

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
CARRERA DE LICENCIATURA EN LABORATORIO CLINICO**



**LEISHMANIOSIS CUTÁNEA Y MUCOCUTÁNEA EN RESIDENTES DE LOS
CASERÍOS: CASA BLANCA, VOLCANCILLO, RANCHO QUEMADO Y LA
JOYA, DEL MUNICIPIO DE PERQUÍN DEPARTAMENTO DE MORAZÁN,
DURANTE EL PERIODO DE JULIO A SEPTIEMBRE DE 2007.**

**INFORME FINAL PRESENTADO POR:
PATRICIA DEL CARMEN AMAYA LANDAVERDE.
RONY DOLAN BLANCO VIERA.**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADO(A) EN LABORATORIO CLINICO.**

**DOCENTE DIRECTOR:
LICENCIADA HORTENSIA GUADALUPE REYES RIVERA.**

**OCTUBRE DE 2007
SAN MIGUEL, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
AUTORIDADES**

**DOCTORA MARIA ISABEL RODRÍGUEZ
RECTORA**

**INGENIERO JOAQUÍN ORLANDO MACHUCA GÓMEZ
VICERRECTOR ACADÉMICO**

**LICENCIADA CARMEN ELIZABETH RODRIGUEZ DE RIVAS
VICERRECTORA ADMINISTRATIVA**

**LICENCIADA ALICIA MARGARITA RIVAS DE RECINOS
SECRETARIA GENERAL UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**LICENCIADO PEDRO ROSALIO ESCOBAR
FISCAL GENERAL**

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
AUTORIDADES

LICENCIADO MARCELINO MEJIA GONZÁLEZ
DECANO

LICENCIADO NELSON DE JESUS QUINTANILLA
VICEDECANO

LICENCIADA LOURDES ELIZABETH PRUDENCIO
SECRETARIA

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA
AUTORIDADES**

**DOCTORA LIGIA JEANNET LOPEZ LEIVA
JEFE DEL DEPARTAMENTO**

**LICENCIADA LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA
COORDINADORA DE LA CARRERA DE LICENCIATURA EN
LABORATORIO CLÍNICO**

**LICENCIADA ELBA MARGARITA BERRIOS CASTILLO
COORDINADORA GENERAL DEL PROCESO DE GRADUACIÓN**

ASESORES

**LICENCIADA HORTENSIA GUADALUPE REYES RIVERA
DOCENTE DIRECTOR**

**LICENCIADA ELBA MARGARITA BERRIOS CASTILLO
ASESORA DE METODOLOGÍA**

**INGENIERO SANDRA NATZUMIN FUENTES SANCHEZ
ASESORA DE ESTADÍSTICA**

AGRADECIMIENTOS

A DIOS NUESTRO CREADOR.

POR BENDECIR NUESTROS ESFUERZOS, DARNOS ALIENTO Y CONFIANZA EN NOSOTROS MISMOS PARA LA INICIACIÓN Y CULMINACIÓN DE ESTE PROYECTO.

A LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

POR SER EL CIMIENTO PARA DESARROLLAR NUESTROS CONOCIMIENTOS Y PODERNOS FORMAR ACADÉMICAMENTE.

AL HOSPITAL NACIONAL DE SAN FRANCISCO GOTERA.

POR EL APOYO PROFESIONAL PARA LA REALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y PERMITIR EL FORTALECIMIENTO DE NUESTROS CONOCIMIENTOS.

A LA UNIDAD DE SALUD DE PERQUIN.

POR EL APOYO INCONDICIONAL PERMITIÉNDONOS DESARROLLAR NUESTRO ESTUDIO Y MANIFESTANDO INTERÉS PARA EL LOGRO DE NUESTRAS METAS.

AL LABORATORIO CENTRAL

POR SU COLABORACIÓN CON EL APORTE DEL MATERIAL PARA LA EJECUCIÓN DEL ESTUDIO Y BRINDARNOS LA CONFIANZA EN EL DESEMPEÑO DEL MISMO.

A LA LICENCIADA MARTA ALICIA HERNANDEZ

POR SU APOYO INCONDICIONAL Y COMPARTIR SUS CONOCIMIENTOS PARA PODERNOS GUIAR HACIA NUESTRAS METAS, LO CUAL SIN DICHO APOYO HUBIESE SIDO IMPOSIBLE DE LOGRAR.

A LA SEÑORA CLELIA NOHEMY RODRIGUEZ

SIMPLEMENTE POR SER UNA PERSONA TAN LINDA Y COLABORADORA CON NOSOTROS.

A NUESTROS ASESORES.

LICENCIADA HORTENSIA GUADALUPE REYES RIVERA.

LICENCIADA ELBA MARGARITA BERRIOS CASTILLO.

INGENIERO SANDRA NATZUMIN FUENTES.

POR GUIARNOS Y FORTALECERNOS EN NUESTRA FORMACIÓN PROFESIONAL.

POR TODO GRACIAS.....

DEDICATORIA

A MI PADRE

ROBERTO ARTURO BLANCO MARTINEZ.

POR DARME LA OPORTUNIDAD DE SER ALGUIEN EN LA VIDA Y BRINDARME LA SEGURIDAD DE SABER QUE HAY ALGUIEN QUE ME EXTIENDE LA MANO AUN EN LOS MOMENTOS MÁS DIFÍCILES.

POR SUS CONSEJOS, POR SU APOYO INCONDICIONAL Y POR SER SIEMPRE UNA FIGURA EJEMPLAR A LA QUE ADMIRO Y RESPETO MUCHO. MIL GRACIAS.

A MI MADRE.

MARIA ESTER VIERA DE BLANCO

QUE ES COMO MI ANGEL DE LA GUARDA. QUIEN SE PREOCUPA. QUIEN SE DESVELO CONMIGO NOCHE TRAS NOCHE. QUIEN LLORA MIS PROBLEMAS Y ME CURA MIS ENFERMEDADES. QUIEN ME LLENA DE ALIENTO EN MOMENTOS DIFÍCILES.

GRACIAS MADRE.

A MIS HERMANAS Y SOBRINOS

POR AGUANTARME.

A EDIS ESTER CHICA ARGUETA.

POR ESTAR SIEMPRE AHÍ EN LAS BUENAS Y LAS MALAS. POR ESCUCHARME. POR DARME ALIENTO Y HACERME SENTIR BIEN EN MOMENTOS DIFÍCILES.

LICENCIADO CARLOS OMAR DELGADO AGUILERA.

GRACIAS POR SUS VALIOSOS CONSEJOS. POR CREER EN MI AUN CUANDO YO MISMO NO LO HACIA. POR HACERME SABER QUE SOY CAPAZ DE LOGRAR LO QUE SEA SI ME LO PROPONGO.

LICENCIADA HORTENSIA GUADALUPE REYES RIVERA

*POR SER UNA EXELENTE PERSONA, PACIENTE, BUENA HONDA. DIGNA DE
IMITAR.*

RONY BLANCO VIERA.

A DIOS

POR FORTALECERME DIA CON DIA A SEGUIR EL CAMINO Y VENCER LOS OBSTACULOS QUE SIN SU BENDICIÓN JAMAS LO HUBIESE LOGRADO.

A MI MADRE

MERCEDES DEL CARMEN LANDAVERDE VDA DE AMAYA.

POR AYUDARME A LEVANTARME DE MOMENTOS DIFICILES QUE HAN PASADO EN MI VIDA. POR PERDONARME. POR DARME LA OPORTUNIDAD DE TERMINAR MIS ESTUDIOS APOYANDOME ECONIMICA, MORAL Y EMOCIONALMENTE.

A MI PADRE.

BALMORE ENRIQUE AMAYA (Q.D.D.G.)

POR CUIDARME SIEMPRE DESDE EL CIELO Y BRINDARME TODAS LAS FUERZAS NECESARIAS PARA NO DESVIARME DEL CAMINO. POR HACERME SABER QUE ESTA A MI LADO CUIDADNDOME EN TODO MOMENTO.

A MIS HERMANOS.

POR IMPULSARME; DEJARME SABER LO IMPORTANTE QUE SOY EN SUS VIDAS.

A MI ASESORA.

LICENCIADA HORTENSIA GUADALUPE REYES RIVERA.

CON MUCHO RESPETO Y ADMIRACION SIENDO COMO ES, UNA EXCEPCIONAL PROFESIONAL Y SER HUMANO.

PATRICIA AMAYA LANDAVERDE.

ÍNDICE

CONTENIDO.	PÁGS.
RESUMEN.....	XIV
INTRODUCCIÓN.....	XVI
CAPITULO I	
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.1 Antecedentes del Fenómeno en Estudio.....	2
1.2 Enunciado del Problema.....	8
1.3 Objetivos de la Investigación.....	9
1.3.1 Objetivo General.....	9
1.3.2 Objetivos Específicos.....	9
CAPITULO II	
2. MARCO TEÓRICO: BASE TEÓRICA.....	12
2.1 Generalidades de los Protozoarios.....	12
2.1.1 Morfología.....	12
2.1.2 Flagelados.....	13
2.1.2.1 Flagelados de la sangre y tejidos.....	15
2.1.3 Parásitos del género <i>Leishmania</i>	17
2.1.3.1 Clasificación Taxonómica.....	17
2.1.3.2 Morfología del Parásito.....	19
2.1.4 Generalidades de los Invertebrados.....	20
2.1.5 Agente Transmisor de Leishmaniosis.....	21
2.1.5.1 Morfología del Vector.....	21
2.1.5.2 Clasificación Taxonómica del Vector.....	24
2.1.6 Reservorio de Leishmaniosis.....	24
2.1.7 Ciclo de vida del Parásito.....	25
2.1.8 Leishmaniosis.....	27
2.1.8.1 Tipos de Leishmaniosis.....	28

2.1.9	Reacción Inmunológica.....	33
2.1.9.1	Mecanismos del parásito que contrarrestan la respuesta del Huésped	35
2.1.10	Tratamiento.....	37
2.1.11	Prevención.....	38
2.1.12	Diagnostico de laboratorio.....	40
2.1.12.1	Pruebas Parasitológicas.....	40
2.1.12.2	Pruebas Inmunológicas.....	44
2.1.12.3	Pruebas Serologicas Especiales.....	45
2.2	Definición de términos básicos.....	47
 CAPITULO III		
3.	SISTEMA DE HIPÓTESIS.....	55
3.1	Hipótesis de Trabajo.....	55
3.2	Hipótesis Nula	55
3.3	Hipótesis Alterna.....	55
3.4	Definición conceptual y operacional de las variables.....	56
 CAPITULO IV		
4.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	58
4.1	Tipo de Investigación.....	58
4.2	Universo o Población.....	58
4.3	Muestra.....	59
4.4	Tipo de Muestreo.....	59
4.5	Técnicas de Obtención de la Información.....	60
4.6	Técnicas de Laboratorio.....	60
4.7	Instrumentos.....	62
4.8	Equipo, Materiales y Reactivo.....	63
4.9	Procedimiento.....	65
4.9.1	Planeación.....	65
6.9.2	Ejecución.....	65

CAPITULO V

5. PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	70
5.1 Tabulacion, Análisis e interpretación de los Resultados.....	71
5.2 Prueba de Hipótesis.....	101

CAPITULO VI

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	110
6.1 Conclusiones.....	11
6.2 Recomendaciones.....	112

BIBLIOGRAFÍA.

