

Guía de diagnóstico, tratamiento y control de la leishmaniasis visceral en Uruguay

Abril de 2016

Equipo redactor en orden alfabético

Dra. Adriana Alfonso	Departamento de Vigilancia en Salud, División Epidemiología, Ministerio de Salud (MS)
Dra. Yester Basmadján	Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República (UDELAR); Departamento de Laboratorio de Salud Pública, División Epidemiología, MS
Dr. Luis Calegari	Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UDELAR
Lic. Enf. Mónica Castro	Departamento de Vigilancia en Salud, División Epidemiología, MS
Dr. Héctor Chiparelli	Departamento de Laboratorio de Salud Pública, División Epidemiología, MS
Dra. Lilián Díaz	Cátedra de Hematología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, UDELAR
Lic. Enf María del Carmen Ferreiro	Departamento de Vigilancia en Salud, División Epidemiología, MS
Dr. Richard Fornelli	Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina, UDELAR
Dr. Fabio Grill Díaz	Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Maciel, ASSE
Dra. Mónica Pujadas	Clínica Pediátrica A, Facultad de Medicina, UDELAR, Centro Hospitalario Pereira Rossell
Dr. Carlos Robello	Unidad de Biología Molecular, Facultad de Medicina, UDELAR / Instituto Pasteur de Montevideo.
Dra. Selva Romero	Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UDELAR
Dra. Laura Solá	Directora de la División Epidemiología, Dirección General de la Salud, MS
Dra. Gabriela Willat	Unidad de Zoonosis y Vectores, División Epidemiología, MS

Contenido

Introducción.....	4
Leishmaniasis visceral en América del Sur	5
Manifestaciones clínicas de leishmaniasis visceral en humanos.	8
Diagnóstico de laboratorio.....	16
Tratamiento de la leishmaniasis visceral	22
Vigilancia de la leishmaniasis visceral.....	31
Prevención y control	34
Bibliografía	36
Anexo 1 - Leishmaniasis visceral canina	40
Anexo 2 - Vectores de la Leishmaniasis visceral en Uruguay.....	48

Introducción

Las leishmaniasis son un conjunto de enfermedades zoonóticas que tienen en común ser causadas por protozoarios del género *Leishmania* y transmitidas mediante la acción de dípteros hematófagos de la familia *Psychodidae* (flebótomos).

Son varias las especies de *Leishmania* que pueden infectar a los humanos en las diferentes partes del mundo. Cada una de las mismas involucra en su ciclo biológico a diferentes insectos vectores y reservorios y se expresa bajo alguna de las tres formas clínicas esenciales: formas cutáneas, cutáneo- mucosas o viscerales. ⁽¹⁾

Las leishmaniasis sin tratamiento pueden revestir gravedad, conduciendo a mutilaciones, deformaciones permanentes o la muerte dependiendo de la forma clínica en juego.

Las leishmaniasis en conjunto tienen distribución mundial con más de 12 millones de personas infectadas. Se estima una incidencia de 2 millones de nuevos casos por año y más de 50.000 defunciones ⁽¹⁾. En América actualmente se registra un promedio de 57.228 nuevos casos de leishmaniasis cutáneas y cutáneo-mucosas, y 3.499 de leishmaniasis visceral por año, con una letalidad media del 6,7% ⁽²⁾.

Actualmente nuestra región está afectada por la forma visceral (LV) americana producida por *Leishmania infantum*.

Tanto *Leishmania infantum*, como *Lutzomyia longipalpis* (su vector) se han expandido progresiva y efectivamente hacia el sur de América Latina como consecuencia del tránsito fluido de transportes, personas, animales, enseres y mercaderías por toda la región. Los cambios ambientales vinculados a la acción de las personas y el cambio climático favorecen la expansión del vector. ^(3, 4, 5, 6)

Este proceso de expansión se acompaña además de dos características emergentes, la urbanización de los focos de transmisión y el impacto de la co-infección con el VIH.

Luego de colonizar diversas poblaciones de Paraguay, de las provincias de Misiones, Corrientes y Entre Ríos en Argentina y del estado de Río Grande del Sur en Brasil, produciendo microepidemias urbanas en perros y humanos, alcanzó a nuestro país. ^(7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14) En el año 2010 *Lutzomyia longipalpis* fue capturado por primera vez en las localidades de Bella Unión y Salto. ⁽¹⁵⁾ En febrero de 2015 se describieron los primeros casos de leishmaniasis por *Leishmania infantum* en perros del paraje Arenitas Blancas en el Departamento de Salto.

Ante esta situación y el riesgo inminente de aparición de casos humanos, la División de Epidemiología del MSP conformó un equipo multidisciplinario, con la participación de la Universidad de la República, para el desarrollo de guías de manejo de “Leishmaniasis visceral” en los componentes humano, vector, reservorio y comunicación, destacando los principales lineamientos de actuación en nuestro país, en cada uno de los componentes.

Leishmaniasis visceral en América del Sur

Definición:

La Leishmaniasis Visceral americana (LV), también llamada del Nuevo Mundo, es producida por *Leishmania infantum* y tiene como principal o único vector de acuerdo a las regiones al flebótomo *Lutzomyia longipalpis*. El reservorio por excelencia de *L. infantum* es el perro, aunque también infecta a humanos y otros animales.

La LV americana en las personas es una parasitosis hemotesidial que reviste suma gravedad y alcanza una mortalidad superior al 95% si no se realiza tratamiento adecuado. Asimismo es grave en los perros donde también alcanza una alta letalidad.

Agente:

Junto a otras especies de *Leishmania* reconocidas en América Latina integra el Subgénero *Leishmania* por lo que su nombre taxonómico completo es *Leishmania (L) infantum* (= *Leishmania (L) chagasi*). ⁽¹⁶⁾

Leishmania infantum es originaria del viejo mundo y las evidencias indican que llegó con los conquistadores y sus perros desde la Península Ibérica a territorio brasileño. En América esta especie se adaptó al flebótomo autóctono *Lutzomyia longipalpis* y se configuró un ciclo de transmisión que tiene dos características diferenciales con los existentes actualmente en Europa: un comportamiento más homogéneo a lo largo del tiempo y en las diferentes regiones donde se instaló, y una mayor virulencia tanto en los perros como en los humanos.

Su ciclo de vida incluye hospederos vertebrados mamíferos (perros, humanos y otros animales silvestres y sinantrópicos) donde se reproduce bajo la forma de amastigotas (sin flagelos) en macrófagos del sistema fagocítico mononuclear de la sangre y los tejidos.

Las formas amastigotas infectan a los insectos vectores cuando los flebótomos hembras pican y se alimentan de la sangre de los hospederos. En los insectos el parásito se reproduce en el tubo digestivo bajo la forma promastigota (flagelado), los que son inoculados en nuevos hospederos vertebrados cuando el vector vuelve a alimentarse.

En la región, *Leishmania infantum* afecta fundamentalmente y muestra su mayor virulencia en niños y otras personas que presentan diversos grados de vulnerabilidad social y/o compromiso en su salud. La desnutrición, el alcoholismo, la situación de calle, la concomitancia de otras enfermedades inmunosupresoras, son factores favorecedores de la leishmaniasis visceral y su gravedad. Muy particularmente la co-infección *Leishmania*-VIH plantea singular gravedad e importantes dificultades para el manejo clínico y el tratamiento.⁽¹⁷⁾ En las condiciones socio ambientales en las que se presenta la parasitosis, los perros están omnipresentes.

Formas de transmisión; vectores:

La principal vía de transmisión es mediante la picadura del flebótomo *Lutzomyia longipalpis*, díptero hematófago de la familia *Psychodidae*. En América los flebótomos vectores de leishmanias se agrupan en el género *Lutzomyia* y la especie *Lutzomyia longipalpis* es la responsable de la LV en toda la región.^(18, 19)

Los adultos de *Lu.longipalpis* son de muy pequeño tamaño (2 a 3 mm) y se caracterizan por tener el tórax incurvado (giboso) y el cuerpo vellosos de color oscuro. Poseen un único par de alas lanceoladas que durante el reposo ubican abiertas sobre el tórax formando una V. Tienen vuelo corto y zigzagueante. Son difíciles de distinguir a simple vista.

De hábitos crepusculares y nocturnos las hembras se alimentan con sangre de mamíferos y los machos con el néctar de diversas plantas. *Lu.longipalpis* tiene su hábitat preferente en zonas arboladas y se ha adaptado muy bien a los ámbitos peridomiciliarios humanos.

En cada postura las hembras ponen de 30 a 100 huevos y las larvas se alimentan de sustancias orgánicas presentes en el suelo (incluyendo materias fecales) o en la superficie o huecos de troncos. Para su desarrollo requieren de humedad aunque las pupas pueden hacerlo en ambientes más secos.

Es de destacar que todo el ciclo (1 a 2 meses) se desarrolla en suelos húmedos pero independientes de fuentes de agua.

Otras formas de transmisión entre los humanos (transfusional, trasplantes de órganos, transplacentaria) son excepcionales.

Reservorios:

El reservorio de *Leishmania infantum* es el perro infectado, con o sin manifestaciones clínicas. (20, 21, 22, 23)

Si bien *L.infantum* puede parasitar a los humanos y otros animales (los que tienen un papel epidemiológico aún discutido), los perros presentan condiciones que los transforman en el reservorio por excelencia de este parásito: i) cuando están infectados presentan una gran cantidad de amastigotas en el tejido dérmico que facilita la infección de los vectores; ii) están en muy alto número en las áreas urbanas y periurbanas a las que llega *Lutzomyia longipalpis*; iii) en estos ambientes urbanos *Lu.longipalpis* parece tener preferencia alimentaria por los perros.

Por el contrario, los humanos con LV no son reservorios adecuados por no ofrecer amastigotas en forma que faciliten la infección de los vectores y por ser fuente de alimentación de *Lutzomyia* cuando comparte espacios con los perros quienes sí atraen a los insectos.

Manifestaciones clínicas de Leishmaniasis Visceral en humanos.

El período de incubación de la LV varía entre 10 días y 24 meses (promedio 2 a 6 meses). La mayoría de las infecciones son asintomáticas. Las personas desarrollan una respuesta inmune efectiva y no presentan manifestaciones clínicas ⁽¹⁾. La enfermedad puede hacerse sintomática años después de la exposición en personas con inmunosupresión.

Los casos sintomáticos ocurren mayoritariamente en niños por debajo de los 10 años de edad, así como en personas con desnutrición o trastornos inmunitarios, alcoholistas, personas mayores o que reciben tratamientos con inmunodepresores. ^(24, 25)

Factores genéticos y particularmente la infección por el VIH incrementan el riesgo de leishmaniasis sintomática. ⁽²⁶⁾

Se reconocen las siguientes formas clínicas ^(27, 28):

- **Forma asintomática.** El hallazgo de una prueba serológica o de biología molecular positiva es el único indicador de la infección (60 a 84 % de los casos). No se debe notificar ni tratar.
- **Forma paucisintomática u oligosintomática.** (10 a 20 % de los casos). Es frecuente en áreas endémicas. Se caracteriza por presentar sintomatología inespecífica: síndrome febril prolongado, con fiebre de hasta 40°C axilar, intermitente o en picos, menos frecuentemente continúa; palidez cutáneo mucosa, debilidad, astenia, adinamia, anorexia, adelgazamiento, tos seca y diarrea. Puede acompañarse de hepatomegalia y esplenomegalia discretas (menos de 4 cm). En general esta forma de leishmaniosis es bien tolerada y los pacientes no tienen un aspecto de enfermedad grave o tóxico. Puede evolucionar hacia la infección asintomática o hacia una forma sintomática manifiesta.
- **Forma sintomática o plenamente manifiesta.** (6 a 20 % de los casos) Se caracteriza por la persistencia de fiebre elevada (38 °C o más), asociada a la pérdida de peso progresiva, caída del estado general, profundización de la

anorexia, palidez cutáneo mucosa intensa, aumento del volumen abdominal y de la hepatoesplenomegalia (moderada a masiva), síndrome poliadenomegálico y elementos hemorragíparos (epistaxis, gingivorragias, etc.). La caquexia y los signos de desnutrición proteico-calórica severa como edemas y ascitis, se manifiestan tardíamente.

Algunos pacientes presentan progresión rápida de los signos y síntomas, y de las alteraciones de laboratorio (anemia, trombocitopenia, pancitopenia), configurando una forma aguda grave con alta letalidad.

