

ARTICULO**Diagnóstico de Leishmaniasis visceral en el Departamento de Parasitología, Valencia, Estado Carabobo**

Doménica Carolina Cannova¹, Cruz Manuel Aguilar² y María Isabel Simons¹

¹Departamento de Parasitología-Valencia, Estado Carabobo, ²Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CIET-UC) "Dr. J. Witremundo Torrealba", San Carlos, Estado Cojedes, FCS. Universidad de Carabobo.

Correspondencia: D. Cannova
Tel: +58-241-8675017
E-mail: dcannova@uc.edu.ve

Recibido: septiembre 2004 Aceptado: marzo 2005

RESUMEN**Diagnóstico de Leishmaniasis visceral en el Departamento de Parasitología, Valencia, Estado Carabobo**

La leishmaniasis visceral (LV) es una protozoosis humana caracterizada clínicamente por síndrome febril prolongado hepatoesplenomegalia, anemia y pérdida progresiva de peso. En América afecta principalmente a niños de 5 años pudiendo causar la muerte, por lo cual es necesario contar con procedimientos confiables para el diagnóstico precoz. Entre 1989 y 2003, el Laboratorio de Leishmaniasis del Departamento de Parasitología (FCS-UC) Valencia, ha abordado el diagnóstico de LV, en pacientes sospechosos. El protocolo diagnóstico consideró los criterios: epidemiológico, clínico, serológico (ELISA) y demostración directa del parásito, por extendido de médula ósea (MO) coloreado con Giemsa e inoculación de MO en hámster. Se consideró como caso de LV a todo paciente con diagnóstico parasitológico positivo o tener al menos 3 de los otros criterios. De los 118 evaluados, 23 cumplieron los criterios diagnósticos para LV. El método de ELISA detectó 95,7%, extendido de MO 91,3%, e inoculación en hámster 70%. El 78,3% procedieron de áreas endémicas conocidas de LV; 43,5% en menores de 10 años. El número de casos por año presentó un patrón hipoendémico, no cíclico. El presente estudio ratifica la importancia de la integración de criterios para garantizar un diagnóstico eficaz precoz, con el fin de iniciar tratamiento y evitar complicaciones. Además contribuye a documentar la morbilidad e importancia de LV en el país.

Palabras clave: *Leishmaniasis visceral , Diagnóstico Leishmaniasis.*

ABSTRACT

Diagnosis of Visceral Leishmaniasis in the Parasitology Department of the University of Carabobo. Valencia. Carabobo State.

Visceral leishmaniasis (VL) is a human protozoosis clinically characterized by fever, hepatomegaly and splenomegaly, anemia, and progressive loss of weight. In America, it is a life-threatening disease that mainly affects 5 year-olds. For this reason, reliable procedures for early diagnosis are needed. From 1989 to 2003, VL diagnosis, in referred patients from different health centers, has been systematically approached at the Leishmaniasis Laboratory of the University of Carabobo's Parasitology Department in Valencia. The diagnosis protocol considered the following criteria: epidemiologic, clinical, serological (ELISA) and direct demonstration of the parasite, from Giemsa-colored bone marrow (BM) smear, and indirectly through BM inoculation in hamster. All patients with a positive parasitological diagnosis were considered as VL cases; in the absence of this, it was necessary to meet at least 3 of the other established criteria. Out of the 118 examined patients, 23 complied with the diagnosis criteria for VL. Most cases were detected through the ELISA method (95.7%), followed by BM smear (91.3%), and inoculation in hamster (70%). 78.3% of the patients either were from known LV endemic areas or reported an epidemiological history of LV; 43.5% were children between 1 and 10 years of age. The number of cases per year presented a hypo endemic, non recurrent, pattern. This study underlines the importance of integrating criteria in order to ensure an early effective diagnosis in order to start treatment and avoid complications. In addition, it will contribute to document LV morbidity.

