como una droga antineoplásica. Miltefosine es un fosfolípido alquilado, análogo de la fosfocolina, que permite inhibir las señales transmembranas y la síntesis de la membrana celular, con actividad demostrada contra varias especies de parásitos, células cancerosas, algunas bacterias y hongos patógenos (Dorlo TPC *et al.*, 2012).

Ha sido usada en la India, en el tratamiento de la leishmaniasis visceral. Su administración es por vía oral, en dosis de 100 mg/d en adultos y de 2,5 mg/kg en niños durante cuatro semanas.

En Venezuela se realizó un estudio controlado en pacientes con leishmaniasis cutánea difusa tratados con esta droga, en el cual no se obtuvo una buena respuesta a este tratamiento (Zerpa O *et al.*, 2007), esto puede deberse a que la efectividad de la miltefosina en el tratamiento

de las formas de leishmaniasis estaría relacionado con el parásito, ya que no todas las especies de *leishmania* son igualmente susceptibles a miltefosine.

La dosis empleada en el país es de 1,5 a 2,5 mg/kg/d hasta un máximo de 150 mg /d por 28 días, la cual debe ser administrada en combinación con protectores gástricos para minimizar los efectos colaterales (tabla 8).

Efectos colaterales

Los principales efectos descritos son:

- Gastrointestinales: vómitos, diarreas y elevación de la aspartato aminotransferasa.
- Renales: aumento de la creatinina sérica.
- También se han descrito efectos teratogénicos en animales y anomalías oftalmológicas en roedores, pero en estudios multicéntricos realizados en la India no se observaron los efectos oftalmológicos.

**Tabla 8. Esquema de tratamiento sistémico -
Miltefosine para Leishmaniasis cutánea y mucosa (segunda línea)**

Intervención	Forma de administración	Esquema
Miltefosine*	Oral	1,5 a 2,5 mg/kg/d. Con dosis máximas de 150 mg/d, durante 28 d. Se sugieren dosis divididas y tomarlas después de las comidas para reducir los efectos adversos gastrointestinales.

(*) Actualmente no se encuentra disponible en Venezuela

Fuente: OPS/OMS. Recomendaciones para el tratamiento de LA. 2013



Tratamiento de Casos Especiales

- **Embarazadas**

Debido a la contraindicación de los antimoniales pentavalentes, la miltefosine y otros tratamientos antileishmánicos, se recomienda el uso de la crioterapia, para lo cual se empleará nitrógeno líquido aplicado en *spray* por 2 o 3 segundos en los bordes de la lesión. Se esperarán 5 minutos después de la aplicación y se constatará que todas las áreas de la lesión estén congeladas. Se repetirá el tratamiento si es necesario.

Se aplicará crioterapia cada 15 días bajo observación médica.

En caso de requerir tratamiento sistémico la OMS recomienda el uso de anfotericina B liposomal o anfotericina B (recomendación débil).

- **Etapas de lactancia**

Se recomienda el uso de antimoniales pentavalentes intralesionales o crioterapia. El uso sistémico de antimoniales debe hacerse en centros de segundo nivel.

- **Pacientes con alteraciones electrocardiográficas**

En casos de pacientes que presentan alteraciones como aplanamiento de la onda T, prolongación del intervalo QT y arritmias ventriculares se recomienda el uso de miltefosine o tratamientos locales.

- **Pacientes con VIH y otras causas de inmunosupresión**

Se recomienda el uso de anfotericina B liposomal o anfotericina B desoxicolato (tabla 11).

- **Pacientes mayores de 50 años**

Se debe realizar una evaluación clínica cuidadosa. Se recomienda usar otras alternativas terapéuticas diferentes a los antimoniales pentavalentes sistémicos debido a los efectos adversos graves.

- **Pacientes con nefropatías, hepatopatías o cardiopatías**

Se recomienda el uso de tratamientos locales para leishmaniasis cutánea (antimoniales pentavalentes intralesionales). Se sugiere el uso de anfotericina B liposomal.

Tratamiento – Leishmaniasis Visceral

Tratamiento de primera línea

Después de confirmarse la enfermedad –parasitológica o serológicamente–, el paciente debe ser estabilizado clínicamente con el fin de iniciar el tratamiento con antimonio de meglumina (Glucantime®), fármaco antimonial pentavalente cuyo mecanismo de acción tiene por objeto inhibir la fosfofrutoquinasa, bloqueando la producción de ATP (Chong, 1996). Estudios de microscopía electrónica de aspirados esplénicos de pacientes con LV sugieren que la droga afecta el transporte activo o permeabilidad de la membrana del parásito (Chulay *et al.*, 1985).

El antimonio de meglumina se absorbe rápidamente después de la administración por vía intramuscular, y alcanza niveles pico de antimonio aproximadamente a las dos horas (Chulay *et al.*, 1998). La concentración máxima total de antimonio en sangre es de 10 a 12 $\mu\text{g/ml}$ después de una dosis IM de 10 mg/kg de Glucantime®. El medicamento se acumula gradualmente en el pelo, piel y otros tejidos, se metaboliza en el hígado y el 90 % es excretado en veinticuatro horas a través de la orina (Chulay *et al.*, 1998; AMA, 1991).

La dosis de antimonio pentavalente recomendada por la OMS (WHO, 2013) es de 20 mg/kg/día vía intramuscular o endovenosa durante treinta días continuos. Para los niños es recomendable una dosis única al día de Glucantime®, vía intramuscular, mientras que para los adultos que requieran más de dos ampollas se recomienda la vía endovenosa, en infusión diluida en 100 ml de dextrosa al 5 %, a pasar en veinte minutos (tabla 9).

Tabla 9. Esquema de tratamiento sistémico – Antimoniales pentavalentes para leishmaniasis visceral (primera línea)

Intervención	Forma de administración	Esquema	Nivel de atención
Antimoniales pentavalentes	Intravenosa o intramuscular	20 mg/Sb ⁺⁵ /kg/d por 28 d.	Primer y segundo nivel de atención y centro de referencia

Fuente: OPS/OMS. Recomendaciones para el tratamiento de LA. 2013

Las presentaciones del Glucantime® disponibles actualmente en el país contienen 405 mg de antimonio en 5 cc, lo que significa que cada ml tiene 81 mg respectivamente de este compuesto (se recomienda revisar el instructivo incluido en la caja del medicamento para verificar la cantidad de antimonio).



El Glucantime® está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad a los antimoniales pentavalentes, arritmias cardíacas y enfermedades hepáticas o renales severas.

Se recomienda hospitalizar al paciente para administrarle el tratamiento. Sin embargo, en los casos en que exista la posibilidad de vigilancia, se puede efectuar de forma ambulatoria.

En caso de que el paciente no haya recibido la dosis recomendada de antimonio, se debe iniciar un ciclo supervisado de treinta días con la dosis recomendada por la OMS (20 mg/kg/día de antimonio).

Los efectos colaterales del Glucantime® son:

- Alteraciones cardiovasculares, tales como aplanamiento de la onda T, prolongación del intervalo QT y arritmias ventriculares. La incidencia de cambios en el ECG está relacionada con la duración de la terapia y la dosis diaria total de antimonio (Marsden, 1986; AMA, 1991; Chulay *et al.*, 1988). Son relativamente frecuentes los cambios menores en el ECG cuando se administran dosis de 20 mg/kg/día, por quince días (Marsden, 1986). Se han observado bradicardia severa, hipotensión y shock en algunos pacientes. Fue reportado paro cardíaco en un paciente con isquemia miocárdica preexistente después de la administración de Glucantime®, 20 mg/kg/día por veintiséis días (Marsden, 1986). Se recomienda realizar un electrocardiograma antes de iniciar el tratamiento y uno semanal cuando ya esté instaurado. Igualmente, el paciente debe ser auscultado diariamente con la finalidad de detectar arritmias. De presentarse, el tratamiento debe ser suspendido y pasar a medicamentos de segunda línea.
- A nivel del sistema nervioso central, se han reportado cefalea y malestar general (AMA, 1991; Convit *et al.*, 1989).
- Se han descrito síntomas gastrointestinales como náuseas, vómitos y anorexia (Chulay *et al.*, 1988).
- Ocasionalmente se han observado insuficiencia renal y proteinuria. Algunos estudios reportan alteraciones en la osmolaridad urinaria por defecto en la capacidad de concentración tubular (Veiga *et al.*, 1983; Marsden, 1986).

Otras alteraciones reportadas son: elevación de las transaminasas séricas y hepatitis (Marsden, 1986), rigidez articular, mialgias y artralgias (AMA, 1991; Convit *et al.*, 1989), rash cutáneo, edema facial, dermatitis exfoliativa (Marsden, 1986; AMA, 1991) y dolor en el sitio de la inyección intramuscular.

Antes de iniciar el tratamiento, a los 15 días y al finalizar el mismo, es preciso realizar pruebas de funcionamiento hepático, renal y hematología completa, con el fin de monitorearlo.

Criterios de cura

- Ausencia de fiebre después de dos o tres semanas de finalizado el tratamiento. La desaparición de este síntoma ocurre tempranamente, alrededor del quinto día de iniciada la terapia.
- Reducción del tamaño del hígado y el bazo; este último debe haber disminuido en un 50 % al final del tratamiento.
- Aumento de peso.
- Incremento de los valores hematológicos.
- Mejoría del estado general del paciente.

