

LEISHMANIASIS

Leishmaniasis

Dres. Leonardo Sánchez-Saldaña¹, Eliana Sáenz-Anduaga², Julia Pancorbo-Mendoza³, Robert Zegarra-Del-Carpio³, Norma Garcés-Velasco³, Alberto Regis-Roggero³

INTRODUCCIÓN

Las leishmaniasis son un grupo de enfermedades parasitarias zoonóticas, producidas por diferentes especies de protozoarios hemoflagelados del género *Leishmania*. La enfermedad es transmitida por insectos dípteros hematófagos, que corresponden a diferentes especies de flebotomos o lutzomyias, y el reservorio son animales vertebrados. Estas enfermedades se caracterizan por comprometer la piel, mucosas y vísceras, según la especie de leishmania y la respuesta inmune del huésped. Son enfermedades crónicas de patogenicidad baja y morbilidad relativa⁽¹⁻³⁾.

La leishmaniasis es una enfermedad de prevalencia alta en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo, tales como el este y sureste de Asia, Oriente Medio, norte y este de África, el sur de Europa (cuena del Mediterráneo) y América Central y Sudamérica⁽⁴⁾. Es endémica en 88 países en áreas tropicales, 72 de los cuales están en vías de desarrollo. Descrita en 24 países de América, extendiéndose desde el sur de Estados Unidos (Texas) hasta el norte de Argentina^(3,5). Se estima que la leishmaniasis afecta a 12 millones de personas en el mundo, con 1,5 a 2 millones de nuevos casos cada año⁽⁶⁾. Existen 350 millones de personas expuestas al riesgo de infección⁽⁴⁾. La distribución geográfica de la leishmaniasis está limitada por la distribución del vector. El número de casos de leishmaniasis está aumentando debido principalmente a los cambios del medio ambiente generados por el hombre, lo que aumenta la exposición humana al vector⁽⁴⁾.

En el Perú, la leishmaniasis constituye una endemia que afecta a 12 departamentos, es la segunda endemia de tipo tropical y la tercera causa de morbilidad por enfermedades transmi-

sibles luego de la malaria y la tuberculosis^(1,6). Se reporta anualmente un promedio de 7 000 a 9 000 casos probados. Para 1997 se estimó que la población en riesgo de infección era de 1 187 104 habitantes⁽⁶⁾. La zona endémica comprende aproximadamente el 74% del área total del país (951 820 km²), se extiende a través de los Andes y los valles interandinos entre los 600 y los 3 000 metros sobre el nivel del mar, para la leishmaniasis cutánea, y a las zonas de selva alta y selva baja por debajo de los 2 000 metros, para la leishmaniasis mucocutánea⁽⁷⁾.

La importancia de la leishmaniasis en el Perú radica en que constituye una endemia de tipo tropical que produce un impacto negativo social y económico en la población económicamente deprimida. Además, las secuelas destructivas que ocasiona, particularmente, la forma mucocutánea provocan el aislamiento del individuo, por su irreversibilidad.

HISTORIA

La leishmaniasis en el Perú afecta ancestralmente a las poblaciones andina y selvática de nuestro país, desde antes de la llegada de los españoles. Un testimonio son los huacos antropomorfos encontrados en las zonas donde se desarrollaron las culturas Mochica (330 a.C.-500 d.C.) y Chimú (1000-1400 d.C.), que representan secuelas destructivas y deformantes de la leishmaniasis, como mutilaciones de los labios y de la nariz^(8,9). Figuras 1 y 2.

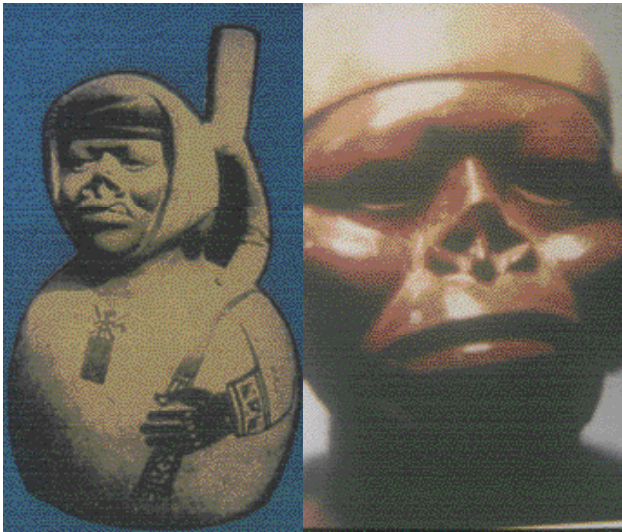
Las primeras descripciones clínicas de la leishmaniasis datan del siglo XVI, época de la conquista española. Fernando de Oviedo (1535), Pedro Pizarro (1571) y Fernando de Santillán (1572) describen una enfermedad que afecta a los indígenas en la ladera este de la Cordillera de los Andes, en los valles calientes y húmedos donde se cultiva la coca, enfermedad que destruye la nariz y las cavidades nasales. Las primeras descripciones de la presencia de la leishmaniasis en nuestro país se hacen en 1586, cuando Fray Rodrigo de Loayza hacía mención de la existencia de una enfermedad

Departamento de Dermatología del Hospital Militar Central (DDHMC)

1 Jefe del DDHMC

2 Médico Asistente del DDHMC

3 Residentes de Dermatología HMC.



Figuras 1 y 2

que afectaba la mucosa nasal de indios y españoles de los Andes, y hace referencia que la ocupación, el medio geográfico e, inclusive, la inmunidad racial podrían estar asociados con la enfermedad. Diego de Morales (1602), Reginaldo Lizárraga (1605), Bartolomé de la Vega y el médico cronista Cosme Bueno hablan de la existencia de esta enfermedad en el Antiguo Perú^(2,9). Cosme Bueno, en 1764, e Hipólito Ruiz, en 1777, identifican el rol que tienen los flebótomos en la transmisión de la enfermedad. Cosme Bueno, habla de una llaga corrosiva, que se llama uta, localizada especialmente en la cara, de difícil curación originada por un insecto. Estas descripciones las realizó en las zonas de Canta (Lima) y en otras provincias frías^(3,9). El médico José Julián Bravo (1852) asemeja la uta al botón de Alepo; le sigue la tesis (1886) de Minaya, Ugaz, Matto, las observaciones de Villar (1892), Barrós (1895) y Leonidas (1901)⁽¹⁰⁾.

A finales del siglo XIX se identifica la leishmaniasis americana en el botón de Oriente (Bravo, en 1852, y Cerqueira, en 1885). Cunningham (1885), en la India, fue el primero en observar el microorganismo en los mononucleares de los casos de kala-azar. Firth, en 1891, confirmó este descubrimiento. Tamayo (1908) parece haber sido el primero en identificar lesiones características de uta, denominación de la leishmaniasis cutánea andina en las cerámicas del Perú preinca. En 1900 y 1903, Leishman y Donovan descubren, con coloración de Giemsa, un parásito ovalado en macrófagos de pacientes con leishmaniasis visceral. Wright (1903) describe el primer caso de infección por *Leishmania trópica*; Roger (1904) cultiva por primera vez una leishmania a partir del bazo de un paciente con leishmaniasis visceral; Presat

(1905), por primera vez, sugiere que los flebótomos serían los transmisores del botón de Oriente; Nicolle (1908) cultivó *L. infantum* y *L. trópica* en el medio NNN (Nicolle Novy MacNeal) y, posteriormente, en el medio semisólido para leptospiras de Noguchi. Nicolle y Moncuex (1909) inician inoculaciones experimentales en monos, perros, ratas, pericotes y zorros, Lindenberg (1909) encontró leishmanias en úlceras de pacientes en Sao Paulo (Brasil). Nicolle y Sergent sugieren que el perro sería el reservorio.

Gaspar Vianna (1910) sugiere que la terapia con antimoniales es efectiva para el tratamiento de la leishmaniasis en el Brasil. Splendore (1911) diagnostica la forma mucosa de la enfermedad y obtiene cultivos positivos a partir de lesiones mucosas. Vianna (1911) propone el nombre de *Leishmania brasiliensis* para denominar al agente que produce la leishmaniasis tegumentaria americana, así la diferencia de la *L. trópica*. Pedroso, en Brasil (1913), reporta por primera vez un perro infectado por leishmania^(3,10). Montenegro, en 1924, demuestra la hipersensibilidad a la inyección intradérmica de una suspensión de leishmanias.

En el Perú, Escomel, en 1911, fue el primero que halló leishmanias en un caso de espundia y, en 1913, la Comisión de la Universidad de Harvard concluye que la uta es una leishmaniasis de variedad cutánea y la espundia, una de tipo mucocutáneo. Herrer y Battistine producen la primera infección experimental en perros⁽¹¹⁾. En 1940, Geiman publica los hallazgos de *Leishmania brasiliensis* en pacientes peruanos que presentaban uta y la inoculación en un perro reproduce la típica lesión. Walton y col., en 1977, caracterizan como *Leishmania brasiliensis* spp. a una cepa aislada de un paciente procedente de la región este del Perú que presentaba espundia. Lumbreras y Guerra (1985) escriben que la *L. brasiliensis* y la *L. brasiliensis guyanensis* son los agentes que causan la espundia. Llanos Cuentas y col. (1986) reportan la identificación de *Leishmania brasiliensis brasiliensis* en pacientes con espundia⁽³⁾. Lucas y col., en 1994, aíslan en el Perú la *Leishmania (viannia) lainsoni*⁽¹²⁾. Otros investigadores peruanos que han contribuido en el estudio de la leishmaniasis han sido Palma, Monge, Arce, Rebagliati, Escomel, Almenara, Pesce y Weiss. En la actualidad, diversos investigadores peruanos están caracterizando las áreas endémicas de leishmaniasis.

AGENTE ETIOLÓGICO

El agente etiológico de la leishmaniasis es un protozoo dimórfico del género *Leishmania*, que pertenece al reino Protista, subreino Protozoa, orden Kinetoplastida y a la familia Trypanosomatidae^(3,13). En la actualidad, el género *Leishmania* se divide en dos subgéneros, según su desarrollo en el intestino de los flebótomos vectores: *Leishmania*, en el intestino medio o anterior, y *Viannia*, en el intestino pos-



Figura 3. Promastigote

terior, medio y anterior de los flebótomos⁽¹³⁾. Morfológicamente las distintas especies de leishmania no se pueden identificar. Para llegar a la clasificación de las especies del género leishmania se debe considerar ciertas características: a) biológicas: morfología, tipo de desarrollo en el flebótomos vector, crecimiento en los medios de cultivo, desarrollo en el hospedador vertebrado; b) bioquímicas: electroforesis de isoenzimas, análisis del ADN del núcleo y del cinetoplasto; c) inmunológicas: reactividad del parásito con anticuerpos monoclonales y serotipificación del factor de excreción y taxonomía numérica para definir mejor la evolución molecular y la relación filogenética de los parásitos del género leishmania.

Las leishmanias se presentan bajo dos formas diferentes. Una, promastigota, que es móvil y flagelada, comúnmente encontrada en el vector invertebrado, libre, alargada, de 10 a 14 por 1,5 a 3,5 mm, se multiplica en el vector y migra a la parte anterior del mosquito y está allí hasta ser inoculada (Figura 3). Y la otra, amastigota, es inmóvil, intracelular, dentro de los macrófagos y otras células del sistema reticuloendotelial del huésped vertebrado, redondeada u ovoide, de 2,5 a 5,0 por 1,5 a 2,0 mm⁽¹⁴⁾.

En el Perú se han identificado cinco especies de leishmania: 1) *Leishmania (V) brasiliensis*; 2) *Leishmania (V) guyanensis*; 3) *Leishmania (V) peruviana*; 4) *Leishmania (V) lainsoni*; 5) *Leishmania (L) amazonensis*. En la amazonía se reconocen tres especies como agentes causantes de leishmaniasis llamada también leishmaniasis selvática o espundia: *L. (L) amazonensis*, *L. (V) guyanensis* y *L. (V) brasiliensis*. Esta última es la de mayor importancia en esta región (Figura 4).