Factores predictores de letalidad:

Dado que la LV puede causar casos fatales, se han identificado factores de riesgo que se asocian con aumento en la probabilidad de muerte por esta enfermedad, con elementos clínicos y de laboratorio que pueden orientar al clínico a clasificar adecuadamente a los pacientes y a establecer un tratamiento oportuno

Entre dichos factores destacamos la edad inferior a 1 año, las infecciones bacterianas agregadas, presencia de diarreas o vómitos, fiebre mantenida más de 60 días, ictericia, fenómenos hemorragíparos, co-morbilidades, pancitopenia severa, desnutrición severa, edemas.

Factores asociados a letalidad	Nivel de evidencia (referencia)
Edad inferior a 1 año	B (1)
Edad superior a 40 años	B (1)
Infección bacteriana	B (1, 2, 3, 4, 5)
Recidiva o reactivación de la LV	D
Presencia de diarrea o vómitos	B (1, 4, 6)
Edema	B (1)
Fiebre más de 60 días	B (7, 8)
Ictericia	B (1, 4)
Fenómenos hemorrágicos	B (1, 5, 9, 10)
Señales de toxemia	B (1)
Desnutrición grado III (marasmo/kwashiorkor)	C (1, 4)
Comorbilidades	B (1, 4)
Leucocitos $< 1.000/\text{mm}^3$ y $> 7.000/\text{mm}^3$	D (1)
Neutrófilos $\leq 500/\text{mm}^3$	D (3)
Plaquetas $< 50.000/\text{mm}^3$	B (1)
Hemoglobina ≤ 7.0 g/dL	B (1, 4, 7, 9)
Creatinina sérica por encima del valor de referencia para la edad	D
Actividad de protrombina $< 70\%$ o INR $> 1,14$	D (5)
Bilirrubina por encima del valor de referencia	B (1, 8)
Enzimas hepáticas (ALT/AST) por encima de cinco veces el mayor valor de referencia	D (5)
Albúmina < 2.5 g/dL	D (7)

Nota: Referencias- 1) COSTA, 2007; 2) GUERREIRO et al., 1985; 3) ANDRADE, 1990; 4) SANTOS y COSTA, 2002; 5) QUEIROZ et al., 2004; 6) SEAMAN et al., 1996; 7) ABDELMOULA, 2003; 8) WERNECK et al., 2003; 9) HASHIM et al., 1994; 10) COLLIN, 2004.

¿En qué paciente se debe sospechar leishmaniasis visceral?:

Aquel paciente que provenga de zona endémica y que presente algunos de los siguientes síntomas:

- Síndrome febril prolongado
- Espleno y/o hepatomegalia
- Síndrome poliadenomegálico
- Anemia, bicitopenia o pancitopenia
- Elementos de síndrome hemorragíparo
- Adelgazamiento progresivo

Se considera caso confirmado:

A todo paciente sospechoso en el que descartada otras causas de su sintomatología se evidencie el parásito en tejidos o se obtenga positividad en la PCR o serología positiva mediante pruebas con alta especificidad.

Diagnóstico Diferencial

El diagnóstico diferencial de la leishmaniasis visceral incluye otras causas infecciosas así como neoplasias hematológicas.

En el caso de la leishmaniasis visceral aguda el diagnóstico diferencial debería realizarse dependiendo de la epidemiología y la procedencia del paciente con: malaria, fiebre tifoidea, enfermedad de Chagas aguda, esquistosomiasis, tuberculosis miliar y absceso hepático amebiano.

La leishmaniasis visceral subaguda o crónica se puede confundir con enfermedades como brucelosis, histoplasmosis, mononucleosis infecciosa, linfoma, leucemia y enfermedades mieloproliferativas.

Manifestaciones clínicas en la edad pediátrica

En la edad pediátrica, el 90% de los casos corresponde a menores de 10 años. ⁽²⁴⁾ Las manifestaciones clínicas incluyen fiebre, que en ocasiones puede ser de carácter insidioso y prolongada, vómitos que en general son de aparición súbita, diarrea, (que

puede ser disenteriforme), anorexia, letargia, pérdida de peso, esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenopatías, A nivel cutáneo puede haber tinte grisáceo de la piel.

Se describe también su presentación a través del síndrome hemofagocítico caracterizada por la presencia de fiebre, hepatoesplenomegalia, pancitopenia y coagulopatía con proliferación histiocítica benigna generalizada y hemofagocitosis en bazo, médula ósea, ganglios linfáticos e hígado asociado en ocasiones a hipertrigliceridemia e hipofibrinogenemia.

En lactantes y niños pequeños es más frecuente la presentación de forma aguda fulminante, por lo que se considera signo de alerta edad menor a 1 año, y de gravedad edad menor a 6 meses. En niños mayores es más frecuente la forma de curso crónico, prevaleciendo la esplenomegalia que puede ser de grandes proporciones (esplenomegalia gigante), desnutrición y linfadenopatías.

Al igual que en la edad adulta, el riesgo de desarrollar enfermedad grave es mayor en niños desnutridos, con HIV u otras inmunodeficiencias, así como en receptores de trasplante de células madre u órganos sólidos. A su vez, infecciones inaparentes de leishmaniasis pueden hacerse evidentes luego de que un niño se someta a un tratamiento inmunosupresor.

Dado que los síntomas y signos son inespecíficos, el diagnóstico de LV en niños es difícil. Se han reportado algunos casos de LV congénita, nacidos de madres infectadas, con detección de parásitos en la placenta, aunque esta es una forma excepcional de transmisión.

Leishmaniasis Visceral e infección por VIH

Si bien cualquier persona es susceptible de padecer la enfermedad, son los niños y las personas con inmunodeficiencias como la infección por VIH, tratadas con inmunosupresores o con neoplasias hematológicas, las que con más frecuencia la desarrollan.

La infección por VIH aumenta el riesgo de desarrollar LV de 100 a 2300 veces en las zonas donde es endémica, provoca una menor respuesta al tratamiento y aumenta la probabilidad de recaída. ⁽²⁹⁾

La LV es una importante infección oportunista en personas con VIH. ⁽³⁰⁾

La interacción entre leishmaniasis y VIH promueve un incremento en la carga viral de VIH así como una mayor incidencia de leishmaniasis diseminada con altos niveles de

parasitemia.

La LV por lo general se presenta con combinaciones típicas de fiebre, hepatomegalia, esplenomegalia, pérdida de peso y pancitopenia cuando los pacientes tienen un recuento de linfocitos CD4 mayor a 50 células/mm³, pero tanto la presentación clínica como la localización de los parásitos resulta atípica cuando el conteo de linfocitos CD4 es menor de 50 células/mm³.⁽³¹⁾

En estos pacientes la leishmaniasis puede presentarse con afectación gastrointestinal, afectando estómago, duodeno y colon, ascitis, derrames tanto pleural como pericárdicos, afectación pulmonar, de amígdalas, de piel y como enfermedad diseminada.⁽³⁰⁾

Los síntomas y signos de la LV pueden confundirse con otras condiciones incluyendo infecciones oportunistas como infección por micobacterias, histoplasmosis diseminada y linfoma.⁽³¹⁾

Las alteraciones en los resultados de algunas pruebas de laboratorios son diversas y no específicas pudiendo encontrar además de pancitopenia un aumento de reactantes de fase aguda como proteína C reactiva y velocidad de eritrosedimentación.⁽³¹⁾

En cuanto al diagnóstico, la variabilidad de presentación de la enfermedad, y las diferentes condiciones de los pacientes, hacen que el mejor enfoque diagnóstico de LV sea la combinación de estudios parasitológicos y métodos serológicos o moleculares, pudiendo repetirse si los resultados iniciales son negativos pero la sospecha clínica permanece.⁽³¹⁾

La detección de parásitos de *Leishmania* por microscopía o cultivo en diferentes muestras de tejido se considera el estándar de oro para el diagnóstico de la leishmaniasis en los pacientes coinfectados por el VIH.⁽²⁹⁾

El aspirado de médula ósea es la técnica más frecuentemente empleada para el diagnóstico de la LV en pacientes VIH positivos con sensibilidades reportadas de 67 a 94 %.⁽²⁹⁾

El aspirado esplénico es considerado el método más sensible para el diagnóstico de LV, pero presenta como desventaja el riesgo de hemorragias. La demostración del parásito en el bazo o los ganglios linfáticos es un procedimiento común en los países en los que la leishmaniasis es endémica y también se ha aplicado para el diagnóstico de los pacientes coinfectados.

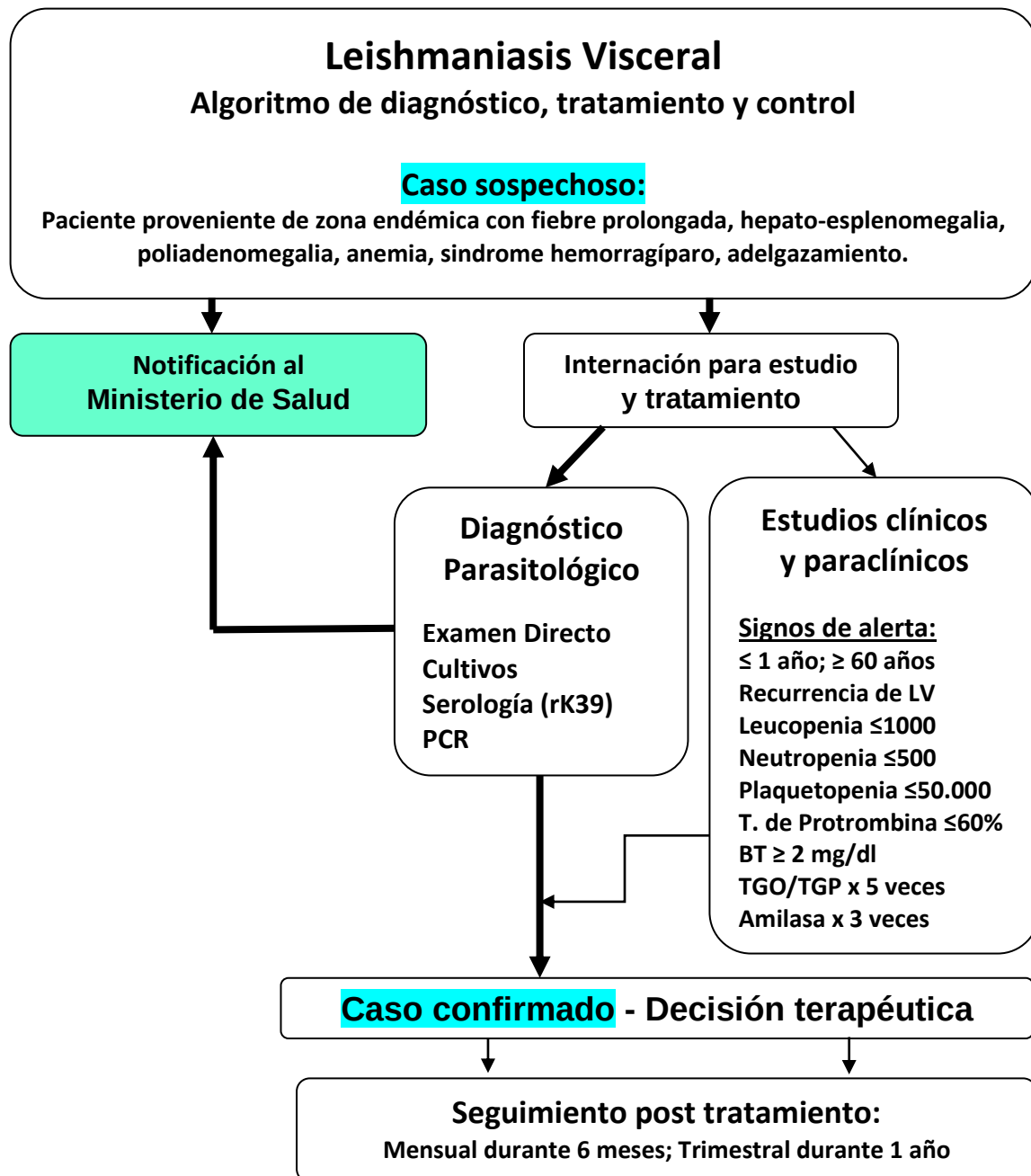
En cuanto a las biopsias hepáticas, el examen microscópico de las mismas ha demostrado una sensibilidad del 87%.⁽³⁰⁾

Los amastigotas pueden ser encontrados en lugares inusuales, como los pulmones, la laringe, amígdalas, el tracto digestivo, el recto y el líquido cefalorraquídeo.