ANEXOS.

Anexo N° 1: Cronograma de actividades generales.....	120
Anexo N° 2: Cronograma de actividades específicas (mes de julio de 2007).....	121
Anexo N° 3: Cronograma de actividades específicas (mes de agosto de 2007). ..	122
Anexo N° 4: Cronograma de actividades específicas (septiembre de 2007).123	
Anexo N° 5: Imágenes del parásito.....	124
Anexo N° 6: Vector del parásito de <i>leishmania</i>.	125
Anexo N° 7: Reservorios del parásito.....	126
Anexo N° 8: Ciclo de vida del parásito.....	127
Anexo N° 9: Lesiones cutáneas y mucocutáneas.....	128
Anexo N° 10: Procedimiento de la toma de muestra para el frotis.....	129
Anexo N° 11: Procedimiento de la técnica o método de giemsa.....	131
Anexo N° 12: Preparación del medio de cultivo.....	133
Anexo N° 13: Procedimiento de la Intradermoreacción de Montenegro.....	140
Anexo N° 14: Guía de entrevista dirigida a la población objeto de estudio.....	141
Anexo N° 15: Guía de observación dirigida a la población objeto de estudio.....	143
Anexo N° 16: Preparación del material de trabajo.....	145
Anexo N° 17: Presentación de resultados.....	146
Anexo N° 18: Control de calidad del Laboratorio central Dr. “Max Bloch”.....	147
Anexos de Notas de Gestión.....	150

RESUMEN

Leishmania sp es un parásito que produce la enfermedad de Leishmaniosis en el ser humano, manifestando en la piel de las personas afectadas, lesiones que pueden ser cutáneas o mucocutáneas.

En El Salvador se han realizado estudios en la mayoría de los departamentos, donde se ha demostrado la existencia del parásito.

En la zona oriental específicamente el departamento de Morazán, mas concretamente en el municipio de Perquin, no existían registros acerca de la búsqueda de esta enfermedad, siendo los pioneros en la investigación de esta zoonosis en los habitantes de los caseríos seleccionados.

El periodo comprendido para la toma de la muestra en personas que presentaban lesiones en su piel sugestivas a las producidas por el parásito fue de julio a septiembre de 2007.

El presente estudio de investigación cuyo tema es: “Leishmaniosis cutánea y mucocutánea en personas que residen en los cantones: Casa Blanca, Volcancillo, Rancho Quemado y La Joya, municipio de Perquin departamento de Morazán, durante el periodo de julio a septiembre de 2007”, se obtuvieron primeramente seleccionando a las personas que presentaban las lesiones características ya sea de Leishmaniosis cutánea o mucocutánea; por otro lado de dicha selección únicamente se encontraron lesiones sugestivas a Leishmaniosis cutánea, por lo tanto los resultados que se presentan a continuación se obtuvieron únicamente trabajando con lesiones cutáneas.

Las razones para realizar dicho estudio fueron su ubicación fronteriza con Honduras y la falta de atención en el área de salud por problemas económicos, políticos y sociales que se viven hoy en día.

Los habitantes que se seleccionaron fueron 18, únicamente aquellos que presentaron lesiones sugestivas a Leishmaniosis fueron considerados para el muestreo, a estos se les explico las razones y beneficios que se obtendrían al realizarse el trabajo de investigación.

A dichas personas se les realizaron diversas pruebas. La primera de ellas fue una prueba inmunológica, la Intradermoreacción de Montenegro, la cual se aplico para dar mayor peso al diagnóstico, luego la obtención del material mediante la técnica de raspado, para la observación microscópica de cada lamina, así como también la inoculación del medio de cultivo.

Los resultados de todas las pruebas antes mencionadas fueron negativos, determinándose que dichas lesiones no presentaban el parásito propiamente dicho parásito. Por lo tanto del total de individuos a los que se les tomo muestra, no se obtuvo ningún caso positivo.

Del muestreo realizado a los habitantes seleccionados con las pruebas antes mencionadas y de los cuales se obtuvieron resultados utilizando un diseño estadístico completamente al azar. A partir de que no se encontraran casos positivos de Leishmaniosis cutánea y mucocutánea, se aceptaron las hipótesis nulas y se rechazan las hipótesis.

INTRODUCCIÓN

En El Salvador existe una gran variedad de enfermedades cuyas manifestaciones clínicas son poco conocidas, tanto por el personal de salud como por la población, no por que se encuentren ausentes; más bien por los pocos estudios que se han hecho sobre ellas.

La Leishmaniosis no es la excepción; la poca información teórica clínica y médica que se tiene, es consecuencia de lo antes mencionado; esta es una enfermedad causada por parásitos hemoflagelados que son patógenos para los seres humanos y que pertenecen a los protozoarios del género *Leishmania*.

En la última década ha existido un incremento notable de esta zoonosis en el continente Americano, afectando en gran manera a Centro América. De acuerdo a las investigaciones realizadas, la invasión de las personas a hábitat más selváticos y remotos ha contribuido al aumento de la enfermedad debido a la existencia del vector en estas zonas, así como también las constantes migraciones de pobladores de las áreas rurales a urbanas.

En la zona Oriental específicamente en el departamento de La Unión, se han realizado investigaciones por el Ministerio de Salud, a través del Laboratorio Central, acerca de la Leishmaniosis; sin embargo los resultados de dichas investigaciones no han sido publicados, o al menos no formalmente.

Cabe mencionar que el estudio proporcionó datos importantes sobre la zona geográfica, donde podría haber mayor frecuencia de la enfermedad, como es la zona fronteriza con Honduras.

Por tal razón, se seleccionó el municipio de Perquín departamento de Morazán, puesto que es un área limítrofe con Honduras y además reúne las características que favorecen la multiplicación o reproducción del vector, tales como: el clima, zona boscosa, montañosa y húmeda.

En el departamento de Morazán jamás se ha realizado un estudio de este tipo debido al poco interés sobre el tema, además de inconvenientes políticos, económicos, sociales y territoriales que han dificultado aun más la realización de investigaciones de este tipo.

Un aspecto importante, es la contribución o aporte del estudio para los habitantes del lugar y aun más para el personal de salud del área, puesto que permitió apreciar la realidad en que viven dichas personas y de esta forma, se podrá en un futuro implementar programas a nivel local que ayuden a fortalecer los conocimientos del personal de salud, del gobierno local, unidades de salud y líderes de las comunidades, así como también programas sobre la parasitosis enfocados a efectuar un sondeo más completo del área.

De esta forma se realizó la investigación sobre Leishmaniosis cutánea y mucocutánea en residentes de los caseríos: Casa Blanca, Volcancillo, Rancho Quemado y la Joya del municipio de Perquín departamento de Morazán, durante el periodo de julio a septiembre de 2007. En este documento se presentan los resultados de dicha investigación, el cual está estructurado en 6 capítulos, los cuales se organizan de la siguiente manera:

El capítulo uno incluye el planteamiento del problema de investigación, el cual comprende: los antecedentes del problema que se está investigando en donde se muestra el origen de la enfermedad, desde su descubrimiento, los avances a través del tiempo hasta la situación actual tanto en el ámbito nacional como internacional; el otro aspecto

que incluye es el enunciado del problema; se presentan preguntas referentes al tema de investigación a las cuales se ha tratado de darle respuesta.

Posteriormente se encuentran los objetivos: el objetivo general que sirvió como orientación hacia la meta que se pretendía alcanzar al final de la investigación, es decir, hacia donde se quería enfocar el estudio y los objetivos específicos que se presentan como guías o pasos detallados en el proceder para alcanzar dicha meta.

En el capítulo dos se encuentra el marco teórico con su respectiva base teórica y comprende el siguiente contenido: generalidades de los protozoarios, morfología; flagelados, flagelados de la sangre y de los tejidos; parásitos del género *Leishmania*, clasificación taxonómica, morfología del parásito, generalidades de los invertebrados, agente transmisor de Leishmaniosis, morfología del vector, Clasificación taxonómica del vector, reservorio de Leishmaniosis, ciclo de vida del parásito, Leishmaniosis, tipos de Leishmaniosis, reacción inmunológica, mecanismo del parásito que contrarrestan la respuesta del huésped, tratamiento, prevención, diagnóstico de laboratorio, pruebas parasitológicas, pruebas inmunológicas, pruebas serológicas y finalmente definición de términos básicos.

El capítulo tres, el cual comprende el sistema de hipótesis. Las hipótesis se presentaron como suposiciones acerca del problema de investigación en forma de proposición, estableciendo una relación entre sus variables, que puedan validarse estadísticamente.

En el capítulo cuatro se explica el diseño metodológico, el cual detalla todos los pasos que se siguieron para la realización del estudio, este incluye: el tipo de investigación, el universo o población, la muestra, el tipo de muestreo, las técnicas de obtención de la información, las técnicas de laboratorio, los instrumentos, el equipo,

materiales y reactivos y finalmente el procedimiento desde la planeación de actividades hasta el momento de su ejecución.

Así mismo se encuentra el capítulo cinco, en el cual se explican, analizan e interpretan estadísticamente los resultados obtenidos.

Finalmente el capítulo seis incluye las conclusiones a que se llegaron al final del proceso de investigación, así como también las respectivas recomendaciones a las entidades correspondientes, la bibliografía consultada, el cronograma de actividades tanto generales como específicas que se efectuaron durante el proceso de planeación y ejecución del proyecto.

Como parte final se presentan los anexos, los cuales representan un complemento ilustrado de las diferentes técnicas, instrumentos y procedimientos empleados durante el proceso de investigación.

CAPÍTULO I
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

1.1 ANTECEDENTES DEL FENÓMENO EN INVESTIGACIÓN.

La Leishmaniosis, una enfermedad producida por diferentes especies de protozoos, pertenecientes al género *Leishmania*, es transmitida por la picadura de un mosquito hematófago hembra incluida en la familia *Psychodidae* y género *Lutzomyia* y *Phlebotomus*, siendo la especie *Lutzomyia longipalpis* la más conocida y estudiada en la mayoría de países.