Entre los 600 y 2 000 m snm (Ayacucho, Pasco, San Martín, Huánuco) se ha reportado la presencia de *L. (V) lainsoni*⁽¹²⁾. La forma cutánea andina, llamada uta, es causada por la *L. (V) peruviana*, que se desarrolla entre los 600 y 3 000 m snm⁽¹⁵⁾.

En América Latina, los subgéneros de *Leishmania* y *Viannia* contienen numerosas especies de las que sólo algunas infectan al hombre^(15,16):

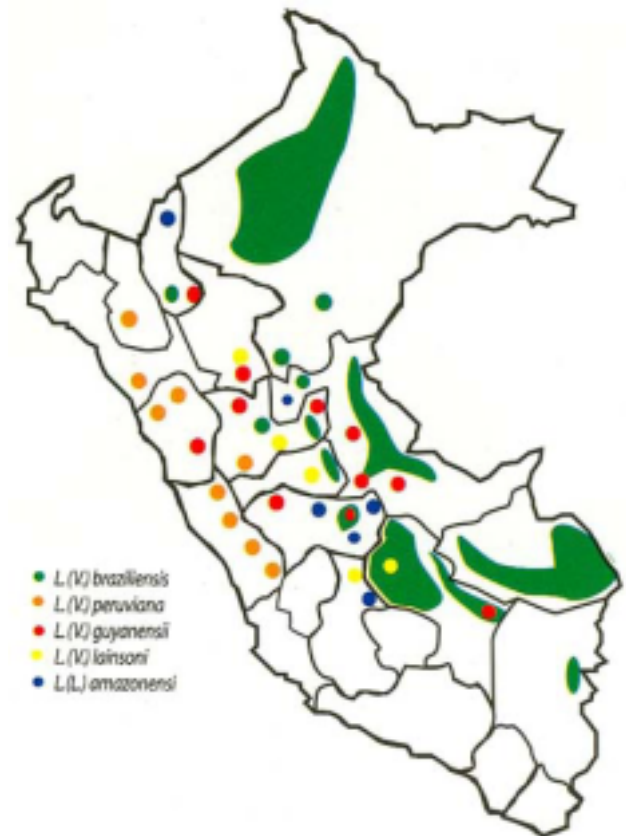


Figura 4. Distribución de las especies de Leishmania en el Perú.

Subgénero *Leishmania*

- *Leishmania (Leishmania) chagasi* *
- *L. (L) enrietti*
- *L. (L) mexicana* *
- *L. (L) pifanoi* *
- *L. (L) hertigi*
- *L. (L) amazonensis* *
- *L. (L) deanei*
- *L. (L) aristidesi*
- *L. (L) garhami* *
- *L. (L) venezuelensis* *
- *L. (L) forattinii*

Subgénero *Viannia*

- *Leishmania (Viannia) brasiliensis* *
- *L. (V) peruviana* *
- *L. (V) guyanensis* *
- *L. (V) panamensis* *
- *L. (V) lainsoni* *
- *L. (V) shawi* *
- *L. (V) naiffi* *
- *L. (V) colombiensis*
- *L. (V) equatorensis*

* Especies que infectan al hombre^(3,15,16)



CICLO BIOLÓGICO DE LA LEISHMANIA

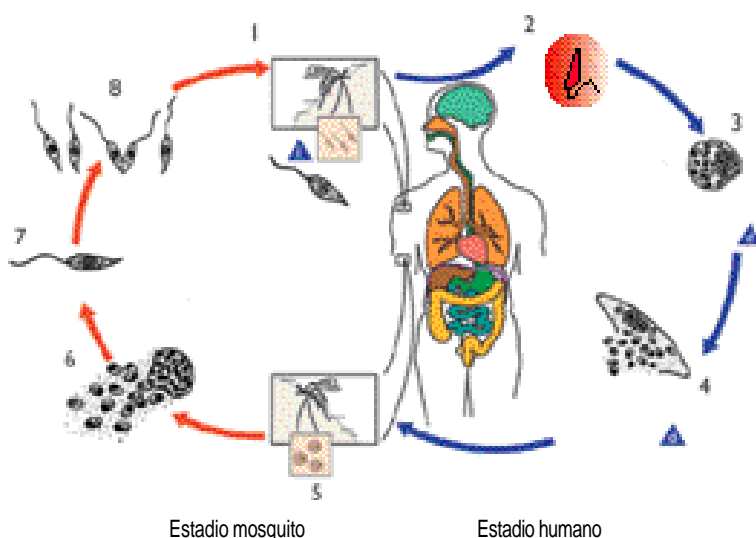
Todas las leishmanias presentan un ciclo de vida similar y es importante conocer cada una de las etapas para poder entender y aplicar ciertas medidas de control⁽³⁾. La leishmania es heterogénea y completa su ciclo biológico usando dos huéspedes. Se pueden producir diferentes ciclos (Figura 5): Uno, principalmente silvestre, en el que la leishmania circula entre los reservorios naturales, y mantiene el ciclo con la participación de los vectores propios de la zona endémica. En un segundo ciclo, los vectores infectados pueden atacar al hombre y a los animales domésticos o peridomésticos. Se puede producir un tercer ciclo, en el que el propio enfermo con leishmaniasis se constituye en reservorio⁽³⁾.

El ciclo empieza cuando el vector toma sangre de un vertebrado infectado, para alimentarse, e ingiere macrófagos infectados con amastigotes presentes dentro de la piel. La transformación del amastigote a promastigote ocurre dentro de las siguientes 24 a 48 horas. Los promastigotes se multiplican activamente por división binaria longitudinal. Algunos quedan libres desde el inicio en el lumen intestinal; otros se adhieren a la pared por hemidesmosomas. La localización del parásito en el intestino varía de acuerdo a cada especie de vector y de leishmania. Después de la replicación en el intestino, los promastigotes migran al esófago y la faringe. En el tubo digestivo de la hembra del vector, los promastigotes son estructuras piriformes o fusiformes que presenta la extremidad posterior más delgada que la anterior, su cuerpo es flexible y se mueve por la acción de un flagelo libre situado en la parte posterior que es casi de igual tamaño que el cuerpo; el

núcleo se localiza en el centro de la célula y el cinetoplasto entre el núcleo y la extremidad anterior somática; el rizonema parte del cinetoplasto y se continúa con el flagelo libre⁽¹⁴⁾.

Cuando el vector infectado pica a un huésped le inyecta entre 10 y 100 promastigotes presentes en la proboscis y que penetran en la dermis. La saliva del mosquito tiene un rol en el establecimiento de la infección, debido a que reduce la producción del óxido nítrico por los macrófagos activados^(14,17-19). En los vectores excesivamente infectados, la proboscis está congestionada, lo que hace difícil alimentarse, por lo que el mosquito realiza múltiples picaduras e inoculaciones. Los promastigotes no migran activamente hacia los macrófagos, permanecen en el espacio intercelular y activan el complemento por una vía alternativa, que inicia la acumulación de neutrófilos y macrófagos. Aunque muchos promastigotes son destruidos por los leucocitos polimorfonucleares, unos pocos se transforman en amastigotes en las células del sistema reticuloendotelial, en un periodo de 3 a 4 horas en promedio⁽¹⁷⁾, permanecen en estadio estacionario por 36 horas aproximadamente y, luego, empiezan a reproducirse.

La adhesión entre el parásito y los macrófagos es una etapa fundamental para la invasión de las células del huésped. Sobre la superficie de la Leishmania han sido identificados numerosos receptores, entre los más importantes la glicoproteína 63 (gp63) y el lipofosfoglicano (LPG), que son usados por los parásitos para adherirse a los macrófagos⁽²⁰⁾. Las especies de *Leishmania* han desarrollado varios mecanismos para resistir la actividad digestiva y antimicrobiana de las células fagocíticas. Los amastigotes son más resistentes que los



Estadio humano

1. El mosquito toma la sangre (inyecta el promastigote en la piel).
2. Promastigote es fagocitado por el macrófago.
3. El promastigote se transforma a amastigote en el interior del macrófago.
4. El amastigote se multiplica en las células de diversos tejidos (incluyendo los macrófagos).

Estadio mosquito

5. El mosquito toma la sangre (ingere macrófagos infectados con amastigotes).
6. Ingestión de la célula infectada.
7. El amastigote se transforma a estadio promastigote en el intestino del mosquito.
8. Se divide en el intestino y migra hacia la proboscis.

i: Estadio infeccioso

d: Estadio diagnóstico

Fuente: Centers for Disease Control & Prevention National Center for Infectious Diseases. Division of Parasitic Diseases

Figura 5. Ciclo de vida de las leishmanias



promastigotes a los mecanismos antimicrobianos inducidos por citoquinas dependientes del oxígeno, lo que refleja una adaptación al crecimiento intracelular⁽²¹⁾.

El amastigote tiene forma ovalada o redondeada, carece de flagelos y de membrana ondulante y, por tanto, es inmóvil. En los preparados teñidos con Wright y Giemsa se observa una membrana citoplasmática, que le sirve de sostén y envoltura; un citoplasma azul claro y, ocasionalmente, un cariosoma central o excéntrico. En el citoplasma está incluido el núcleo de color rojo púrpura, de localización excéntrica, dirigido un poco hacia la extremidad posterior. El cinetoplasto, que se tiñe intensamente de rojo y que se ubica cerca y delante del núcleo, es una estructura mitocondrial especializada que contiene una cantidad sustancial del ADN extranuclear, contiene el corpúsculo parabasal y un blefaroplasto puntiforme. El axonema o rizonema es un filamento que parte del cinetoplasto y se dirige a la membrana celular.

Los amastigotes se multiplican por fisión binaria dentro de vacuolas parasitóforas de los macrófagos. Primero, inician la división del cinetoplasto, uno de los fragmentos conserva el rizonema, mientras que el otro forma su propia estructura flagelar. Luego, sigue la división del núcleo por mitosis y concluye con la del citoplasma, en sentido anteroposterior. La cantidad de amastigotes puede llegar hasta 200, lo que ocasiona la distensión y ruptura del macrófago. Los amastigotes libres entran en nuevas células del sistema fagocitario mononuclear, donde se multiplican de nuevo. El ciclo se reanuda cuando el flebótomo pica a un huésped para alimentarse de sangre^(3,13,19).

EL VECTOR

La leishmaniasis es transmitida por la picadura de flebótomos, pequeñas moscas que abundan todo el año en las zonas tropicales y en el verano, en las zonas templadas. Se reconocen cinco géneros de flebótomos principales: *Phlebotomus*, *Sergentomya*, *Lutzomyia*, *Warileya* y *Brumptomya*. Pero, se reconocen como vectores de la leishmania solo a dos: En Europa, Asia y África, el género *Phlebotomus*, y en América, el género *Lutzomyia*.

En el Perú, a la *Lutzomyia* se la conoce con el nombre de 'manta blanca' o 'titira'. Puede habitar en áreas desérticas, en la floresta y en áreas peridomésticas. Sin embargo, prefiere los lugares húmedos oscuros, en los que existe abundante vegetación. Descansa de día en los rincones, anfractuosidades de las piedras, muros o troncos de los árboles, y vuela al atardecer. Las hembras son las únicas hematófagas y más activas a la caída del día. La *Lutzomyia* es un mosquito pequeño, de 1,5 a 3 mm de tamaño, su cuerpo está cubierto de pelos y tiene las alas erectas en forma de 'V' (Figura 6). Su forma de vuelo es muy particular, a manera de brincos o sal-

tos y mantiene un vuelo bajo y silencioso. El área de su vuelo puede abarcar hasta 200 m de donde se cría; sin embargo, puede ser transportado por el viento a distancias mayores. Son, por lo general, de aparición vespertina entre las 18 y 20 horas y desaparecen progresivamente hacia la noche.