En cuanto a los cultivos en pacientes coinfectados, el cultivo esplénico presenta una sensibilidad del 63 al 100 % pero dado el riesgo de hemorragia es más seguro el cultivo de medula ósea con una sensibilidad del 50 a 100%.⁽³¹⁾

Dado que los pacientes coinfectados pueden presentar frecuentes recaídas, lo que puede generar resistencia por parte de los mismos a reiterados cultivos de medula ósea, las muestras no invasivas como las de sangre pueden resultar útil en el diagnóstico de leishmaniasis en estos casos.

En cuanto a la pruebas serológicas las mismas tienen un valor diagnóstico limitado, porque más del 40% de los individuos coinfectados no tienen niveles detectables de anticuerpos específicos contra Leishmania.



Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico puede realizarse por métodos parasitológicos que identifican o ponen de manifiesto el agente en materiales patológicos y/o lo cultivan, o mediante pruebas serológicas que determinan la presencia de anticuerpos específicos anti *Leishmania*.

No se recomienda la realización de estudios diagnósticos, por ninguno de los métodos disponibles, en personas que no presentan síntomas compatibles con LV. El tratamiento en dichas personas no está indicado.

- Diagnóstico parasitológico

Los estudios parasitológicos en general presentan menor sensibilidad que las pruebas serológicas, pero el hallazgo de parásitos en los materiales de estudio permite el diagnóstico de certeza de la infección por *Leishmania sp.* Si los estudios son repetidos, en similar o diferentes materiales, la sensibilidad aumenta notablemente.

El diagnóstico parasitológico tiene base en la observación directa de los materiales buscando identificar a *Leishmania sp.*, o en el cultivo de los mismos intentando aislar al parásito.

1- Parasitológico directo

En general se realiza obteniendo material por punción de nódulos linfáticos, médula ósea o tejido esplénico. Este último material ofrece una sensibilidad muy alta (mayor del 95%) pero tiene en contra las dificultades y riesgos para su obtención.

Con estos materiales se realizan extendidos o frotis por aposición que luego son coloreados por técnicas hematológicas panópticas, fundamentalmente May Grunwald Giemsa.

Las coloraciones permiten observar a los amastigotas característicos en el interior de macrófagos o eventualmente libres.

2- Cultivos

Los materiales de estudio son cultivados en medio NNN (Novy, Nicolle y Mac Neal). Este es un medio difásico (agar sangre) enriquecido con sangre bovina.

Los parásitos se reproducen bajo la forma promastigota en un tiempo variable, dependiente del inóculo inicial, la especie o cepa en cuestión y otros factores

condicionantes (por ej.: la abundancia de sangre en el inóculo puede inhibir inicialmente la reproducción de los parásitos).

Los cultivos deben ser observados periódicamente cada pocos días, ser repicados semanalmente en medios frescos y no deben ser descartados hasta varias semanas después del inicio del proceso.

Pueden ser utilizados medios definidos, que conllevan el agregado de suero fetal bovino desactivado como enriquecimiento, pero en la LV no muestran superioridad frente a un medio universal difásico como el NNN.

3- Biología Molecular.

La Reacción en Cadena de la Polimerasa, PCR, tiene base en la reacción específica de un fragmento conocido de ADN del parásito con el ADN parasitario eventualmente presente en el material biológico estudiado, y la posterior producción de copias del ADN parasitario (amplificación), mediante la utilización de una ADN polimerasa, hasta hacer posible su detección.

La prueba se considera positiva cuando efectivamente es posible detectar y reconocer el ADN parasitario en la muestra estudiada. En forma adicional, a partir del ADN amplificado, se podrá determinar, mediante el uso de enzimas de restricción o secuenciación, qué especie o complejo del género *Leishmania* está presente en la muestra, agregando información de interés epidemiológico.

La PCR presenta niveles de sensibilidad y especificidad cercanas al 100%. Por sus características técnicas no se utiliza en forma rutinaria aunque puede resultar en un excelente complemento diagnóstico en casos de difícil resolución.

- Diagnóstico serológico:

Las pruebas serológicas propuestas permiten el diagnóstico presuntivo de LV. Sin embargo todas tienen mayores o menores márgenes de falsos positivos y negativos, por lo que sus resultados deben ser valorados a la luz de los elementos clínicos y epidemiológicos que acompañan cada caso.

1- Test rápido inmunocromatográfico rK39

Detecta anticuerpos en forma cualitativa con base en el antígeno recombinante rK39 propio del complejo *Leishmania donovani* (incluye a *Leishmania infantum*).

Dicho antígeno se encuentra embebido en el espacio de la línea de prueba de la

membrana de soporte (tira reactiva). En el espacio de la línea de control se encuentra embebido suero de pollo anti proteína A. El resto de la membrana está embebida con un conjugado de proteína A – Oro coloidal.

El suero problema, sin conservantes, se coloca en un extremo determinado de la tira y migra a lo largo de la misma. Si contiene anticuerpos anti *Leishmania* éstos se unirán con el antígeno rK39 y el oro coloidal pondrá en evidencia la reacción positiva coloreando la línea de prueba. La línea de control siempre debe colorearse, haya o no anticuerpos anti *Leishmania*, asegurando la calidad de la prueba.

Los equipos diagnósticos existentes en el mercado han sido evaluados en las distintas regiones ⁽³²⁾ y particularmente en Brasil ⁽⁶⁹⁾ obteniéndose muy buenos resultados con dos de los mismos: DiaMed IT-LEISH^R (Bio-Rad Laboratories) y Kalazar Detect^R Rapid Test (InBiOS International).

Estas pruebas rápidas tienen valores de sensibilidad de 93,3 y 88,1 respectivamente en Brasil y especificidad de 90,6 y 96,5. Son de muy rápida ejecución y muy confiables en sus resultados, con excelente reproducibilidad si se siguen estrictamente las indicaciones para su utilización.

No obstante, como toda prueba serológica, sólo indican la presencia de anticuerpos anti *Leishmania*. No deben ser utilizadas como único criterio para el diagnóstico de Leishmaniasis y nunca deben ser utilizadas como única referencia para definir un tratamiento.

Un resultado negativo no excluye la infección parasitaria y deben realizarse estudios adicionales. Falsos negativos son evidentes en personas inmunocomprometidas (HIV y otros).

Pueden ofrecer falsos positivos y es necesario recurrir a estudios parasitológicos confirmatorios, especialmente cuando no existen síntomas de la enfermedad. Falsos positivos se han detectado ante casos de Malaria y la presencia de Factor Reumatoideo. No se han descrito falsos positivos ante la Enfermedad de Chagas.

2- Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

Detecta anticuerpos en forma cuantitativa. Promastigotas de *Leishmania infantum* obtenidos de cultivos se pegan en la superficie de láminas porta-objetos y sirven como antígeno para la prueba.

En un primer paso el suero problema se incuba sobre este antígeno (diluciones crecientes del mismo sobre otras tantas preparaciones con antígeno). Si el suero

problema contiene anticuerpos, éstos se fijan en la superficie del parásito fijado a la lámina.

En un segundo paso, sobre el antígeno se coloca un conjugado anti globulinas humanas (total o IgG) unido a Isotiocianato de fluoresceína (FITC). Si sobre el promastigota se encuentran fijados los anticuerpos el conjugado se unirá a los mismos. En caso de que no haya anticuerpos el conjugado se perderá en los lavados posteriores.

En un tercer paso las láminas son observadas en un microscopio que con un sistema de filtros adecuado permite incidir luz azul sobre el preparado y recoger la luz verde-amarillenta emitida por el FITC. En los casos positivos los promastigotas presentan esta iluminación verde-amarillenta todo alrededor de su cuerpo.

La IFI muestra valores de sensibilidad un poco por debajo del Test Rápido Inmunocromatográfico rK39 y similares valores de especificidad. Le caben además las mismas consideraciones realizadas para el Test Rápido. No obstante es una prueba que puede complementar al test rápido en el diagnóstico de casos humanos, aunque requiere de más tiempo y equipamiento especial para su realización. La utilización de más de una técnica serológica aumenta la sensibilidad en la detección de anticuerpos.

3- Aglutinación Directa (AD)

Detecta anticuerpos en forma cuantitativa. Promastigotas de *Leishmania infantum* obtenidos de cultivos son mantenidos enteros en suspensiones adecuadamente tratadas y conservadas para su utilización como antígeno.

En un primer paso se realizan diluciones seriadas del suero problema en placas de microtitulación. En un segundo paso, sobre cada dilución se coloca una suspensión del antígeno (promastigotas enteros).

Si el suero problema contiene anticuerpos, éstos se unirán a los promastigotas y tenderán a producir la aglutinación de los mismos. El antígeno aglutinado se mantiene en suspensión en los pocillos de la placa.

Si el suero problema no contiene anticuerpos, el antígeno no aglutinado, en un tiempo determinado, decanta en el fondo de los pocillos.

Una reacción positiva se observa a simple vista como un velo homogéneo en el interior de los pocillos y una reacción negativa como un botón (parásitos decantados) en el fondo de los pocillos.

Los valores de sensibilidad y especificidad de la AD son similares a los de la IFI, y

caben las mismas observaciones generales que para las pruebas anteriores.

El siguiente diagrama muestra esquemáticamente cómo se realiza el diagnóstico en personas que son consideradas sospechosas de presentar una LV (con síntomas compatibles).

Leishmaniasis Visceral Diagnóstico de Laboratorio	
Parasitológico	Serológico
<u>En aspirado de médula ósea (ganglios linfáticos, bazo):</u> • Frotis coloreado con MGG o Giemsa • Cultivos <u>En suero y otros materiales:</u> • PCR	<u>En suero:</u> • Inmunocromatografía rK39 • IFI, AD
<u>Laboratorios de referencia:</u> Departamento de Parasitología y Micología (Sección Parasitosis Hemotesiduales y Vectores), Facultad de Medicina, Universidad de la República. Instituto de Higiene, Av. Navarro 3051 – Piso 3, Montevideo. zoonosisparasitarias@higiene.edu.uy Tel: 2487 1288 - Int. 1323; 2487 3104. Fax: 2487 3074 Departamento de Laboratorios de Salud Pública (Unidad de Parasitología y Micología), División Epidemiología, Ministerio de Salud Pública. Instituto de Higiene, Av. Navarro 3051 – Entrada Norte, Montevideo consultasdsp@msp.gub.uy Tel: 2487 2516; 2487 2616. Fax: 2480 7014 Instituto Pasteur de Montevideo (Unidad de Biología Molecular) Matajojo 2020, Montevideo www.pasteur.edu.uy Tel: 2522 0910. Fax: 2522 4185	

En nuestro medio, el procesamiento de las diferentes muestras para el diagnóstico de LV se ha centralizado en el Departamento de Laboratorio de Salud Pública, que trabaja en coordinación con el Departamento de Parasitología y Micología de la Facultad de Medicina de la UdelaR. Ambas instituciones están situadas en el Instituto de Higiene “Arnaldo Berta”. Los estudios moleculares se realizan en la Unidad de Biología Molecular del Instituto Pasteur de Montevideo.

Tratamiento de la Leishmaniasis Visceral

Desde hace más de 60 años, los fármacos de elección han sido los antimoniales pentavalentes ^(32, 33) y la Pentamidina ^(34, 35) pero la aparición de resistencia, y una respuesta clínica heterogénea, asociada a una toxicidad farmacológica importante, han dado paso a nuevas moléculas y nuevos regímenes terapéuticos, tales como Anfotericina B liposomal, con mejor perfil de tolerabilidad y adecuada eficacia clínica aunque con un costo elevado que limita su uso.

No hay una única opción terapéutica satisfactoria y existen diferentes planes opcionales que dependen entre otras cosas, de las características socioeconómicas de la región, accesibilidad a tratamientos costosos, el patrón de resistencia de *Leishmania* sp. a los fármacos tradicionales, y las comorbilidades o coinfecciones como lo es la infección por VIH.

Tradicionalmente, el régimen terapéutico es en base a monoterapia, aunque hay autores que recomiendan un tratamiento combinado, sobre todo, en pacientes con recidivas o coinfectados por VIH ^(37, 38).

Sea la cual sea la opción preferida, el tratamiento de la LV debe ser hospitalario y conducido por un equipo de expertos, ya que el paciente necesita monitorización y diagnóstico precoz de complicaciones y eventos adversos potenciales.

A continuación nos referiremos a las opciones terapéuticas recomendadas en la Leishmaniasis visceral (LV) en pacientes inmunocompetentes y a los pacientes con coinfección por el VIH.