Key words: Visceral Leishmaniasis, Diagnosis Leishmaniasis

INTRODUCCION

La Leishmaniasis Visceral (LV) o Kala-azar, es una protozoosis ampliamente distribuida en áreas tropicales y subtropicales, constituyendo un problema de salud pública en América, Asia, África y Europa. En América, la LV tiene mayor prevalencia en Brasil, Argentina y Venezuela; sin embargo, se han reportado casos en Paraguay, Bolivia, Perú, El Salvador, Honduras, Guatemala y México. Venezuela constituye el segundo país con focos endémicos importantes en América (1), principalmente en grandes valles, depresiones de regiones costeras y piedemonte del sistema montañoso, con una altitud entre 0 y 900 metros sobre el nivel del mar, con temperaturas medias entre 24 y 28°C y más de 60% de humedad relativa (2).

La enfermedad se caracteriza clínicamente por la aparición de un síndrome febril prolongado con hepatoesplenomegalia, anemia y pérdida progresiva de peso como signos y síntomas fundamentales. En América, ataca principalmente a niños a menores de 5 años, causando graves complicaciones y la muerte en casos no diagnosticados o tratados precozmente (3).

El diagnóstico definitivo está basado en la verificación de formas amastigotas de *Leishmania* en extendidos de médula ósea (MO). Debido a la baja

sensibilidad, se complementa con criterios como clínica, epidemiología, serología, así como técnicas de biología molecular (4-6).

En el laboratorio de Leishmaniasis, del Departamento de Parasitología-Valencia de la Universidad de Carabobo, se ha diagnosticado LV en pacientes referidos por los diferentes centros de salud, tanto del Estado Carabobo como de los Estados Aragua y Cojedes.

El presente reporte aborda la metodología utilizada para el diagnóstico y la casuística regional de LV, en pacientes sospechosos referidos al Laboratorio durante el período comprendido entre los años de 1989 al 2003.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra. Se evaluaron todos los pacientes referidos al laboratorio entre 1989 y 2003, con signos y síntomas característicos de LV, ingresados a los diferentes centros de salud de Valencia, Estado Carabobo y de otros estados como Aragua y Cojedes. A cada paciente se le aplicó el protocolo de diagnóstico para el estudio de estos casos establecido en el laboratorio de Leishmaniasis.

Criterio de inclusión de casos Los criterios diagnósticos considerados fueron: epidemiológico, clínico, parasitológico y serológico. Se consideró como caso de LV a todos aquellos pacientes con diagnóstico parasitológico positivo, o de faltar este tener por lo menos 3 de los otros criterios establecidos (epidemiológico, clínico y serológico). Sin embargo, cuando los métodos parasitológicos resultaron negativos pero con criterios epidemiológicos y clínicos altamente sospechosos, serología positiva y en la dependencia de la evolución del paciente, se indicaba un nuevo aspirado de MO para lograr establecer el diagnóstico preciso a través de la verificación del parásito.

Diagnóstico Serológico A través de muestra de suero del paciente se le aplicó ELISA (7), estandarizado y validado en el Laboratorio de Leishmaniasis para la detección de anticuerpos anti-Leishmania, utilizando antígeno proteico crudo de un aislado de Leishmania infantum a una concentración de 10 µg/mL, una dilución de suero 1/100 y un título de conjugado a fosfatasa alcalina polivalente (Sigma) 1/5000, se consideró punto de corte de 0,230 de densidad óptica.

Diagnóstico Parasitológico A los pacientes seropositivos, y/o con criterios clínicos y epidemiológicos sugestivos fueron sometidos a punción de médula ósea de la cresta iliaca posterior y superior y con la muestra se realizaron 8 extendidos fijados y teñidos con Giemsa al 10%, observados al microscopio óptico. Además se inocularon 2 hámster sanos, con 0,5 mL de MO por vía IP, examinándolos cada 3 días: estado físico, enflaquecimiento, disminución de la

actividad, inapetencia, aumento macroscópico del tamaño del bazo, o la aparición de lesiones en tegumentos (piel, mucosas, etc).

Diagnóstico epidemiológico y clínico Mediante interrogatorio exhaustivo al paciente y/o al representante, que indique contacto con zonas endémicas, reconocimiento del vector, convivencia con perros. El examen físico general, realizado por médico especialista fue realizado para confirmar signos y síntomas sugestivos de la enfermedad.