En el Perú se han descrito 131 especies de *Lutzomyia*, de las cuales cinco son vectores de la leishmaniasis tegumentaria. La especie que predomina es la *Lutzomyia peruensis*, que es vector de la leishmania en las provincias de Huarochirí, Otuzco y Bolognesi; *L. ayacuchensis*, en las provincias de Lucanas y Parinacochas; *L. verrucarum*, en las provincias de Bolognesi y Huarochirí, *L. tejadaí*, en las provincias de Ambo y Huánuco; *L. pescei* se correlaciona geográficamente con algunas áreas de leishmaniasis^(15,22-26) (Figura 7).

RESERVORIO

Existe una gran variedad de animales silvestres y domésticos que han sido implicados como reservorios de las especies de *Leishmania* en América. Es evidente la relación ecológica estrecha que existe entre los vectores de un parásito y su animal reservorio.

En las áreas andinas, se ha encontrado infectado naturalmente al perro doméstico (*Canis familiaris*), *Didelphys albiventis* y a una gran variedad de roedores, que incluye a la rata (*Rattus rattus*), entre otros. Se ha encontrado, en algunos estudios, que los parásitos aislados en el hombre y en la rata pertenecen a la misma especie. En la selva, aún no se ha podido determinar los reservorios^(1,3).

En Brasil se ha encontrado como reservorios de la *L. (L.) amazonensis* a los marsupiales y principalmente a los roedores *Proechymis* y al *Oryzomys*; de la *L. (V) guyanensis*, al perezoso (*Choloepus didactylus*), tamandúa (*Tamandúa tetradáctila*), marsupiales y roedores; de la *L. (V) brasiliensis*, a animales domésticos como perros, equinos, mulas y roedores domésticos^(27,28).



Figura 6. *Lutzomyia* spp.



TRANSMISIÓN

Todas las especies de *Lutzomyia* pueden ser potencialmente vectores de las leishmanias y dependerán de sus preferencias por alimentarse. Las especies que pican al hombre para alimentarse son las que pueden transmitir la enfermedad, mientras que las especies que nunca o solo ocasionalmente pican al hombre pueden ser muy importantes en el mantenimiento de las leishmanias en los reservorios animales^(1,3). La mayoría de las especies es silvestre y solo ataca a los hombres que penetran en su hábitat. Existen algunas especies que muestran una antropofilia acentuada y se adaptan al domicilio y peridomicilio humano. Las hembras son las responsables de la transmisión de la enfermedad.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

La leishmaniasis es una enfermedad de amplia distribución geográfica en el mundo, y abarca zonas áridas, tropicales y subtropicales. Su incidencia ha aumentado en los últimos años, hasta en un 500%, según la OMS^(29,30). Ocurren alrededor de 1,5 millones de nuevos casos de leishmaniasis cutánea cada año, de los cuales más del 90% se da en Afganistán, Argelia, Irán,

Irak, Arabia Saudita y Siria, y en América, en Brasil y Perú⁽³¹⁾. La leishmaniasis cutánea americana es endémica en América Central y América del Sur, con excepción de Chile y Uruguay.

En el Perú, la leishmaniasis es endémica y constituye un grave problema de salud pública. La incidencia anual de todas las manifestaciones clínicas de leishmaniasis americana aumentó de 7,6 por 100 000 a 24,7 por 100 000, entre 1979 y 1989, según el Ministerio de Salud⁽³²⁾. Existen las formas cutáneo andina y la mucocutánea o selvática, que son endémicas en 12 departamentos del Perú: Ancash, Ucayali, Junín, Loreto, San Martín, Amazonas, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Cerro de Pasco y Madre de Dios; primariamente en los Andes y en la Amazonía. La población en riesgo es aproximadamente de 1 200 000 personas. La mayoría de los casos en el Perú es causada por *L. brasiliensis* y, ocasionalmente, por *L. peruviana*^(33,34).

La frecuencia es mayor en los adolescentes y adultos jóvenes. La forma cutánea andina afecta predominantemente a los menores de 15 años –en especial, a los niños menores de 5 años– y la forma mucocutánea, al grupo mayor de 15 años. La leishmaniasis es considerada como una enfermedad ocupacional en las personas que se trasladan por motivo de trabajo a las áreas endémicas. En las áreas de transmisión de la forma cutánea andina hay una rápida incorporación de menores de 15 años a actividades de desbroce y preparación del terreno de cultivo, y a la transmisión intra y peridomiciliaria. La transmisión de la forma mucocutánea se relaciona con la migración intermitente y la colonización de áreas poco exploradas de la Selva Alta y Baja, asociadas a actividades de extracción y explotación de oro, petróleo, madera y construcción de carreteras⁽⁶⁾.

No existe predilección por alguna raza ni sexo. Sin embargo, la incidencia es más alta en los hombres, posiblemente como resultado del contacto ocupacional^(35,36).

Incidencia

En el año 2003 fueron reportados 6 318 casos de leishmaniasis cutánea en el Perú, la mayoría procedía de Ancash, seguida por Cusco y Madre de Dios, y 327 casos de leishmaniasis mucocutánea, en su mayoría del Cusco, seguida de Huánuco y Loreto. La tasa de incidencia acumulada nacional es de 23,62 por 100 000 habitantes, para la leishmaniasis cutánea, y de 1,22 por 100 000 habitantes, para la mucocutánea^(37,38).

FISIOPATOLOGÍA

Inmunología

La inmunidad en la leishmaniasis depende de la forma clínica y la respuesta del huésped. Se ha descrito un espectro de fenotipos que se correlacionan con la intensidad de la respuesta inmune. La inmunidad mediada por células tiene una influencia dominante en la determinación de la enfermedad⁽³⁹⁻⁴¹⁾.

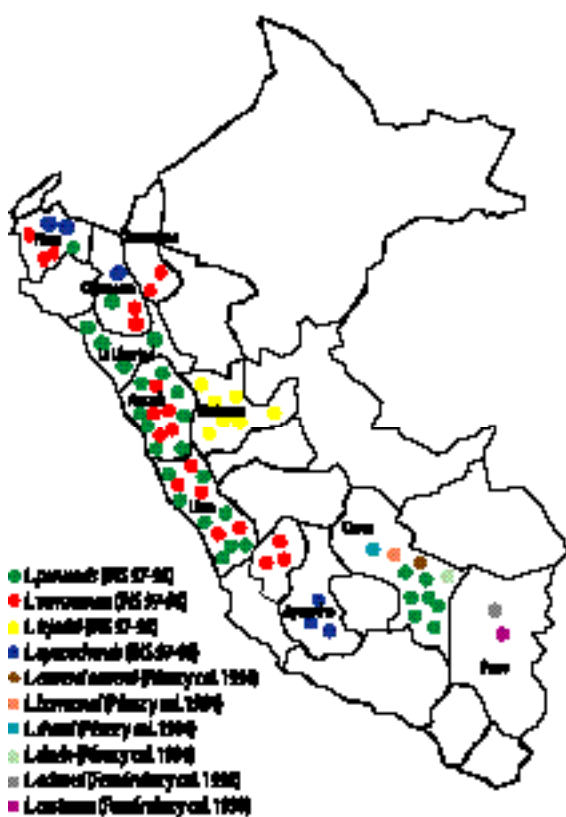


Fig
Lui



El parásito como el huésped intervienen en el desarrollo de la infección causada por la leishmania. Las leishmanias poseen una serie de estrategias complejas para atacar, infectar y sobrevivir dentro de los macrófagos. El huésped falla para controlar la enfermedad debido a la habilidad que tienen algunas cepas de resistir a la acción microbicida de los macrófagos activados y a la caída de la respuesta inmunoprotectora del huésped⁽¹³⁾. En el humano hay fenotipos sensibles y resistentes. Las lesiones que curan espontáneamente están asociadas con una respuesta positiva de las células T antígeno específicas; las formas visceral y cutánea difusa, con una respuesta débil o ausente, y la forma mucocutánea, con una hiperrespuesta de las células T^(40,41).

Los promastigotes cuando son inoculados, para escapar de la respuesta inmune inespecífica del huésped, penetran en los macrófagos. Los promastigotes no migran hacia los macrófagos, sino que permanecen en el espacio intercelular y activan el complemento por la vía alterna, e inician la acumulación de neutrófilos y macrófagos.

La adhesión entre el parásito y los macrófagos es fundamental para la invasión de las células del huésped⁽²⁰⁾. La proteína sérica C3 del complemento se deposita en la superficie del protozooario y reconoce ciertos receptores de membrana del macrófago. Se han identificado otros receptores sobre la superficie de la leishmania, como la glicoproteína 63 (gp63) y el lipofosfoglicano (LPG), que son usados por los parásitos para adherirse a los macrófagos^(3,20). Una vez que los promastigotes se fijan al macrófago son englobados en una vacuola parasitófora, que se une a los lisosomas y contienen enzimas proteolíticas que pueden matar y digerir las leishmanias.

Sin embargo, las leishmanias se diferencian y se transforman en amastigotes que resisten a la agresión y se multiplican dentro de estas vacuolas hasta que los macrófagos infectados ya no pueden contener más leishmanias y las células mueren y liberan amastigotes que van a infectar otras células. Las leishmanias destruidas por los macrófagos liberan antígenos que son expresados en la membrana de los macrófagos y presentados a los linfocitos T CD4⁺ leishmania específicos. La actividad leishmanicida es debida al aumento de la capacidad de los macrófagos de producir oxígeno tóxico y radicales de nitrógeno en respuesta al interferón gama (IFN- γ)^(3,40).

Los análisis del perfil de citoquinas sugieren que el sistema inmune del huésped tiene un rol inmunorregulatorio en la expresión de la enfermedad. Así, en la leishmaniasis cutánea localizada, las principales citoquinas producidas son la IL-2 e IFN- γ , y en la mucocutánea y la cutánea difusa, la IL-4 e IL-10. Esto se correlaciona con los estudios en modelos murinos en los cuales la producción de IL-2 e IFN- γ (Th1) interviene en la curación de la enfermedad, mientras que las IL-4, IL-5 e IL-10 (Th2) están asociados con la progresión

y diseminación de la enfermedad. Así dos subpoblaciones de células T *helper* en el sistema inmune murino son críticos en la inducción de la resistencia o la susceptibilidad a la infección^(37,40-45).

La importancia de la piel como sitio inmunorregulatorio en las tres formas clásicas de leishmaniasis y la vía de señal epidermal es crucial en la determinación de la respuesta inmune relacionada al tipo de citoquinas generado contra los parásitos de leishmania⁽³⁹⁾.

La resolución de la infección y la protección contra la reinfección en humanos y ratones están reguladas por la expansión de las células T *helper* CD4⁺ leishmania específicas tipo Th1 que producen IFN- γ . El IFN- γ activa a los macrófagos para la destrucción intracelular de los amastigotes. La IL-12 tendría un importante rol en promover el desarrollo de la respuesta Th1 protectora. En modelos de ratones, las células CD8⁺ leishmania específica secretan IFN- γ , que contribuye a la resolución de la infección por *L. donovani*⁽⁴²⁾.

En estudios de modelos en ratas se ha demostrado que durante las infecciones sistémicas progresivas hay expansión de células T CD4⁺ del tipo Th2 que secretan IL-4, pero no IFN- γ o IL-2 en respuesta a antígenos leishmaniales. La IL-4 suprime el desarrollo de la respuesta Th1 y la activación de los macrófagos por el IFN- γ . En pacientes con leishmaniasis visceral, la IL-10, más que la IL-4, es responsable de la supresión de la respuesta Th1. Las células CD8⁺ leishmania específicas han sido implicadas en la estimulación de la secreción de IL-10 por las células mononucleares de la sangre periférica. La naturaleza crónica de la leishmaniasis cutánea parece ser debida a la respuesta Th2 dominante en el sitio de infección de la piel⁽⁴²⁻⁴⁵⁾.