Tratamiento etiológico

Leishmaniasis visceral en pacientes inmunocompetentes

El tratamiento está dirigido teniendo un componente fisiopatológico y otro etiológico. La Organización Panamericana de la Salud (OPS) ha desarrollado un documento de consenso con recomendaciones para el tratamiento de la LV, que se ha considerado para el desarrollo de este capítulo.⁽⁴³⁾

Poliénicos

La Anfotericina B se ha constituido como antileishmaniásico de primera línea con la mejor relación riesgo-beneficio, tanto en pacientes pediátricos como adultos.^(39, 40)

Hay suficiente información relacionada con el uso de Anfotericina B deoxicolato (AmB-

D)⁹ y éxito clínico en LV en pacientes de la India. Con regímenes de AmB-D a dosis de 1 mg/kg/día se demostró, tasas de efectividad clínica >98%, aún en pacientes con fracasos terapéuticos previos con antimoniales. ⁽⁴¹⁾

Estudios posteriores han visto similares resultados con dosis menores de AmB-D, con dosis diaria de 0,5 mg/kg durante 14 días. ⁽³⁶⁾

La OPS en su recomendación para el tratamiento de leishmaniasis en las Américas¹¹, como primera línea terapéutica, promueve el uso de AmB-D a dosis de 1 mg/kg/día, hasta un total de 800 mg acumulados.

Pero la efectividad de AmB-D y su bajo costo, contrasta con su elevada toxicidad y efectos secundarios. Entre los cuidados a tener presente, AmB-D debe administrarse lentamente, en más de 4 hs y diluido en volumen de suero de al menos 500 cc para evitar reacciones locales como flebitis y reacciones alérgicas entre otros. Es también frecuente que presente fiebre y entre los efectos más graves, nefrotoxicidad y alteraciones electrolíticas importantes. Los efectos secundarios pueden observarse hasta en el 30% de los casos, es por ello que es necesario monitorizar en forma estrecha, la hidratación, el ionograma y la función renal, a todo paciente que se lo someta a un tratamiento con AmB-D.

En la actualidad existen otras formulaciones de Anfotericina B, con un mejor perfil de toxicidad y eficacia comparada con AmB-D y los antimoniales pentavalentes. La Anfotericina B liposomal (AmB-L), ha sido probado en múltiples ensayos clínicos en LV, mostrando una efectividad >90%, y en regímenes diferentes, desde 3-5 mg/kg/día hasta dosis total de 15 a 25 mg/kg o en dosis de 10 mg/kg en dos días. ⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾

Un estudio realizado en la India en pacientes con LV, comparando una única dosis de 15 mg/Kg/día de AmB-L frente a AmB-D 1 mg/kg/día durante 20 días, evidenció tasas de curación del 100% en ambos grupos. ⁽⁴⁷⁾

AmB-L se asocia con menos fiebre relacionada con la perfusión, menos toxicidad renal y reducción en la duración de la hospitalización. Por otro lado, este mejor perfil de toxicidad renal es especialmente beneficioso en los pacientes con insuficiencia renal y en aquellos con un aumento en la creatinina sérica durante el tratamiento con AmB-D, como es frecuentemente observar.

La AmB Liposomal actualmente se recomienda fuertemente como primera opción en el tratamiento de la LV y ha quedado firmemente indicada para el tratamiento de embarazadas, pacientes pediátricos, pacientes con coinfección por VIH y pacientes con inmunocompromiso. ^(43, 48)

Antimoniales pentavalentes (AP)

Existen dos formulaciones de Antimoniales pentavalentes: Estibogluconato sódico (Sb^{V+} -*Pentostam*®), y Antimoniato de Meglumina (Sb^{V+} -*Glucantime*®).

Son considerados fármacos de primera línea en muchos países todavía, aunque se reconocen zonas donde existe una alta resistencia, como la región del Bihar, al norte de la India, donde la eficacia de los AP es alrededor del 40% por tasas de resistencias superiores al 60%.^(49, 50)

Debido a su perfil de toxicidad, es frecuente observar durante el tratamiento, mialgias, náuseas, dolor abdominal, y menos frecuentemente, aumento de lipasa sérica con Pancreatitis. También es frecuente observar alteraciones del ECG como prolongación del QT.

Los AP están contraindicados en embarazadas.

Existen múltiples ensayos clínicos donde se han utilizado diferentes planes terapéuticos con variabilidad de resultados. El esquema posológico más recomendado es Sb^{V+} 20 mg/kg hasta una dosis total de 850 mg.⁽⁵¹⁻⁵²⁾ Tratamientos más prolongados, si bien aumentan la efectividad, son potencialmente cardiotoxicos⁽⁵³⁾, es por ello que se no se recomienda una duración más allá de 28-30 días.^(51, 52)

OPS recomienda Sb^{V+} 20 mg/kg sin límite de dosis acumulada total, durante 30 días como primera línea en la LV.⁽⁴³⁾

En Uruguay no hay en la actualidad disponibilidad de ninguna de las presentaciones de AP y en América Latina existe la presentación de Antimoniato de Meglumina.

Leishmaniasis visceral en pacientes con inmunodeficiencia o co-infección VIH

Al igual que con otras importantes infecciones oportunistas durante la infección del VIH, LV es una asociación frecuente, especialmente en la Europa mediterránea.

Aunque puede aparecer en cualquier momento o estadio de la infección por VIH, se reconoce que cuanto menor población de CD4 se tenga, mayor incidencia de LV se observa. A tal punto que existe numerosos autores que consideran que la LV es una enfermedad marcadora de etapa SIDA.

El tratamiento no difiere al tratamiento propuesto para LV en inmunocompetentes, pero sí difiere en cuanto a la respuesta clínica, que oscila entre el 38% y el 87%.^(58,59)

La mayoría de los trabajos publicados han sido retrospectivos y no han utilizado criterios uniformes para evaluar la respuesta por lo que es difícil sacar conclusiones sobre la eficacia de los diferentes planes terapéuticos.

Además del tratamiento específico, es necesaria la quimioprofilaxis por la alta tasa de recaída.

La profilaxis secundaria se recomienda comenzar en aquellos pacientes con una población de CD4 <350 cel/mm³ en aquellas regiones de alta endemicidad como lo es el sur de Europa mediterráneo.

A pesar de estas limitaciones, la experiencia acumulada permite recomendar tres pautas, que se resumen en:

Anfotericina B

AmB-D ha sido utilizada como tratamiento en varias series, con dosis totales que han oscilado entre 15 y 25 mg/kg, con las que se obtiene una respuesta favorable en el 61%-100% de los pacientes. ^(58, 61, 62)

De acuerdo con estos resultados, la AmB-D puede considerarse en la actualidad, junto a los antimoniales, como fármacos de primera elección para la LV asociada al VIH.

No obstante, AmB-L se ha constituido en la alternativa real no solo por su mejor perfil de toxicidad frente a AmB-D, sino por resultados muy alentadores. ^(43, 63, 64)

Una particularidad de la LV asociada al VIH, es su tendencia a la recidiva, que se produce en el 25%-61% de los casos. La recaída suele ser precoz y la mayoría de los enfermos la presentan antes de un año. No están claras las causas de recaída, pero no parece depender de la presentación clínica de la LV, del estadio clínico de la infección por VIH ni del grado de inmunodepresión. ^(58, 59, 61)

Han sido muchos los fármacos utilizados en las recidivas, tales como Antimoniales Pentavalente a dosis elevadas asociado a Alopurinol, AmB-D o AmB-L entre otros. ⁽⁶¹⁾

La respuesta a los Antimoniales Pentavalentes y AmB-D parece similar a la de los episodios iniciales y cualquiera de las pautas indicadas para el tratamiento del episodio inicial puede ser eficaz en las recaídas. ⁽⁵⁸⁾

En algunos casos, la LV puede adoptar un curso clínico crónico, con múltiples recidivas a pesar de los diferentes tratamientos y pautas de profilaxis secundaria.

Antimoniales pentavalentes

En el único ensayo prospectivo y aleatorizado sobre tratamiento de la LV asociada al

VIH publicado hasta la actualidad, comparó Sb^{V+} 20/kg/día con AmB-D 0,7 mg/kg/día), durante 4 semanas, observándose una eficacia similar en ambas pautas, 66% vs 62%. ⁽⁶⁰⁾

Profilaxis secundaria:

Debido a la elevada tasa de recaídas de LV en coinfección por VIH, el empleo de distintas terapias de profilaxis secundaria se justifica, aunque no hay una única pauta de primera elección. Se han utilizado Antimoniales Pentavalente, AmB-D y alopurinol, con resultados dispares. ⁽⁵⁸⁾

En un estudio retrospectivo, Ribera y col observaron que la probabilidad de recaída al año de los pacientes tratados con AP (850 mg/mes), alopurinol (900 mg/día) y de los que no recibieron profilaxis, era del 7%, 79% y 97%, respectivamente. ⁽⁶⁶⁾

La pauta más comúnmente aceptada, fundamentalmente en el corredor Mediterráneo, es AmB-D o AmB-L y los Antimoniales Pentavalentes. ^(66, 67)

La profilaxis primaria no está recomendada y sí la secundaria, que debe comenzarse cuando la población CD4 < 200 cel/mm³.

En aquellos pacientes que su enfermedad por VIH se encuentra estable, y con una población de CD4 > 200 cel/mm³, permite valorar la suspensión de la profilaxis secundaria. ⁽⁶⁸⁾

Las recomendaciones para el tratamiento etiológico de la LV en Uruguay se muestran en las siguientes tablas:

Recomendaciones para el tratamiento de la Leishmaniasis Visceral en Uruguay	
Adultos	
Primera línea	AMB-L 3 - 5 mg/kg/día i.v en días 1 a 5 y 14 a 21
	AMB-D 1 mg/Kg/día i.v durante 14 días
Segunda línea	SB ^{vt} 20 mg/kg i.m o i.v hasta 850 mg total, durante 30 días*
Adultos con coinfección VIH	
AMB-L 5mg/kg en días 1,3 y 5	
AMB-D 0,7 mg/kg durante 28 días	
Pediátrica	
Primera línea	AMB-L 3 mg/kg/día i.v durante días 1-5 y 14-21
	AMB-D 1 mg/Kg/día i.v durante 14 días
Segunda línea	SB ^{vt} 20 mg/kg i.m o i.v hasta 850 mg total, durante 30 días*
Embarazada	
AMB-L 3 mg/kg/día i.v durante 7 días	

* no disponible actualmente en Uruguay

Recomendaciones para la profilaxis secundaria de la Leishmaniasis Visceral en coinfectados con VIH en Uruguay	
Adultos	
Primera línea	AMB-L 3-5 mg/kg i.v al mes
	AMB-D 50 mg i.v cada 14 días
Segunda línea	SB ^{vt} 20 mg/kg i,m o i.v durante 30 días*
Pediátrica	
Primera línea	AMB-L 3 mg/kg i.v al mes

* no disponible actualmente en Uruguay

Aspectos relacionados a los fármacos anti-leishmania.

Anfotericina B Liposomal
Presentación: frasco-ampolla de 50 mg
Preparación:
Dosis: 1-3 mg/kg/día.
Vía: i.v
Velocidad de infusión: 60 minutos
Precaución: se debe vigilar la función renal, iones y estado de hidratación
Efectos adversos: fiebre, escalofríos, náuseas, rush, flebitis
Uso en embarazo: Se puede utilizar bajo supervisión médica. Clase B.
Adicional: No requiere ninguna recomendación adicional

Antimoniato de Meglumina (Glucantime®)*
Ampolla de 1,5 g/5ml (425 mg/ml de Sb ^{v+})
Preparación: para administración i.v, diluir en 50 cc SG5%, No requiere preparación par i.m
Dosis: 20 mg/kg/día (adulto y pediátrica)
Vía: i.m o i.v
Efectos adversos: inversión onda T, QT largo, Insuficiencia renal, náuseas
Uso en embarazo: No hay datos, pero se usa dada magnitud de la enfermedad
* no disponible en Uruguay

Anfotericina B Deoxicolato
Presentación: frasco-ampolla de 50 mg
Preparación: Dilución de 50 mg en SG5% 500 cc. No se debe diluir en soluciones con electrolitos porque puede precipitar
Dosis: 0,5-1 mg/kg/día. Se debe comenzar con el 50% de la dosis final
Vía: i.v
Velocidad de infusión: Se debe administrar en un periodo de 6 hs
Precaución: se debe vigilar la función renal, iones y estado de hidratación
Efectos adversos: fiebre, escalofríos, náuseas, rush,
Uso en embarazo: Se puede utilizar bajo supervisión médica. Clase B.
Adicional: Hay autores que recomiendan administrar dipirona 1 g concomitantemente

Tratamiento de soporte.

Las principales complicaciones observadas en pacientes con LV en América son:

- infecciones bacterianas
- neutropenia febril
- septicemia
- sangrados
- efectos colaterales de los tratamientos etiológicos

Las infecciones bacterianas pueden ser graves y condicionar la vida del paciente.