No es necesario hacer una confirmación parasitológica de la curación. Solo debe realizarse cuando se sospeche resistencia al tratamiento o recaída.

La leishmanina es positiva en el 80 % de los pacientes doce meses después de un tratamiento efectivo.

El seguimiento de los pacientes tratados debe realizarse un mes después de darles de alta, y luego a los tres, seis y doce meses.

Recaídas

Las recaídas ocurren con más frecuencia durante los tres primeros meses posteriores al tratamiento completo. Clínicamente se caracterizan por fiebre, esplenomegalia y pérdida de peso. Es obligatoria la confirmación parasitológica de estos casos, al igual que el descarte de otras enfermedades infecciosas bacterianas o virales. La OMS reporta un 5 % de recaídas en pacientes inmuno-competentes que han recibido tratamiento completo y eficaz.

Tratamiento de segunda línea

Si luego de dos semanas de iniciado el tratamiento supervisado con antimoniales el paciente es clínicamente refractario, se le deben aplicar medicamentos de segunda línea, como:

- **Anfotericina B liposomal:** (actualmente no está disponible para el programa en Venezuela). Es una formulación lipídica de anfotericina B y fosfatidilcolina de soya, distearoilfosfatidilglicerol y colesterol que se utiliza por vía intravenosa a una dosis de 3-5 mg/kg de peso/d por 3-5 d para el tratamiento de LV, con una eficacia superior al 98 % Las pequeñas vesículas de lípidos que contiene el medicamento son fagocitadas por los macrófagos, fusionándose a la membrana del fagosoma para liberar el medicamento directamente sobre el parásito (OPS/OMS, 2013).

Actualmente se han demostrado su eficacia y la baja toxicidad del uso en zonas de África, la India y Asia, para el tratamiento de la leishmaniasis visceral, donde se ha comprobado la efectividad de una dosis única de 10



mg/kg de peso corporal por vía intravenosa (evaluándose durante 30 días) (Sundar *et al.*, 2015; Sundar *et al.*, 2010; Mondal *et al.*, 2014).

- **Anfotericina B desoxicolato:** actúa alterando la permeabilidad de la membrana celular. Se administra por vía intravenosa en dextrosa al 5 % en 2 horas, a una dosis de 0,7 – 1,0 mg/kg/d o interdiario, hasta alcanzar una dosis acumulativa total de 25 mg/kg (aproximadamente 42 dosis). Es un medicamento muy efectivo, con tasas de curación hasta del 98 %, pero de uso limitado por sus efectos adversos frecuentes (infusiones intravenosas). Se recomienda administrar este tratamiento en el hospital para permitir el monitoreo continuo de los pacientes. Las reacciones más comunes son fiebre alta, escalofríos y tromboflebitis de la vena inyectada. La nefrotoxicidad, tanto tubular como glomerular, es común, dando lugar a frecuentes interrupciones del tratamiento en algunos pacientes, ya sea por incremento de la urea y creatinina o desarrollo de hipocalcemia severa. Otros efectos tóxicos, como miocarditis y hepatitis severa, son poco frecuentes pero graves. La correcta hidratación y otras estrategias de prevención son muy importantes para evitar o reducir la toxicidad renal, hepática y cardíaca (OPS/OMS, 2013). (tabla 10).

Tabla 10. Esquema de tratamiento sistémico – Anfotericina B para leishmaniasis visceral (segunda línea)

Intervención	Forma de administración	Esquema	Nivel de atención
Anfotericina B liposomal *	Intravenosa	3-5 mg/kg/d por 3 a 6 d hasta 20 mg/kg dosis total.	Segundo nivel de atención o centro de referencia.
Anfotericina B desoxicolato	Intravenosa	1 mg kg/d por 14 d hasta una dosis total de 800 mg.	Segundo nivel de atención o centro de referencia.

Fuente: OPS/OMS. Recomendaciones para el tratamiento de LA. 2013

(*) Ante la imposibilidad de usar **anfotericina B liposomal** para las situaciones arriba descritas, la alternativa terapéutica es el desoxicolato de anfotericina B (OPM/OMS, 2013).

Tratamiento de la Leishmaniasis Visceral – VIH/SIDA

La droga de primera línea para el tratamiento es el uso de la anfotericina B liposomal o de los antimoniales pentavalentes o de la anfotericina B desoxicolato para el tratamiento de la coinfección leishmaniasis visceral – VIH-sida (tablas 11 y 12).

Tabla 11. Esquema de tratamiento sistémico para la coinfección leishmaniasis visceral y VIH-sida (primera línea)

Intervención (orden de prioridad considerando la disponibilidad del medicamento en cada país)	Forma de administración	Esquema	Nivel de atención
Anfotericina B liposomal*	Intravenosa	3-5 mg/kg/d hasta 20-40 mg/kg dosis total.	Centro de referencia
Antimoniales pentavalentes	Intravenosa o Intramuscular	20 mg/Sb ^{+5/} kg/d por 28 d.	
Anfotericina B desoxicolato	Intravenosa	1 mg kg/d por 14 d hasta una dosis total de 800 mg.	

Fuente: OPS/OMS. Recomendaciones para el tratamiento de LA. 2013

Tabla 12. Esquema de tratamiento sistémico para profilaxis secundaria en pacientes con leishmaniasis visceral y VIH-sida

Intervención	Forma de administración	Esquema	Nivel de atención
Anfotericina B liposomal *	Intravenosa	3-5 mg/kg/dosis c/3 semanas	Centro de referencia
Antimoniales pentavalentes	Intravenosa o Intramuscular	20 mg/Sb ⁺⁵ c/2 semanas	Ambulatorio
Anfotericina B desoxicolato	Intravenosa	1 mg kg/dosis c/2 semanas	Centro de referencia

Fuente: OPS/OMS. Recomendaciones para el tratamiento de LA. 2013



Tratamiento de casos especiales de leishmaniasis visceral

Para el tratamiento de casos especiales de leishmaniasis visceral la escogencia debe tener en cuenta el perfil de toxicidad de las drogas y el riesgo de muerte asociado a la enfermedad. La anfotericina B liposomal* está indicada en pacientes que cumplan por lo menos uno de los siguientes criterios:

- Mayor de 50 años de edad
- Menor de un año de edad
- Insuficiencia renal
- Insuficiencia hepática
- Insuficiencia cardíaca
- Intervalo QT corregido mayor de 450 ms
- Uso concomitante de medicamentos que alteran el intervalo QT
- Hipersensibilidad a antimoniales pentavalentes o a otros medicamentos utilizados para el tratamiento de LV
- Infección por el VIH
- Comorbilidades que comprometen la inmunidad
- Uso de medicamentos inmunosupresores
- Falla terapéutica a antimoniales pentavalentes o a otros medicamentos utilizados para el tratamiento de LV
- Embarazadas

(*) Ante la imposibilidad de usar **anfotericina B liposomal** para las situaciones arriba descritas, la alternativa terapéutica es el desoxicolato de anfotericina B (OPM/OMS, 2013).





Es importante resaltar el valor de la educación para la salud





Educación para la Salud y Participación Social en Leishmaniasis

Aspectos contextuales/conceptuales de la educación para la salud y la participación social en el marco de la prevención y control de la leishmaniasis en Venezuela

La educación para la salud y la participación social han estado vinculadas a las políticas y programas de salud pública, así como al control de las diferentes endemias en Venezuela, desde el mismo momento de la creación del Ministerio del Poder Popular para la Salud (año 1936). Tiene su génesis en una visión filosófica y conceptual desde el paradigma de la educación sanitaria, siendo su naturaleza asistencialista y benéfica vinculante a la interpretación de la salud como biologicista–unicausal, solo como ausencia de enfermedades.

Esta interpretación históricamente ha venido cambiando, al menos teóricamente, a partir de la década de los 60 por las transformaciones sociales y políticas del país. Desde ese momento se inició la discusión y apertura hacia el paradigma de la educación para la salud valorada como un proceso que contribuye a la calidad de vida y promoción de la salud en el desarrollo social sostenible, y que rompe estructuralmente con la esencia filosófica y metodológica del paradigma anterior.

Igualmente, en el ámbito internacional suceden en esa década eventos importantes que dieron reconocimiento y fortalecimiento a la educación para la salud en las políticas públicas de salud en los países que conforman la región de las Américas; lo que contribuyó a abrir un espacio de discusión de propuestas relacionado con esta temática en el marco de las políticas de salud en Venezuela. De estos encuentros se citan la Declaración de la Atención Primaria en Salud en Alma-Ata, Rusia (1978), seguido por la Carta de Ottawa, Primera Conferencia Internacional de Promoción de la Salud, en Ottawa, Canadá (1986). A esta Conferencia le siguieron otras que examinaron los temas más destacados tratados en la Carta de Ottawa sobre una política pública saludable (1988), la Cuarta Conferencia Internacional de Promoción para la Salud, Yakarta, Indonesia (julio de 1997), así como otros encuentros más recientes. En cada uno de estos eventos la variable constante ha sido la educación y la participación social como estrategia esencial para contribuir a la transformación de la salud de las comunidades.