El parásito productor de la enfermedad, fue descubierto en el año de 1900, cuando un patólogo del ejército escocés llamado Sir William Leishman lo identificara en úlceras de la piel y células del bazo de un recluta de 23 años, muerto tras 7 meses de fiebres. Este fue el primer caso descrito de la hoy llamada Leishmaniosis visceral (Leishmaniosis visceral del viejo mundo). En Dum Dum, periferia de Calcuta en la India se le dio el nombre de Kala azar, que significa enfermedad negra; sin embargo sus observaciones no fueron publicadas sino hasta el año de 1903, año en el que Donovan demostró el mismo parásito en el frotis de material obtenido por punción biopsica esplénica.

Corresponde a Donald Ross, médico expedicionario del ejército real de su Majestad, en ese mismo año, identificar el protozoario causante de la Leishmaniosis.

Fue así como Ross estableció el género "*Leishmania*" en honor al descubridor escocés Sir William Leishman, separándolo de esta forma de los esporozoarios con los cuales habían confundido al parásito.

En el año de 1904, fue Leonardo Roger, quien logro cultivar por primera vez al parásito y demostró que en el cultivo se producían formas flageladas.

En ese mismo año Cathoire y 1905 Pianese, encontraron el mismo parásito en niños de la región mediterránea que sufrían anemia esplénica.

Patto en 1907, encontró que la fase amastigote, se encontraba en los histiocitos de la sangre circulante y que las formas promastigotes se hallaban en el intestino del insecto infectado.

En 1908 Nicolle, encontró también el parásito, en niños con anemia esplénica, en la región mediterránea

La Leishmaniosis visceral que se presenta en todo el continente Americano, es llamada Leishmaniosis visceral del nuevo mundo, esta se presenta desde el sur de los Estados Unidos, Venezuela, Colombia, Brasil, Bolivia, Paraguay, hasta el norte de Argentina. Su mayor incidencia se manifiesta en el nordeste de Brasil, pero se encuentra en la mayoría de las zonas semiáridas de la región.

Recientemente se ha descubierto focos de transmisión en áreas más húmedas. Se presentó también en Centro América principalmente en México, El Salvador, Guatemala y Honduras.

Otra forma de Leishmaniosis que es más frecuente y común, es la cutánea y mucocutánea.

Es probable que la Leishmaniosis cutánea en Europa (Leishmaniosis cutánea del viejo mundo) fuera descubierta por primera vez por Cunningham, en el año de 1885 y Firth en 1891, quien le dió el nombre de *Sporozoa furumculosa*; sin embargo por lo general, se le atribuyó a Wright en 1903, el merito de haber descrito por primera vez al organismo, pues el observó el parásito en un paciente con tratamiento en el hospital

general de Massachussets (Boston) y le dió el nombre de *Helicosoma tropica*. Lühe, unos años más tarde, incluyó la especie en el género *Leishmania*.

Pocos decenios después de la conquista del Perú, los españoles que entraron en los altos valles andinos, donde eran frecuentes pequeños mosquitos hematófagos; desarrollaron lesiones mutilantes de la nariz, mientras que en las tribus nativas de las zonas forestales, rara vez se veían síntomas de la enfermedad.

Linderberg, Carini y Paranhos en 1909, encontraron amastigotes en las vísceras de ciertos habitantes del Brasil; a esta observación le siguió la de Carini en 1911, que encontró amastigotes en la mucosa nasofaríngea y en las lesiones ulcerosas de pacientes de aquel mismo país.

Viana, estudió este tipo de *Leishmania* y la consideró una nueva especie y en 1911 le dió el nombre de *Leishmania braziliensis*. Poco después en el mismo año, Laveran la estudió también y le dió el nombre de *Leishmania tropica* variedad Americana.

Morfológicamente este parásito es idéntico a *Leishmania donovani* y *Leishmania tropica minor*.

Noguchi demostró que los tres parásitos son especies distintas según reacciones de aglutinación y fijación del complemento.

En El Salvador entre 1905 y 1952, se diagnosticaron por primera vez 4 casos autóctonos de Leishmaniosis visceral en niños menores de 2 años, todos con insuficiencia de peso, estado nutricional deficiente, fiebre prolongada y hepatoesplenomegalia.

La tasa de mortalidad fué del 50 %. Luego entre 1959 y 1984 se registraron solamente 20 casos nuevos, todos en menores de 8 años. Después en el período de 1983 y 1984 se notificaron casos nuevos en niños menores de 3 años. La Leishmaniosis con lesiones ulcero costrosas en la cara y el cuello, se notificó en un paciente masculino en el año de 1947, este trabajaba en zonas del Petén (Guatemala) y Quintana Roo (México); luego en el año de 1953, se comprobó el primer caso autóctono de Leishmaniosis cutánea, en una niña de 12 años originaria del municipio de Masahuat.*⁴

Al ser evidente la presencia del parásito. Se realizó en el año de 1960 un estudio entomológico que demostró la existencia de 8 especies del vector de *Lutzomyia*, entre las que predominaban *L. longipalpis*, las otras especies son: *L. evansi*, *L. cayennensis*, *L. cruciata*, *L. barrettoii*, *L. deleoni*, *L. gomezi* y *L. chiapaensis*.^{*5}

Nuevamente en el 2002 al 2003 se realizaron diferentes estudios entomológicos en diferentes partes del país en busca del vector, a través de trampas de luz.

En el municipio de Santa Clara y San Idefonso, departamento de San Vicente, se comprobó la presencia de *L. longipalpis* y *L. cayennensis* (Existe transmisión). En el municipio de Villa Victoria, departamento de Cabañas (Existe transmisión).

Se determinó que el foco de Leishmaniosis se localiza en el occidente del país, en el área fronteriza con Honduras y Guatemala.

De enero a junio de 1993 se notificaron 54 casos autóctonos, relacionados con un brote ocurrido a fines de 1992, que produjo 30 casos. Todos ellos se asociaron con las

*⁴ Programa de epidemiología de campo y vigilancia de *Leishmania* región oriental de salud

*⁵ Datos proporcionados por la Licenciada Marta Alicia Hernández, jefe del área de Leishmaniosis del Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”.

migraciones que tuvieron lugar a raíz del conflicto bélico y con atentados perpetrados en el norte del país. No se sabe la especie del parásito con que se relaciona.

A fines de 1992, se notificó la presencia atípica de Leishmaniosis cutánea, muy parecida a la encontrada en Honduras en la isla del Tigre; mediante la búsqueda activa, se comprobaron 54 casos de Leishmaniosis cutánea causada por *L. chagasi*.

En el año del 2003, se encontraron 44 casos de soldados sospechosos de estar infectados con *Leishmania*, de los cuales 7 de ellos ya presentaban laceraciones en sus cuerpos y fiebres altas. *⁶

La enfermedad fué contraída por la tropa salvadoreña, durante un ejercicio militar en la Guyana Francesa, el 7 de noviembre del 2003.

Este grupo fue enviado como parte de un intercambio militar con Francia. Según la OPS (Organización Panamericana de La Salud) en este lugar se registran 230 casos de la enfermedad por cada 100,000 habitantes.

En el departamento de La Unión, durante el periodo de 1996 al 2004, se notificaron 47 nuevos casos, 37 (ó 79 %) de ellos correspondían a Leishmaniosis cutánea atípica y 10 (ó 21 %) a Leishmaniosis visceral.

En total 8 casos de Leishmaniosis visceral autóctonos se encontraron, todos en niños menores de 5 años con estado nutricional deficiente, fiebre prolongada y hepatoesplenomegalia, todos ellos localizados en la parte sur de La Unión y región fronteriza con Honduras.

*⁶ Según datos confirmados por el Ministro de la defensa nacional, Juan Antonio Martínez Varela.

En El Salvador se ha detectado un incremento progresivo de casos, del 2000 al 2004. El país tiene infraestructura y recursos limitados para llevar a cabo actividades de vigilancia, por ello no existen registros completos que hablen de la patología.

1.2 ENUNCIADO DEL PROBLEMA.

De la problemática antes descrita, se derivaron los siguientes problemas de investigación, los cuales se enuncian de la siguiente manera:

¿Manifiesta la población de los caseríos: Casa Blanca, Volcancillo, Rancho Quemado y La Joya, el tipo de lesión en la piel que corresponda a Leishmaniosis cutánea?

¿Manifiesta la población de los caseríos: Casa Blanca, Volcancillo, Rancho Quemado y La Joya, el tipo de lesión en la piel que corresponda a Leishmaniosis mucocutánea?

¿Cuál de las variantes antes mencionadas predominó en los sujetos de estudio ?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

1.3.1 OBJETIVO GENERAL.

Demostrar la presencia o ausencia de Leishmaniosis cutánea y mucocutánea en los residentes de los caseríos: Casa Blanca, Volcancillo, Rancho Quemado y La Joya, del municipio de Perquín departamento de Morazán, durante el período de julio a septiembre de 2007.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Identificar las lesiones características en los individuos parasitados por *Leishmania*.

Obtener a partir de las lesiones características de Leishmaniosis, presentes en la piel, material por medio de técnica de raspado.

Elaborar frotis del material obtenido del raspado, para su tinción por la coloración de Giemsa.

Realizar la siembra de las muestras obtenidas del raspado en el medio de cultivo de NNN (Novy-Nicolle-McNeal)

Efectuar un montaje directo a partir de los medios previamente sembrados, con el propósito de observar la fase promastigote del parásito.

Realizar la prueba de intradermoreacción de Montenegro a los individuos en estudio, para demostrar la presencia de anticuerpos contra el parásito.

Interpretar los resultados de la prueba de intradermoreacción de Montenegro después de 48 horas de aplicada.

Establecer el porcentaje de la variante o lesión que predomina en la población estudiada.

Aportar los conocimientos, actitudes y prácticas para el desarrollo de una cultura de prevención en los habitantes, con respecto a la leishmaniosis

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO.

BASE TEÓRICA.

2.1 GENERALIDADES DE LOS PROTOZOARIOS.

Los protozoarios forman un amplio conjunto de microorganismos constituidos por una sola unidad estructural semejante a una célula, a los cuales los zoólogos sitúan dentro del subreino o *phylum Protozoo*.

Algunos protozoarios flagelados de vida libre contienen cloroplastos que les permiten sintetizar carbohidratos a partir sustancias inorgánicas que se encuentran en su medio ambiente, razón por la cual muchos botánicos sostienen que dichos organismos pertenecen al reino vegetal.

Los protozoarios flagelados probablemente representan el tipo más primitivo de vida animal y las formas animales pierden gradualmente su capacidad para la fotosíntesis de carbohidratos, por lo que acaban de depender de sustancias nutritivas ya sintetizadas.