La antibioticoterapia debe ser instaurada acorde con la infección bacteriana presente (neumonía, impétigo, celulitis, otitis, infecciones urinarias), así como frente a la presunción de septicemia y una neutropenia febril.

Ante anemias severas (Hemoglobina menor a 7.0 g/dl o Hematocrito menor de 21 %) o en casos con repercusión hemodinámica asociada debe plantearse la administración de concentrado de glóbulos rojos o eventuales transfusiones. La administración de plasma fresco debe plantearse en pacientes que presentan sangrados graves con baja actividad de la protrombina (10 a 20 ml/kg cada 8 o 12 horas).

Si bien las causas de sangrados en la LV probablemente obedezcan a múltiples factores y no solamente a la plaquetopenia o alteraciones de la función plaquetaria, puede estar indicada la administración de concentrados plaquetarios cuando los valores son inferiores a 10.000 plaquetas/mm³.

Criterios de curación

La respuesta al tratamiento se suele observar alrededor de los 7 a 10 días. Es progresiva con descenso de la temperatura, mejoría del estado general y aumento del apetito. La hepatoesplenomegalia comienza a disminuir en las primeras semanas.

A partir de la segunda semana comienzan a mejorar la anemia, la leucopenia y plaquetopenia.

Si al cabo de 2 semanas, el paciente no mejora, se debe plantear el cambio de la pauta terapéutica por otro fármaco, ya sea monoterapia o tratamiento combinado.

Si la respuesta clínica es mala se debe descartar la co-infección con VIH, paludismo o tuberculosis y neoplasias entre otras.

Las recaídas ocurren en el 5% de los pacientes con LV y ocurren en el primer año post- tratamiento, generalmente durante los tres primeros meses.

Luego de finalizado el tratamiento el paciente debe ser evaluado clínicamente una vez al mes durante los primeros 6 meses y luego cada 3 meses hasta completar 1 año de seguimiento post-tratamiento. Si el paciente permanece asintomático, se considera clínicamente curado.

Vigilancia de la leishmaniasis visceral

I- Generalidades

La vigilancia es un proceso fundamental para determinar el impacto de una enfermedad, evaluar los esfuerzos de control de la transmisión y detectar precozmente cambios en la presentación de un evento. Comprende el seguimiento continuo y sistemático del comportamiento en el territorio nacional, con el fin de presentar datos e información útil y oportuna para la toma de decisiones, orientada a la prevención y el control epidemiológico.

La vigilancia epidemiológica permite:

- Monitorizar la tendencia de la enfermedad.
- Identificar los factores de riesgo que contribuyen a la misma.
- Evaluar el impacto de los programas de control y prevención.

II- Objetivos

- Identificar las áreas vulnerables para la transmisión de LV
- Detectar precozmente los casos humanos y alertar en forma temprana a los distintos actores involucrados en el control y prevención.
- Disminuir la morbilidad por LV mediante la investigación de casos y el control de focos.
- Monitorear la tendencia de los casos y su dispersión geográfica.

III- Organización de la vigilancia

El modelo de organización del sistema de vigilancia sigue la estructura del Ministerio de Salud, por lo tanto es descentralizado y participativo, desde los niveles locales.

Para la recolección de datos, se emplearán dos modalidades: pasiva y activa.

La **vigilancia activa** se llevará a cabo ante la aparición de un foco canino y consistirá en la búsqueda activa de casos sospechosos en la zona afectada, siguiendo los siguientes lineamientos:

- Período de la búsqueda: retrospectiva a un año y hasta la fecha de identificación del foco.
- Metodología:

1. Búsqueda activa de casos en la zona afectada: aplicación del cuestionario elaborado para tal fin, a los habitantes de las viviendas con canes positivos y un porcentaje (dependiendo de las características geográficas) de viviendas de la misma zona, seleccionadas al azar.
2. Revisión de registros:
 - Registros de consultas de emergencia, policlínica y admisión de las instituciones públicas y privadas de la zona.
 - Revisión de solicitudes de ecografía abdominal
 - Registros de mortalidad

En ambas metodologías se buscan personas que estén cursando o hayan cursado un cuadro clínico compatible con la definición de caso sospechoso, sin otro diagnóstico que lo justifique.

La **vigilancia pasiva**, se basa en el cumplimiento del Decreto 41/012.

IV- Definición de caso

Caso sospechoso de Leishmaniasis visceral.-

Toda persona que presente fiebre de más de dos semanas de evolución, acompañada de hepato y/o esplenomegalia, sin otra causa que lo explique.

Caso confirmado

Caso sospechoso confirmado por cualquiera de las siguientes técnicas de laboratorio:

- Observación directa del parásito
- PCR
- Serología positiva con antígeno Rk39

V- Procedimiento de notificación

La leishmaniasis constituye un evento de notificación obligatoria dentro de la primera semana de sospecha del caso. (Decreto 41/012).

Están obligados a notificar:

- Todas las personas u organizaciones vinculadas a la vigilancia de cualquiera de los componentes de la enfermedad.
- Médicos, veterinarios y otros profesionales de la salud, en el ejercicio libre de su profesión o en relación laboral de dependencia

- Directores técnicos de hospitales o instituciones de asistencia públicos, privados o de cualquier otro tipo, o quien oficie con tal función, como encargado del establecimiento
- También podrá notificar una enfermedad o evento cualquier ciudadano que tenga conocimiento o sospecha de la ocurrencia de un caso.

Vías de notificación:

- Teléfono: 1934, interno 4010, las 24 horas
- Fax: 2408 5838
- Correo electrónico: vigilanciaepi@msp.gub.uy
- Sistema online en el sitio oficial del Ministerio de Salud: www.msp.gub.uy

En todos los casos deberá completarse el formulario de notificación

Prevención y control:

Las medidas de prevención tienen como fin evitar la transmisión de *Leishmania infantum* en diferentes etapas de su ciclo.

Las estrategias de control incluyen i) controlar la población de flebótomos con base en el manejo ambiental; ii) interrumpir la circulación de parásitos controlando los reservorios; iii) realizar el diagnóstico y el tratamiento precoz de las personas enfermas; iv) promover en la comunidad la tenencia responsable de mascotas y el adecuado manejo ambiental.

En el marco de las citadas estrategias se sugieren las siguientes acciones:

1 - Acciones sobre el vector

- Mantener limpio el peridomicilio humano. Particularmente eliminando acúmulos de sustancia orgánica que pueda servir para el desarrollo de larvas (por ejemplo materias fecales, restos de comida, basura, etc.).
- Alejar de la vivienda gallineros y otros refugios de animales.
- Evitar la acumulación de troncos, ramas y otros residuos vegetales; fundamentalmente evitar que los mismos conserven altos niveles de humedad.
- No se recomienda el uso indiscriminado de insecticidas. Tienen muy corta duración y dispersión espacial, producen contaminación ambiental y favorecen la resistencia.

2- Acciones sobre el reservorio

- Promover la tenencia responsable de mascotas
- Alejar el sitio de reposo de los perros ("cama") de la vivienda humana (más de 5 metros entre las camas de los perros y las camas humanas).
- Utilizar collares repelentes con deltametrina. No son efectivos como es deseable pero pueden disminuir el riesgo de alimentación de los flebótomos sobre los perros. Asimismo es posible el uso de telas mosquiteras y el rociado de productos repelentes en los lugares de reposo y actividad de las mascotas.
- Controlar la actividad de los perros sanos en las horas de mayor actividad vectorial (desde el crepúsculo hasta el amanecer), evitando que sean picados por flebótomos.

- Controlar a las mascotas periódicamente por médicos veterinarios.
- Evitar el traslado de los perros desde zonas endémicas a otras o el ingreso de nuevos perros a zonas de transmisión.
- Denunciar la presencia de animales sin dueño y promover su castración.
- Sugerir la eutanasia de los perros con positividad del rK39 o parasitológica.

3- Acciones sobre los humanos evitando el contacto con los vectores

- Evitar la exposición a los vectores en las horas de mayor actividad de los mismos (desde el crepúsculo hasta el amanecer).
- Utilizar ropas adecuadas (manga larga y clara, pantalones). El pequeño tamaño de los flebótomos y su corta probóscide le impiden alimentarse a través de las telas.
- Evitar compartir espacios con los perros en los horarios de actividad vectorial.
- Utilizar repelentes con DEET (N,N-dietil-meta-toluamida) y pastillas termo evaporables (piretroides) en la vivienda durante las horas de actividad vectorial.
- Utilizar telas mosquiteras en las camas, principalmente de los niños.

Referencias bibliográficas

1. World Health Organization (2010) Control of Leishmaniasis: report of the meeting of the WHO Expert committee on the control of leishmaniasis. Geneva: WHO Technical Report Series 949
2. OPS - OMS (2015) Leishmaniasis. Informe Epidemiológico de las Américas. OPS Informe Leishmaniasis N°3
3. Maia-Elkhoury AN, Alves WA, Sousa-Gomes ML, Sena JM, Luna EA (2008) Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. Cad Saude Publica 24: 2941-2947.
4. Werneck GL, Costa CH, Walker AM, David JR, Wand M, et al. (2002) The urban spread of visceral leishmaniasis: clues from spatial analysis. Epidemiology 13: 364-367
5. Werneck GL (2008) Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction. Cad Saude Publica 24: 2937-2940.
6. Salomon OD, Quintana MG, Mastrangelo AV, Fernandez MS (2012) Leishmaniasis and climate change-case study: Argentina. J Trop Med 2012: 601242.
7. Salomon O, Sinagra A, Nevot M, Barberian G, Paulin P, et al. (2008) First visceral leishmaniasis focus in Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz 103: 109-111.
8. Salomon OD, Fernandez MS, Santini MS, Saavedra S, Montiel N, et al. (2011) [Distribution of *Lutzomyia longipalpis* in the Argentine Mesopotamia, 2010]. Medicina (B Aires) 71: 22-26.
9. Ministerio da Saude do Brasil. http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id_area=1561.
10. Tomaz-Soccol V, Castro EA, Navarro IT, de Farias MR, de Souza LM, et al. (2009) Allochthonous cases of canine visceral leishmaniasis in Paraná, Brazil: epidemiological implications. Rev Bras Parasitol Vet 18: 46-51.
11. Frehse MS, Greca HJ, Ullmann LS, Camossi LG, Machado JG, et al. (2010) Surveillance of canine visceral leishmaniasis in a disease-free area. Rev Bras Parasitol Vet 19 62-64.
12. Ministerio de Salud Publica y Bienestar Social de Paraguay. Situación de Leishmaniasis en Paraguay. Informe final de La Secretaria de Salud. Programa nacional de control de las leishmaniasis. Asunción. Paraguay
13. Canese J (2010) Gran incremento de Leishmaniasis visceral humana en Paraguay. Pediatr (Asunción) 37: 167-168.
14. Miret J, Galeano E, Sosa L, Ocampos H, Martínez R, et al. (2011) Leishmaniosis visceral canina en el Paraguay. Rev Par Epidemiol.
15. Salomon OD, Basmadján Y, Fernández MS, Santini MS (2011) *Lutzomyia longipalpis* in Uruguay: the first report and the potential of visceral leishmaniasis transmission. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 106 (3): 381-382
16. Dantas-Torres F. (2006) *Leishmania infantum* versus *Leishmania Chagasi*: do not forget the law of priority. Mem Inst Oswaldo Cruz 101(1): 117-118
17. Lindoso JA, Fernandez-Cota G, Da Cruz AM, Goto H, Silveira AN, Sierra-Romero G, Leite de Sousa-Gomez M, Reis Santos-Olivera J, Rabello A. (2014) Visceral Leishmaniasis and HIV coinfection in Latin America. PLOS Neglected Tropical Diseases 8 (9): 31-36
18. Galati EAB. (2003). Morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da América. En: Rangel EF, Lainson R. Flebotomíneos do Brasil. Fiocruz, Rio de Janeiro, p 53-175.
19. Salomon OD. Mapa de riesgo de Leishmaniasis Visceral en áreas vulnerables de la Argentina y Uruguay. Actualización distribución de *Lutzomyia longipalpis*. Enero 2010- abril 2010