El mayor mecanismo de defensa inmune que tiene el huésped frente a la leishmania es la activación de los macrófagos por el IFN- γ derivados de las células T CD4⁺. La ausencia de IFN- γ es responsable del desarrollo de la leishmaniasis visceral y la leishmaniasis cutánea difusa. En la leishmaniasis cutánea americana, los linfocitos T producen IFN- γ en respuesta a antígenos de las leishmanias, y activan el macrófago para destruir a las leishmanias. Es posible que el desarrollo de la enfermedad dependa de la desregulación transitoria de la respuesta de las células T durante la fase inicial de la infección⁽⁴²⁾.

Recientes estudios están descubriendo la importancia de las interacciones entre los microorganismos y las células dendríticas (CD) y el rol central de estas células en la iniciación y regulación de la respuesta inmune antimicrobial. Las CD inmaduras en la piel captan el antígeno y lo procesan para su presentación a través de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Posteriormente, las CD migran por los nódulos linfáticos transportando el antígeno procesado a las áreas de las células T, diferenciándose en CD maduras con capacidad para estimular las células T en reposo,



que da lugar a la producción de citoquinas, como IL-1, IL-6 o IL-12, las que modulan el desarrollo del tipo de respuesta de células T. En la leishmaniasis, los protozoarios son fagocitados por macrófagos, CD, neutrófilos y fibroblastos. Solo las CD migran por los nódulos linfáticos y transportan el antígeno desde la piel infectada hacia las áreas de las células T y son capaces de proporcionar la principal señal para la iniciación de la respuesta primaria de las células T leishmania específica. Además, las CD retienen los antígenos del parásito de una forma inmunogénica por periodos prolongados, debido al aumento de la estabilidad de complejos péptidos del MHC de clase II, y así permitir la estimulación sostenida de las células T parásito específicas, que mantiene la inmunidad protectora frente a las leishmanias. Estos hallazgos sugieren que la interacción de la leishmania con las CD es enfocada como iniciadores y reguladores de la respuesta inmune específica. Se ha determinado que la IL-12 en un estadio temprano de la infección es crucial para la determinación de la inmunidad innata, la actividad de las células natural *killer* (NK) para producir IFN- γ y la respuesta adaptativa del huésped vía inducción selectiva de la diferenciación de las células Th1. Este hallazgo es la clave de las CD como reguladores de la inmunidad antiinfectiva y para la elaboración de estrategias para la obtención de vacunas⁽⁴⁶⁾.

Histopatología

El patrón histológico, tanto en la forma cutánea como en la mucocutánea, es el de una reacción inflamatoria granulomatosa crónica, y el aspecto microscópico varía de acuerdo a la antigüedad de las lesiones y a los factores del huésped. Las lesiones tempranas muestran un infiltrado granulomatoso dérmico intenso de linfocitos, macrófagos parasitados, células epitelioides, algunas células gigantes, células plasmáticas y, a veces, eosinófilos (Figura 8). En la dermis superior, el número de neutrófilos es variable. La epidermis muestra hiperqueratosis, acantosis y, a veces, atrofia, ulceración y abscesos intraepidérmicos. Las lesiones más antiguas muestran un granuloma de células epitelioides e histiocitos con células gigantes ocasionales y el número de macrófagos parasitados es reducido. La hiperplasia pseudocarcinomatosa aparece en las lesiones de larga duración⁽⁴⁷⁾.

ASPECTOS CLÍNICOS

Las manifestaciones clínicas son variables y están relacionadas a la cepa de leishmania infectante, el medio ambiente y a la respuesta inmune del hospedero. Se describen cuatro formas clínicas: 1) leishmaniasis cutánea; 2) leishmaniasis mucocutánea; 3) leishmaniasis cutánea difusa y 4) leishmaniasis visceral (Figuras 9-17). En el Perú, se reportan la forma cutánea andina o 'uta' y la forma mucocutánea o 'espundia'. Se estima que el 75% a 80% de los casos reportados corresponde a la forma cutánea y el 10% a 25%, a la forma mucocutánea.

Leishmaniasis cutánea

La aparición de las lesiones cutáneas algunas veces se encuentra asociada con la picadura del insecto vector en sujetos que viven en áreas endémicas, penetran y permanecen en el nicho ecológico por breves días y, luego, presentan la enfermedad. En promedio, se puede hablar de un periodo de incubación entre 2 y 3 semanas (de 2 semanas a 2 meses o más). Después aparece una pequeña lesión inicial frecuentemente visible, pero no siempre, que tiene asiento en las partes descubiertas, principalmente en la cara y en las piernas. El aspecto típico de la lesión inicial es un leve enrojecimiento circunscrito, frecuentemente pruriginoso, seguido, a los pocos días, por una leve infiltración papulosa de unos 3 mm de diámetro y con mucha frecuencia con una o dos diminutas vesículas; puede dar lugar a una diminuta excoriación por el rascado, que se transforma en una exulceración y posible punto de partida de un proceso ulcerativo. Pero, algunas veces, la lesión regresiona espontáneamente y origina una fase de silencio sintomático algo prolongado. Un trauma local puede activar una infección latente⁽¹⁰⁾.

Se ha observado como signo precoz en los casos de leishmaniasis cutánea la aparición de nódulos linfáticos, en la región correspondiente. El inicio de los signos linfáticos puede aparecer antes, al mismo tiempo o después de la ulceración, y, en casos muy raros, puede ser el único signo de infección de leishmaniasis^(3,10). Más raros, son diminutos cordones linfáticos infiltrados, perceptibles a la palpación, entre la lesión primaria y el ganglio infartado. Esto puede considerarse como un 'complejo primario' que la mayoría de veces pasa desapercibido por su escasa intensidad, o sea una verdadera, pero diminuta, úlcera primaria acompañada por la infiltración linfática regional correspondiente. Algunas veces se ha observado una lesión nodular de tipo subdérmico, sin lesión cutánea visible como punto de partida de un infarto ganglionar manifiesto. Esto indica que el complejo ganglionar es la regla en la enfermedad, aunque no siempre pueda ser evidenciable⁽¹⁰⁾.

Después de varios días, la lesión inicial se ulcera espontáneamente y se cubre de un exudado amarillento y adherente, que dará lugar a la costra. Debajo de la costra, la lesión se extiende en superficie y profundidad. Pueden aparecer lesiones satélites que al unirse a la inicial, originan una úlcera grande. La úlcera característica de la leishmaniasis es redondeada, indolora, con bordes bien definidos levantados y cortados en forma de sacabocado e indurada que recuerda la imagen de un cráter. Cuando se desprende la costra se observa un fondo granulomatoso, limpio, con exudado seroso no purulento, sin tendencia al sangrado, de color rojizo, a veces amarillento cuando hay depósito de fibrina. No hay signos inflamatorios, como edema o calor local. Si hay una infección bacteriana sobreañorada, la úlcera se torna dolorosa, exudativa y purulenta. La piel alrededor de la lesión presenta aspecto y coloración normales^(3,48-50) (Figura 10).

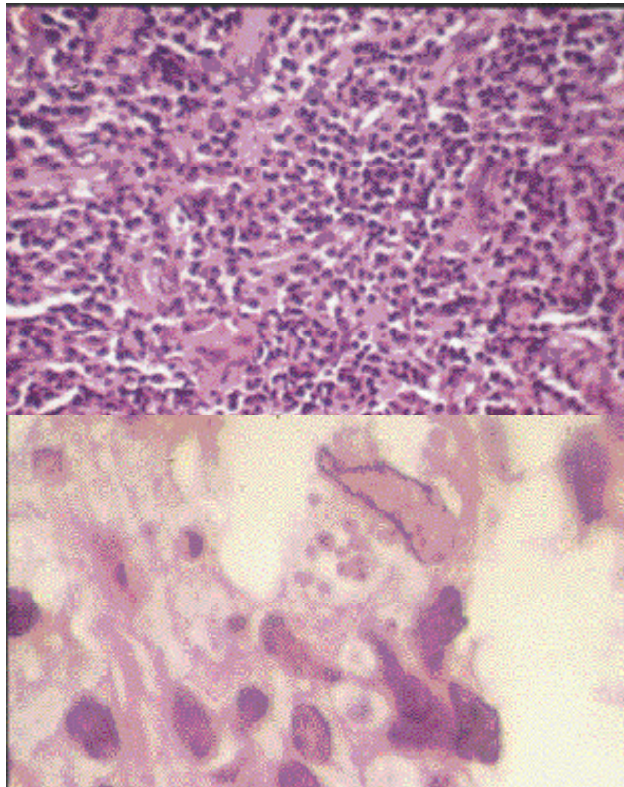


Figura 8. Arriba: Infiltrado granulomatoso dérmico intenso de células mononucleares. HE 10X. Abajo: Macrófago parasitado. HE 100X

La localización de la úlcera es más frecuente en las partes expuestas del cuerpo, especialmente las extremidades y cara. En los primeros meses de evolución, la úlcera tiende a crecer hasta un tamaño máximo que está en función de la respuesta inmune del huésped y de la especie de *Leishmania* infectante. Pasan



Figura 10. Úlcera característica de la leishmaniasis.

varios meses antes que la úlcera alcance varios centímetros de diámetro. Con frecuencia son afectados los ganglios linfáticos y se producen linfangitis y linfadenitis regionales. Las lesiones se estabilizan y a medida que empieza a prevalecer la respuesta inmune del huésped, la enfermedad tiende a evolucionar a la curación espontánea, en un periodo de seis meses a tres años⁽³⁾. Solo un escaso porcentaje tiene recidivas cutáneas o complicaciones mucosas de aparición más o menos tardía.

Las especies de leishmania infectante y la respuesta inmune del huésped determinan las características clínicas y la cronicidad de las lesiones. Las lesiones causadas por *L. (L) mexicana* tienden a ser pequeñas y menos crónicas que las causadas por *L. (V) brasiliensis*. La *L. (V) peruviana* presenta principalmente formas papulofoliculares y nodulares dérmicas; en la leishmaniasis causada por *L. (V) brasiliensis* predomina la forma

Figura 9. Leishmaniasis cutánea: lesiones exulceradas, algunas cubiertas por costra.



Figura 11. Forma impetiginóide de leishmaniasis cutánea





ulcerosa franca⁽¹⁰⁾. La leishmaniasis causada por *L. (V) guyanensis* origina úlceras múltiples, que sin tratamiento pueden extenderse por la cadena linfática de forma similar a la esporotricosis; en un porcentaje bajo muestra tendencia a la forma mucocutánea. La *L. (V) panamensis* produce lesiones ulcerosas que no tienden a la curación espontánea y afectación linfática en forma de rosario. La leishmaniasis producida por la *L. (L) amazonensis* rara vez produce enfermedad en el hombre y tiende a producir leishmaniasis cutánea difusa resistente a la curación. La *L. (V) lainsoni* produce principalmente lesiones cutáneas^(3,12).

Se ha descrito diversas formas clínicas de lesiones no ulceradas de leishmaniasis, como la papulosa, impetiginosa (Figura 11), verrucosa, nodular (Figura 12), vegetante y mixtas.

La leishmaniasis cutánea andina produce usualmente sólo lesiones cutáneas. Sin embargo, las membranas mucosas pueden estar ocasionalmente comprometidas, directamente relacionadas a la contigüidad de una lesión con la mucosa, en el caso de lesiones producidas en la cara.