Estas referencias marcan, de igual manera, el comportamiento histórico de la educación para la salud en el campo de los programas de control de endemias en el país, la cual ha sido interpretada y aplicada desde la visión de educación sanitaria, orientando los esfuerzos técnicos y humanos desde una perspectiva centralizada de la planificación, con un sentido unidireccional-coyuntural-benéfica para conseguir objetivos específicos en cuanto al control de ciertas enfermedades, con especial énfasis en momentos de crisis o repunte de las mismas.

En cuanto al Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit», en las décadas de los 40 y 50 se crearon los Servicios de Dermatología Sanitaria a nivel nacional, y con ello se instaló el registro manual del Programa de Leishmaniasis, el cual refleja de alguna manera los procedimientos generales de las acciones clínicas y epidemiológicas de esta enfermedad. Progresivamente se han ido integrando algunas líneas de trabajo de educación para la salud y participación social desde un enfoque básicamente de educación sanitaria, en el que prevalecen el asistencialismo y reduccionismo en la gestión de la misma, limitándose a solucionar de manera puntual las dolencias clínicas de las enfermedades en las poblaciones afectadas.

No obstante, este recorrido histórico de experiencias de educación sanitaria facilitan algunas lecciones aprendidas a nivel institucional, en cuanto a la búsqueda de nuevos enfoques y aproximaciones a un enfoque transformador de educación para la salud en el marco del control de las enfermedades. Así como lo plantea Paulo Freire en su propuesta sobre la educación liberadora, el acto educativo no puede quedar reducido al puro acto informativo o de instrucción, no puede decirse educativo lo que tiene un sentido unidireccional. Es el conjunto de interacciones, que se generan en el proceso vital de relación, el que llena toda la riqueza formativa; es la relación dialógica y crítica el sello del proceso gnoseológico. A partir de estas aproximaciones hacia nuevos enfoques de educación para la salud, en la década de los 90 se crea la Unidad de Educación para la Salud y Participación Social en el Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina «Dr. Jacinto Convit», marcando de esa manera cambios significativos en el diseño de las políticas de educación para la salud en el contexto de los programas de prevención y control de las enfermedades a nivel nacional, así como en las diferentes líneas de investigación científica.

A partir de ese momento se inició una apertura hacia los nuevos enfoques de educación para la salud en los programas de investigación y control de la leishmaniasis, como por ejemplo la investigación de campo articulada al Proyecto de Inmunoprofilaxis de Leishmaniasis en el municipio Andrés Bello del estado Lara (año 1992).

Luego de esta experiencia se integraron diferentes proyectos, como la formación de recursos humanos (equipos de salud a nivel nacional y formación de promotores sociales), proyectos de educación en salud comunitaria, entre otras acciones.

Los resultados de estas experiencias de investigación asociadas a educación para la salud en leishmaniasis se visibilizaron en publicaciones de artículos que han servido de fortalecimiento metodológico al equipo de trabajo. Todas estas referencias han servido para cambiar la visión del equipo en relación con el papel de la educación y participación social desde un enfoque socio-histórico.



Este enfoque abandona estructuralmente el modelo reduccionista asistencialista/benéfico tradicional, para pasar a la aplicación del paradigma de educación para la salud y participación social inscrita en un proceso de concientización crítica y de cambio, en el que la salud se refleja como valor individual y colectivo, enmarcado en una visión de promoción y calidad de vida, expresada en una respuesta social organizada, transectorial y transdisciplinaria.

Esta premisa valora la investigación científica como eje nuclear de la educación para la salud, para definir una línea base de conocimientos, creencias y prácticas de las poblaciones referentes al comportamiento de las endemias, como la leishmaniasis, directamente desde los escenarios naturales comunitarios. La experiencia ha demostrado la pertinencia de este enfoque, pues se profundiza en los perfiles de las poblaciones como esencia para generar acciones educativas en el marco de los programas de control de endemias. En este contexto, el reconocimiento al valor de lo cotidiano como esencia de las dinámicas e interrelaciones de las formas de vida y producción social de las comunidades cobra un espacio sociológico significativo, supuesto teórico que Mauro Wolf desarrolla en forma detallada en su trabajo *Sociologías de la vida cotidiana* (1994), en el que expresa la importancia de los encuentros sociales como una vía de establecer las interacciones de los individuos desde sus formas naturales de organización social y de sus relaciones de poder.

¿Cómo se materializan las iniciativas de educación para la salud?

A partir de los datos socioculturales extraídos de las entrevistas y expresados en la georreferencia, el equipo de trabajo cuenta con insumos valiosos para discutir objetivamente las estrategias de educación para la salud y participación comunitaria en territorios sociales específicos; es decir, en sectores o comunidades de una parroquia, municipio o estado. Debe señalarse que el sentido crítico y analítico del personal es fundamental para no perder estos insumos en actividades desarticuladas y puntuales. Es importante recordar que estamos ante un paradigma de la educación para la salud, que se define como *un proceso de concientización crítica y de cambio, donde la salud es presentada como un valor individual y colectivo, enmarcado en una visión de promoción y calidad de vida que se expresa en una respuesta social organizada, multisectorial y transdisciplinaria.*

Es necesario enfatizar una vez más que la aplicación aislada y desarticulada de ciertos objetivos precisos de un programa, como charlas, rotafolios, trípticos, dípticos, desplegables, visitas domiciliarias, perifoneos, panfletos, afiches, etc., no son en sí mismos educación para la salud, pues solo representan acciones eventuales y coyunturales que no generan cambios de conducta y de actitud en una población.

Ahora bien, estos recursos didácticos pueden tener validez conceptual y metodológica cuando se diseñan y aplican tomando en cuenta el análisis del perfil cultural de cada uno de los públicos/objetivos con los cuales se quiere iniciar un proceso de cambio de conducta, en este caso, en lo que se refiere a la prevención y control de la leishmaniasis.

Monitoreo del proceso educativo

Este proceso es fundamental para viabilizar con éxito las acciones planificadas en equipo, y para llevarlo a cabo es preciso apoyarse en una metodología basada en indicadores contruidos a partir de una data válida y confiable que sustente el proyecto en cuestión.

Evaluación del programa de educación y participación comunitaria en leishmaniasis

Se sugiere el diseño de indicadores de gestión al inicio del programa, los cuales deben ser revisados y reformulados si es necesario. Lo importante es considerar el papel clave de la evaluación para la consolidación del programa de prevención, educación y vigilancia epidemiológica.

The background is a solid orange color with several hexagonal shapes of varying sizes and colors (lighter and darker shades of orange) scattered across it. The word "REFERENCIAS" is centered in white, bold, uppercase letters.

REFERENCIAS





REFERENCIAS

1. Abranches PG, Santos-Gomes G *et al.* An experimental model for canine visceral leishmaniasis. *Parasite Immunol* 1991;13: 537-550.
2. Consejo Mexicano de Investigación Educativa. Acercamiento etnográfico a la cultura escolar. *Rev Mex Invest Educ.* 2001: 6 (12): 371-379.
3. Aguilar CM, Fernández R, Fernández E, Cannova DC, Ferrer E, Cabrera Z, *et al.* Urban visceral leishmaniasis in Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1998;93:15-16.
4. Alexander J, Phillips RS. *Leishmania tropica* and *Leishmania mexicana*: cross-immunity in mice. *Exp Parasitol.* 1978; 45:93-100.
5. Alexander J, Kaye PM. Immunoregulatory pathways in murine leishmaniasis: different regulatory control during *Leishmania mexicana mexicana* and *Leishmania major* infections. *Clin Exp Immunol.* 1985 Sep;61(3):674-82.
6. Alvar J, Molina R, San Andrés M, Tesouro M, Nieto J, Vitutia M, *et al.* Canine leishmaniasis: clinical, parasitological and entomological follow-up after chemotherapy. *Ann Trop Med Parasitol* 1994 Aug 88(4):371-378.
7. Alvar J, Gutiérrez-Solar B, Pachón I, Calbacho E, Ramírez M, Valles R, *et al.* AIDS and *Leishmania infantum*. New approaches for a new epidemiological problem. *Clin Dermatol* 1996;14:541-546.
8. Alvar J. El protozoo. Las leishmaniasis: de la biología al control. Junta de Castilla de León 1997;17-31.
9. Alvar J. Las leishmaniasis: de la biología al control. Laboratorios Intervet SA, Salamanca, 2001.
10. Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. *Trends Parasitol.* 2006; 22:552-7.
11. AMA Department of drugs: Drug evaluations Subscription. American Medical Association, Chicago, IL, 1991.
12. Ashford DA, David JR, Freire M, David R, Sherlock I, Eulalio MC, *et al.* Studies on control of leishmaniasis: Impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:53-57.
13. Auböck J, Romani N, Grubauer G, Fritsch P. HLA-DR expression on keratinocytes is a common feature of diseased skin. *Br J Dermatol.* 1986;114:465-72.
14. Bacellar O, Lessa H, Schriefer A, Machado P, Ribeiro A, Dutra W, *et al.* Up-regulation of Th1 response in mucosal leishmaniasis patients. *Infect Immun.* 2002;70:6734-40.