2.1.1 MORFOLOGIA.

La unidad simple de que están formados la mayoría de los protozoarios varía mucho en dimensiones y forma, lo que depende principalmente del grupo de microorganismos a que pertenecen.

Algunas especies son visibles a simple vista; otras requieren para ser observadas, aumentos superiores a los 1.000 nanómetros. Mientras algunos son casi esféricos u ovoides, otros adoptan formas extrañas.

Los hay que tienen simetría radial o bilateral, y otros presentan una torsión longitudinal del cuerpo. Estas características se encuentran relativamente fijas en ciertos grupos; otros presentan cambios notables de su forma durante la fase activa (trófica) del organismo.

El núcleo se encuentra en el interior del citoplasma de la célula. La porción más interna de la célula es el *endoplasma*, y es la que rodea el núcleo, esta compuesta de protoplasma, en el que se encuentra el material alimenticio sin digerir.

Se pueden demostrar *mitocondrias* en el endoplasma, así como *aparato de Golgi*, *microsomos* y *retículo endoplasmico*, organelos que son comunes tanto en protozoarios como en células de metazoarios. Cubriendo el endoplasma se encuentra el *ectoplasma*, el cual es menos granuloso y más homogéneo.

Durante la fase vegetativa, los protozoarios tienen una membrana celular, la membrana plasmática, la cual controla la entrada y salida de alimentos, secreciones y excreciones, y mantiene una concentración normal de la sustancia citoplasmática, tornándose permeable a ciertas sustancias e impermeable a otras.

En algunos grupos como el de las amebas, no tienen una forma constante y la cambian frecuentemente mediante la extensión y retracción de *seudópodos* temporales.

En el estado quístico, característico de varios grupos de protozoarios, poseen una membrana relativamente gruesa (“Pared celular”), que es secretada por el ectoplasma para proteger al organismo.

La locomoción de los rizópodos se verifica por la formación de pseudópodos, por los cuales fluye el citoplasma.

En los flagelados le sirven de organelos de locomoción una o varias de las delicadas prolongaciones filiformes del citoplasma llamadas flagelos, cada uno de ellos originando un cinetoplasto dentro del citoplasma.

En los ciliados, un gran número de filamentos cortos, los *cilios*, se distribuyen sobre la superficie del cuerpo del organismo y tienen su origen en un granulo basal dentro del ectoplasma, y le sirven como organelos de locomoción.

Ciertos grupos de protozoarios no tienen zona o parte especial para la ingestión de alimento, sino que absorben el alimento líquido del medio ambiente en el que viven, ingieren bacterias, productos nutritivos y partículas microscópicas en cualquier sitio de la superficie corporal. Otros tienen un orificio que actúa a modo de boca celular, el *citostoma*, suele estar situado lateralmente cerca del extremo anterior del organismo.

Los protozoarios ciliados poseen un “Ano celular”, *el citopigio*, a través del cual expulsan los desechos de los alimentos.

La mayoría de los trofozoitos de los protozoarios carecen de organelos protectores especializados, y dependen de la irritabilidad del protoplasma para evitar los medios anisotónicos u otras circunstancias desfavorables para su supervivencia. Muchos son capaces de enquistarse y así sobrevivir en condiciones desfavorables.

Con estudios citológicos y cuidadosos, y mediante tinciones especiales, se ha demostrado que en los ciliados y flagelados hay un sistema nervioso especializado primitivo.

El *cinetoplasto* de los flagelados formado por un granulo parabasal y *blefaroplasto*, unidos por una fibrilla delicada, constituyen el centro energético del aparato neuromotor,

el cual esta conectado con el *axonema* y con la proporción intracitoplasmática del flagelo.

2.1.2 FLAGELADOS.

Pertenecen al subphylum *Mastigophora* y se caracteriza por la presencia de flagelos alargados que se originan en un pequeño elemento del ectoplasma, el *cinetoplasto*, y están constituidos por prolongaciones citoplasmáticas, el *axonema*, formando a su vez por una estructura cilíndrica, con nueve microtubulos envueltos por una vaina fibrosa. Algunos de estos protozoos, como los Tripanosomas y las Tricomonas, poseen prolongaciones citoplasmáticas que envuelven y recorren el cuerpo, las *membranas ondulantes*.

2.1.2.1 FLAGELADOS DE LA SANGRE Y DE LOS TEJIDOS.

FAMILIA *TRYPANOSOMATIDAE*.

Los protozoarios que viven en la sangre y en los tejidos del huésped humano, pertenecen todos al orden *Kinetoplastida* y familia *Trypanosomatidae*.

Esta familia incluye especies que tienen un solo flagelo, un núcleo y una estructura llamada cinetoplasto, de la cual se origina el flagelo.

En preparaciones teñidas el cinetoplasto, consta de un corpúsculo que se tiñe intensamente, llamado *corpúsculo parabasal*, y un *blefaroplasto* en forma de punto, ambos están conectados por una o posiblemente varias fibrillas muy delicadas.

La porción interna del flagelo que se extiende desde el blefaroplasto a la superficie del cuerpo del protozoario se denomina *Axonema* o *filamento axial*.

Las especies de esta familia pueden existir en dos o mas de cuatro formas o estados que se denominan con arreglo a los géneros que son ejemplo de dichas formas: *Leishmania*, *Leptomonas*, *Crithidia* y *Trypanosoma*.

Durante la última década, muchos autores han preferido utilizar sinónimos para denominar las fases del parásito, a fin de evitar confusiones entre las denominaciones citadas y los géneros homónimos. Dichos términos son: “Amastigote”, “Promastigote”, “Epimastigote”, “Tripomastigote”, respectivamente.

La familia *Trypanosomatidae* se divide en los 6 géneros siguientes:

1. Género de *Leptomonas*.
2. Género *Crithidia*.
3. Género *Herpetomonas*.
4. Género *Leishmania*.
5. Género *Phytomonas*.
6. Género *Trypanosoma*

Las especies de *Leishmania* y *Trypanosoma cruzi*, durante el estado de amastigote que se presenta en su ciclo biológico en el huésped mamífero, toman la forma ovoide como una adaptación a la vida intracelular en ellos. Su flagelo libre se ha retraído en el axonema.

Las especies de *Leptomonas* y organismos afines, cuando adoptan la fase de promastigote, son alargadas y afiladas, terminadas en punta y con un flagelo libre que arranca del cinetoplasto localizado en la terminación del organismo.

Las especies del género *Crithidia* y los tripanosomas en la fase evolutiva de epimastigotes se parecen mucho a las *Leptomonas*, excepto en que el flagelo libre se interna hacia la parte posterior del cuerpo del protozooario, formando una membrana

ondulante marginal y termina en el cinetoplasto, el cual esta situado en posición anterior al núcleo.

Todos los miembros de la familia *Trypanosomatidae* se multiplican por fisión binaria longitudinal.

2.1.3 PARÁSITOS DEL GÉNERO *LEISHMANIA*.

El género *Leishmania* comprende flagelados que se presentan como Leishmanias (amastigotes) en los vertebrados, y Leptomonas (promastigotes) en invertebrados y en cultivo.

2.1.3.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

REINO:..... ***PROTISTA.***
SUBREINO:..... ***PROTOZOA.***
PHYLUM:***SARCOMASTIGOPHORA.***
SUBPHYLUM:***MASTIGOPHORA.***
CLASE:***ZOOMASTIGOPHOREA.***
ORDEN:***KINETOPLASTIDA.***
SUBORDEN:***TRYPANOSOMATINA.***

Rioux y otros autores, clasificaron las especies del viejo mundo con base en el análisis numérico de las enzimas en zimodemos. Kreutzer y otros investigadores, basados en los mismos estudios isoenzimáticos, calcularon la distancia genética de las especies del nuevo mundo.

En el género *Leishmania* se han separado 2 subgéneros: *Leishmania* y *Viannia*, cada subgénero comprende varios complejos separados por características bioquímicas y moleculares. Las principales especies que afectan al ser humano se clasifican así:

GÉNERO:*LEISHMANIA*.

SUBGÉNERO:*LEISHMANIA*.

1. COMPLEJO:*LEISHMANIA DONOVANI*.

ESPECIES:*LEISHMANIA DONOVANI*

LEISHMANIA INFANTUM.

LEISHMANIA CHAGASI.

2. COMPLEJO:*LEISHMANIA TROPICA.*

ESPECIE:*LEISHMANIA TROPICA.*

LEISHMANIA MAJOR.

LEISHMANIA AETHIOPICA.

LEISHMANIA KILLICKI.

3. COMPLEJO:*LEISHMANIA MEXICANA.*

ESPECIES:*LEISHMANIA MEXICANA.*

LEISHMANIA AMAZONENSIS.

LEISHMANIA GARNHAMI.

LEISHMANIA PIFANOI.

LEISHMANIA VENEZUELENSIS.

SUBGÉNERO:*VIANNIA.*

1. COMPLEJO:*LEISHMANIA BRAZILIENSIS.*

ESPECIES:*LEISHMANIA BRAZILIENSIS.*

LEISHMANIA PANAMENSIS.

LEISHMANIA GUYANENSIS.

LEISHMANIA PERUVIANA.

LEISHMANIA COLOMBIENSIS.

LEISHMANIA EQUATORENSIS.

LEISHMANIA LIANSONI.

LEISHMANIA NAIFFI.

LEISHMANIA SHAWI.

2.1.3.2 MORFOLOGÍA DEL PARÁSITO.

En el huésped vertebrado, la leishmania típica es un pequeño protozooario oval, de 2 a 6 micras de largo por 1 a 3 micras de ancho; no tiene flagelo ni membrana ondulante. Hacia el extremo posterior se encuentra un núcleo vesiculoso oval con una membrana delicada, cromatina submembranosa y cariosoma central. Por delante del núcleo y cerca de él, hay un cinetoplasto en forma de bastoncillo, de tamaño variable, que contiene el cuerpo parabasal, el rizoplasto y un bleferoplasto puntiforme. Tanto el núcleo como el cinetoplasto contienen ácido desoxirribonucleico. En el cinetoplasto se encuentran mitocondrias, vacuolas y gránulos basófilos. En los cultivos o en el invertebrado los parásitos pueden ser leishmanias, leptomonas típicas o variedades intermedias (Ver Anexo 5).

Las leptomonas, que poseen un largo flagelo anterior, muy delgado, tienen forma variable, desde piriforme hasta muy larga y delgada; miden de 14 hasta 20 micras de largo por 1.5 a 4 micras de ancho.