RESULTADOS

Durante el período evaluado, fueron referidos un total de 118 pacientes con clínica sugestiva de LV, sólo 23 de estos cumplieron con los criterios establecidos para el diagnóstico de esta enfermedad, 20 (87%) procedentes del estado Carabobo, 2 (8,7%) de Cojedes y 1 (4,3%) de Aragua.

La figura 1 muestra la distribución de pacientes con LV según los criterios diagnóstico, observándose que por ELISA se confirmó el 95,7% (22/23), el único que no cumplió con este criterio fue un paciente co-infectado con VIH. Parasitológicamente fueron positivos 91,3% (21/23) en extendido de MO y 70% (16/23) por inoculación en hámster, en el 30% (7/23) no se realizó inoculación debido a escasez de muestra. El 78,3% (18/23) presentó criterios epidemiológico.

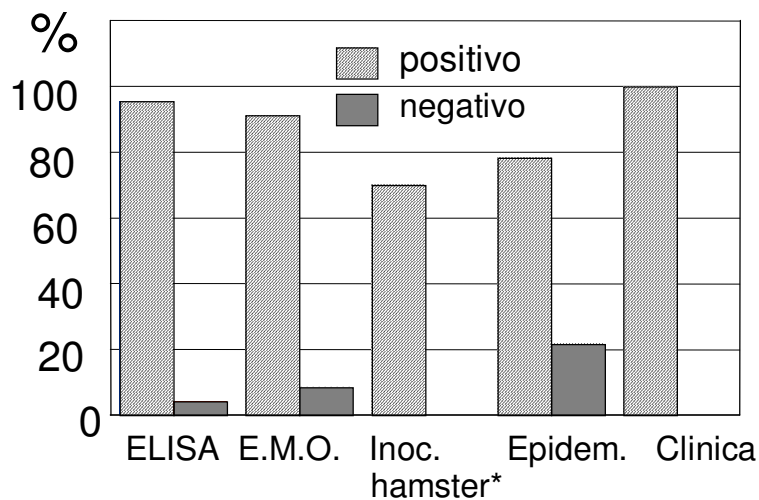


Fig. 1 Criterios diagnóstico. Pacientes de LV según criterios diagnósticos
E.M.O: extendido médula ósea; Inoc.hamster*: inoculación a hamster (*no realizado en el 30%);
Epidem. epidemiología.

La figura 2 muestra la distribución según edad y sexo de los pacientes con LV, 34,7% (8/23) tenían edades entre 1 y 6 años y 8,7% (2/23) entre 6 y 10 años, siendo estos grupos de edades donde se acumula el mayor número de pacientes (43,4%). Por sexo, el masculino representó 78,3 % (18/23),

habiéndose diagnosticado sólo 5 pacientes del sexo femenino (21,7 %), se observa como el sexo masculino se presenta en casi todos los grupos de edades, mientras que el femenino sólo en menores de 10 años y en mayores de 51.