15. Bacellar O, Faria D, Nascimento M, Cardoso TM, Gollob KJ, Dutra WO, *et al.* Interleukin 17 production among patients with American cutaneous leishmaniasis. *J Infect Dis.* 2009;200:75-8.
16. Belkaid Y, Kamhawi S, Modi G, Valenzuela J, Nobe-Traut N, Rowton E, *et al.* Development of a natural model of cutaneous leishmaniasis: powerful effects of vector saliva preexposure on the long term outcome of *L. major* infection in the mouse ear dermis. *J Exp Med.* 1998; 188:1941-53.
17. Blank C, Fuchs H, Rappersberger K, *et al.* Parasitism of epidermal Langerhans cells in experimental cutaneous with *Leishmania major*. *J Infect Dis.* 1993; 32:802-5.
18. *Bol Epidemiol.* Sep 2002; 23(3).
19. Bloom BR, Salgame P, Diamond B. Revisiting and revising suppressor T cells. *Immunol Today.* 1992;13:131-6.
20. Boaventura VS, Santos CS, Cardoso CR, de Andrade J, Dos Santos WL, Clarencio J, *et al.* Human mucosal leishmaniasis: neutrophils infiltrated areas of tissue damage that express high levels of Th17-related cytokines. *Eur J Immunol.* 2010; 40:2830-6.
21. Braz RF, Nascimento ET, Martins DR, Wilson ME, Pearson RD, *et al.* The sensitivity and specificity of *Leishmania chagasi* recombinant K39 antigen in the diagnosis of American visceral leishmaniasis and in differentiating active from subclinical infection. *Am J Trop Med Hyg* 2002;67:344-348.
22. Breathnach SM, Katz SI. Keratinocytes synthesize Ia antigen in acute cutaneous graft-vs-host disease. *J Immunol.* 1983;131:2741-5.
23. Bulle B, Millon L, Bart JM, Gallego M, Gambarelli F, Portus M, *et al.* Practical approach for typing strains of *Leishmania infantum* by microsatellite analysis. *J Clin Microbiol* 2002;40:3391-3397.
24. Cabrera M, Blackwell JM, Castes M, Trujillo D, Convit J, & Shaw MA. Immunotherapy with live BCG plus heat killed *Leishmania* induces a T helper 1 like response in American cutaneous leishmaniasis patients. *Parasite immunology.* 2000; 22(2), 73-79.
25. Cabrera M, Rodriguez O, Monsalve I, Tovar R & Hagel I. Variations in the serum levels of soluble CD23, nitric oxide and IgE across the spectrum of American cutaneous leishmaniasis. *Acta tropica.* 2003; 88(2), 145-151.
26. Cabrera M, Lugo DA, Cuenca M, Quiñones LH. Evaluación local y sistémica de la concentración de interleucina-22 en pacientes con leishmaniasis cutánea americana. LXV Convención Anual de AsoVAC. La Guaira, edo. Vargass-Venezuela. 2015.



27. Cáceres-Ditmar G, Tapia FJ, Sánchez MA, Yamamura K, Uyemura RL, Modlin R, *et al.* Determination of the Cytokine profile in American cutaneous leishmaniasis using polymerase chain. *Clin Exp Immunol.*1993;91:500-5.
28. Cairó J. Aspectos clínicos de la leishmaniosis canina. *Canis et Felis Leishmaniosis*, Oct 1997;29: 53-63.
29. Castés M, Agnelli A, Verde O, Rondon AJ. Characterization of the cellular immune response in American cutaneous leishmaniasis. *Clin Immunol Immunopathol.*1983;27:176-86.
30. Castés M, Cabrera M, Trujillo D, Convit J. T-cell subpopulations, expression of interleukin-2 receptor and production of interleukin-2 and gamma interferon in human American cutaneous leishmaniasis. *J Clin Microbiol.*1988;26:1207-13.
31. Castés M, Trujillo D, Rojas ME, Fernández CT, Araya L, Cabrera M, *et al.* Serum levels of tumor necrosis factor in American cutaneous leishmaniasis. *Biol Res.*1993; 26:233-8.
32. Castés M, Cabrera M, Trujillo D, Rodas A, Scott D, Blackwell J, *et al.* Cytokine profile in human American cutaneous leishmaniasis. *Acta Parasitol Túrçica.*1996;20 (Suppl. 1):45-57.
33. Chong H. Oriental Sore. A look at trends in and approaches to the treatment of leishmaniasis. *Int J Dermatol* 1986;25:615-623.
34. Convit J, Castellanos PL, Ulrich M, *et al.* Immunotherapy of localized intermediate, and diffuse forms of American cutaneous leishmaniasis. *J Infect Dis* 1989;160:104-115.
35. Convit J, Pinaridi ME, Rondón AJ. Diffuse cutaneous leishmaniasis: a disease due to an immunological defect of the host. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*1972;66:603-10.
36. Convit J, Pinaridi ME. Cutaneous Leishmaniasis: The clinical and immunopathological spectrum in South America. Instituto Nacional de Dermatología, Caracas. 1974; 159-166.
37. Convit J, Ulrich M, Fernandez CT, Tapia FJ, Cáceres-Ditmar G, Castés M, *et al.* The immunological spectrum of American cutaneous leishmaniasis. *Tran R Soc Trop Med Hyg.* 1993;87:444-8.
38. Convit J, Ulrich M, Polegre MA, Avila A, Rodríguez N, Mazzedo MI, & Blanco B. Therapy of Venezuelan patients with severe mucocutaneous or early lesions of diffuse cutaneous leishmaniasis with a vaccine containing pasteurized *Leishmania* promastigotes and bacillus Calmette-Guerin: preliminary report. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2004;99(1), 57-62.

39. Cook TD, Reichardt CH. S. Métodos cualitativos y cuantitativos en investigación evaluativa. Ediciones Morata, S. A. Madrid. España. 1986.
40. Cunha AM, Chagas E. Nova especie de protozoario do género *Leishmania* patogénico para o homen. *Leishmania chagasi* ssp. Nota previa. Hospital (Rio) 1937;43:697-701.
41. Chulay JD, Spencer HC, Mugambi M. Electrocardiographic changes during treatment of leishmaniasis with pentavalent antimony (sodium stibogluconate). *Am J Trop Med Hyg* 1985;34(4):702-709.
42. Chulay JD, Fleckenstein L, Smith DH. Pharmacokinetics of antimony during treatment of visceral leishmaniasis with sodium stibogluconate or meglumine antimoniate. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1988;82:69-72.
43. Cupolillo E, Grimaldi G, Momen H. Discrimination of *Leishmania* isolates using a limited set of enzymatic loci. *Ann Trop Med Parasitol* 1995; 89: 17-23.
44. Da Silva VO, Borja-Cabrera GP *et al.* A phase III trial of efficacy of the FML-vaccine against canine *kala-azar* in an endemic area of Brazil (São Gonçalo do Amaranto, RN). *Vaccine* 2000;19:1082-1092.
45. Dawson S, Manderson L, & Tallo VL. Manual para el uso de grupos focales: métodos de investigación social en enfermedades tropicales. Fondo Editorial FINTEC. 1997.
46. de Bruijn MHL, Barker DC. Diagnosis of New World leishmaniasis: specific detection of species of the *Leishmania* braziliensis complex by amplification of kinetoplast DNA. *Acta Tropica*1992; 52: 45-58
47. de la Loma A, Alvar J, Martínez Galiano E, Blázquez J, Alcalá Muñoz A, Nájera R. Leishmaniasis or AIDS. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985;79(3):421-422.
48. de Moura TR, Novais FO, Oliveira F, Clarêncio J, Noronha A, Barral A, *et al.* Toward a novel experimental model of infection to study american cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania* braziliensis. *Infect Immun.* 2005 Sep;73(9):5827-34.
49. Desjeux P. Leishmaniasis: Public health aspects and control. *Clin Dermatol* 1996;14:417-423.
50. Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001;95:239-243.
51. Diaz NL, Fernandez M, Figueira E, Ramírez R, Monsalve I, Tapia, F. Nitric oxide and cellular immunity in experimental cutaneous leishmaniasis. *Clin Exp Dermatol.* 2003; 28: 1-6.
52. Díaz NL, Zerpa O, Ponce LV, Convit J, Rondon A, Tapia FJ. Intermediate or chronic cutaneous leishmaniasis: leukocyte immunophenotypes and cytokine characterization of the lesion. *Exp Dermatol.* 2002; 11:34-41.