El flagelado, tiene un metabolismo más alto que la leishmania, y utiliza carbohidratos, sobre todo dextrosa; en su respiración aeróbica. En los cultivos, el consumo de oxígeno y las actividades metabólicas dependen de la existencia de dextrosa en el medio. Absorbe alimentos de los tejidos del huésped.

La reproducción tiene lugar por fisión binaria longitudinal, tanto en las leishmanias como en los flagelados; el blefaroplasto hijo forma un nuevo flagelo. Los parásitos

mueren inmediatamente a 45° C, pero pueden sobrevivir varios años a 70° C, se han podido cultivar las leishmanias en medios carentes de células, en cultivos de tejidos y embriones de pollos.

2.1.4 GENERALIDADES DE LOS INVERTEBRADOS.

Bajo este nombre se han incluido de manera tradicional todos aquellos grupos animales que tienen en común carecer de columna vertebral, a diferencia de los vertebrados que si cuentan con una característicamente.

Los invertebrados constituyen el grupo de animales pluricelulares más primitivo, lo que supone un menor desarrollo de los sistemas de nutrición (aparato digestivo, circulación...) y de relación (sistema nervioso, órganos de los sentidos)

A pesar de no poseer columna vertebral, estos organismos presentan otras estructuras esqueléticas que les sirven de protección y de sostén.

Dentro de los invertebrados se encuentra un grupo muy importante de organismos que son: los insectos; existe una gran variedad de ellos, pero todos tienen la misma estructura y anatomía.

Poseen un exoesqueleto de quitina de gran dureza, que les obliga a experimentar una serie de mudas en su crecimiento, en las que el caparazón se rompe y el animal aumenta su volumen corporal.

En los insectos hemimetábolos, el animal no sufre a lo largo de su ciclo de vida ninguna transformación profunda, pero en los holometábolos, la larva debe atravesar una fase de pupa, en la que su estructura cambia totalmente para originar el adulto.

El vuelo de los insectos requiere de potentes músculos que se insertan en el tórax y se disponen de forma longitudinal y transversal.

Los insectos respiran por medio de traqueas, finos tubos que se ramifican en el interior del cuerpo y llevan el oxígeno directamente a las células. Ciertos insectos bombean aire moviendo el abdomen.

El aparato bucal puede ser masticador o chupador. Otros como los mosquitos tienen las piezas bucales adaptadas para picar.

Los mosquitos son insectos pertenecientes al orden de los dípteros, esto es, insectos con solo dos alas; en muchas especies las hembras viven de la sangre que absorben de los mamíferos y de esta forma pueden transmitir enfermedades como la Leishmaniosis.

2.1.5 AGENTE TRANSMISOR DE LA LEISHMANIOSIS.

2.1.5.1 MORFOLOGÍA DEL VECTOR.

La transmisión del parásito desde el animal hacia el hombre se hace por picadura de la hembra del género *Lutzomyia*, que tiene los promastigotes infectantes en su aparato picador. Por la subfamilia a la que pertenecen se les conoce con los nombres genérico de flebotomíneos o flebótomos.

Los pequeños mosquitos son de considerable importancia en salud pública por que sirven como vectores de los agentes etiológicos de la Leishmaniosis, Bartonelosis y alguna Arbovirosis.

Son insectos dípteros, oscuros o a veces de color gris amarillento o amarillo pálido, muy pequeños, semejantes en tamaño al de una polilla, miden aproximadamente entre 2 a 5 milímetros de longitud, son de aspecto frágil, jorobados, tienen el cuerpo cubierto

por pelos, así como también las alas, las cuales son antenas largas y delgadas y que en estado de reposo las mantiene en posición erecta; la probóscide o trompa es más larga que la cabeza, las patas son igualmente largas peludas y muy delgadas (Ver Anexo 6).

El género más importante es *Lutzomyia*. Los ambientes en los que los flebótomos viven son variables, ocupando todo un espectro ecológico entre desiertos y selvas tropicales.

Los vectores que viven en las selvas tropicales requieren nichos ecológicos con un alto grado de humedad atmosférica y temperatura un poco más fresca que el medio ambiente que los rodea; generalmente son lugares en regiones por debajo de los 1700 metros de altitud sobre el nivel del mar. Este microclima existe en ciertos sitios sombreados y húmedos, como huecos de árboles, socavones de minas, grietas o fisuras, raíces de árboles, nidos de animales, madrigueras o cuevas de animales, hojarasca y chozas cercanas a zonas boscosas en estos mismos sitios se encuentran los animales silvestres que le sirven para alimentarse y que además son los reservorios del parásito.

Las hembras presentan una actividad crepuscular o nocturna, horas en las que busca alimentos que incluyen: jugos de vegetales y sangre de diversos animales, incluido el hombre. El macho solo se alimenta de jugos vegetales y no es hematófago, es decir, los machos son fitófagos y las hembras hematófagas.

Después de su comida de sangre, la hembra utiliza sus componentes para la formación de los huevos. El número de huevos que oviposita la hembra varía de 40 a 70 según especie, tamaño e ingesta sanguínea

Esta oviposición se da en el suelo donde existe materia orgánica con buena humedad, como la hojarasca o las basuras, ya que son ricas en desechos orgánicos, no requiriendo de condiciones acuáticas para el desarrollo de los huevos.

Estos huevos son oscuros y elípticos, son depositados uno a uno o en pequeños lotes. La superficie del huevo tiene surcos y protuberancias que forman patrones típicos de la especie o del complejo de especies, estos surcos funcionan como un plastrón a través del cual hay intercambio de gases.

En el laboratorio los huevos de algunas especies pueden estar latentes hasta 60 días, el desarrollo embrionario es de 4 a 20 días, puede tolerar inmersión pero no sequedad prolongada.

Después de 6 a 12 días, salen de los huevos unas larvas finas, blanquecinas o grisáceas y cabeza oscura, diminutas (0.5 mm. de longitud), previstas de mandíbulas masticadoras, que se alimentan vorazmente de la materia vegetal en descomposición, heces y otros residuos orgánicos.

Los criaderos de las larvas nunca son acuáticos, estas crecen durante 20 a 60 días y pasan por 4 estadios, luego se transforman en pupas que no comen y se desarrollan en un periodo de 7 a 14 días, son de color amarillo claro, forma cilíndrica, con dimensiones de 2 a 3 mm. De cada una sale un macho o una hembra, que tarda en emerger de 6 a 10 días. Las hembras ingieren sangre al cuarto día de emerger de pupa.

Los vectores no pueden volar mucho trayecto, este va de los 200 a 300 metros de distancia, ya que tienen un escaso radio de vuelo, si no sopla el viento permanecen inactivos y pican cerca de su hábitat.

La vida media de estos vectores es corta, va entre los 20 y 30 días, tiempo suficiente para que el parásito se reproduzca y migre a las glándulas salivares de la hembra, lo cual toma alrededor de 7 días.

Para que una especie de *Lutzomyia* se considere buena especie vectora de *Leishmania*, la OMS ha establecido varios criterios, como son:

- a. Picar a los huéspedes reservorios del parásito.
- b. Ser antropofílica, es decir, que habitualmente busque picar a los seres humanos.
- c. Encontrarse naturalmente infectados con la misma especie de *Leishmania* que este causando enfermedad en el hombre.
- d. Permitir la reproducción del parásito en su tubo digestivo.
- e. Transmitir los promastigotes por la picadura.
- f. La distribución geográfica de la especie de *Lutzomyia* debe coincidir con la que tiene la especie de *Leishmania* en el hombre y en los reservorios.

2.1.5.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL VECTOR.

REINO:.....*ANIMAL.*
GRUPO:.....*METAZOARIO.*
RAMA:.....*ARTROPODA.*
CLASE:.....*HEXÁPODA (INSECTA).*
ORDEN:.....*DIPTERA.*
SUB – ORDEN:.....*ORTHORRHAPHA.*
SERIE:.....*NEMATÓCERA.*
FAMILIA:.....*PSICHODIDAE.*
SUBFAMILIA:.....*PHLEBOTOMINAE.*
GÉNERO:.....*PHLEBOTUMUS / LUTZOMYIA / SARGENTOMYA.*

2.1.6 RESERVORIO DE LEISMANIOSIS.

Un reservorio animal es aquel que tiene el parásito en la piel, sangre o vísceras y que sea accesible para que el mosquito lo succione. El reservorio es la fuente de infección para los vectores del foco endémico y llega al ser humano. Algunos de los animales sufren lesiones en las orejas, cola, hocico o en otros sitios, algunas veces

solamente aparece una mancha; también existen reservorios que no presentan la enfermedad.

Existen reservorios primarios los cuales usualmente son mamíferos silvestres, dentro de los cuales tenemos: rata silvestre, perezosos, chucha o zarigüeya, puerco espin, zorros, hormiguero arbóreo y varias especies de ratas espinosas, los que generalmente no muestran signos evidentes de la infección y los amastigotes presentes en la piel o las vísceras son escasos.

Dentro de los reservorios secundarios están incluidos los mamíferos domésticos como son: roedores, caninos, felinos, y equinos como rata domestica, burros, gatos y con mayor importancia los perros. Este último constituye un importante reservorio para la infección humana siendo *Leishmania donovani* la especie que con mayor frecuencia los infecta (Ver Anexo 7).

En perros no se presenta la clara división de los cuadros clínicos de Leishmaniosis cutánea y visceral. Si bien en la especie humana son más raras las alteraciones oculares, estas son relativamente comunes en los perros, descubriéndose conjuntivitis, queratitis, uveítis anterior, blefaritis, reinitis. También se pueden presentar alteraciones cutáneas con caída del pelo. El contacto con lesiones de perros infectados debe evitarse por la posibilidad de transmisión.

2.1.7 CICLO DE VIDA DEL PARÁSITO.

El ciclo vital del protozoo involucra a un invertebrado (vector) y a reservorios mamíferos que pueden ser ratones, coballos, ratas, perros y monos. Los vectores son flebótomos hembras, zoofílicas de la familia *Psychodidae*, que pertenecen a los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia*, transmisores de la enfermedad, los cuales se alimentan primordialmente con sangre de animales pero accidentalmente pueden alimentarse con sangre humana.

Las hembras de esta familia necesitan ingerir sangre para completar la maduración de sus huevos, el tiempo que toma esta para ser infectante es aproximadamente de 8 a 10 días. En la naturaleza, la infección de los vectores es baja, por lo tanto se requiere que piquen repetidas veces, para una transmisión adecuada.

Para el estudio del ciclo biológico podemos partir de un individuo que esta parasitado y que tiene amastigotes en sus células del sistema fagocítico mononuclear; en términos generales podemos decir que la localización de los parásitos en la Leishmaniosis es en estas células, lo que varia de especie a especie es en donde se encuentran las células del sistema fagocítico mononuclear parasitadas.