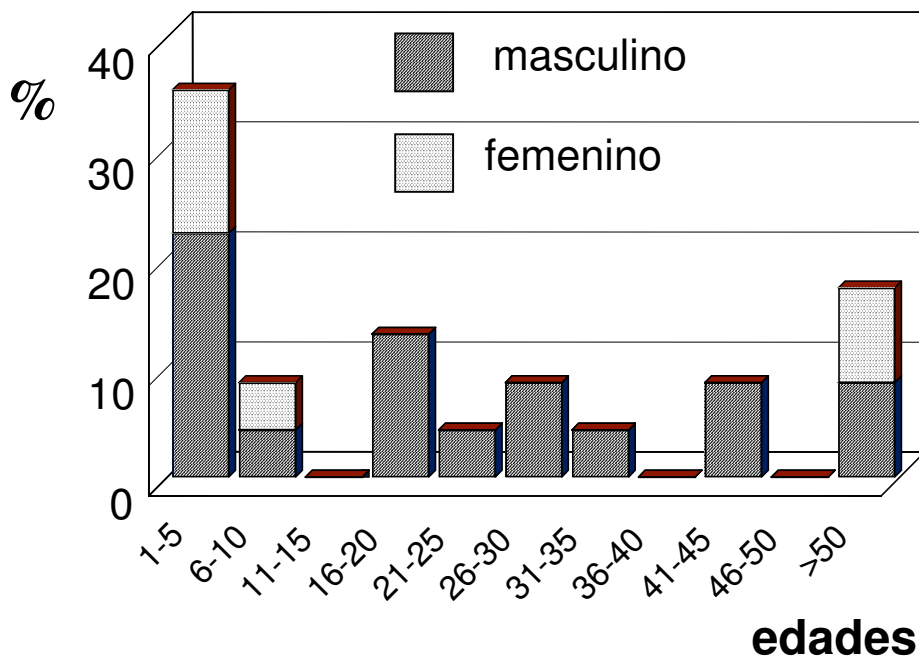


Fig. 2 Distribución de LV según edad y sexo (periodo 1989 - 2003)

La figura 3, presenta la frecuencia de pacientes con LV diagnosticados por año entre el período 1989 a 2003. Se observó que a partir 1996 se diagnosticaron el mayor número de pacientes (82,5%), observándose un pico en el 2001 con 21,7% (5/23).

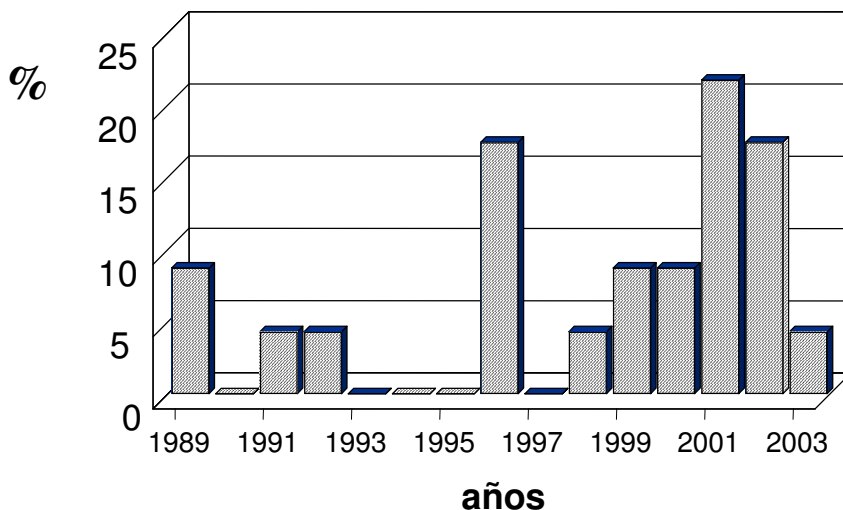


Fig. 3. Distribución porcentual de los pacientes diagnosticados LV (periodo 1989 -2003)

DISCUSIÓN

El protocolo de diagnóstico aplicado en este estudio detectó 23 casos de LV, la mayoría de ellos (87%) procedentes del estado Carabobo, donde se ubica geográficamente el Laboratorio de Leishmaniasis.

Se pudo observar que la seropositividad por ELISA se cumplió en la mayoría de los pacientes (95,7%), seguido del diagnóstico parasitológico (91,3%) mediante el extendido de MO. Datos similares se reportó en Etiopía (8), donde se verifica una mayor eficacia de las pruebas serológica al compararlas con las parasitológicas, sin embargo, la serología no puede tomarse como criterio único de diagnóstico debido a factores inherentes a la especificidad, por lo que métodos parasitológicos deben ser incluidos en el protocolo para confirmar la seropositividad de los casos.

Desde el punto de vista epidemiológico, se observó que 78,3% presentaron antecedentes epidemiológicos precisos y procedencia de áreas endémicas conocidas. En este aspecto es importante tomar en cuenta factores ecológicos que favorecen el hábitat del vector transmisor, las movilizaciones de personas hacia áreas geográficas donde probablemente exista la circulación del parásito de manera natural que favorezca la aparición de nuevos focos endémicos (9).

En cuanto a la edad, se observó que la mayor frecuencia (43,7%) estuvo representado por menores de 11 años. Esta casuística sigue el mismo patrón de comportamiento de la LV referidos en el país a finales de la década de los años 70 (10), así como en estudios realizados en el Estado Anzoátegui (11), y más recientemente el Estado Nueva Esparta (12).