Leishmaniasis mucocutánea (Figuras 13 y 14)

Las manifestaciones clínicas de la forma mucocutánea se presentan muchos meses o años después haber cicatrizado la forma cutánea; ocasionalmente aparecen cuando todavía existen las manifestaciones en la piel. Frecuentemente el enfermo ya no se encuentra en la zona donde contrajo la enfermedad. Tejada, en Cusco y Madre de Dios, encontró que el 48,8% de las manifestaciones mucosas se inició uno a dos años después de iniciada la enfermedad cutánea; el 24%, a los dos años, y 20%, entre los 3 y 5 años⁽⁵⁰⁾. Pessoa y col., en Brasil, afirman que el 70% de las lesiones surge en los primeros 5 años después de la aparición de la lesión cutánea. Se describe aparición de lesiones mucosas entre los 20 y 30 años después de la resolución de la lesión primaria. En un tercio de los casos, las manifestaciones mucosas son primarias, sin antecedente de lesión cutánea. Posiblemente la infección primaria ha sido inaparente o se ha manifestado como una lesión mínima que pasó desapercibida para el paciente.

Las lesiones mucosas se inician principalmente a nivel del tabique nasal cartilaginoso (septum cartilaginoso) y, raramente, en el piso de la nariz. Pero, pueden comenzar en otras partes de las vías aéreas superiores. Al inicio solo se aprecia una discreta secreción de moco, como si el enfermo tuviera una rinitis o un resfriado. Luego, se produce la inflamación de la mucosa, que se vuelve eritematosa, edematosa y dolorosa; la lesión se profundiza y produce una pericondritis. Hay hipertrofia vascular y de los orificios pilosebáceos, que produce abundante seborrea. Cuando las lesiones están avanzadas, se presenta exudación y ulceración de la mucosa. Luego, se compromete el cartílago y se produce la perforación del tabique, que si destruye parcial o totalmente el tabique determinará la

caída de la punta de la nariz. El eritema, edema y la infiltración producen aumento del volumen de la punta de la nariz y el ala, que puede sobrepasar el surco nasogeniano. A esta nariz grande de la leishmaniasis se la conoce con el nombre de 'nariz de tapir'. La perforación del tabique nasal y el achatación de la nariz sin ulceración son propias de la leishmaniasis mucocutánea (espundia) y no son observadas en la leishmaniasis cutánea andina, en la que, de preferencia, las alas de la nariz son carcomidas.

Los pacientes con compromiso nasal presentan, como sintomatología, catarro nasal, ardor, prurito y respiración forzada. Al examen, se aprecia la mucosa nasal congestionada, una costra hemorrágica o una úlcera granulomatosa infiltrada. Si hay infección sobreagregada, la secreción es purulenta. Si la enfermedad progresa y se profundiza, el proceso se extiende del vestíbulo al labio superior, paladar, pilares, úvula y la garganta. El labio superior suele ulcerarse y destruirse poco a poco y compromete parte de la nariz. Las lesiones del paladar son más frecuentemente proliferativas que destructivas; la úvula suele hipertrofiarse, ulcerarse o destruirse; pero, las lesiones linguales son muy raras. Cuando se afecta la garganta, la voz es ronca y hay dificultad para respirar y deglutir los alimentos. También se puede hallar compromiso gingival e interdentario. Las lesiones de la hipofaringe, laringe y tráquea se caracterizan por un compromiso de los pliegues aritepiglotícos y aritenoides, que dan lesiones hipertrofiadas que producen disfonía, afonía y asfixia. La epiglotis también puede estar comprometida y las cuerdas vocales infiltradas⁽³⁾. Si no hay tratamiento, la enfermedad puede llevar a la muerte.

La leishmaniasis mucocutánea, en los primeros años de su evolución, no afecta el estado general del paciente, el que puede realizar su labor normalmente. Sin embargo, cuando las lesiones mucosas están muy avanzadas y comprometen la mucosa de la boca y la laringe, la respiración y la alimentación, el estado general del enfermo se altera.

Leishmaniasis cutánea difusa

La leishmaniasis cutánea difusa ocurre en un huésped anérgico con pobre respuesta inmune celular. La enfermedad se inicia bajo la forma de lesiones localizadas, de aspecto nodular o en placa infiltrada, que poco a poco se diseminan a todo el cuerpo. La presencia de nódulos aislados o agrupados, máculas, pápulas, placas infiltradas, úlceras y, algunas veces, lesiones verrucosas de límites imprecisos, que se confunden con la piel normal, dan el aspecto de la lepra lepromatosa. La enfermedad no invade órganos internos^(41,49,51).

La leishmaniasis cutánea difusa puede ser causada por *L. aethiops*. En América Central y Sudamérica es más comúnmente causada por la *L. mexicana amazonensis*⁽⁴¹⁾.



7.



Figura 12. Leishmaniasis cutánea nodular, en dorso de mano.

El examen histopatológico muestra frecuentemente atrofia de la epidermis y granulomas bien constituidos con predominio de células de citoplasma vacuolado llenas de parásitos, en la dermis⁽⁴¹⁾.

Las lesiones no curan espontáneamente y tienden a la recaída después del tratamiento⁽³⁾.

Leishmaniasis visceral

La leishmaniasis visceral es una enfermedad parasitaria sistémica que compromete la vida, causada por el complejo *L. donovani* y transmitida por mosquitos flebótomos. La enfermedad es endémica en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo. El complejo *Leishmania donovani* incluye a la *L. donovani* en el subcontinente Indio, Asia y África; a la *L. infantum*, en el mediterráneo y *L. chagasi*, en Sudamérica. En el Oriente medio se han encontrado cepas de *L. trópica* que causan enfermedad visceral. La leishmaniasis visceral ocurre esporádicamente en áreas endémicas rurales, pero epidemias en gran escala se han asociado al hambre, migraciones en masa y alteraciones ecológicas, las que han propiciado interacciones entre los reservorios, mosquitos y seres humanos.

Después de la picadura del vector, existe un periodo de incubación que varía de 4 a 10 meses. En muy pocos casos se encuentran lesiones en la puerta de entrada, ya que la mayoría de las veces pasa desapercibida y tiene una evolución crónica. La progresión a leishmaniasis visceral típica usualmente ocurre entre los 3 y 8 meses después de la infección; aunque se han reportado casos tempranos, como de dos semanas. Sin embargo, después de la infección la mayoría de los casos permanece asintomática o está asociada con síntomas leves que, eventualmente, se resuelven en forma espontánea.

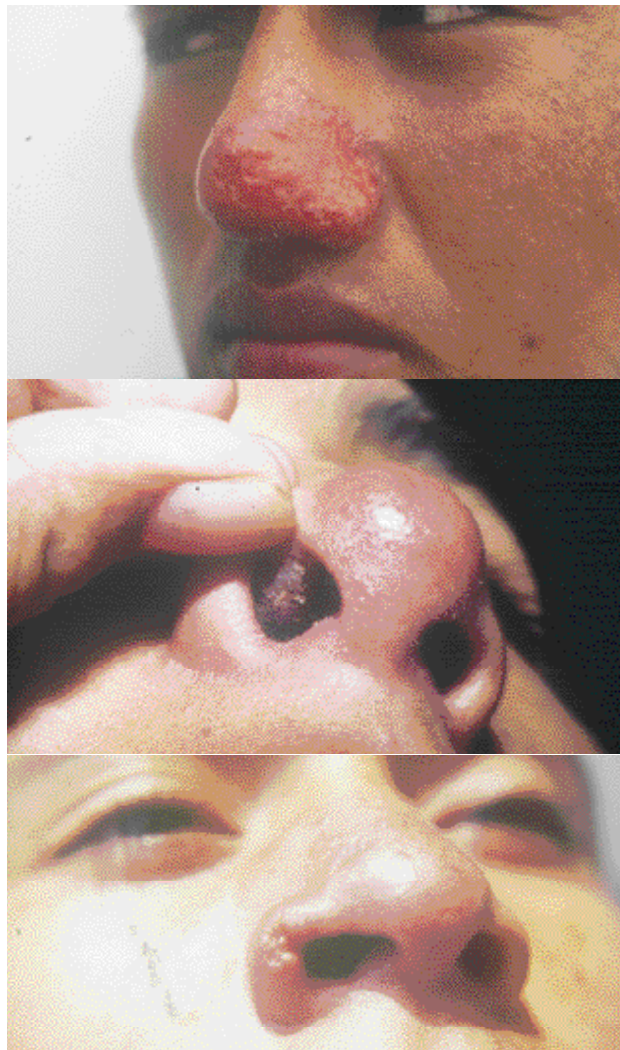


Figura 13. Diferentes estadios de leishmaniasis mucocutánea.



Figura 14. Lesión en mucosa labial



Las manifestaciones clínicas de la leishmaniasis visceral típica están asociadas con fiebre, la que casi siempre es progresiva y elevada, remitente o intermitente, que dura semanas y se alterna con periodos afebriles, que también duran semanas. Posteriormente, la fiebre se torna persistente y ondulante. Existe progresivo deterioro del huésped, palidez y hepatoesplenomegalia. En la fase crónica, la esplenomegalia es muy marcada y puede llegar hasta la fosa iliaca derecha, con abultamiento considerable del abdomen. Existe una lifadenopatía generalizada, en especial de los ganglios mesentéricos, epistaxis, hemorragia gingival, edema y ascitis. La leishmaniasis visceral a menudo es fatal si no se efectúa tratamiento adecuado. La piel se encuentra hiperpigmentada.

Los hallazgos de laboratorio incluyen anemia normocítica normocrómica, neutropenia, trombocitopenia, hipoalbuminemia y elevación de las transaminasas.

Desde el punto de vista inmunológico, se ha establecido que la leishmaniasis visceral está asociada con anergia celular, tal como lo indican las pruebas cutáneas negativas a antígenos de leishmania. La inducción del factor de transformación del crecimiento-beta y la IL-10 con propiedades inactivantes de los macrófagos puede ser la clave de esto. El control de la leishmaniasis visceral depende de la magnitud de la respuesta Th1 y de las citoquinas liberadas tempranamente en el curso de la infección. Datos recientes indican que la susceptibilidad a la leishmaniasis está genéticamente determinada^(3,52-53).

DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIASIS

La aproximación diagnóstica más exacta considera tres criterios que deberán abordarse en el siguiente orden:

1. Antecedentes epidemiológicos,
2. Cuadro clínico sugestivo de leishmaniasis, y
3. Exámenes de laboratorio: métodos directos e indirectos^(54,55).

ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS

Es importante conocer el lugar de procedencia del paciente, las residencias anteriores, la permanencia o la visita a áreas endémicas de leishmaniasis, los antecedentes ocupacionales relacionados, como el trabajo en los lavaderos de oro, la recolección de café o de cacao en la selva del Perú.

Además, es importante indagar sobre la presencia de lesiones cutáneas anteriores que puedan haber sido catalogadas como leishmaniasis o no, y que, con el antecedente de haber permanecido en un área endémica, demoraron en la cicatrización⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾.

CUADRO CLÍNICO

Las manifestaciones clínicas son variables y están relacionadas en parte a la especie de *Leishmania*, al medio ambiente y a la respuesta inmune del hospedero. Las formas clínicas ya descritas corresponden a: leishmaniasis cutánea, mucocutánea, cutánea difusa y visceral. La última aún no ha sido reportada en el Perú⁽⁵⁵⁾. La localización y el diagnóstico clínico precoz previenen la aparición de complicaciones y secuelas destructivas.

Definición de casos de leishmaniasis

- Caso probable. Caso de leishmaniasis diagnosticado bajo criterio clínico-epidemiológico, sin confirmación por exámenes de laboratorio⁽⁵⁴⁻⁵⁶⁾.
- Caso confirmado. Caso probable que sometido a exámenes parasitológico, inmunológico e histopatológico o cultivo de muestra positividad a la infección por leishmania^(54,56).

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Siempre se debe tener en cuenta que los procedimientos empleados en el diagnóstico de leishmaniasis tegumentaria americana (LTA) dependen, en gran parte, de la finalidad e infraestructura del laboratorio en que se trabaja. Por otro lado, se sabe que, debido al polimorfismo clínico de la LTA, la obtención de las muestras variará según los métodos de demostración y aislamiento de los parásitos⁽⁵⁶⁾. Los exámenes de laboratorio se agrupan en directos o parasitológicos e indirectos o inmunológicos.