20. Spickler A, Roth J, Galyon J, Lofstedt J, Lenardon M. (2011). Enfermedades Emergentes y Exóticas de los Animales. CFSPH Iowa State University.
21. Spickler A. (2009) Leishmaniasis cutánea y visceral. En <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php?lang=es>
22. Romero G, Boelaert M, (2010) .Control of Visceral Leishmaniasis in Latin America - A Systematic Review. PLoS Negl Trop Dis 4(1): 584. Published online January 19, 2010.
23. Organización Mundial de Sanidad Animal. (2014). Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.18. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasil. Ed. Ministerio da Saúde. SVS-DVE. Brasília.
24. Abdelmoula M. et al. (2003) Visceral Leishmaniasis in children. Prognostic factors. Tunis Med 81 (Supp 1): 545-549
25. Figueiro E, Duarte G, El Bertine P, Quintana S, Lemos T, (2004) Visceral leishmaniasis (Kala-azar) and pregnancy. Infect Dis Obst Gynecol 12: 31-40
26. McCall LI, Zhang WW, Matiashewski G. (2013) Determinants for the development of visceral leishmaniasis disease. PLOS Pathog 9 (1):
27. Badaró R, Jones TC, Lorenço BJ, et al. (1986) A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic área of Brazil. J.Infect.Dis 154 (4): 639-649
28. Genaro O, da Silva A, Michalink M, da Costa CA, Myrink W, Dias M. (1995) Leishmaniose visceral americana. En: David Pereira Neves, Alan Lane de Melo, Odair Genaro, Pedro Marcos Linardi. Parasitología Humana. Ed. Atheneu, Sao Paulo, 1995; 9ª Edición, p 4-81
29. Alvar J et al. (2008) The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. Clin Microbiol Rev. 21:334-59
30. Ankaj Srivastava, Anand Dayama, Sanjana Mehrotra, Shyam Sundar. (2011) Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 105: 1-6
31. J. Van Griensven, E. Carrillo, R. Lopez-Velez, L. Lynen and J. Moreno. (2014) Leishmaniasis in immunosuppressed individuals. Clin Microbiol Infect 20: 286-299.
32. Cunningham J, Hasker E, et al. (2012) A global comparative evaluation of commercial immunochromatographic rapid diagnosis test for visceral leishmaniasis. Clin Infect Dis 55 (10): 1312-1319
33. Khaw, M., Panosian, C.B. (1995) Human antiprotozoal therapy: Past, present, and future. Clin Microbiol Rev 8: 427-439.
34. Kirk, R., Sati, M.H. (1947) Observation on the use of sodium antimony gluconate (sodium stibogluconate) in the treatment of kala-azar. Ann Trop Med Hyg 52: 199-204.
35. Thakur CP. (1984) Epidemiological, clinical and therapeutic features of Bihar kala-azar (including post kala-azar dermal leishmaniasis). Trans R Soc Trop Med Hyg. 78: 391-8.
36. Mishra M, Biswas UK, Jha DN, Khan AB. (1992) Amphotericin versus pentamidine in antimony-unresponsive kala-azar. Lancet 340: 1256-7.
37. Torre-Cisneros, J., Villanueva, J.L., Kindelan, J.M., Jurado, R., Sánchez-Guijo, P. (1993) Successful treatment of antimony-resistant visceral leishmaniasis with liposomal amphotericin B in patients infected with human immunodeficiency virus. Clin Infect Dis 17: 625-627.
38. Joseph N. Jarvis and Diana N. Lockwood. (2013) Clinical aspects of visceral leishmaniasis in HIV infection. Curr Opin Infect Dis 26:1-9.
39. Monge-Maillo B, Lopez Velez R. (2013) Therapeutics Options for Visceral Leishmaniasis. Drugs 73:1863-88.
40. Ramos, JM.; Segovia, M. (1997) Estado actual del tratamiento farmacológico de la Leishmaniasis. Revista Española de Quimioterapia 10: 26-35.
41. Prata A. (1963) Treatment of kala-azar with amphotericin B. Trans R Soc Trop Med Hyg. 57: 266-8.

42. Jha TK, Giri YN, Singh TK, Jha S. (1995) Use of amphotericin B in drug-resistant cases of visceral leishmaniasis in North Bihar, India. *Am J Trop Med Hyg.* 52: 536–8.
43. Organización Panamericana de la Salud. (2013) Leishmaniasis en las Américas. Recomendaciones para el tratamiento. http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=22226&Itemid=
44. Thakur CP, Pandey AK, Sinha GP, Roy S, Behbehani K, Oliaro P. (1996) Comparison of three treatment regimens with liposomal amphotericin B (AmBisome) for visceral leishmaniasis in India: a randomized dose-finding study. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 90:319–22.
45. Davidson RN, di Martino L, Gradoni L, et al. (1996) Short-course treatment of visceral leishmaniasis with liposomal amphotericin B (AmBisome). *Clin Infect Dis.* 22:938–43.
46. Syriopoulou V, Daikos GL, Theodoridou M, et al. (2003) Two doses of a lipid formulation of amphotericin B for the treatment of Mediterranean visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis.* 36: 560–6.
47. Thakur CP. (2001) A single high dose treatment of kala-azar with ambisome (amphotericin B lipid complex): a pilot study. *Int J Antimicrob Agents.* 17: 67–70.
48. Ministerio de Salud, Argentina (2010) Leishmaniasis Visceral. Diagnóstico de Leishmaniasis visceral, guía clínica. <http://www.msal.gov.ar/zoonosis/index.php/informacion-para-equipos-de-salud/leishmaniasis-visceral-guia>
49. Sundar S, Rai M. (2002) Advances in the treatment of leishmaniasis. *Curr Opin Infect Dis.* 15: 593–8.
50. Franke, D.E., Wignall, S., Cruz, M.E., Rosales, E., Tovar, A.A., Lucas, C.M. y cols. (1990) Efficacy and toxicity of sodium stibogluconate for mucosal leishmaniasis. *Ann Intern Med* 113: 934–940.
51. World Health Organization. (1982) Report of the informal meeting on the chemotherapy of visceral leishmaniasis, WHO. Geneva.
52. Herwaldt BL, Berman JD. (1992) Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (pentostam) and review of pertinent clinical studies. *Am J Trop Med Hyg.* 46:296–306.
53. Thakur CP, Narayan S. (2004) A comparative evaluation of amphotericin B and sodium antimony gluconate, as first-line drugs in the treatment of Indian visceral leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol.* 98:129–38.
54. Das VN, Siddiqui NA, Pandey K, et al. (2009) A controlled, randomized nonblinded clinical trial to assess the efficacy of amphotericin B deoxycholate as compared to pentamidine for the treatment of antimony unresponsive visceral leishmaniasis cases in Bihar, India. *Ther Clin Risk Manag.* 5:117–24.
55. Sundar S, Gupta LB, Makharia MK, et al. (1999) Oral treatment of visceral leishmaniasis with miltefosine. *Ann Trop Med Parasitol.* 93: 589–97.
56. Singh UK, Prasad R, Mishra OP, Jayswal BP. (2006) Miltefosine in children with visceral leishmaniasis: a prospective, multicentric, cross-sectional study. *Indian J Pediatr.* 73:1077–80.
57. WHO (2010) Control de Leishmaniasis. OMS, Ginebra
58. Pintado V, López-Vélez R. (2001) HIV-associated visceral leishmaniasis. *Clin Microbiol Infect*
59. Alvar J, Canavate C, Gutiérrez SB, Jiménez M, Laguna F, López-Vélez R, et al. (1997) Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. *Clin Microbiol Rev* 10: 298–319.
60. Laguna F, López-Vélez R, Pulido F, Salas A, Torre CJ, Torres E, et al. (1999) Treatment of visceral leishmaniasis in HIV-infected patients: a randomized trial comparing meglumine antimoniate with amphotericin B. Spanish HIV-Leishmania Study Group. *AIDS* 13: 1063–1069
61. Pintado V, Martín-Rabadán P, Rivera M, Moreno S, Bouza E. (2001) Visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non- HIV-infected patients: a comparative study. *Medicine (Baltimore)* 80: 54–73.
62. López-Vélez R, Pérez-Molina J, Guerrero A, Baquero F, Villarrubia J, Escribano L, et al. (1998) Clinico-epidemiologic characteristics, prognostic factors, and survival analysis of patients coinfecting with human immunodeficiency virus and Leishmania in an area of Madrid, Spain. *Am J Trop Med Hyg* 58: 436–443.

63. Russo R, Nigro LC, Minniti S, Montineri A, Gradoni L, Caldeira L, et al. (1996) Visceral leishmaniasis in HIV infected patients: treatment with high dose liposomal amphotericin B (AmBisome). *J Infect* 32: 133-137.
64. Laguna F, Torre CJ, Moreno V, Villanueva JL, Valencia E. (1995) Efficacy of intermittent liposomal amphotericin B in the treatment of visceral leishmaniasis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 21: 711-712.
65. Ritmeijer K, Dejenie A, Assefa Y, et al. (2006) A comparison of miltefosine and sodium stibogluconate for treatment of visceral leishmaniasis in an Ethiopian population with high prevalence of HIV infection. *Clin Infect Dis*. 43:357-64
66. Ribera E, Ocaña I, de Otero J, Cortés E, Gasser I, Pahissa A. (1996) Prophylaxis of visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus-infected patients. *Am J Med* 100: 496-501.
67. Berenguer J, Cosín J, Miralles P, López J, Padilla B. (2001) Discontinuation of anti-Leishmania prophylaxis in HIV-infected patients who have responded to highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 14: 2948-2950.
68. Villanueva JL, Alarcón A, Bernabeu-Wittel M, Cordero E, Prados D, Regordán C, et al. (2000) Prospective evaluation and follow-up of European patients with visceral leishmaniasis and HIV-1 coinfection in the era of the highly active antiretroviral therapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19: 798-801.
69. Peruhype Magalhaes V, Santana Machado de Assis T, Rabello A. (2012) Use of the Kala-Azar Detect[®] and IT-LEISH[®] rapid tests for the diagnosis of visceral leishmaniasis in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 107 (7): 951-952.

ANEXO 1

Vigilancia y Control de Leishmaniasis Visceral Canina

Grupo de trabajo sobre reservorios, en orden alfabético:

Dra. Yester Basmadján	-Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República (UDELAR); -Departamento de Laboratorio de Salud Pública, División Epidemiología, Ministerio de Salud.
Dra. Susana Elola	Comisión Nacional Honoraria de Zoonosis, Ministerio de Salud.
Dra. Pilar Irabedra	Comisión Nacional Honoraria de Zoonosis, Ministerio de Salud
María Elba Lista	Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca
Dra. Alejandra Lozano	-Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca; -Facultad de Veterinaria, UDELAR
Dra. Dinora Satragno	Facultad de Veterinaria, UDELAR
Dr. Carlos Soto	Centro Hospital Veterinario, Facultad de Veterinaria, UDELAR
Dra. Gabriela Willat	Unidad de Zoonosis y Vectores, División Epidemiología, MS

Reservorios

El principal reservorio de Leishmaniasis visceral urbana son los caninos domésticos, siendo la principal fuente de infección para los vectores. No existe predilección por sexo o raza.

Los caninos infectados con *Leishmania spp* generalmente cursan de forma asintomática. El periodo de incubación varía de 3 meses a 7 años (Spickler A, 2011). Los signos clínicos pueden aparecer poco después de adquirir la infección, pueden no aparecer nunca o pueden manifestarse en cualquier momento de la vida especialmente frente a una inmunosupresión.

La incidencia de la enfermedad en los perros es siempre superior a la incidencia en humanos y usualmente la infección en perros precede a los brotes en humanos.

Es importante resaltar que los caninos infectados, con o sin síntomas, pueden transmitir la enfermedad.

Modo de Transmisión

En nuestro país el modo de transmisión es a través de la picadura del flebótomo *Lutzomyia longipalpis* infectado con *Leishmania (L.) infantum* (= *Leishmania (L.) chagasi*)

La transmisión al flebótomo ocurre cuando existen parásitos en la piel o en sangre periférica.

Como se indicó en la descripción del vector, son más activos al amanecer, atardecer y durante la noche.

No se ha determinado la transmisión transovárica de *Leishmania spp* en los vectores.

Los parásitos pueden transmitirse a través de transfusiones de sangre en personas y perros, y por transmisión transplacentaria en perros, ratones y humanos. En la leishmaniosis canina, producida por *L. infantum*, los parásitos pueden encontrarse en la saliva, orina, semen, secreciones conjuntivales y también en la sangre. Se ha probado que la transmisión venérea se produce en perros, y también es posible que existan otras vías de propagación. (Spickler, 2009)

Pruebas diagnósticas en caninos

El diagnóstico clínico de leishmaniasis visceral canina (LVC) presenta problemas debido a la variedad de las manifestaciones clínicas similares a otras enfermedades. Las alteraciones histopatológicas inespecíficas y la inexistencia de un test diagnóstico 100 % sensible y específico, dificulta el diagnóstico.