53. Díaz NL, Zerpa O, Sánchez MA, Tapia FJ. Compartmented immunity in dogs infected with *Leishmania chagasi*. Worldleish II Congress 2001, May 20-24, Crete-Greece.
54. Donovan Ch. On the possibility of the occurrence of tripanosomiasis in India. Br Med J 1903;2:79.
55. Dorlo TPC, Balasegaram M, Beijnen JH, de Vries PJ. Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of Leishmaniasis. J Antimicrob Chemother. 2012; 67: 2576–97.
56. Elliot J. La investigación-acción en educación. Ediciones Morata, S.L. Madrid.2001.
57. Evans DA, Rebelo ME. Leishmaniose viscerocutánea no cão doméstico. Instituto de Proteção da Produção Agro-Alimentar, Centro Nacional de Proteção e Controle Zoo-Sanitário 1996;1-65.
58. Fang FC. Perspectives series: Host/pathogen interactions. Mechanisms of nitric oxide-related antimicrobial activity. J Clin Invest 1997;99:2818.
59. Faria DR, Gollob KJ, Barboza J. Jr, Schrieffer A, Machado PRL, Lessa H, et al. Decreased in situ expression of interleukin-10 receptor is correlated with exacerbated inflammatory and cytotoxic response observed in mucosal leishmaniasis. Infect Immun. 2005; 73:7853-9.
60. Faria DR, Souza PEA, Duraes FV, Carvalho EM, Gollob KJ, Machado PR, et al. Recruitment of CD8+ T cells expressing granzyme A is associated with lesion progression in human cutaneous leishmaniasis. Parasite immunology. 2009; 31(8), 432-439.
61. Feliciangeli MD. Leishmaniasis en Venezuela: situación actual, acciones y perspectivas para el control vectorial en el marco de un programa de control multisectorial. Boletín de Malariología y Salud Ambiental. 2014; 54(1), 1-7.
62. Feliciangeli MD, Rodríguez N, de Guglielmo Z, Rodríguez A. The re-emergence of American visceral leishmaniasis in an old focus in Venezuela. II Vectors and parasites. Parasite 1999;6:113-120.
63. Feliciangeli MD, Zerpa O, Rodríguez N, Bravo A, Galindo W, Convit J. Hallazgo de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera *Psychodidae*) naturalmente infectada con promastigotes en un foco endémico de leishmaniasis visceral en la isla de Margarita, Venezuela. Bol Dir Malariol Saneamiento Amb 1998;38:73-75.
64. Fergin C. Leishmaniasis visceral. Tratados de infecciones en Pediatría. Tercera edición McGraw-Hill Interamericana. 1996; Vol II
65. Freire P. Pedagogía del Oprimido. Madrid: Siglo XXI Editores. 1970. Disponible en: <http://www.servicioskoinonia.org/biblioteca/general/FreirePedagogiadelOprimido.pdf>

66. Freire P. La educación liberadora. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/educacion/revista/a5n26/5-26-8.pdf>
67. García B, Salgado A, Borges R. Aplicación de los Sistemas de Georreferencia en la Organización y Sustentabilidad de Redes Sociales Comunitarias, enmarcadas en la educación y vigilancia epidemiológica del dengue a nivel local. Bases de Datos LILACS. Primera versión. Caracas; MSDS; sept. 2001; p. 39.
68. García B, Borges R, Salgado A. La etnografía: manual teórico-práctico para el diseño de iniciativas de educación y participación comunitaria en Leishmaniasis. MPPS.UCV. 2004.
69. García B: Aporte de la etnografía en el conocimiento de los códigos socioculturales de la leishmaniasis cutánea localizada en un programa de educación para la salud, en Venezuela Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro. 2007; 23 (83).
70. García B, Salgado A. Una Mirada Etnográfica del conocimiento del Dengue desde la Perspectiva de un Grupo de Escolares. Unidad Educativa Nacional Bolivariana «Armando Zuloaga Blanco» Distrito Capital. Venezuela. Período Marzo- Diciembre 2009.
71. García B, Salgado A. Del Paradigma de los Croquis a la Georreferencia Automatizada. Su aplicación en la gestión de programas comunitarios e investigaciones en salud. Publicaciones CDCH-UCV. Venezuela. 2010;109-137.
72. García Rivas L. Situación Histórica de Leishmaniasis Cutánea en el Estado Cojedes. Dermat Venez. 1994; 32(1): 34-38.
73. Granada-Echeverry, P. (1998). La etnografía en la práctica médica. Revista de Ciencias Humanas, 31, 57-66.
74. Grimaldi G Jr, Moriearty PL, Hoff R. *Leishmania* mexicana: immunology and histopathology in C3H mice. Exp Parasitol. 1980;50:45-56.
75. Grimaldi G. & Mc Mahon-Pratt D. Monoclonal antibodies for the identification of New World Leishmanias species. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 1996; 91,37- 42.
76. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Novena edición, McGraw-Hill Interamericana 1996; Vol II:1062-1064.
77. Grimaldi G Jr, Tesh RB, McMahan-Pratt D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. Am J Trop Med Hyg 1989;41:687-725.
78. Guerin PJ, Olliaro P, Sundar S, *et al*. Visceral leishmaniasis: Current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. Lancet Infect Dis 2002;2:494-501.



79. Hamui Sutton A, Ponce de León ME, Varela Ruiz M. La técnica de grupos focales. Departamento de Investigación Educativa, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 2 Departamento de Investigación en Educación Médica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 2012.
80. Heinzel FP. Interleukin 12 and the regulation of CD4+ T-cell subset responses during murine Leishmaniasis. *Parasitol Today*. 1994;10:190-2.
81. Herrera ME. Fracaso escolar, códigos y disciplina: una aproximación etnográfica. Última década. 1999; 10: 1-9
82. Jha TK, Sundar S, Thakur CP, Bachmann P, *et al*. Miltefosine, an oral agent, for treatment of Indian visceral leishmaniasis. *New Engl J Med* 2002;347:1739-1746.
83. Kafetzis DA. An overview of paediatric leishmaniasis. *J Postgraduate Med* 2003;43:31-38.
84. Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M, Foucheux MC, Dereure J, Puech MP, Cadiegues MC. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. *Med Vet Entomol* 1997;11:105-111.
85. Killick-Kendrick R, Wilkes TJ, Bailly M, Bailly I, Righton LA. Preliminary field observations on the flight speed of a phlebotomine sandfly. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986;80:138-142.
86. Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. En: Peters W, Killick-Kendrick R, editores. *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*. London: Academic Press 1987; vol 1: 1-120
87. Lainson R, Ishikawa EA, Silveira FT. American visceral leishmaniasis: wild animal hosts. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002;96:630-631.
88. Laveran A., Mesnil F. Sur un protozoie nouveau (*Piroplasma donovani* Lav. et Mesn.) Parasite d' une fièvre de L'Inde. *Comp Rend Hébdomadiars de Séances Acad Sci* 1903;137:957-961.
89. Leishman WB. On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. *Brit Med. J* 1903;1:1252-1254.
90. Lita G, Davachi F, Sulcebe G, Bregu H, Basha M. Pediatric visceral leishmaniasis in Albania. *Int J Infect Dis* 2002;6:66-68.
91. Liew FY, Millott S, Parkinson C, Palmer RM, Moncada S. Macrophage killing of *Leishmania* parasite *in vivo* is mediated by nitric oxide from L-arginine. *The Journal of Immunology*. 1990; 144(12), 4794-4797.
92. Loyo N, Zerpa O, Oliver M, Capozzi V, Arenas A, Rodríguez N, *et al*. HIV and leishmaniasis coinfection. *Ann Dermatol Venereol* 2002;129:15810.

93. Lugo D, Rodríguez OL, Galindo W, Ortega ME, Cardozo A, *et al.* Células inflamatorias en la secreción nasal y citocinas proinflamatorias Th1, Th2, Th17 y reguladoras en el suero de pacientes con leishmaniasis cutánea Americana. *Bol Mal Salud Amb.* 2014; 54:29-37.
94. Maalej IA, Chenik M, Louzir H, Ben Salah A, Bahloul C, Amri F, Dellagi K. Comparative evaluation of ELISAs based on ten recombinant or purified *Leishmania* antigens for the serodiagnosis of Mediterranean visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2003;68:312-320.
95. Machado PR, Rosa ME, Costa D, Mignac M, Silva JS, Schriefer A, *et al.* Reappraisal of the immunopathogenesis of disseminated leishmaniasis: In situ and systemic immune response. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2011;105:438-44.
96. Marsden PD. Mucosal leishmaniasis (espondia: Escomel, 1911). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986;80:859-976.
97. Martínez NA, Pons AR. Primer caso de *kala-azar* en Venezuela. *Gaceta Med Caracas* 1941;48:329-332.
98. Martínez M. La investigación cualitativa etnográfica en educación. Editorial Trillas. México.1996.
99. Martínez H, Suriano K, Ryan GW, Pelto GH. etnografía de la infección respiratoria aguda en una zona rural del altiplano mexicano. *Salud Pública de México.* 1997; 39 (3): 207-216
100. Marzal UM, Cabrera M, Díaz N, Sánchez MA, Negrón E, Zerpa O, Convit J, Tapia FJ. Concentración de nitritos derivados del óxido nítrico en perros con infección natural por *L. infantum/L. chagasi*. *Acta cient Ven* 2002;53:123.
101. Mauricio IL, Stothard JR, Miles MA. The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasitol Today* 2000;16:188-189.
102. Mazzarri MB, Feliciangeli MD, Maroli M, Hernández A, Bravo A. Susceptibility of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera *Psychodidae*) to selected insecticides in an endemic focus of visceral leishmaniasis in Venezuela. *J Am Mosquito Control Assoc* 1997;13:335-341.
103. Mendoza-León A, Luis L, Martínez C. The b -Tubulin gene region as a molecular marker to distinguish *Leishmania* parasites. En: *Methods in Molecular Biology. Gene probes: Principles and Protocols.* Aquino M, Rapley R. (Eds). Humana Press Inc. New Jersey. 2002; vol. 179: 61-83
104. Mondal D, Alvar J, Hasnain G, Hossain S, Ghosh D, Huda M, *et al.* Efficacy and safety of single-dose liposomal amphotericin B for visceral leishmaniasis in a rural public hospital in Bangladesh: a feasibility study. *The lancet global health.* 2014; 2(1): 51-57.