El ciclo biológico es el mismo independientemente de que sean diferentes especies, la diferencia es la localización de estas células fagocíticas, ya que pueden localizarse ya sea en la piel, vísceras o mucosa.

Dentro de estas células fagocíticas, se reproducen los amastigotes por fisión binaria y después de un tiempo muy variable, pueden producir una úlcera posteriormente conocida como lesión de Leishmaniosis cutánea.

Cuando el parásito tiene preferencia por los tejidos de la región de la mucosa nasofaringea, produce una úlcera cutánea, pero al mismo tiempo migra hacia las mucosas dando origen a la Leishmaniosis mucosa (Leishmaniosis mucocutánea).

En el caso de Leishmaniosis visceral, no hay antecedentes de úlceras cutáneas por que el parásito migra por el torrente sanguíneo hacia las vísceras, especialmente el bazo, la medula osea, los ganglios linfáticos y otros, produciendo Leishmaniosis visceral.

Estos parásitos cuando lo requieren rompen las células que los contienen, quedan libres e invaden otras células, se reproducen en ellas y así se forma un ciclo, pero si en

este momento llega un mosquito, que en el caso de Leishmaniosis, pica a un individuo y le succiona sangre y líquido circulante, con esto se está llevando células parasitadas del sistema fagocítico mononuclear circulantes que en su interior tienen amastigotes o incluso se lleva también amastigotes libres; si en el intestino del mosquito se rompe la célula y quedan libres los amastigotes, se transforman en el siguiente estadio de desarrollo y la forma flagelar o sea el promastigote, ahí se reproduce por fisión binaria longitudinal, algunos migran hacia la porción anterior del aparato digestivo y se localizan en la probóscide o el órgano chupador o picador de los dípteros.

Cuando este pica al hombre le inocula promastigotes, por tanto, la forma infectante para el humano es el promastigote; este queda en el tejido y rápidamente llega una célula de defensa; sin embargo, el promastigote penetra en esa célula y dentro de ella se transforma en amastigote o forma sin flagelo, dentro de ella se reproduce intensamente, rompe la célula y posteriormente se liberan amastigotes penetrando después en otras células (Ver Anexo 8).

2.1.8 LEISHMANIOSIS.

Definición:

Histoparasitosis producida por protozoos del género *Leishmania*, de localización intracelular (macrófagos), caracterizada por lesiones cutáneas, mucosas o viscerales.

La infección corresponde a una antropozoonosis que llega al hombre por la picadura de insectos dípteros infectados con el parásito.

La enfermedad se presenta en muchas zonas del mundo, sin embargo, no todas las enfermedades son las mismas ya que existen diferentes especies del parásito; ejemplo: *Leishmania donovani*, es el agente etiológico de la Leishmaniosis visceral o Kala-azar; *Leishmania tropica*, es responsable de la Leishmaniosis cutánea de oriente o botón de

oriente; *Leishmania braziliensis*, responsable de la Leishmaniosis mucocutánea, y la *Leishmania mexicana*, responsable de una forma muy peculiar de Leishmaniosis cutánea que se circunscribe casi en exclusiva al pabellón auricular o ulcera de los chicleros.

2.1.8.1 TIPOS DE LEISHMANIOSIS.

LEISHMANIOSIS VISCERAL:

Se le conoce también como: Kala-azar (enfermedad negra); “fiebre de muerte”; fiebre “Dum Dum”, esplenomegalia tropical, etc.

Enfermedad crónica generalizada, causada por protozoos intracelulares del género *Leishmania*, la especie más común es *Leishmania chagasi*. La enfermedad se asocia sobre todo con la desnutrición, en zonas rurales, con la presencia de perros.

Se caracteriza por fiebre, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía, anemia, leucopenia, trombocitopenia, emaciación y debilidad progresivas. El cuadro clínico manifiesto, si no es tratado, por lo común culmina en la muerte.

Cuando el jején pica, este parásito entra al cuerpo y migra a la médula ósea, bazo y ganglios linfáticos. Estos parásitos dañan al sistema inmune disminuyendo el número de células que combaten la enfermedad.

LEISHMANIOSIS TEGUMENTARIA AMERICANA.

La enfermedad tegumentaria en las Américas puede manifestarse de tres formas clínicas diferentes que agrupan la forma mucocutánea y la cutánea del Nuevo Mundo; la otra forma es una variedad de la Leishmaniosis cutánea y es llamada Leishmaniosis cutánea atípica o difusa y se atribuye a *Leishmania amazonensis*.

La Leishmaniosis cutánea y mucocutánea es una enfermedad polimorfa de la piel y de las membranas mucosas, es producida por varias especies y subespecies de protozoos del género *Leishmania*; son intracelulares obligados en los seres humanos y otros huéspedes mamíferos. La enfermedad comienza con una pápula que se agranda y típicamente se transforma en úlcera indolora. Las lesiones pueden ser únicas o múltiples y ocasionalmente no ulceradas y difusas. Pueden cicatrizar espontáneamente en el término de semanas o meses o persistir durante un año o más.

En algunas personas, diversas especies parásitas (sobre todo en el Nuevo Mundo), se diseminan y producen lesiones de las mucosas (espundia), incluso años después de que se ha curado la lesión cutánea primaria. Estas secuelas, que afectan a los tejidos nasofaríngeos, se caracterizan por desnutrición tisular progresivas, y a menudo por la presencia de pocos parásitos; pueden ser muy desfigurantes.

La recurrencia de las lesiones cutáneas después de la cura aparente puede observarse en forma de úlceras, pápulas o de nódulos en la úlcera original cicatrizada o muy cerca de ella.

LEISHMANIOSIS CUTÁNEA.

Se le conoce también como: Leishmaniosis cutánea seca o urbana, botón de oriente, botón de Alepo, furúnculo de Jericó, furúnculo de Delhi, botón de Biskra. En América: la espundia, la uta, la úlcera de los chicleros, las bubas brasileñas.

Comienza como una papula en el sitio de entrada del parásito. Hay una reacción inflamatoria con hiperplasia del epitelio y necrosis de la dermis que provoca una o más úlceras cutáneas lo que ocurre en 1 ó 5 días, 6 meses ó años (excepcionalmente) después de la picadura de un flebótomo infectado.

Las úlceras suelen ser circulares pequeñas (<0.25cm) o muy grandes (>30cm) con bordes bien delimitados, adquieren un tinte violáceo, y no son dolorosas; pueden ser elevados y centro papuloso y húmedo, pero puede manifestarse en formas irregulares; los ganglios regionales pueden estar agrandados, talvez, debido, principalmente, a la infección secundaria.

En ciertos casos las lesiones pueden ser vegetativas o verrugosas; pueden aparecer lesiones satélites a partir de una lesión primaria. Según el agente etiológico estas heridas pueden curarse espontáneamente, responder a tratamientos o ser difíciles de tratar con medicamentos.

En la superficie de la úlcera hay un exudado con polimorfonucleares. En el tejido inflamatorio se observa histiocitos conteniendo amastigotos, los cuales están en reproducción, invadiendo otras células, posteriormente la reacción histiocitaria es remplazada por una granulomatosa, con aumento de linfocitos y células plasmáticas, células epiteloideas y células de Langherans; en estas circunstancias, disminuye el número de parásitos y se hace difícil su ubicación. La lesión puede progresar a la cicatrización (Ver Anexo 9).

Sintomatología.

La lesión cutánea típica es la úlcera. Al inicio en el sitio de la picadura e inoculación del parásito, aparece un eritema pruriginoso que evoluciona a pápula y vesícula pustulosa de base indurada, que luego se abre como una pequeña úlcera, la que se cubre de una costra. La lesión inicial puede ser única o múltiple y en ocasiones, las lesiones pueden confluir; estas úlceras de mayor tamaño generalmente tienen bordes netos y edematosos con un color violáceo, son indoloras y cuando se retira la costra que la cubre, se aprecia un fondo granulomatoso grueso, hiperemico, sangrante.

Si la lesión se ha infectado, lo cual es frecuente, se aprecia un exudado blanco amarillento que en ocasiones puede tener mal olor, con dolor local y desarrollo de linfangitis y aumento de los ganglios regionales.

Las zonas de la piel más afectadas son las descubiertas, principalmente cara, miembros superiores e inferiores, respetando sitios anatómicos como las palmas de las manos, planta de los pies y el cuero cabelludo. No todas las lesiones evolucionan a la ulceración; pueden observarse lesiones infiltrativas en placas, nódulos subcutáneos o formaciones vegetantes (verrucomas).

LEISHMANIOSIS MUCOCUTANEA.

También llamada espundia, se manifiesta por la destrucción severa de las membranas nasofaríngeas y por una reacción granulomatosa necronisante y con pocos parásitos; las células inflamatorias más abundantes son las células plasmática y linfáticas.

La destrucción de los tejidos mucosos de la orofaringe conlleva a su vez, a la pérdida de cartílago, mas no la de tejido óseo y esta puede ocurrir simultáneamente con una lesión de Leishmaniosis cutánea, o puede presentarse hasta 24 años después de la infección original. Las lesiones se tornan fagedinizantes, lo cual explica las graves alteraciones funcionales de la respiración, la deglución y las complicaciones pulmonares como las bronconeumonias que suelen ser fatales (Ver Anexo 9).

Sintomatología.

Las lesiones en las mucosas, generalmente se inician en el tabique nasal (tercio inferior o medio) y posteriormente se extienden a los cornetes nasales y las mucosas de la orofaringe y paladar (incluye úvula), laringe y en los casos severos, puede comprometer las cuerdas bucales y la traquea. Al inicio, se aprecian lesiones inflamatorias, hiperhémicas, granulares, poco dolorosas y de escaso sangrado. Cuando

se compromete la mucosa del paladar blando, las lesiones granulomatosas pueden dar una imagen de cruz, denominada “La Cruz de Escobel”. Las lesiones granulomatosas pueden evolucionar a ulceraciones. En casos más avanzados, se puede observar amputación del tabique (tomando una configuración que se ha denominado: nariz de Tapir o huanucode), cornetes o parte del ala de la nariz.

El severo compromiso de la epiglotis, cuerdas vocales y la traquea, conlleva a la pérdida de voz (disfonía), dolor a la deglución de los alimentos (disfagia) y dificultad respiratoria. Los pacientes con compromiso severo y crónico están propensos a infecciones respiratorias interrecurrentes (usualmente espirativas) y a la muerte por complicaciones.

LEISHMANIOSIS CUTÁNEA ATÍPICA O DIFUSA.