Es importante determinar el tipo de prueba a ser utilizada en un programa de vigilancia a nivel nacional, para ello se debe tener en cuenta el área de transmisión, el método utilizado, sus limitaciones y la interpretación clínica.

Métodos inmunológicos:

Las pruebas serológicas constituyen los métodos de diagnóstico preferidos para la LVC.

La más utilizada en la región y validada en sus resultados es la prueba rápida de inmunocromatografía con base en una proteína recombinante rK39 específica del complejo *Leishmania donovani* (que incluye a *L. infantum* (Kalazar Detect Canine Rapid Test, Inbios International)). Detecta en forma cualitativa anticuerpos en suero canino contra dicho antígeno de *Leishmania*.

Estudios realizados en Brasil compararon la prueba rápida de inmunocromatografía rK39 con ELISA, los resultados demostraron una sensibilidad 83% vs 95% para ELISA y una especificidad de 100 % para ambas. Este estudio comprobó además que esta prueba rápida fue capaz de detectar los perros infectados que presentaron diferentes formas clínicas. (Lemos, 2008)

Este test realizado con sangre total en condiciones de campo tiene bajo desempeño en la detección de anticuerpos anti-*Leishmania* en caninos al ser comparado con el test realizado en suero. El test realizado con suero se presenta como el método más adecuado para el diagnóstico en la realización de investigaciones en áreas endémicas, permitiendo el procesamiento de un gran número de muestras con pocas exigencias técnicas y costo reducido. (Bisugo, 2007)

Otras pruebas serológicas utilizadas son la inmunofluorescencia indirecta (RIFI) y ensayo inmunoenzimático (ELISA).

Para las pruebas de ELISA e IFI se han descrito reacciones serológicas cruzadas entre diferentes especies de *Trypanosoma* (*T. cruzi* y *T. caninum*).

En un estudio realizado para determinar reacciones cruzadas con *T. caninum* se determinó una sensibilidad del 100% para las pruebas IFI, ELISA y la prueba rápida DPP y una especificidad de 70,5%, 68% y 97,5 respectivamente. (Alves, 2012)

Diagnóstico parasitológico (diagnóstico confirmatorio)

El diagnóstico parasitológico es el método con 100 % de certeza y se basa en la demostración de las formas amastigotas en la muestra recolectada.

Tiene una especificidad del 100% pero la sensibilidad varía en función de factores relacionados con las condiciones de la toma de muestras, la parasitemia, tipo de material colectado, variando del 80% en caninos sintomáticos y menos en caninos asintomáticos (Ministerio da Saúde, 2014)

La punción aspiración con aguja fina (PAAF) puede realizarse de ganglios linfáticos, médula ósea, hígado y bazo. En los frotis obtenidos se visualizan las formas amastigotas típicas de *Leishmania* spp. Pueden verse en el citoplasma de los macrófagos o libres en el tejido.

El órgano de elección para la toma de muestras es médula ósea, preferiblemente de esternón. El aspirado ganglionar es de fácil ejecución (siempre que existan linfadenopatías). Se punciona el ganglio más reactivo. La sensibilidad de la técnica depende de la muestra utilizada para efectuar el diagnóstico.

Estos procedimientos tienen desventajas: son invasivos, por lo que significa que existen riesgos para el animal y son métodos impracticables en programas nacionales donde deben ser evaluados un gran número de animales en poco tiempo.

Cuando existen manifestaciones a nivel de piel, como ulceraciones, pueden obtenerse, además, muestras de dichas lesiones. Con las muestras se pueden realizar frotis por aposición o extendidos y colorearlos con la técnica de Giemsa (o análogos, como el Diff-Quick).

La detección del parásito mediante la técnica de la inmunoperoxidasa, en muestras de diversos lugares ha sido también utilizada para efectuar un diagnóstico directo de las leishmaniosis (OIE 2015). Con frecuencia no se detectan aun en animales con sintomatología y pueden estar ausentes en los animales infectados de forma asintomática.

Cultivo

La sensibilidad del examen directo puede incrementarse si se realiza el cultivo de la muestra en medios adecuados para ello, como el medio Novy-McNeal-Nicolle (NNN) y los medios líquidos para cultivos de células de insectos o mamíferos (Schneider, medio del Roswell Park Memorial Institute [RPMI], etc.), habitualmente enriquecidos con suero bovino fetal desactivado. (OIE, 2015)

Biología Molecular

PCR (reacción en cadena de la polimerasa es la amplificación del material genómico del parásito- La sensibilidad es comparable con la del cultivo, pero los resultados son más rápidos.

En nuestro país y la región, el método validado y aceptado para el diagnóstico de leishmaniasis visceral en perros, es el que determina anticuerpos contra el antígeno rK39. Este es el método utilizado en los estudios epidemiológicos y de investigación de focos, y sobre sus resultados se toman las medidas de control correspondientes.

Manifestaciones clínicas en caninos

A diferencia del humano las manifestaciones viscerales y cutáneas pueden encontrarse simultáneamente.

La enfermedad en los caninos es de evolución muy lenta y de inicio insidioso, las manifestaciones clínicas dependen del tipo de respuesta inmunológica expresada por los animales.

El cuadro clínico de los perros infectados presenta un espectro de características clínicas que abarca desde un animal aparentemente sano hasta graves afecciones que comprometen la vida del animal.

Inicialmente los parásitos están presentes en la zona de picadura del flebótomo, posteriormente ocurre la infección de las vísceras y eventualmente son distribuidos a través de la dermis.

La alopecia causada por la infección expone grandes áreas de piel con alta carga de parásitos.

Se pueden presentar signos cutáneos como alopecia y costras (especialmente alrededor de los ojos), seborrea, dermatitis, úlceras localizadas (principalmente a nivel de orejas, hocico, cola y articulaciones), crecimiento atípico de uñas (onicogrifosis), signos oculares (queratoconjuntivitis y uveítis), pérdida de apetito, astenia, adenomegalias, y con el avance de la enfermedad fiebre, diarrea, hepato-esplenomegalia, falla renal y hemorragia intestinal.

En la fase final de la infección, ocurre paresia de los miembros posteriores, caquexia, inanición y muerte.

El diagnóstico clínico de la LVC es difícil de ser determinado debido a que presenta signos clínicos similares a otras enfermedades infecto- contagiosas que ocurren en los caninos, el diagnóstico clínico es posible cuando el animal presente signos clínicos compatibles y es originario de regiones con transmisión establecida. En áreas de bajo nivel socioeconómico existen otros factores asociados dificultando el diagnóstico clínico, especialmente las dermatosis y la desnutrición, enmascarando o modificando el cuadro de la LVC.

Vigilancia en caninos

Definición de caso

Canino sospechoso: canino proveniente de un área endémica o donde esté ocurriendo un foco, con manifestaciones clínicas compatibles con la enfermedad (fiebre irregular, apatía, disminución de peso, descamación furfurácea y úlceras en la piel, generalmente en hocico y orejas y extremidades, queratoconjuntivitis, parecía del tren posterior, heces sanguinolentas y crecimiento exagerado de las uñas).

Caso Canino Confirmado

- Criterio de laboratorio: caninos con manifestaciones clínicas compatibles con LVC y que presenta un test serológico positivo y/o examen parasitológico positivo.
- Criterio clínico epidemiológico: todo canino proveniente de áreas endémicas o donde esté ocurriendo un foco, que presente un cuadro clínico compatible de leishmaniosis visceral canina (LVC) sin la confirmación del laboratorio.
- Canino infectado: todo canino asintomático con serología positiva y/o parasitológico positivo en una zona con transmisión confirmada o procedente de área endémica.

Acciones de vigilancia

a) Notificación de casos sospechoso

La notificación podrá realizarse en las oficinas locales o regionales de Sanidad Animal de Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP). Una vez realizada el MGAP informará de inmediato al Ministerio de Salud Pública (MSP), y a la Comisión Nacional de Zoonosis (CNZ).

b) Sobre el foco

A partir de notificaciones de casos sospechosos se confirmará en el laboratorio de Facultad de Veterinaria. Si diera positivo, la CNZ hará la búsqueda en un radio mínimo de 200m alrededor de este. Si fuera necesario se ampliará el radio hasta alcanzar 100 caninos, para su diagnóstico serológico.

Se visitarán los domicilios de dicha área para relevar datos sobre tipo de vivienda, del propietario y de los perros, mediante el llenado de una ficha epidemiológica.

Prevención y control

Es muy importante fomentar el control de la población canina, sensibilizando a la comunidad para su tenencia responsable y que realicen la castración de caninos, machos y hembras

En zonas donde existe presencia del vector se recomienda la utilización de productos repelentes, particularmente collares de deltametrina, rociado de las cucas, telas mosquiteras y cuidado especial en horas de actividad del vector. No obstante debe tenerse en cuenta que la protección parcial que generan los elementos repelentes como collares y pipetas, útiles para proteger a los animales sanos, no garantizan la interrupción de la transmisión por parte de los perros infectados.

Restringir el tránsito de perros desde zonas con transmisión de leishmaniasis o hacia zonas con transmisión conocida.

No permitir que los animales estén sueltos en la vía pública.

Realizar test serológicos antes del cruzamiento.

Se recomienda el control periódico de los perros por médicos veterinarios.

No se recomienda el tratamiento de los perros. Los tratamientos farmacológicos de perros afectados de LVC pueden mejorar los síntomas, pero aun así los perros siguen siendo fuente de infección para el vector lo que significa un elevado riesgo para los humanos. Además el tratamiento con drogas utilizadas en humanos, aumenta el riesgo de generación de cepas resistentes a dichos medicamentos. (Romero 2010)

Las vacunas disponibles a la fecha no demuestran eficacia para interrumpir la transmisión de la leishmaniasis.

Por tanto, al no existir instrumentos para evitar que los perros infectados transmitan la enfermedad a otros perros y a los humanos, la conducta indicada es el sacrificio humanitario de los perros infectados.

Bibliografía

Alves AS, Mouta-Confort E, Figueiredo FB, Oliveira RV, Schubach AO, et al. (2012) Evaluation of serological cross-reactivity between canine visceral leishmaniasis and natural infection by *Trypanosoma caninum*. *Res Vet Sci* 93: 1329–1333 [[PubMed](#)]

Bisugo, MC, Araújo ML, Taniguchi H, Acunha E, Santos A, Spessoto J M, Kaneto CN, Camargo C, Polizel MA, Vigilato M, Negreiros C, Okagima M, Gonçalves NM, Lundstedt LP, Andrade Andréa M, Lima V, & Tolezano J. (2007). Avaliação do diagnóstico da leishmaniose visceral canina com a utilização de teste rápido com antígeno recombinante K39 em regiões endêmicas do estado de São Paulo. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*, 66(2), 185-193.

Lemos EM, Laurenti MD, Moreira MA, Reis AB, Giunchetti RC, Raychaudhuri S, Dietze R. Canine visceral leishmaniasis: performance of a rapid diagnostic test (Kalazar Detect) in dogs with and without signs of the disease. *Acta Trop*. 2008 Aug;107(2):205-7. [[PubMed](#)]

MINISTÉRIO DA SAÚDE Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Brasília – DF 2014 1ª edição 5ª reimpressão.

Organización Mundial de Sanidad Animal. 2014. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.18. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasil. Ministerio da Saúde. SVS-DVE. Brasília. Ed Miniserio da Saúde, 2006.

OPS/OMS. 2005 Consulta de Expertos sobre Leishmaniasis Visceral en las Américas Informe final. Disponible:
http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=16960&Itemid

Romero G, Boelaert M, 2010. Control of Visceral Leishmaniasis in Latin America—A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010 January; 4(1): e584. Published online 2010 January 19.

Spickler A, Roth J, Galyon J, Lofstedt J, Lenardon M. 2011. Enfermedades Emergentes y Exóticas de los Animales. CFSPH Iowa State University.