105. Monge-Maillo B, López-Vélez R. Therapeutic Options for Visceral Leishmaniasis. *Drugs*; 2013. 73 (17): 1863-88.
106. Momen H, Grimaldi G Jr, Deane LM. *Leishmania infantum*, the aetiological agent of American visceral leishmaniasis (AVL)? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1987;82(3):447-448.
107. Molano I, Alonso MG, et al. A *Leishmania infantum* multi-component antigenic protein mixed with live BCG confers protection to dogs experimentally infected with *L. infantum*. *Vet Immunol Immunopathol* 2003;92:1-13.
108. Moreno G, Rioux JA, Lanotte G, Pratlong F, Serres E. Le complexe *Leishmania donovani* s.l. Analyse enzymatique et traitement numérique. Individualisation du complexe *Leishmania infantum*. Corollaires biogéographiques et phylétiques. A propos de 146 souches originaires de l'Ancien et du Nouveau Monde. In Coll. Int. CNRS/INSERM *Leishmania*. Taxonomie et phylogénèse. Applications éco-épidémiologiques, IMEEE, Montpellier. 1984;105-117.
109. Moreno J, Alvar J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends Parasitol* 2002;18:399-405.
110. Moreno J, Nieto J et al. The immune response and PBMC subsets in canine visceral leishmaniasis before, and after, chemotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 1999;71:81-95.
111. Montero, M. *Hacer para transformar. El método en la Psicología Comunitaria*, Argentina: Editorial PAIDOS. 2006.
112. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. 1986. *J Immunol*. 2005;175:5-14.
113. MPPS, SAIB. UI/ jed. 2004.
114. MPPS, SAIB «Dr. Jacinto Convit», UI/SL, DB. 2016
115. Mutis T, Cornelisse YE, & Ottenhoff TH. Mycobacteria induce CD4+ T cells that are cytotoxic and display Th1 like cytokine secretion profile: Heterogeneity in cytotoxic activity and cytokine secretion levels. *European journal of immunology*. 1993; 23(9), 2189-2195.
116. Nájera-Aguilar P, Martínez-Piedra R, Vidaurre-Arenas M. de croquis a mapas digitales. Modelo y aplicación de un Sistema de Información Geográfica (SIG) para el control de la malaria sin el uso de pesticidas. Área de Análisis de Salud y Sistemas de Información Sanitaria (AIS), OPS / OMS. *Boletín Epidemiológico*.2005; 26(1).

117. Neves J. Recentes progressos e necessidades de pesquisa na leishmaniose visceral Americana (calazar). Presentado en XI Congreso Soc Bras Med Trop, Río de Janeiro, 1975.
118. Nickoloff BJ. Role of interferon-gamma in cutaneous trafficking of lymphocytes with emphasis on molecular and cellular adhesion events. Arch Dermatol 1988;124:1835-43.
119. Nieto CG, García-Alonso M, Requena JM, Miron C, Soto M, Alonso C, Navarrete I. Analysis of the humoral immune response against total and recombinant antigens of *Leishmania infantum*: correlation with disease progression in canine experimental leishmaniasis. Vet Immunol Immunopathol 1999;67:117-130.
120. Nigenda G, Langer A. Métodos cualitativos para la investigación en salud pública. In Perspectivas en salud pública. Instituto Nacional de Salud Pública. 1995; vol. 20: 104.
121. Noli C. Leishmaniosis canina. Waltham Focus 1999;9:16-24.
122. OMS. Control de las Leishmaniasis. Serie de Reportes Técnicos. Ginebra. Ed. OMS. Vol. 949. 2010, Ginebra: OMS. 216.
123. OMS/OPS. Leishmaniasis en las Américas, Recomendaciones para el Tratamiento. 2013
124. OMS. Leishmaniasis. Nota descriptiva N° 375. Organización Mundial de la Salud. Febrero 2015.
125. OMS. Centro de prensa. Nota descriptiva: enfermedades tropicales desatendidas. [Internet] Abril 2017. [Citado en noviembre de 2017] Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/es/>
126. OPS. Leishmaniasis en las Américas. Recomendaciones para el Tratamiento. Organización Panamericana de la Salud. Washington D.C. 2013:1-43.
127. OPS. Leishmaniasis. Informe Epidemiológico de las Américas. [Internet] Abril 2013. [Citado en Julio de 2015] Available from: <http://www.observatoriorh.org/honduras/?q=node/48>.
128. OPS-OMS. Leishmaniasis - Informe Epidemiológico de las Américas N° 7, Marzo, 2019
129. OPS / OMS. Manual de Procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas. 2015.
130. OPS / OMS. http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/34856/LeishReport6_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y
131. Velasco Orozco JJ. La investigación Etnográfica y el Maestro. Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Tecnológico de Toluca. Instituto de las Ciencias de la Educación del Estado de México. Tiempo de educar. 2003; 4 (7):153-169.



132. Ortega-Moreno ME, Lugo DA, Belizario D, Galindo W, Guevara JR, Zepa Rangel O. Co-infección *Leishmania*/VIH: clínica y epidemiología en Venezuela. Período 2000-2013. *Dermatol Venez*. 2014a; 51(1): 20-25.
133. Ortega-Moreno ME, Lugo DA, Belizario D, Galindo W, Convit J, Zepa Rangel O. Comparación Clínica de la Leishmaniasis Cutánea Difusa y Leishmaniasis Diseminada en Venezuela. *Dermatol Venez*. 2014b; 51(2): 29-35.
134. Panaro, MA, Acquafredda A *et al*. Nitric oxide production by macrophages of dogs vaccinated with killed *Leishmania infantum* promastigotes. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2001;24:187-195.
135. Panzarelli Herrera A, Herrera Bolívar E, Delgado O, Quintero R, Manrique A, de Camejo O. Leishmaniasis Cutánea Localizada de 18 años de Evolución. *Dermat Venez*. 1993; 31(4).162-166.
136. Pérez H, Labrador F, Torrealba JW. Variations in the response of five strains of mice to *Leishmania mexicana*. *Int J Parasitol*. 1979; 9:27-32.
137. Pineda JA, Gallardo JA, Macías J, Delgado J, Regordan C, Morillas F, *et al*. Prevalence of and factors associated with visceral leishmaniasis in Human Immunodeficiency Virus Type 1-infected patients in southern Spain. *J Clin Microbiol* 1998;36:2419-2422.
138. Pinelli E, Gebhard D *et al*. Infection of a canine macrophage cell line with *Leishmania infantum*: determination of nitric oxide production and anti-leishmanial activity. *Vet Parasitol* 2000;92:181-189.
139. Pinelli E, Killick-Kendrick R *et al*. Cellular and humoral immune responses in dogs experimen-tally and naturally infected with *Leishmania infantum*. *Infect Immun* 1994;62:229-235.
140. Pinelli E, Rutten VP *et al*. Compensation for decreased expression of B7 molecules on *Leishmania infantum*-infected canine macrophages results in restoration of parasite-specific T-cell proliferation and gamma interferon production. *Infect Immun* 1999;67(1):237-243.
141. Pimentel *et al*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48(4). doi.org/10.1590/0037-8682-0224-2014
142. Quinnell RJ, Courtenay O *et al*. Tissue cytokine responses in canine visceral leishmaniasis. *J Infect Dis* 2001;183:1421-1424.
143. Rada E, Trujillo D, Castellanos PL, Convit J. Gamma interferon production induced by antigens in patients with leprosy and American cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 1987;37:520-4.
144. Reed SG. Diagnosis of leishmaniasis. *Clin Dermatol* 1996;14:471-478.

145. Rodríguez N, Guzmán B, Rodas A, Takiff H, Bloom B and Convit J. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis and species discrimination of parasites by P.C.R. and hybridization. *Journal of Clinical Microbiology*. 32 (9) 2246-2252. (1994)
146. Rodríguez N, de Lima H, Rodríguez A, Brewster S and Barker DC. Genomic DNA repeat from *Leishmania (Viannia) braziliensis* (Venezuelan strain) containing simple repeats and microsatellites. *Parasitology*. 1997;115: 349-358.
147. Rodríguez N, Cardona M, Zerpa O, Barrios M, Sosa A, Fernández A. Aplicación de herramientas moleculares en el diagnóstico y caracterización de *Leishmania spp* en áreas endémicas de Venezuela. *Bol Mal San Amb*. 2001; XLI (1- 2): 21-26.
148. Rodríguez N, Cardona M, de Guglielmo Z, Rodríguez A. Aplicación de herramientas moleculares en el diagnóstico y caracterización de *Leishmania spp* en áreas endémicas de Venezuela. *Boletín de Malariología y Saneamiento Ambiental*. 2002a; 41: 21-26.
149. Rodríguez N, de Lima H, Aguilar CM, Rodríguez A, Barker D and Jacinto C. Molecular epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Venezuela. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine*. 2002b; 96: 105-109.
150. Rodríguez OL, Cabrera M, Cuenca M, Zerpa O, Sánchez MA. Factores de transcripción en linfocitos T definen las manifestaciones clínicas de la leishmaniasis cutánea americana. XV Congreso Venezolano de Bioanálisis. Caracas 02-05 mayo 2012.
151. Romero GAS, Costa DL, Costa CHN *et al*. Efficacy and safety of available treatments for visceral leishmaniasis in Brazil: A multicenter, randomized, open label trial. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017; 11(6): disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005706>.
152. Rondón AJ, Zerpa Rangel O, Capozzi E. Enfermedades Tropicales en Otorrinolaringología. Leishmaniasis cutáneo-mucosa, in Sociedad Venezolana de Otorrinolaringología. Dr. Enrique Iturriaga, Dr. Antonio Ríos. Editor. 2001: Caracas. p. 39-56.
153. Ross R. (1) Note on the bodies recently described by Leishman and Donovan and (2) further notes on Leishman's bodies. *Brit Med J* 1903;2:1261.
154. Rossi-Bergmann B, Müller I, Godinho EB. TH1 and TH2 T-cell subsets are differentially activated by macrophages and B cells in murine leishmaniasis. *Infect Immun*. 1993; 61:2266-9.
155. Ruiz Olabuénaga JI. Metodología de Investigación Cualitativa. Serie de Ciencias Sociales, volumen 15. Universidad de Deusto. Bilbao. 1996.