Por sexo llama la atención que el masculino presentó el mayor número de casos. Datos similares han sido reportados en el país en 1970 (10), 1999 (11) y en el 2003 (12), donde se encontró diferencias estadísticamente significativas en el sexo, predominando la LV en los varones. Esto puede deberse a algunos hábitos y costumbres del sexo masculino que condicionen una mayor exposición al vector, lo cual debe ser objeto de un estudio más detallado.

En el análisis del número de casos diagnosticados por año se observó un pico en el año 2001 con un máximo de 5 casos, sin embargo, en el 2003 sólo se diagnosticó un caso, lo que hace pensar en un patrón de transmisión anual hipoendémico acíclico, que requiere ser investigado.

El reporte oficial de LV en el estado Carabobo, entre los años 1995 y 2000 fue de 2 casos (2), lo cual evidencia un sub-registro de la enfermedad al compararlo con nuestra casuística, ya que en ese período se diagnosticaron 9 pacientes. Al respecto es importante poner en práctica una red para el reporte de casos donde participen tanto los entes oficiales de salud públicos o privados, laboratorios de referencia, especialistas e investigadores en esta área de las universidades del país.

Además de contribuir a documentar la morbilidad e importancia de LV en la región, nuestros resultados ratifican la importancia de la integración de criterios para garantizar un diagnóstico eficaz y precoz con el fin de iniciar tratamiento y evitar complicaciones.

Agradecimientos: Agradecemos al Dr. Marcos Hernández, hematólogo, por su colaboración en la punción y aspirado de médula ósea y la Lic. Adina Brett, por la revisión del texto en inglés.

BIBLIOGRAFÍA

1. Grimaldi G. Jr.; Tesh R. Mc.Mahon-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.
2. Zerpa O, Ulrich M., Borges R, Rodríguez V, Centeno M, Negrón E, Belisario D, Convit J. Epidemiological aspects of human and canine leishmaniasis visceral in Venezuela. *Rev. Panam. Salud Pública/Pan Am J. Public Health.* 2003; 13:239-245.
3. OMS. Lucha contra la leishmaniasis. Serie de informes Técnicos 1990; No. 793. Ginebra pp. 28-110.
4. Hernández D, Rodríguez N, Martínez C, García L, Convit J. *Leishmania braziliensis* causing Visceral Leishmaniasis in a patient with human immunodeficiency virus infection, identified with the aid of the polymerase. *Trans. Roy.Soc. Med. Hyg.* 1993; 87: 627-628.
5. White JRC, Castés M, García L, Trujillo D, Zambrano L. *Leishmania chagasi* antigens recognized in cured visceral leishmaniasis and asymptomatic infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1992; 46: 123-131.
6. Davidson RN, Crott S. Recent advances in the treatment of visceral leishmaniasis. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1993; 87: 130-131.
7. Voller A, Bartlett A, Bidwell DE. Enzyme immunoassay for parasitic disease. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1976; 84:676-677
8. Mengistu G, Akuffo H, Fehniger T, Neggese Y, Nilsen R. Comparison of parasitological and immunological methods in the diagnosis of visceral leishmaniasis in Ethiopia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg* 1992; 86:154-157.
9. Martín-Sánchez J, Navarro-Mari JM, Pasquau-Liaño J, Salomon OD, Morillas-Márquez F. Visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in a Spanish patient in Argentina: What is the origin of the infection? Case report *BMC Infectious Dis.* 2004; 4:20.
10. Torrealba JW. Observaciones sobre diagnóstico, terapéutica y evaluación de la leishmaniasis visceral humana y canina. Tesis doctoral mimeografiada. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo;1970.
11. Zulueta A.M, Villarroel E, Rodríguez N, Feliciangeli MD, Mazzarri M, Reyes O, Rodríguez V, Centeno M, Barrios RM, Ulrich M. Epidemiological aspects of american visceral leishmaniasis in an endemic focus in eastern Venezuela. *Am.J. Trop. Med. Hyg.* 1999; 61:945-950
12. Zerpa O, Ulrich M, Negrón E, Rodríguez N, Centeno M, Rodríguez V, Barrios RM, Belisario D, Reed S, Convit J. Canine visceral leishmaniasis on Margarita Island (Nueva Esparta, Venezuela) *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg* 2000; 89:908-913