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

Esta es una enfermedad crónica recidivante (no existe cura). Todas las lesiones son riquísimas en parásitos. La incidencia de ella es baja, pero se encuentran casos desde México hasta Brasil. Se desconoce su fisiopatogenia, pero se estima que puede ser consecuencia de una deficiencia inmunológica específica.

Hay infiltrado difuso de aspecto nodular del tejido celular subcutáneo, con abundancia de histiocitos conteniendo parásitos, con escasa formación de úlceras o granulomas, y presencia de agrupamiento de linfocitos y células plasmáticas.

Sintomatología.

Existe una insuficiencia inmunitaria específica, las lesiones se manifiestan por infiltraciones difusas de la piel y el tejido celular subcutáneo, dando lugar a

ondulaciones que, cuando se localizan en la cara dan el aspecto de lepromas; en estas lesiones los parásitos son abundantes.

Las lesiones no están aisladas por una pared de linfocitos, como en las lesiones clásicas de bordes elevados, y por este motivo no se ulceran, a no ser que sean traumatizadas. De esta manera los parásitos no están restringidos y pueden dispersarse por la superficie de la piel, particularmente en las partes con temperaturas más bajas. Los agentes etiológicos asociados con estas formas son: *Leishmania amazonensis* y *Leishmania mexicana*

2.1.9 REACCIÓN INMUNOLÓGICA O RESPUESTA DEL HUESPED.

La eliminación de la *Leishmania sp*, exige la participación de células y citocinas de las reacciones inmunitarias innata y adquirida. El macrófago y las células de Langerhans de la piel son los primeros que entran en contacto con la *Leishmania*. Las células del sistema fagocítico mononuclear (macrófagos, células dendríticas, monocitos), a través de diversos receptores que reconocen principalmente a gp63 y LPG, fagocitan el parásito. Ambas moléculas participan en la activación del complemento.

Los receptores que participan en esta fase incluyen: CR1, CR3, CR4, el receptor de fibronectina del macrófago; los parásitos cubiertos con MBL (Lectina de Unión a Mananos) y proteína C reactiva, pueden ser fagocitados por el macrófago mediante su receptor C1q.

Otros dos receptores del macrófago que intervienen en la fagocitosis son el receptor de manosa – fucosa (que reconoce la manosa presente en el LPG) y el receptor Fc de inmunoglobulinas.

El LPG es una estructura molecular del parásito de *Leishmania* y la manosa presente en ella se une al MBL y la proteína C reactiva, esta unión activa el complemento por la vía de las lectinas.

Otros receptores involucrados en la opsonización del parásito son los de tipo TLR – 2 que reconocen LPG y activan genes de citocinas pro inflamatorias (estas son las TNF - α , IL – 12, IL – 1 y moléculas coestimuladoras (B – 7 y CD40) necesarias para la activación de la respuesta inmunitaria adaptativa. La producción temprana de IL – 12 por macrófagos y células de Langerhans, activa a su vez a células destructoras, otro tipo de célula de la reacción inmunitaria innata que interviene en el control de la Leishmaniosis mediante su producción de IFN – gamma y TNF – alfa. Estas dos citocinas son cruciales para activar al macrófago infectado y lo vuelven capaz de eliminar al parásito intracelular.

La fagocitosis induce al estallido oxidativo generando intermediarios de oxígeno reactivos que reaccionan con los fosfolípidos de la membrana del parásito.

Otro mecanismo lesivo lo induce la acidificación del fagolisosoma, que desnaturaliza proteínas y las hace subseptibles a las hidrolasas ácidas. Sin embargo, estos mecanismos requieren una magnificación para poder eliminar con eficacia a *Leishmania*, ya que el parásito desarrolla potentes mecanismos para sobrevivir dentro del fagolisosoma. Esto se logra con la activación del macrófago, en particular las citocinas IFN – gamma y TNF – alfa que liberan las células destructoras durante la fase innata de la respuesta inmunitaria. Además, la secretan Linfocitos T CD4 + y T CD8 + en la fase de reacción inmunitaria adaptativa.

La presencia de IL – 12 favorece la diferenciación de los linfocitos T CD4 hacia células TH1, con la subsecuente producción de IFN – gamma y TNF – alfa, estas citocinas provocan la transcripción del gen de la sintetasa inducible de Óxido Nítrico

(iNOS) en el macrófago y ello activa la producción de Óxido Nítrico (NO), que es sumamente tóxico para *Leishmania*.

En esta parasitosis, el macrófago desempeña una triple función: célula huésped, presentadora de antígenos y célula efectora, con capacidad de eliminar el parásito principalmente mediante su producción de Óxido Nítrico (NO). A diferencia del macrófago, la célula de Langerhans no puede eliminar *Leishmania* por que carece de la capacidad de producir NO; en realidad se considera que estas células favorecen la persistencia del parásito y posibilita una infección latente que reaparece con la inmunosupresión del huésped, sin embargo también desempeña un papel central en la protección, ya que es una potente célula presentadora de antígenos y activadora de la respuesta inmunitaria adaptativa mediante la producción de IL – 12.

2.1.9.1 MECANISMO DEL PARÁSITO QUE CONTRARESTAN LA RESPUESTA DEL HUESPED.

Una vez inoculado en el huésped mamífero, el parásito resiste la destrucción por completo en el torrente sanguíneo a través de cambios estructurales en su LPG ocurridos durante su diferenciación a promastigote metacíclico. Estos cambios generan la formación de un espeso glucocáliz, el cual es impenetrable para el complejo de ataque de membrana C_{5b-9}. Posteriormente, el parásito utiliza el sistema del complemento como mecanismo para lograr su ingreso rápido a una célula huésped. La amplia opsonización inducida sobre la membrana del promastigote favorece su rápida fagocitosis y asegura su supervivencia debido a que ambos receptores CR1 y CR3 no inducen al estallido oxidativo.

La saliva del transmisor también favorece la supervivencia del promastigote metacíclico, que contiene un péptido denominado maxadilán, capaz de suprimir la producción de TNF – alfa y NO en el macrófago.

Después de que se fagocita, el promastigote se endocita en un fagosoma llamado vacuola parasitófora que se fusiona con el lisosoma y produce el fagolisosoma. También en este ambiente inhóspito, rico en hidrolasas y pH ácido, el parásito logra sobrevivir mediante su transformación de promastigote a amastigote con disminución de su LPG y expresión de otros glucoconjugados que contienen fosfogluucanos.

El amastigote sobrevive en el fagolisosoma debido a su metaloproteasa gp 63, cuya máxima actividad proteolítica ocurre a un pH ácido y puede degradar enzimas lisosomales. También el LPG protege al amastigote de la degradación debido a su naturaleza aniónica y sus uniones características de galactosa – beta 1, 4 manosa que forman una barrera protectora.

Las unidades repetidas del LPG también interfieren con muchas funciones celulares mediante su capacidad de unir el calcio cerca de sus grupos fosfatos. Dicha actividad quelante, del calcio lleva a un defecto de transducción de señales y una activación deficiente de la proteína cinasa – C (PKC), la cual juega un papel relevante en la generación del estallido oxidativo del macrófago.

El LPG puede así mismo inhibir de modo directo a la PKC y se une a su dominio regulador o evita su inserción en la membrana. De esta manera, *Leishmania* bloquea con eficacia la generación del estallido oxidativo en el macrófago.

Leishmania también tiene la capacidad de inhibir la producción de IL – 12 y TNF – alfa, y estimular la producción de IL – 10 y TGF – beta en el macrófago, lo cual anula la expresión de iNOS y NO y limita la capacidad leishmanisida del macrófago. Estas alteraciones interfieren con la presentación eficaz de antígenos y activación de la respuesta inmunitaria celular adquirida por el macrófago.

En resumen mediante diversos mecanismos *Leishmania* inhibe más del 40 % de los genes del macrófago, y el efecto es una limitación acentuada del macrófago en sus funciones como célula efectora y capacidad de presentación de antígenos.

2.1.10 TRATAMIENTO.

En las zonas de endemia cuando las lesiones no se encuentran sobre la cara, puede ser mejor esperar a que el paciente desarrolle inmunidad; pero en otros lugares puede iniciarse el tratamiento de inmediato. Si solo hay una úlcera, o si son pocas el tratamiento local suele bastar.

En todas las formas de Leishmaniosis, el medicamento de elección es el antimonio pentavalente aplicado por vía parenteral. La preparación comercial del producto se consigue como sales de antimonio. La sal más conocida en los países americanos es el antimoniato de Meglumina (Glucatime) y el Estibogluconato de antimonio y sodio.

Ambos medicamentos se desarrollaron a principio de 1950 y todavía son los fármacos de elección para todas las formas clínicas. La dosis aplicable es de 20 mg de antimonio por kilogramo de peso por día durante 20 días (Según la recomendación de la OMS). El tratamiento puede repetirse a intervalo de 15 días hasta 3 veces; la aplicación de antimonio de Meglumina en forma intralesional, aunada a la aplicación parenteral, ha ofrecido buenos resultados.

Un nuevo estudio ha revelado que la Miltefosine aplicada por vía oral parece una excelente alternativa. Los fármacos empleados en caso de resistencia al Antimonio de Meglumina son: Anfotericina y Pentamidina.

Debido a la susceptibilidad del parásito al calor, se ha logrado éxito terapéutico con diversas formas de termoterapia aplicadas sobre la lesión.

Tratar la enfermedad de Leishmaniosis es problemático, debido a que los medicamentos disponibles exigen administración parenteral repetida, no son efectivos en todos los casos y la mayoría se relaciona con efectos tóxicos colaterales.

La tolerancia suele ser mejor en los niños que en los adultos. Si hay daño de la función renal, este es mal tolerado y con mayor riesgo de toxicidad; los efectos secundarios más frecuentes son: anorexia, malestar general, mialgias, dolor lumbar muy acentuado que algunas veces impide caminar normalmente, cefalea, náuseas, vómitos y dolor en el sitio de la aplicación.

La aplicación o la medicación debe hacerse con sumo cuidado en personas mayores de 60 años a las cuales se les realiza un electrocardiograma antes de iniciar el tratamiento; los antimoniales están contraindicados en: pacientes con alergia severa al antimonio, embarazadas, en casos de tuberculosis, neumonía y en niños menores de 18 meses. El manejo debe ser muy controlado cuando existen alteraciones cardíacas, hepáticas o renales antes de iniciar el tratamiento.

2.1.11 PREVENCIÓN.

En la Leishmaniosis es difícil hacer una prevención completa, debido a los hábitos del vector que son casi siempre extradomiciliarios y a las condiciones del trabajo de las personas susceptibles de la infección, tanto por las condiciones del clima como por las costumbres de las comunidades.

La transmisión puede ocurrir dentro o en los alrededores de la casa o bien en las selvas; además, los reservorios pueden ser otros individuos infectados o animales mamíferos domésticos o salvajes.