156. Sandín MP. Investigación cualitativa en Educación. Fundamentos y Tradiciones. Universidad de Barcelona. España. Editorial Mc Graw Hill. México. Distrito Federal. 2008.
157. Salazar MC. La Investigación-Acción Participativa. Editorial Popular. Bogotá Colombia. 1992
158. Sánchez MA, Caceres-Dittmar G, Oriol O, Mosca W, Kraal G, Tapia FJ. Epidermal Langerhans Cells and dendritic epidermal T cells in murine cutaneous leishmaniasis. 1993.
159. Sánchez M, Díaz NL, Monsalve I, Zerpa O, Negrón E, Tapia FJ. Organ specific immunity in canine visceral leishmaniasis: analysis in symptomatic and asymptomatic dogs, naturally infected with *L. chagasi*. Worldleish II Congress 2001, May 20-24, Crete-Greece.
160. Scott P, Pearce E, Cheever AW, Coffman RL, Sher A. Role of cytokines and CD4+ T-cell subsets in the regulation of parasite immunity and disease. *Immunol Rev* 1989;112:161-82.
161. Scott P. Host and parasite factors regulating the development of CD4+ T-cell subsets in experimental cutaneous leishmaniasis. *Res Immunol* 1991a;142:32-6.
162. Scott P. IFN-gamma modulates the early development of Th1 and Th2 responses in a murine model of cutaneous leishmaniasis. *J Immunol*. 1991b;147:3149-55.
163. Scott P and Novais F. Cutaneous leishmaniasis: immune response in protection and pathogenesis. *Nat Reviews*. 2016; 16:581-92.
164. Solano-Gallego L, Lull J *et al*. The Ibizian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Vet Parasitol* 2000;90:37-45.
165. Solano-Gallego L, Morell P *et al*. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. *J Clin Microbiol* 2001;39:560-563.
166. Solbach W, Laskay T. Evasion strategies of *Leishmania* parasites. Molecular and immune mechanisms in the pathogenesis of cutaneous leishmaniasis. RG Landes Company, Austin, Tex. 1996;25-47.
167. Sundar S, Jha TK, Thakur CP, Engel J, Sindermann H, Fischer C, *et al*. Oral Miltefosine for Indian visceral leishmaniasis, *N Engl J Med* 2002, Nov 28;347(22):1739-1746.
168. Sundar S, Singh A, Rai M, Chakravarty J. Single-Dose Indigenous Liposomal Amphotericin B in the Treatment of Indian Visceral Leishmaniasis: A Phase 2 Study. *Am J Trop Med Hyg*. 2015; 92(3): 513–17.

169. Sundar S, Chakravarty J, Agarwal D, Rai M, Murray HW. Single-Dose Liposomal Amphotericin B for Visceral Leishmaniasis in India. *N Engl J Med.* 2010; 362:504-12.
170. Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G and Sánchez MA. Epidermal Immune Privilege in American cutaneous leishmaniasis. En: *Molecular and Immune Mechanisms in the Pathogenesis of Cutaneous Leishmaniasis* Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G and Sánchez MA. (eds.), R.G. Landes Co. Bioscience Publishers, Austin, Texas, EUA. 1996. pp.139-152.
171. Taylor SJ y Bogdan R. *Introducción a los métodos cualitativos.* Paidós. Studio. Buenos Aires Argentina. 1990.
172. Terán-Ángel G, Rodríguez V, Silva R, Zerpa O, Schallig H, Ulrich M & Cabrera M. Noninvasive diagnostic tools for visceral leishmaniasis: a comparison of the immunoserological tests DAT, rK26 and rK39. *Biomedica.* 2010;30(1), 39-45.
173. Theodos CM, Povinelli L, Molina R, Sherry B, Titus RG. Role of tumor necrosis factor in macrophage leishmanicidal activity *in vitro* and resistance to cutaneous leishmaniasis *in vivo*. *Infect Immun.* 1991;59:2839-42.
174. Torrealba JW, Amaral ADF, Henríquez CE, Kowalenko W, Barrios PA. Observaciones iniciales sobre el perro (*Canis familiaris*) como reservorio de *kala-azar* en Venezuela. *Rev Ven San Asistencia Soc* 1961;26:342-349.
175. Troiani M, Ludovisi A, Gramiccia M. Genetic polymorphism of *Leishmania infantum* from HIV positive patients in Italy: an update. Italian Section Society of Protozoologists 19th Annual meeting, 1998 (Resumen en *J Eukaryotic Microbiol.*)
176. Tumbarello M, Tacconelli E, Bertagnolio S, Cauda R. Highly active antiretroviral therapy decreases the incidence of visceral leishmaniasis in HIV infected individuals. *AIDS* 2000;14:2948-2949.
177. Ulrich M, Rodríguez V, Centeno M, Convit J. Differing antibody IgG isotypes in the polar forms of leprosy and cutaneous leishmaniasis characterized by antigen-specific T cell anergy. *Clin Exp Immunol.* 1995; 100:54-8.
178. Veiga JPR, Wolff ER, Sampaio RN *et al.* Renal tubular dysfunction in patients with mucocutaneous leishmaniasis treated with pentavalent antimonials. *Lancet* 1983;2:569.
179. Vélez ID, Jiménez A, Le Cacheux C, Vásquez D, López L. *Terapéutica de las Leishmaniasis Americanas. Nuevas recomendaciones.* *Dermatol Venez.* 2012; 50(1):15-18.



180. Werneck GL, Batista MS, Gomes JR, Costa DL, Costa CH. Prognostic factors for death from visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. *Infection* 2003;31:174-177.
181. WHO Expert Committee Technical Report. Control of the Leishmaniasis. Report series 793, World Health Organization, Geneva, 1990.
182. Wilson ME, Innes DJ, Sousa AD, Pearson RD. Early histopathology of experimental infection with *Leishmania donovani* in hamsters. *J Parasitol.* 1987;73:55-63.
183. Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, McKenzie BS, Blumenschein WM, Mattson JD *et al.* Development cytokine profile and function of human interleukin-17-producing helper T cells. *Nat Immunol.*2007.8:950-7.
184. Wolf M. Sociologías de la vida cotidiana. Colección Teorema. Madrid, España. Tercera edición. 1994.
185. World Health Organization. World Health Report, 2002. Leishmaniasis. Disponible en: <http://www.who.int/tdr/diseases/leish/-diseaseinfo.htm>.
186. Wyler DJ. Leishmaniasis. Nelson - Tratado de Pediatría. Vol I, decimocuarta edición, McGraw-Hill Interamericana, 1992.
187. Young DG, Duncan M. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: *Psychodidae*). *Mem Am.* 1994.
188. Zepa O, Ponte-Sucre A. American Tegumentary Leishmaniasis. American tegumentary leishmaniasis. Drug Resistance in *Leishmania* Parasites. Springer Vienna. 2013. 199-211.
189. Zepa O, Díaz N, Cabrera M, Rodríguez N, Ulrich M, Tapia FJ, *et al.* Leishmaniasis cutánea intermedia: aspectos clínicos, inmunológicos y parasitológicos. XIV Ibero-Latino Americano de Dermatología, Málaga, España. Junio, 1999.
190. Zepa O, Borges R, Loyo N, Galindo W, Belisario D, Rodríguez N, *et al.* Comparación de cinco métodos para el diagnóstico de Leishmaniasis cutánea. *Dermatol Venez.* 2002; 40(4): 106-110.
191. Zepa O, Pratlong F, Ulrich M, Convit J. Isolation of *Leishmania infantum*, zymodeme MON-1 from canine and human visceral leishmaniasis on Margarita Island, Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96:901-902.
192. Zepa O, Ulrich M, Blanco B, *et al.* Diffuse cutaneous leishmaniasis responds to miltefosine but then relapses. *British Journal of Dermatology.* 2007. 1-8.