Métodos directos o parasitológicos

En el diagnóstico parasitológico hay dos alternativas. La primera es demostrar que el paciente está albergando la leishmania, mediante la visualización, en el frotis o en la histopatología, de amastigotes en tejidos infectados. La segunda opción es intentar el aislamiento directo de los promastigotes en cultivos *in vitro* de las lesiones sospechosas^(54,55).

Otro método empleado es la inoculación de animales de laboratorio (hámsters dorados) y ratones isogénicos y no isogénicos^(57,58), a partir de los que se puede aislar y caracterizar a la *Leishmania* a través de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), anticuerpos monoclonales y/o electroforesis de isoenzimas⁽⁵⁹⁻⁶²⁾.

Investigación de amastigotes

- En las lesiones cutáneas

La úlcera es la más frecuente presentación clínica de la LTA. Independientemente de la especie de leishmania causante, las lesiones, por lo general, se encuentran contaminadas por hongos, bacterias o micobacterias. Por ello, se debe realizar una buena asepsia, previa a la toma de muestra⁽⁵⁶⁾. Cuando



los parásitos circulantes en el área endémica pertenecen al subgénero *Viannia*, la eficiencia de visualización y aislamiento es menor en los frotises si se compara con las leishmanias del subgénero *Leishmania*, debido a las densidades parasitarias de 18 a 52% y de 30 a 40%, respectivamente^(56,63).

La positividad de la histopatología con hematoxilina-eosina está alrededor del 48% en el Perú⁽⁵⁶⁾; sin embargo, existen reportes de que en Brasil solo se alcanza entre 18 y 28% en leishmaniasis cutánea⁽⁵⁸⁾. La técnica de inmunoperoxidasa indirecta (IMPI) es muy eficiente en la observación y localización del parásito, con 61% de positividad, y si la lesión tiene menos de 3 meses de evolución, puede alcanzar el 75%^(64,65).

- En las lesiones mucosas

En relación con las formas mucosas únicas o múltiples, los procedimientos generalmente utilizados son la biopsia con ayuda de pinzas cortantes especiales (*cutting biopsy punch*) y los frotises de las biopsias⁽⁵⁶⁾. La *L. (V) brasiliensis* es difícil de diagnosticar en los granulomas mucosos⁽⁶⁶⁾. Llanos-Cuentas en Perú, reporta 48% de positividad en lesiones mucosas únicas y 72,7% en lesiones múltiples⁽⁶⁴⁾, mientras que Cuba, en Brasil, halla 27,4% en los frotises de las biopsias y 16% en la histopatología⁽⁵⁶⁾. Estos resultados son opuestos a los de Dimier-David, en Bolivia, que publicó una positividad de 17,7% para los frotises y 28,4%, para la histopatología⁽⁶⁷⁾. Marsden llama la atención que es más fácil detectar los parásitos en lesiones mucosas múltiples, que en lesiones únicas de *L. (V) brasiliensis*, lo cual también fue reportado por Dimier-David⁽⁶⁶⁻⁶⁸⁾.

Investigación de promastigotes

De las fases evolutivas de *Leishmania*, la forma promastigote es la más fácil de ser cultivada *in vitro*, en ella se hacen la mayoría de las investigaciones parasitológicas⁽⁵⁶⁾.

Ya en la década del 70, era opinión generalizada que los parásitos pertenecientes al hoy, subgénero *Viannia* (complejo *brasiliensis*), eran difíciles de cultivar. Este hecho era completamente opuesto a la facilidad con que se cultivaban las leishmanias del subgénero *Leishmania* (complejo mexicana) en cualquier medio agar sangre. Hoy sabemos que no existe un único medio de cultivo artificial capaz de reunir características tales que consiga cumplir los objetivos enunciados⁽⁵⁶⁾. Por tanto, es recomendable que cada área endémica de LTA, ensaye primero algunos medios conocidos por su sensibilidad. Esto permitirá una mayor eficiencia futura en el aislamiento de los parásitos que circulan en el foco de transmisión. Los medios de cultivo empleados pueden ser monofásicos (Eagle, MEM, 19TC, el medio RPMI 1640 y el Schneider), o bifásicos (Agar sangre-NNN, Agar sangre USAMRU, medio de Senekje)^(56,69,70).

Métodos de cultivo

- Aislamiento primario de las lesiones cutáneas

La sensibilidad del método está directamente relacionada con la correcta selección que hagamos del medio más apropiado y con la habilidad del investigador para escoger el lugar de la lesión que sea la de mayor actividad parasitaria (la que sólo surge después de años de experiencia y práctica)⁽⁵⁶⁾. Para la recolección de la muestra para el cultivo, podemos usar la técnica de aspiración de las lesiones por el procedimiento descrito por Hendricks⁽⁷⁰⁾ o a través de una biopsia punch y posterior triturado en una solución de suero fisiológico y antibióticos. Es importante señalar que la excesiva presencia de sangre en las muestras colectadas es perjudicial para el desarrollo del parásito. Según Evans⁽⁷¹⁾, la sangre contiene proteínas séricas altamente inhibitorias para el crecimiento de los promastigotes de leishmania.

- Aislamiento primario de las lesiones mucosas.

Es bastante difícil aislar *Leishmania* de los granulomas mucosos, en medios de cultivo, tanto por la contaminación de bacterias y hongos ambientales como del huésped. Por ello los cultivos deben contener antifúngicos (5-fluorocitosina) y antibióticos (gentamicina y estreptomina) a 4°C durante 24 horas. Esto se realiza previo a la inoculación de los tubos de cultivo. Sin embargo, la eficacia es poco significativa⁽⁵⁶⁾. El mejor hallazgo lo reporta Cuba en Brasil con 30%⁽⁷²⁾, mientras que Dimier-David,⁽⁶⁷⁾ en Bolivia, consiguió 23% de positividad en medio NNN complementado con Schneider y antibióticos.

- Uso de la inoculación en hámsters en el diagnóstico de LTA

Con el empleo de este método, Cuba reporta 60% de positividad en animales inoculados con la suspensión de la biopsia triturada, y de solo aproximadamente 35%, cuando proceden a aspirar con aguja y jeringa las lesiones e inmediatamente inoculan los animales⁽⁵⁶⁾. En Perú, Llanos-Cuentas reporta 69,9% de positividad⁽⁶⁴⁾. Para comprobar el parasitismo del hámster inoculado no basta hacer un simple frotis del lugar clínicamente positivo, es necesario cultivar, ello porque el frotis apenas demostrará 25% de animales con amastigotes⁽⁵⁶⁾.

En la leishmaniasis, tanto cutánea como mucosa, el éxito en el aislamiento es inversamente proporcional al tiempo de duración de la enfermedad⁽⁵⁶⁾. Se debe admitir que no existe una técnica de aislamiento que reúna todas las características necesarias a fin de diagnosticar parasitológicamente el 100% de los pacientes con LTA. La opinión generalizada es que el máximo rendimiento se consigue con la combinación de 2 ó 3 de ellas. Si a esto se asocian la prueba de Montenegro y la serología por Elisa, el diagnóstico laboratorial de LTA puede llegar al 90,0%⁽⁵⁶⁾.



Métodos inmunológicos

Se basan en la detección de la enfermedad a través de la respuesta inmune celular (intradermorreacción de Montenegro o leishmanina) y/o respuesta inmune humoral a través de anticuerpos específicos desarrollados como consecuencia de la enfermedad (Elisa/DOT Elisa, inmunofluorescencia indirecta (IFI)^(54,55).

Intradermorreacción de Montenegro

Es una reacción de hipersensibilidad tardía que evalúa la inmunidad mediada por células. Consiste en la aplicación de un antígeno extracto soluble preparado a partir de promastigotes procedentes de cultivo. Se aplica intradérmicamente en la cara anterior del antebrazo izquierdo del paciente y se hace la lectura a las 48 a 72 horas^(54,55). Se considera positiva si es mayor de 10 mm. La prueba aparece positiva 1 a 3 meses después de haber adquirido la infección y permanece positiva de por vida en pacientes con LCL y LCM, y es negativa en los pacientes con LCD, forma visceral y en inmunosuprimidos. Tiene un 96% de positividad en los tres primeros años de iniciada la enfermedad⁽⁵⁴⁾.

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y pruebas enzimáticas Elisa

Estas pruebas detectan anticuerpos antileishmania circulantes en el suero del paciente a títulos bajos. En las lesiones ulceradas por *L. (V) brasiliensis* la sensibilidad a la IFI está en torno del 70% dentro del primer año de iniciada la enfermedad. Algunos pacientes son persistentemente negativos^(56,57,73).

Las lesiones múltiples, tanto cutáneas como mucosas, están asociadas a títulos más altos. De otro lado, las lesiones mucosas presentan títulos más altos que las lesiones cutáneas y muestran títulos elevados persistentemente⁽⁵⁶⁾.

Después del tratamiento y la cura clínica en ambas formas de la enfermedad, los títulos caen o desaparecen completamente. Un tercio de los pacientes permanecen seropositivos después de los 30 años de enfermedad.

La primera muestra debe recolectarse en el primer contacto con el paciente, la segunda al mes, la tercera a los 3 meses, otra a los 6 y la última al año de la cicatrización de la lesión⁽⁷³⁾.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Es un método que se está usando rutinariamente para confirmar el diagnóstico de leishmaniasis. La identificación puede ser hecha de una biopsia sin requerir necesariamente un cultivo⁽⁵⁹⁾. Los resultados comparativos entre la PCR y los métodos de detección parasitológicos muestran una mejor sensibilidad del primero para fines de diagnóstico^(60,61).

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Es importante realizar un diagnóstico diferencial cuidadoso con otras entidades que pueden producir lesiones semejantes. Se debe considerar el medio geográfico donde se encuentra trabajando el paciente y cuales son las patologías más frecuentes en esa zona, que podrían confundirnos con leishmaniasis.

- Leishmaniasis cutánea andina: infecciones de piel ocasionadas por bacterias piógenas, úlceras por vasculopatía, lepra lepromatosa, tuberculosis, sífilis secundaria o terciaria, micosis superficiales, sarcoidosis y carcinomas de piel.
- Leishmaniasis mucocutánea: infecciones de mucosas ocasionadas por paracoccidioidomicosis, histoplasmosis, tuberculosis nasal, sífilis terciaria, granuloma letal de la línea media, pian, hanseniasis y neoplasias⁽⁵⁶⁾.
- Leishmaniasis visceral: infecciones infantiles como malaria crónica, linfomas, esprue tropical y leucemias. En Perú no ha sido reportada esta forma clínica, pero existen en países limítrofes como Brasil, Bolivia y Colombia⁽⁵⁶⁾.

TRATAMIENTO

Gaspar Vianna, en 1909, inicia el tratamiento específico de la leishmaniasis utilizando tártaro emético y obtiene la cura de pacientes con leishmaniasis cutánea y/o mucosa. Este medicamento ocasionaba severos efectos colaterales. Bramachari, en 1920, sintetiza el primer antimonial pentavalente, pero los antimoniales trivalentes fueron las drogas utilizadas, con efectos colaterales menos intensos que el tártaro emético, presentando toxicidad cardíaca, hepática y del sistema nervioso central. En la década de los 40 entra en el mercado farmacéutico los antimoniales pentavalentes, el estibogluconato de sodio (Repodral®/Pentostan®) y N-metilglucamina (Glucantime®).

Los esquemas de tratamiento se aplican de acuerdo a la forma clínica de leishmaniasis. En el Perú se manejan dos líneas básicas de tratamiento: primera línea, con antimoniales pentavalentes, y segunda línea, con anfotericina B.