Spickler, Anna Rovid. "Leishmaniasis cutánea y visceral". Octubre del 2009 (Última actualización)." En
<http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php?lang=es>

ANEXO 2

Vigilancia y Control de Vectores de la Leishmaniasis Visceral en Uruguay

Grupo de trabajo sobre vectores, en orden alfabético:

Dra. Yester Basmadján	-Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República (UDELAR); -Departamento de Laboratorio de Salud Pública, División Epidemiología, Ministerio de Salud.
MSc. Lic. Analía Burgueño	Comisión Nacional Honoraria de Zoonosis, Ministerio de Salud
Dr. Luis Calegari	Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UDELAR
Br. Bruno Canneva	Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UDELAR
Dr. Héctor Chiparelli	Departamento de Laboratorio de Salud Pública, División Epidemiología, Ministerio de Salud
Dra. Susana Elola	Comisión Nacional Honoraria de Zoonosis, Ministerio de Salud
Dra. Elsa García da Rosa	Departamento de Parasitología Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Regional Norte, UDELAR
Dra. Alejandra Lozano	-Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca; -Facultad de Veterinaria, UDELAR
Dra. Gabriela Willat	Unidad de Zoonosis y Vectores, División Epidemiología, Ministerio de Salud

INTRODUCCIÓN:

La Leishmaniasis Visceral, zoonosis parasitaria de reciente introducción en Uruguay, es transmitida por insectos vectores conocidos vulgarmente como flebótomos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). La presencia de este grupo de insectos se conoce en nuestro país desde el siglo pasado. Investigaciones realizadas en las primeras décadas del siglo XX mostraron la presencia de *Evandromyia cortelezzi* y *Lutzomyia gaminarai* en los departamentos de Salto, Tacuarembó y Montevideo^{1, 2}. No existen registros posteriores, ya que, por tratarse de un grupo de insectos sin importancia sanitaria en nuestro país en esa época, no se realizaba su vigilancia. Sin embargo, a inicios del siglo XXI se produce un cambio epidemiológico en el Cono Sur de América, con la aparición de la Leishmaniasis visceral, zoonosis exótica hasta ese momento, en la frontera entre Brasil y Paraguay. Ante ese nuevo escenario epidemiológico, y observando el rápido avance de esta patología hacia el sur, se realiza búsqueda de *Lutzomyia longipalpis* en el norte de nuestro país, en febrero del 2010. El hallazgo de este vector en las localidades de Bella Unión y Salto, colocó a Uruguay en situación de alerta, no sólo por tratarse del vector implicado en la transmisión de *Leishmania infantum*, (agente de la Leishmaniasis visceral), sino por haberse encontrado en cercanía geográfica con localidades en las cuales existía, en ese momento, transmisión activa de esta zoonosis, tanto a nivel canino como humano³. Ese hallazgo catalogó a los departamentos de Salto y Artigas como “vulnerables”, en referencia a esta zoonosis⁴.

Búsquedas posteriores de este insecto reafirmaron su presencia, tanto en Salto como en Bella Unión^{5,6,7,8}, lo que evidencia la perfecta adaptación de este vector a las condiciones ambientales de nuestro país.

Por lo tanto, *Lutzomyia longipalpis* integra, desde su hallazgo, el grupo de insectos vectores de enfermedades en Uruguay. Esta afirmación implica que, sobre el mismo, deben existir acciones de vigilancia y control, con el fin de minimizar lo máximo posible su rol patógeno.

Lutzomyia longipalpis

Se trata de un insecto, díptero, de muy pequeñas dimensiones. Los adultos miden 2 a 3 milímetros de largo, presentan abundante pilosidad en el cuerpo y tienen dimorfismo sexual. Se desarrollan mediante un ciclo holometábolo (huevo, larva, pupa, adulto), cumpliendo la totalidad del mismo en la tierra, sobre todo húmeda y con materia orgánica. Se destaca la TOTAL INDEPENDENCIA de las colecciones de agua.

Sólo las hembras son hematófagas; por lo tanto, ellas son las responsables de la transmisión parasitaria. Presentan actividad crepuscular y nocturna, y no se alejan mucho del sitio de cría. Se lo encuentra en domicilios y peridomicilios. Su vuelo es corto y zigzagueante. La bibliografía indica que no presentan actividad con temperaturas nocturnas mínimas de 17°C. Sin embargo, observaciones hechas en terreno en Bella Unión mostraron que aún con temperaturas menores (13 °C) es posible hallar ejemplares en actividad⁷. En esta región del continente, se alimentan en forma preferencial de sangre de perros, a la que prefieren sobre otro tipo de fuente alimentaria, aunque pueden alimentarse, en forma alternativa, de otros mamíferos o de aves.

Las hembras pueden poner varias decenas de huevos en cada postura. Este estadio de su ciclo

(huevo) es el que actúa como diapausa, permitiendo la presencia de nuevas generaciones una vez transcurridos los meses más fríos.

Dadas las características del ciclo (ocurrencia en la tierra) es únicamente el estadio adulto el que nos permite realizar las medidas de vigilancia entomológica y, eventualmente, las de control.

OBJETIVOS

1. Objetivo general

1. Establecer la normativa de vigilancia y control de *Lutzomyia longipalpis*.

2. Objetivos específicos

- Conocer su área de dispersión en el territorio nacional.
- Actualizar anualmente la información sobre la misma.
- Establecer un sistema de respuesta rápida de vigilancia vectorial frente a casos positivos de Leishmaniasis canina, pudiendo determinar si el caso es autóctono o importado.
- Establecer los pasos a seguir para que se establezca una alerta temprana y una respuesta oportuna.

TIPO DE VIGILANCIA:

Dado el tamaño del insecto, la vigilancia deberá ser, necesariamente, activa. Es excepcional que, mediante vigilancia pasiva, se aporten, de parte de los vecinos, ejemplares para su identificación.

¿Para qué se vigila?

La vigilancia permite:

- Definir áreas vulnerables o receptivas para transmisión de Leishmaniasis Visceral.
- En las primeras etapas de la endemia, determinar el sitio probable de infección canina (caso autóctono o importado).
- Disminuir morbilidad por prevención en hospederos.
- Describir la distribución y abundancia del vector.
- Diseñar medidas apropiadas de prevención y control.
- Evaluar el impacto de las medidas de control.

¿Cómo se vigila?

Mediante la colocación de trampas de captura de flebótomos.

Las mismas son del tipo CDC. Consisten en un artefacto que incluye: una luz atractante de insectos y un ventilador que succiona los mismos a una bolsa colectora.

Las mismas pueden ser comerciales o artesanales (REDILA). Ya fue probada su efectividad,

siendo la misma excelente.

La colocación de las trampas estará determinada en función de lo que se busca:

- Presencia del vector: peridomiciliarias
- Densidad y transmisión parasitaria: intradomiciliarias

Las trampas deberán ser colocadas en la tarde (antes del crepúsculo) y se retirarán por la mañana, durante 3 noches seguidas. Se procurará que las mismas no sean muy ventosas. Se debe tener mucho cuidado con las horas, ya que, como las mismas funcionan a batería, el retiro se debe hacer con la batería funcionando.

Antes de desconectarla, el funcionario retirará e identificará la bolsa colectora, cerrándola posteriormente con un nudo. UNA VEZ CERRADA, BAJO NINGUNA CIRCUNSTANCIA EL OPERADOR DE TERRENO ABRIRÁ LA MISMA.

Lugar de trampeo: URBANO

Es fundamental tener claro que, en esta región de América, la Leishmaniasis Visceral se presenta fundamentalmente en AMBITOS URBANOS. Por lo tanto, es en esos espacios que se debe efectuar la vigilancia entomológica.

La búsqueda de vectores en ámbitos silvestres podrá hacerse como investigación académica, pero no es competencia estatal.

Los sitios elegidos deben cumplir una serie de características, a fin de optimizar la posibilidad de hallazgo del vector:

- Ser representativos de todos los paisajes principales de la ciudad.
- Áreas de tamaño equiparable, no basadas en la densidad poblacional.
- Pertenecer a una vivienda habitada con terreno, siendo las condiciones ideales, que identificaremos como “mejor escenario” las siguientes:
fondos húmedos, sombreados (si fuera un terreno arbolado, mejor),
con abundancia de materia orgánica,
sin exposición a otras luces durante la noche (generan competencia),
con presencia de fuentes de alimentación (cercanía a chiqueros y/o gallineros o lugares donde abunden y/o duerman perros). En caso de que haya gallinero, éste se prefiere por tratarse de un lugar "cerrado".

Ante la denuncia de casos confirmados de Leishmaniasis canina se colocarán trampas en las inmediaciones del foco (se identificarán los escenarios posibles en 100 metros a la redonda, y se colocarán, como ya se mencionó, 3 noches seguidas).

COLOCACIÓN DE TRAMPAS

La responsabilidad será del MSP a través de las Direcciones Departamentales de Salud (DDS). Si otras Instituciones ponen trampas, deben hacerlo con autorización previa de la DDS pertinente, elevando, de forma inmediata, el informe correspondiente.

Medidas de protección del personal:

Los funcionarios deberán usar pantalón y camisa o remera de MANGA LARGA como

mecanismo de protección. No se aconseja el uso de repelentes, ya que la colocación de las trampas se realiza en el horario en que los flebótomos no están en actividad, y el uso del mismo puede provocar interferencias con la captura.

ENVIO DEL MATERIAL

Las bolsas colectoras deben acondicionarse en una caja herméticamente cerrada para hacer el envío al laboratorio diagnóstico, pudiendo poner varias colectas siempre y cuando estén bien identificadas (fecha y número de trampa). No se debe agregar nada a la bolsa colectora ya que la identificación, en el laboratorio, se realiza EN SECO.

El sólo hecho de permanecer en la bolsa varias horas permite la muerte de los insectos. En caso de tener dudas colocar las bolsas (sin abrir) al sol o en un freezer por unos minutos.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de los insectos se realizará en el Centro Nacional de Referencia de Vectores, del Departamento de Laboratorio de Salud Pública (DLSP). Podrá existir un tamizaje previo o screening primario a nivel local, una vez efectuado el entrenamiento correspondiente, siempre y cuando se haga en las condiciones de bioseguridad adecuadas, asegurándose que los insectos estén muertos antes de abrir la bolsa.

Eventualmente, un porcentaje de hembras de flebotómíneos se podrán derivar al Instituto Pasteur, para realizar búsqueda de infección parasitaria mediante técnicas moleculares.

BIBLIOGRAFÍA

- Cordero, E.H.; Vogelsang, E.G y Cossio, V. *Phlebotomus gaminarai*, n. sp. Nueva especie de flebótomo en Uruguay IV Reunión Soc. Argentina Patol. Reg. Norte. Boletín del Instituto de Clínica Quirúrgica, 4: 649-652. Universidad de Buenos Aires.
- Cordero, E.H. 1930. La presencia en Uruguay de dos especies de dípteros vulnerantes del género *Phlebotomus*. Anales de la Facultad de Medicina, 15: 690-698, Montevideo.
- Salomon, O.D.; Basmadján, Y.; Fernández, M.S.; Santini, M.S. *Lutzomyia longipalpis* in Uruguay: the first report and the potential of visceral leishmaniasis transmission. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Vol. 106 (3): 381-382, May 2011.
- Salomon, O.D. Mapa de riesgo de Leishmaniasis Visceral en áreas vulnerables de la Argentina y Uruguay. Actualización distribución de *Lutzomyia longipalpis*. Enero 2010-abril 2010.
- Basmadján, Y.; Lozano, A.; Verger, L.; Canneva, B.; Satragno, D.; Sequeira, C.; Romero, S.; Viera, A.; Tort, C.; Ríos, C.; Lagarmilla, P.; Vitale, E. Persistencia de la infestación de *Lutzomyia longipalpis*, vector de Leishmaniasis Visceral, en la ciudad de Bella Unión, Uruguay. III Congreso Panamericano, VIII Congreso Argentino de Zoonosis. 4 al 6 de junio de 2014, La Plata, Argentina.
- Basmadján, Y.; Canneva, B.; Verger, L.; Lozano, A.; Satragno, D.; Supparo, E.; Sequeira, C.; Romero, S.; Viera, A.; Tort, C.; Ríos, C.; Lagarmilla, P.; Vitale, E. Persistence of *Lutzomyia longipalpis*, vector of visceral leishmaniasis, in the city of Salto, Uruguay. VIII International Symposium on Phlebotomine sandflies. 22- 25 septiembre 2014, Puerto Iguazú, Argentina.
- Basmadján, Y.; Canneva, B.; Verger, L.; Vitale, E.; Sequeira, C.; Lozano, A.; Satragno, D.;

Tort, A.; Viera, A.; Ríos, C.; Lagarmilla, P.; Romero, S. *Lutzomyia longipalpis* in Bella Unión, Department of Artigas, Uruguay. One year of surveillance: July 2013 June 2014. VIII International Symposium on Phlebotomine sandflies. 22- 25 septiembre 2014, Puerto Iguazú, Argentina.

- Canneva, B.; Verger, L.; Sequeira, C.; Lozano, A.; Tort, C. & Basmadján, Y. Investigación entomológica de un sitio de captura positivo a *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) en el año 2010. III Congreso Uruguayo de Zoología, 7 al 12 de diciembre de 2014. Montevideo, Uruguay.