193. Zerpa O, Ulrich M, Borges R, *et al.* Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in Venezuela. *Rev Panam Salud Pública/ Pan Am J Public Health* 2003;13:239-245.
194. Zerpa O, Ulrich M, Negrón E, *et al.* Canine visceral leishmaniasis on Margarita Island (Nueva Esparta, Venezuela). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000;94:484-487.
195. Zijlstra EE, El-Hassan AM. Leishmaniasis in Sudan. Visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001;95(Sup1):27-58.
196. Zijlstra EE, El-Hassan AM, Ismael A, Ghalib HW. Endemic *kala-azar* in Eastern Sudan: A longitudinal study on the incidence of clinical and subclinical infection and post-*kala-azar* dermal leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1994;51:826-836.
197. Zulueta AM, Villarroel E, Rodríguez N, Feliciangeli MD, Massarri M, Reyes O, *et al.* Epidemiologic aspects of American visceral leishmaniasis in an endemic focus in eastern Venezuela. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:945-950.

The background is a solid orange color with several hexagonal shapes of varying sizes and colors (lighter and darker shades of orange) scattered across it. The word "ANEXOS" is centered in the middle of the page.

ANEXOS





Anexo 2
Antecedentes y Signos Vitales
Historia Clínica

FECHA: ___/___/___

1. MOTIVO DE LA CONSULTA

2. ANTECEDENTES FAMILIARES

3. ANTECEDENTES PERSONALES

4. SÍNTOMAS NASALES

5. TRATAMIENTO ANTERIOR

6. HÁBITOS PSICBIOLÓGICOS

7. EXAMEN FUNCIONAL

8. SIGNOS VITALES

TEMPERATURA: _____ PESO: _____ TALLA: _____ T.A. _____ PULSO: _____

9. DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO: LCL: _____ LCM: _____ LCI: _____ LCD: _____ LV: _____

OTROS:

Anexo 5
Hoja para Pruebas Intradérmicas y Tratamiento

Nombre: _____ N° Historia: _____

PRUEBAS CUTÁNEAS						
LEISHMANINA	Fecha	Diámetro (mm)	Observaciones	Fecha	Diámetro (mm)	Observaciones
PPD	Fecha	Diámetro (mm)	Observaciones	Fecha	Diámetro (mm)	Observaciones
ESPOROTRIQUINA	Fecha	Diámetro (mm)	Observaciones	Fecha	Diámetro (mm)	Observaciones

TRATAMIENTOS

1- INMUNOTERAPIA: Antígeno: _____ ; _____

N° Dosis	Fecha	Dosis BCG	Revisión de Inoculo			Efectos colaterales
			Fecha	Lugar de aplicación	Lectura (mm)	

2- QUIMIOTERAPIA: Glucantime; Miltefosine; Otros: _____

Serie	Peso	Dosis diaria	N° Dosis indicadas	Fecha de inicio	Fecha de terminación	N° Dosis aplicadas	Efectos colaterales

Anexo 6
Hoja para Procedimientos Diagnósticos

Nombre: _____ N° Historia: _____

Procedimiento diagnóstico

FECHA	BIOPSIA		HISTOPATOLOGÍA	FROTIS			CULTIVO		PCR	
	SÍ	NO		AP	ESC	LINF	SÍ	NO	SÍ	NO
	N°									
	SÍ	NO		AP	ESC	LINF	SÍ	NO	SÍ	NO
	N°									
	SÍ	NO		AP	ESC	LINF	SÍ	NO	SÍ	NO
	N°									
	SÍ	NO		AP	ESC	LINF	SÍ	NO	SÍ	NO
	N°									
	SÍ	NO		AP	ESC	LINF	SÍ	NO	SÍ	NO
	N°									
	SÍ	NO		AP	ESC	LINF	SÍ	NO	SÍ	NO
	N°									
	SÍ	NO		AP	ESC	LINF	SÍ	NO	SÍ	NO
	N°									

Otras pruebas diagnósticas:

COINFECCIÓN LEISHMANIASIS / VIH: NO: ____ Sí: ____

12

24) Observaciones epidemiológicas: _____

ASPECTOS CLINICOS

25) Tiempo de evolución al momento actual _____ meses 26) Leishmanina Fecha _____ Milímetros _____ x _____

27) Frotis: 1- Positivo _____ 2- Negativo _____ 3- No realizado _____ 4- Pendiente de resultado _____

28) Histopatología: N° _____ Fecha _____ Resultado _____

29) PPD: Fecha _____ Milímetros _____ X _____ 30) Otras pruebas y exámenes NO _____ SI _____ ¿Cuáles? _____

31) Diagnóstico inicial: LCL _____ LCM _____ LCI _____ LD _____ LCD _____ Otros _____

32) Descripción de las lesiones y cicatrices actuales:

NOMBRE	D		I		LESIONES		CICATRICES	
			TIPO	NUMERO	TAMANO	NUMERO	TAMANO	
01- CARA								
1- 02- OREJAS								
03- NARIZ								
04- CUERO CABELLUDO								
05- CUELLO								
06- MANOS								
07- BRAZOS Y ANTEBRAZOS								
08- TRONCO ANTERIOR								
09- TRONCO POSTERIOR								
10- GLUTEOS Y GENITALES								
11- MUSLOS								
12- PIERNAS								
13- PIES								
14- MUCOSA NASAL								
15- MUCOSA BUCAL								

33) Tratamiento indicado:

- 1- Quimioterapia (Glucantime) _____
- 2- Inmunoterapia _____
- 3- Citoterapia _____
- 4- Termoterapia _____
- 5- Anfotericina B _____
- 6- Otros No _____ SI _____

¿Cuáles? _____

34) Co infección leishmaniasis/VIH_

SI _____ NO _____

Anexo 9

Ficha L1 para Casos de Leishmaniasis Visceral

Ficha L1 - VISCERAL

REGISTRO Y NOTIFICACIÓN DE CASOS

1) Servicio Dermatológico 2) Paciente N° 3) Estado 4) Elaborado por

3) Fecha de Registro 5) Médico

7) Apellidos _____ Nombres _____

8) Cédula 9) Nacionalidad V E 10) Sexo M F 11) Fecha de nacimiento _____

12) Edad _____ años _____ meses de un año 13) Dirección actual: 13.1) Estado _____ 13.2) Municipio _____

13.3) Parroquia _____ 13.4) Centro poblado _____ 13.5) Calle/Avenida _____

13.6) Casa N° _____ 13.7) Punto de referencia _____ 13.8) Tiempo de residencia d _____ meses _____ años

14) Localidad probable de infección 14.1) Estado _____ 14.2) Municipio _____ 14.3) Parroquia _____

14.4) Centro poblado _____ Nota: de coincidir la dirección actual y la localidad probable de infección rellenar solo dirección actual y en Localidad probable de infección indicar que es la misma

15) Caso: 1- Nuevo 2- Refido 3- Reasmitido 4- Reactivación 5- Reinfección

ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

16) Fecha de comienzo: Mes _____ Año _____

17) Vivienda: Distancia del boque _____ (metros)

18) Relación con zonas boscosas: 1- Permanente 2- Frecuente 3- Ocasional 4- Excepcional

19) Veje a zonas endémicas NO SI

20) Sabe leer y escribir NO SI

21) Nivel educativo:

21.1 Analfabeta	22.1 Agropcuario	22.8 Educador
21.2 Primaria incompleta	22.2 Comercial	22.9 Otro
21.3 Primaria completa	22.3 Industrial y artesanía	
21.4 Secundaria incompleta	22.4 Servicios	Descripción: _____
21.5 Secundaria completa	22.5 Oficos del hogar	
21.6 Técnico medio	22.6 Estudiante	

19

21.7 Universitario _____ 22.7 Niño _____

23) Personas sospechosas de leishmaniasis en la vivienda: NO _____ SI _____ Lesiones activas _____ Cicatrices _____

24) Observaciones epidemiológicas: _____

ASPECTOS CLÍNICOS

25) Tiempo de evolución al momento actual _____ meses _____ días

26) Método de diagnóstico: 26.1) ELISA rK39 _____ 26.2) *Djstic-k* rK39 _____ 26.3) Médula Ósea _____ 26.4) Resultado _____

27) Otras pruebas y exámenes: SI _____ NO _____

28) Diagnóstico inicial LV _____

29) Otro diagnóstico asociado: _____

30) SINTOMATOLOGÍA	
01- FIEBRE	
02- ESPLENOMEGALIA	
03- HEPATOMEGALIA	
04- LINFADENOPATIAS	
05- ANOREXIA	
06- DEBILIDAD Y FATIGA	
07- OTROS	
07.1 ¿Cuáles?	

31) Tratamiento indicado:

1. Quimioterapia (Glucantime) _____
2. Anfotericina B _____
3. Otros NO _____ SI _____

¿Cuáles? _____

32) Coinfección leishmaniasis visceral/HIV:
 SI _____ NO _____



Ministerio del Poder Popular
para la **Salud**

OPS



Organización
Panamericana
de la Salud



Organización
Mundial de la Salud
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD Américas

Programa de Control de Leishmaniasis

Normas, pautas y procedimientos para el diagnóstico y control



Ministerio del Poder Popular
para la Salud

OPS



Organización
Panamericana
de la Salud



Organización
Mundial de la Salud
OFICINA REGIONAL PARA LAS
Américas

ISBN: 978-980-6678-09-5



9 789806 667809 5