Para el tratamiento antileishmaniásico se están empleando esquemas de tratamiento alternativo y se están desarrollando nuevos medicamentos. Los esquemas utilizados son:

LEISHMANIASIS CUTÁNEA ANDINA O UTA

Droga de elección

Los antimoniales pentavalentes, a la dosis de 20 mg Sb/kg de peso/día, vía IV o IM, por 10 días, aplicación diaria. La experiencia que se tiene es con los antimoniales pentavalentes (N- metilglucamina); se presentan en ampollas de 1,5 g. Son empleados por vía IM, cada 12 horas, en ciclos de 10 días cada uno y descanso de una semana. Número de ciclos promedio tres con buenos resultados.



Drogas alternativas

- Rifampicina, 600 mg/día, vía oral, por 3 a 4 semanas
- Dapsona. 3 mg/kg de peso/día, vía oral, por 3 a 4 semanas
- Ketoconazol, 600 mg/día, vía oral, por 4 semanas

LEISHMANIASIS MUCOCUTÁNEA O ESPUNDIA

Droga de elección

Antimoniales pentavalentes (antimoniato de N- metilglucamina, estibogluconato de sodio), a la dosis de 20 a 50 mg/kg de peso/día, IV o IM, por 30 días, aplicación diaria.

Droga alternativa

Anfotericina B, a la dosis de 0,5 a 1,0 mg/kg de peso/día IV diluido en 500 mL de dextrosa al 5%, hasta un máximo de 50 mg/día y alcanzar la dosis acumulada de 2,5 a 3 g.

LEISHMANIASIS VISCERAL

Antimoniales pentavalentes (antimoniato de N- metilglucamina, estibogluconato de sodio), a la dosis de 20 mg Sb/kg de peso/día, IM o IV, por 30 días, aplicación diaria.

Antimoniales

Los antimoniales, desarrollados en 1940, continúan siendo las drogas de elección para el tratamiento de las leishmaniasis. Existen dos sales de antimonio pentavalentes disponibles: el antimoniato de N-metilglucamina y el estibogluconato de sodio. Ambas drogas son similares en eficacia y toxicidad. Sus mecanismos de acción no son bien conocidos, aunque ellos pueden inhibir la glicólisis y oxidación de los ácidos grasos de la leishmania.

El antimoniato de N-metilglucamina, es utilizado en la mayoría de países de América Latina y Francia. Es una droga hidrosoluble, se presenta en ampollas de 5 mL en solución al 30% que contiene 1,5 g de sal antimonial bruta que corresponde a 425 mg de antimonio. Existe controversias con la dosis y de los intervalos de aplicación. Se recomienda usar dosis de 20 mg/kg/día. Es una sustancia de eliminación rápida.

El estibogluconato de sodio, descubierto por Schmidt en 1936, es un gluconato pentavalente de sodio y antimonio, que contiene 30 a 34% de antimonio pentavalente. Es considerada la droga de elección para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea, mucocutánea y visceral en los países de habla inglesa, incluyendo los Estados Unidos. Se presenta en ampollas de 2 mL/5 mL, que contienen 100 mg de antimonio en 1 mL. La dosis empleada es de 20 mg de antimonio/kg/día.

Entre los efectos adversos de los antimoniales se incluyen debilidad, anorexia, mialgias, artralgias, inapetencia, náuseas, vómitos, plenitud gástrica, epigastralgia, cefalea, ma-

reos, palpitaciones, prurito y cardiotoxicidad, especialmente asociada a dosis altas y tiempo prolongado. Las alteraciones de laboratorio incluyen leucopenia, trombocitopenia, elevación de amilasas, lipasas y de transaminasas hepáticas. El tratamiento debe ser monitorizado, pero la mayoría de las alteraciones se normalizan rápidamente al suspender el tratamiento. Las contraindicaciones incluyen embarazo, cardiopatías, nefropatías y hepatopatías⁽⁷⁴⁻⁷⁸⁾.

El antimoniato de meglumina también se ha empleado en forma intralesional, con buenos resultados en las formas cutáneas de leishmaniasis, lo que hace que exista un menor riesgo de complicaciones⁽⁷⁷⁾.

Anfotericina B

Es un antibiótico poliénico altamente lipofílico que actúa sobre los esteroides y fosfolípidos de las membranas celulares de las células; se emplea como droga de segunda línea en el tratamiento de leishmaniasis resistente a los antimoniales, especialmente en las formas mucocutánea y diseminada difusa.

La anfotericina B se presenta en frascos de 50 mg. Se comienza con 0,5 mg/kg/día y se aumenta gradualmente hasta 1 mg/kg/día en días alternos, sin sobrepasar la dosis de 50 mg por día. Se debe administrar hasta la cura clínica, lo que debe ocurrir cuando se llega a la dosis de 1 a 1,5 g en la forma cutánea y de 2,5 a 3 g en las formas mucosas y mucocutáneas. La anfotericina B se administra por vía IV diluida en 500 mL de dextrosa al 5%. El paciente debe estar en monitoreo clínico estricto, acompañado de pruebas de laboratorio que permitan evaluar la función renal, hepática, hematológica y cardíaca. Se excreta por vía renal.

Los efectos secundarios son variados, principalmente a nivel renal, anemia y convulsiones. Se presentan frecuentemente fiebre, anorexia, náuseas, vómitos y flebitis. La anfotericina B produce una hipopotasemia importante que puede agravar y contribuir al desarrollo de insuficiencia cardíaca.

La anfotericina liposomal es menos tóxica que la anfotericina B. Los transportadores liposomales de drogas son ideales para el tratamiento de la leishmaniasis, porque las leishmanias viven dentro de los macrófagos^(74,49). La anfotericina está contraindicada en gestantes, cardiopatías, neuropatías y hepatopatías.

Pentamicina

Es una diamidina con un amplio espectro de actividad antiparasitaria. Efectiva contra la leishmaniasis, tripanosomiasis y pneumocistosis. En la leishmaniasis actúa inhibiendo la replicación del cinetoplasto. Tiene alta afinidad por las proteínas titulares, se acumula en el hígado, riñones, glándulas suprarrenales y bazo. Se elimina por vía renal lentamente, hasta días después de finalizado el tratamiento.



La pentamicina es usada como un medicamento alternativo en los casos que no responden a los antimoniales pentavalentes. Se ha obtenido buenos resultados con bajas dosis en la *L. (V) guyanensis*. La dosis recomendada es de 4 mg/kg/día, vía intramuscular profunda de 2 / 2 días. La duración del tratamiento varía de 5 a más semanas, de acuerdo con la respuesta clínica. Se presentan en frasco ampolla de 300 mg, bajo la forma de dos sales: el mesilato y el isetionato. Se prefiere el isetionato por tener menos efectos colaterales.

Las reacciones adversas más frecuentes son dolor, induración y abscesos estériles en el sitio de aplicación, además de náuseas, vómitos, mareos, adinamia, mialgia, cefalea, hipotensión, lipotimias, síncope, hiperglicemia e hipoglicemia. Debe ser administrado después de los alimentos, por su acción hipoglucemiante. Se recomienda, durante el tratamiento, realizar exámenes de laboratorio de funciones renal y hepática, glicemia y ECG. Contraindicaciones: gestantes, diabetes, insuficiencia renal, insuficiencia hepática y enfermedades cardíacas⁽³⁾.

Aminosidina

El sultato de aminosidina es un aminoglucósido con actividad leishmanicida. Se ha probado su eficacia en el tratamiento de la leishmaniasis visceral. Fue recientemente usado en la India a la dosis de 16 a 20 mg/kg/día, por 21 días, con una cura del 97%⁽⁴⁾. Estudios realizados en áreas endémicas de *L. (V) brasiliensis*, han probado la eficacia parcial de la aminosidina a los dos años de seguimiento, por lo que esta droga puede convertirse en una alternativa para el tratamiento de la leishmaniasis. La dosis recomendada es de 16 mg/kg/día, por 21 días^(3,33).

Miltefocina

Se trata del primer fármaco oral para el tratamiento de la leishmaniasis visceral que cura un 95% de los casos. Probablemente sea la droga más barata que se utiliza en la actualidad y, además, la más sencilla en administrar. La dosis a usar es de 100 a 150 mg, por día, por 28 días. Los estudios han demostrado efectividad hasta del 100% y es una droga bien tolerada⁽³³⁾.

Interferón gama

En estudios realizados, la inyección diaria de interferón gama combinado con antimoniales pentavalentes ha mostrado aceleración de la respuesta clínica e induce respuesta a largo plazo en los dos tercios de los casos que no responden al tratamiento con antimoniales pentavalentes solamente. El IFN actúa como un coadyuvante. El costo limita su uso^(33,80).

Ketoconazol

Antimicótico imidazólico que inhibe la síntesis del ergosterol; ha sido empleado en el tratamiento de la leishmaniasis tegumentaria americana con resultados contradictorios. La dosis es de 600 mg/día, por 28 días. En las formas mucosas el resultado ha sido pobre usando 400 mg, por día, por 3 meses^(13,55).

Itraconazol

Antifúngico triazólico como el anterior, actúa inhibiendo la síntesis del ergosterol y por lo tanto de la pared celular. Se ha comunicado resultados buenos en las formas cutáneas de la leishmaniasis tegumentaria americana. La dosis es de 200 a 400 mg/día de 2 semanas a 5 meses.

El fluconazol a la dosis de 200 mg/día, por 6 semanas, ha resultado efectivo en las formas de leishmaniasis cutáneas⁽⁸¹⁾.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud. Dirección General de Salud de las Personas. Dirección de Programa de Control de Enfermedades Transmisibles. Control de Malaria y OEM. Doctrina, Normas y Procedimientos para el control de Leishmaniasis en el Perú. Lima 1995:1-66.
2. Sánchez L, Sáenz E, Chávez M. Leishmaniasis en el Perú. En: Sociedad Peruana de Dermatología: Infectología y Piel. Lima: Mad Corp Editores e Impresores, 2000:201-7.
3. Ministerio de Salud. Oficina General de Epidemiología. Módulos Técnicos. Serie de Monografías. Leishmaniasis. Lima, Perú. 2000:08-83.
4. Vidyashankar C, Noel GJ. Leishmaniasis. eMedicine Journal 2002; 3:1-19
5. Grimaldi G, Tesh R, McMahon-Pratt D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. Am J Trop Med Hyg 1989; 41:697-725.
6. Neyra D. Las leishmaniasis en el Perú. Folia Dermatol Peru 1997; 8:51-5
7. Lucas C, Franke A, Cachay M, et al. Geographic distribution and clinical description of leishmaniasis cases in Peru. Am J Trop Med Hyg 1998; 59:312-7.
8. León LA, León R. Las Rinopatías en la leishmaniasis tegumentaria americana. Quito: Ed. Universitaria, 1979:3-16.
9. León LA, León R. Paleopatología Dermatológica Ecuatoriana. Med Rev Mex. Separata 1973; 53:33-48.
10. Pesce H. Tropicales: Leishmaniasis tegumentaria. Separatas. 1995; 1-13.
11. Herrer A. Simposium sobre leishmaniasis tegumentaria americana en el Perú. Consideraciones sobre el reservorio. Rev Vier Med 1955; 6:22-35.
12. Lucas CM, Franke ED, Cachay MI, et al. Leishmania (viannia) lainsoni: first isolation in Peru. Am J Trop Med Hyg 1994; 51:533-7.
13. Bonfante R, Barruela S. Leishmaniasis y Leishmaniasis en América con especial referencia a Venezuela. Caracas: Tipografía y Litografía Horizonte C.A. 2002
14. De Gopugui MR, Ruiz R. Leishmaniasis: a re-emerging zoonosis. Int J Dermatol 2003; 37:801-14.
15. Lainson R, Shaw J, Silveira F, De Souza A, Braga R, Ishikawa E. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the eco-epidemiology of the disease in Amazonia. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 1994; 89: 435-43.
16. Lainson R. On Leishmania enriettii and other enigmatic Leishmania species of the neotropics. Memórias del Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 1997; 92: 377-387.
17. Hall LR, Titus RG. Sand fly vector saliva selectively modulates macrophage functions that inhibit killing of Leishmania major and nitric oxide production. J Immunol 1995; 155:3501-6.
18. Magill AJ. Epidemiology of the leishmaniasis. Dermatol Clin 1995; 13:505-23.
19. Pearson R, Queiroz Souza A. Especies de Leishmania: Leishmaniasis visceral, cutánea y mucosa. En: Mandell, Douglas, Bennett. Enfermedades infecciosas, principios y practica. 4ta ed. Buenos Aires: Panamericana Ed, 1997:2724-35.
20. Tremblay M, Oliver M, Bernier R. Leishmania and the pathogenesis of HIV infection. Parasitol Today 1996; 12:257-61.
21. Hall BF, Gramiccia M, Gradoni L, et al. Strategies of obligate intracellular parasites for evading host defenses. Parasitol Today, 1991;12: A22-A27.
22. Herrer A. Lutzomyia peruensis (Shannon, 1929) Possible vector natural of the uta (leishmaniasis tegumentaria). Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1982; 24:178-82.
23. Tejada A, Cáceres A, Miranda J, y col. Vectores de la leishmaniasis tegumentaria en el valle del Rímac. An Fac Med 2003; 64:218-22.



24. Cáceres A. Especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) vectores de la uta en el Perú. *Rev Per Inf* 1995;38:23-26.
25. Cáceres A, Galato E, Pinto J, y col. Psychodidae (Diptera) del Perú: Phlebotominae en Huanuco, Pasco y Cusco, su relación con la enfermedad de Carrión y la leishmaniasis tegumentaria. *Rev Per Biol* 2000;7:27-43.
26. Salazar R, Salazar J, Durand W, y col. Distribución geográfica (Diptera: Psychodidae) en el ámbito de la Dirección Regional de Salud Ancash 2000-2001. *Rev Per Med Exp Salud Pública* 2002; 19-S17.
27. Ministerio de Salud de Brasil. Fundación Nacional de Salud. Guía de control de la leishmaniasis tegumentaria americana. Brasil. 1991.
28. Ministerio de Salud de Brasil. Fundación Nacional de Salud. Leishmaniasis tegumentaria americana en el Brasil. Cuaderno Informativo destinado a los trabajadores de salud. Brasil. 1996.
29. Roberts LJ, Hadman E, Foote SJ. Leishmaniasis. *Br Med J* 2000; 321:801-4.
30. World Health Organization. Division of Control of Tropical Diseases. Leishmaniasis control home page www.Who.int/health-topic/leishmaniasis.htm
31. Helburn NC. Cutaneous leishmaniasis. *Clin Exp Dermatol* 2000; 25:363-70.
32. Guthmann JP, Calmet J, Rosales E, y col. Las asociaciones de pacientes y el control de la leishmaniasis en el Perú. *Rev Panam Salud Pública / Pan Am J Public Health* 1998;3: 400-4.
33. Andersen EM, Burans J. Leishmaniasis research in Lima, Peru. *Navy Med* 2001; 92:6-10.
34. Bobbio M. Leishmaniasis cutáneo-andina en el distrito de Quinocay, provincia de Yauyos, Lima. *An Fac Med* 2000;61:1-4.
35. Stark CG, Wortmann G. Leishmaniasis. *eMed J* 2002;3:1-21.
36. Kenner JR, Kauh YC. Leishmaniasis. *eMed J* 2001;2:1-18.
37. Chávez MA, Sáenz EM. Estudio clínico epidemiológico de la leishmaniasis en el Hospital Militar Central, 1997-2000. Tesis para obtener Título de Segunda Especialización en Dermatología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina. Lima. 2002:1-60.
38. Ministerio de Salud. Oficina General de Epidemiología. Boletín Epidemiológico Semanal 2003;12.
39. Diaz NL, Zerpa O, Ponce LV. Intermediate or chronic cutaneous leishmaniasis: leukocyte immunophenotypes and cytokine characterization of the lesion. *Exp Dermatol* 2002;11:34-41.
40. Farah F, Klaus N, Frankeburgs, et al. Infecciones por Protozoarios y Helminetos. En: Fitzpatrick T. *Dermatología en Medicina General*. Buenos Aires: Ed. Med. Panamericana 1999; 3:2767-2777.
41. Grevelink S, Lerner E. Leishmaniasis. *J Am Acad Dermatol* 1996;34:257-70.
42. Pearson RD, De Quiroz Sousa A. Clinical spectrum of leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 1996;22:1-13.
43. Novis P, Almeida RP, Bacellar O, et al. Down-regulation of Th1 type of response in early human American cutaneous leishmaniasis. *J Infect Dis* 1999;180:1731-4.
44. Bourreau E, Prévot G, Pradinaud R, et al. Interleukin (IL)-13 is the predominant cytokine in localized cutaneous leishmaniasis lesions and render specific CD4⁺ T cells unresponsive. *J Infect Dis* 2001;183:953-9.
45. Matte C, Oliver M. Leishmania-induced cellular recruitment during the early inflammatory response: Modulation of proinflammatory mediators. *J Infect Dis* 2002;185:673-81.
46. Moll H, Berberich Ch. Dendritic cell-based vaccination strategies: Induction of protective immunity against leishmaniasis. *Immunol* 2001;204:659-66.
47. Weedon D, Strutton G. Infecciones por protozoarios. En: Weedon, *Piel Patología* Ed. Madrid: Original Marban libros S.L. 2002: 2:605-610.
48. León LA. Formas clínicas de la leishmaniasis tegumentaria americana. *Rev Medi Mex* 1973;53:17-23.
49. Salazar M, Castro E. Leishmaniasis cutánea, mucocutánea y cutánea difusa. Revisión clínica de los casos en el Hospital Regional de Pucallpa de 1997-1999. *Dermatol Per* 2001;11:21-25.
50. Tejada A. Leishmaniasis tegumentaria en el Perú. Investigación epidemiológica-clínica de la leishmaniasis tegumentaria en Cusco y Madre de Dios. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 1973.
51. Sanguenza OP, Sanguenza MI, et al. Mucocutaneous leishmaniasis. A clinico-pathology classification. *J Am Acad Dermatol* 1993;28:297.
52. Haidar NA, Diab ABL, El-Sheikh AM. Visceral leishmaniasis in children in the Yemen. *Saudi Med J* 2001;22:516-519.
53. Maltezou HC, Sifias C, Mavrikou M, et al. Visceral leishmaniasis during childhood in southern Greece. *Clin Infect Dis* 2000;31:1139-43.
54. Ampuero JS. Leishmaniasis. Ministerio de Salud Perú, INS, 2000;39-50.
55. Rondón AJ. Leishmaniasis tegumentaria americana. En: Rondón Lugo AJ. *Temas Dermatológicos. Pautas diagnósticas y terapéuticas*. Caracas: Tipografía Olímpica CA. 2001:262-9.
56. Cuba CA. Diagnóstico parasitológico de la leishmaniasis tegumentaria americana. *Rev Med Exp* 2000;17:39-51.
57. Lainson R, Shaw JJ. Leishmania and leishmaniasis of the New World with particular reference to Brazil. *Bull Pan Am Health Org* 1973;7:1-19.
58. Moriearty PL, Grimaldi G. Host and parasite factors influencing outcome of Leishmania mexicana mexicana infection in mice. VIII Reuniao annual de pesquisa básica em doenca de chagas. Caxambú. Brazil. 1980:1-44.
59. Smith AR, Connor MP, Beer TW, et al. The use of polymerase chain reaction in New world cutaneous leishmaniasis. *Br J Dermatol* 1998; 139:539-40.
60. Hironori O, Chihiro M, Kumiko I, et al. A case of mucosal leishmaniasis: beneficial usage of polymerase chain reaction for diagnosis. *Int J Dermatol* 2001;40:765-7.
61. López M, Montoya Y, Arana M, et al. The use of nonradioactive DNA probes for the characterization of leishmania isolates from Peru. *Am J Trop Med Hyg* 1988;38:308-14.
62. www.iqb.es/infección/leishmaniosis.htm
63. Lainson R, Shaw JJ. Some problems in studies on parasites of the Leishmania braziliensis complex. In *ecologie des leishmaniases. Colloques Internationaux au CNRS*. 239 Montpellier. 1967:83-86.
64. Llanos-Cuentas EA. Estudio clínico evolutivo da Leishmanose em area endêmica de Leishmania brasiliensis brasiliensis. Tres Bracos, Bahía, Brasil. Tese Mestrado. Universidade de Brasilia. Brasil 11984; 166.
65. Salinas GL, Valderrama G, Palma G, y col. Detección de amastigotes en leishmaniasis cutánea y mucocutánea por el método de inmunoperoxidasa, usando anticuerpo policlonal: sensibilidad y especificidad comparadas con métodos convencionales de diagnóstico. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1989;84:53-60.
66. Marsden PD. Mucosal leishmaniasis (espundia, Escome, 1911) *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986;80: 859-76.
67. Dimier-David L, David C, Revisse P, et al. Parasitological diagnosis of mucocutaneous leishmaniasis due to Leishmania (Viannia) brasiliensis in Bolivia. *Rev Soc Brasil Med Trop* 1991;24:231-234.
68. Walton BC, Shaw JJ, Lainson R. Observations on the in vitro cultivation of Leishmania brasiliensis. *J Parasitol* 1977;63:1118-9.
69. Childs GE, Foster KL, Mc Roberts MJ. Insect cell culture media for the cultivation of New World Leishmania. *Int J Parasitol* 1978;8:255-8.
70. Hendricks LD, Wright N. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis by in vitro cultivation of saline aspirates in Schneider's Drosophila medium. *Am J Trop Med Hyg* 1979;28:962-4.
71. Evans DA. Leishmania. In vitro methods for parasite cultivation. New York: Taylor AER & Baker Jr Eds. Academic Press, 1987:52-75.
72. Cuba CA, Llanos-Cuentas EA, et al. Human mucocutaneous leishmaniasis in Tres Bracos, Bahia, Brasil, an area of Leishmania brasiliensis brasiliensis. 1. Laboratorio diagnosis. *Rev Soc Brasil Med Trop* 1984; 17:161-167.
73. Jones T, Jonson D, Barreto A, et al. Epidemiology of American cutaneous leishmaniasis due to Leishmania brasiliensis brasiliensis. *J Infect Dis* 1987; 156:73-83.
74. Hepburn NC. Cutaneous leishmaniasis. *Clin Exp Dermatol* 2000;25:363-70.
75. Palmer RA, Tran D, Hepburn NC, et al. The management of cutaneous leishmaniasis from Belize. *Clin Exp Dermatol* 2001;26:16-20.
76. Oliveira-Neto MP, Mattos M, Pirmez C, et al. Mucosal leishmaniasis (Espundia) responsive to low dose of N-methyl glucamine (Glucantime) in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo*, 200;42: 321-5.
77. Mujtaba G. Weekly vs fortnightly intralesional meglumine antimoniate in cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol* 1999;38:607-9.
78. Rodrigues MLO, Costa RS, Souza CS, et al. Nephrotoxicity attributed to meglumine antimoniate (glucantime) in the treatment of generalized cutaneous leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1999; 41:33-7.
79. Gunduz K, Afşar S, Ayhan S, et al. Recidivist cutaneous leishmaniasis unresponsive to liposomal amphotericin B (AmBisome). *J Eu Acad Dermatol Venereol* 2000;14:11-13.
80. Kolde G, Luger T, Sorg C, et al. Successful treatment of cutaneous leishmaniasis using systemic interferon-gamma. *Dermatology* 1996;192:56-60.
81. Alrajhi AA, Ibrahim EA, De Vol EB, et al. Fluconazole for the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania major. *N Engl J Med* 2002;346:891-995.