Las medidas de protección individual para reducir el contacto con los vectores, son el uso de ropa que cubra las partes expuestas a la picadura del vector o la aplicación de repelentes en la piel o vestidos, estas medidas no son bien aceptadas por las personas y esto se debe al clima de la región, y a la incomodidad para el trabajo o a la falta de costumbre. Esta bien establecido que el uso de repelentes sobre la piel o la ropa reduce la picadura de los vectores.

Para la protección de las picaduras intradomiciliarias se recomiendan algunas medidas de prevención en las viviendas como: colocar mallas finas en las puertas y ventanas, el uso de mosquiteros impregnados con algún insecticida, principalmente deltametrina y la aplicación de insecticidas por fumigaciones en las viviendas; esto es muy recomendado en aquellas áreas bastante endémicas.

Estas medidas son útiles cuando hay invasión de vectores en las casas pero hay que tener en cuenta que la mayoría de las infecciones se adquieren en el peri domicilio o en los sitios de trabajo, en las zonas boscosas y durante las horas vespertinas y nocturnas.

En relación con las medidas generales de control se puede concluir que no existe una medida única eficaz para impedir la transmisión y por lo tanto se deben recurrir a varios métodos que se complementen para prevenir la infección, tanto de tipo individual como ambiental, además de establecer programas de educación comunitaria para el control en las viviendas, disposición de basuras y la atención medica precoz.

Las vacunas son objeto de investigación científica en varios países, pero todavía no se dispone de ellas para aplicarlas en las comunidades.

2.1.12 DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

Se conocen pruebas de búsqueda dentro de los cuales se tienen:

- Pruebas Parasitológicas: observación del parásito
- Pruebas Serológicas: detección de anticuerpos circulantes contra *Leishmania*
- Pruebas Inmunológicas: respuesta inmune celular

2.1.12.1 PRUEBAS PARASITOLÓGICAS.

FROTIS (PRUEBA DIRECTA).

Tipos de muestra para el frotis.

Pueden emplearse diferentes tipos de muestra tales como: material obtenido por raspado de las paredes de un corte de unos dos centímetros, paralelo a la lesión y por fuera de ella o aspirado de los bordes indurados de la ulcera (Leishmaniosis cutánea), aspirado de medula osea o de otros órganos (hepático, ganglionar y en raras ocasiones esplénico) (Leishmaniosis visceral), recobrado de pacientes o de material post-mortem; y biopsia de tejidos.

La mejor muestra es aquella rica en linfa, con abundantes histiocitos o macrófagos y sin sangre, gérmenes o mucus que impidan una buena observación.

La muestra puede obtenerse ya sea utilizando hoja de bisturí, espátula, mondadiente o por aspiración con aguja hipodérmica o micropipeta.

Cuando se trata de una medula osea, se debe extender el aspirado en varios portaobjetos, como si fuera un extendido fino para malaria.

Si es un fragmento de tejido o biopsia, se hacen varias improntas sobre un portaobjetos.

Frotis de material obtenido por raspado de la Lesión.

El frotis es uno de los procedimientos o métodos más empleados en laboratorio para analizar microscópicamente muestras de tejido, úlceras, secreciones, etc.

A partir del material que se ha obtenido mediante el raspado de la lesión, se procede a preparar el frotis, colocando varias improntas en un portaobjetos limpio y seco, se preparan 2 a 3 laminas, con el fin de incrementar las probabilidades de encontrar parásitos, se deja secar y se procede a realizar la coloración.

Ventajas.

Es un método rápido, de bajo costo, alta sensibilidad y especificidad del 100 %. En las lesiones iniciales o recientes, sin contaminación bacteriana, se obtiene mayor éxito, puesto que es posible obtener una muestra de aspecto granular, con células del tejido (histiocitos o macrófagos), con muy poca sangre y en donde la coloración muestra con facilidad los amastigotes intra o extracelulares.

El frotis es el método de elección para el diagnóstico confirmatorio de la Leishmaniosis cutánea, por la facilidad de la toma de la muestra a nivel de campo por parte del personal de atención primaria de salud.

Desventajas.

A pesar de que el método tiene una alta sensibilidad, es variable, puesto que depende de diversos factores como: el tipo de muestra obtenida, una buena coloración y la experiencia que tenga el observador.

En las úlceras muy crónicas, fibroticas o altamente contaminadas, es más difícil el hallazgo del parásito.

Se considera que la muestra obtenida del centro de la lesión, es poco eficiente para hacer un buen diagnóstico.

La abundancia de sangre indica que la muestra no es ideal y se enmascara el diagnóstico.

En Leishmaniosis mucocutánea, el frotis no es muy utilizado, dado que la sensibilidad diagnóstica se reduce, debido a que el número de parásitos en las lesiones mucosas es muy bajo; la obtención de la muestra implica entonces, obtener una biopsia por un especialista.

COLORACIÓN.

Para teñir el frotis puede usarse la técnica de Wright, Giemsa u otro colorante para células sanguíneas; sin embargo el método de Giemsa es el método más recomendable.

MEDIO DE CULTIVO BIFÁSICO A BASE DE AGAR – SANGRE NNN (*NOVY-NICOLLE-McNEAL*).

Tipos de muestra.

Existe material obtenido de pacientes que se puede inocular como lo son: la sangre, aspirado de medula ósea, tejido, aspirado de los tejidos lesionados o ulcerados, raspados o biopsia, la cual debe triturarse antes de la inoculación al medio de cultivo.

Ventajas.

Es un medio que se utiliza por ser más sensible que el frotis, pues permite la multiplicación de los amastigotes de *Leishmania* spp; y conocer las características de cada fase del parásito cuando se presentan los dos estadios.

Es también utilizado para la preparación de antígeno; por la escases del parásito en la Leishmaniosis mucocutánea es de mucho valor para el diagnostico ya que no se necesitan grandes cantidades para su cultivo y en las lesiones de corta evolución, no contaminadas y las de tipo difuso se encuentran fácilmente los parásitos.

Desventajas.

Preparar y examinar el medio de cultivo es un método bastante complejo y costoso en el que pueden existir riesgos como: contaminación del medio, una mala asepsia a la hora de tomar la muestra; falta de personal capacitado para una buena toma de muestra, como también el tiempo ya que se complica el hecho de esperar varios días para dar un reporte de los resultados.

Si las lesiones están contaminadas o no se tienen precauciones en la toma de las muestras los cultivos se pierden por el crecimiento de bacterias u hongos; debido a la gran variedad de especies del parásito de *Leishmania* sp es de no olvidar que existen algunas cuyo crecimiento de la fase de promastigote varia mucho ya que no crecen bien o no crecen del todo.

OTROS MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS PARA EL CRECIMIENTO DEL PARÁSITO.

- Medio de Cultivo Senejkie's (Seneca's)
- Drosophila de SCHNEIDER.
- EVANS (medio solidó) como sobrenadante el medio de SCHNEIDER.
- Nakamura y Diamon.

XENODIAGNOSTICO.

Consiste en la inoculación del aspirado de la lesión en animales susceptibles (Hámster, ratón) y permite recuperar e identificar el parásito. El desarrollo de la lesión puede tardar varios meses.

2.1.12.2 PRUEBAS INMUNOLÓGICAS.

INTRADERMOREACCIÓN DE MONTENEGRO. (PRUEBA INDIRECTA).

La intradermoreacción de Montenegro o prueba de Leishmanina, es una prueba de hipersensibilidad celular tardía a antígenos de *Leishmania*.

Consiste en la inoculación intradérmica, de una suspensión de promastigotes de *Leishmania* procedentes de cultivo. La lectura o interpretación de la prueba se realiza a las 48 a 72 horas después de aplicada.

Falsos Positivos.

En la enfermedad del Chagas, esto probablemente al hecho de que ambos parásitos pertenecen a la misma familia y comparten algunos de los epitopos antigénicos.

Falsos Negativos.

En la infección causada por algunas especies de *Leishmania*, la prueba cutánea es negativa por el estado anérgico; esto también Leishmaniosis visceral avanzada, por el deterioro de la inmunidad celular.

Pacientes inmunosuprimidos (SIDA), puesto que no hay desarrollo de hipersensibilidad a la prueba.

En una buena proporción desaparece la positividad después de un tiempo de la curación completa.

2.1.12.3 PRUEBAS SEROLOGICAS ESPECIALES.

- **Inmunofluorescencia indirecta (IFI).**

Es un método semicuantitativo que establece la presencia de anticuerpos anti-*Leishmania*.

- **ELISA o análisis inmunoenzimático.**

- **Dot - ELISA.**

- **Hemaglutinación indirecta.**

Estos son métodos cuantitativos que permiten detectar inmunoglobulinas específicas, el nivel y el isótopo de anticuerpos presentes. Los pacientes con Leishmaniosis cutánea difusa cursan con una hiperganmaglobulinemia con títulos muy elevados de IgG e IgM.

- **Inmunoelectrotransferencia (Wester Blot):**
Identifica de modo adicional antígenos específicos.

- **PCR en muestras obtenidas de lesión:**

A nivel molecular, la detección del DNA del parásito en tejidos mediante reacción en cadena de la polimerasa con oligonucleotidos específicos del género, y la especie es útil cuando hay escasos parásitos en las lesiones y además se determina un diagnóstico específico de la especie.

2.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

Anemia: Trastorno que se caracteriza por la disminución de la hemoglobina sanguínea hasta concentraciones inferiores a los límites normales. Según la clasificación fisiopatológica, la anemia es la consecuencia de tres procesos fundamentales: disminución de la producción de la hemoglobina o de hematíes, aumento de la destrucción de hematíes o pérdida de sangre.

Antígeno: Sustancia, generalmente proteica que da lugar a la formación de un anticuerpo con el que reacciona específicamente.

Anticuerpo: Inmunoglobulina esencial en el sistema inmunitario, producida por el tejido linfóide en respuesta a bacterias, virus u otras sustancias antigénicas. Cada anticuerpo es específico para un antígeno y cada uno se denomina según su acción.

Antropozoonosis: Enfermedad que se transmite de un reservorio animal a un huésped humano.

Biopsia: Extirpación de un pequeño fragmento de tejido vivo de un órgano u otra parte del cuerpo para su examen microscópico a fin de confirmar o establecer un diagnóstico, estimar un pronóstico o seguir la evolución de una enfermedad. Los tipos de biopsia son: biopsia por aspiración, por punción y la biopsia artificial.

Biopsia con aguja: Obtención de una muestra de tejido vivo para su examen microscópico mediante la introducción de una aguja a través de la piel o la superficie de un órgano o tumor; después se hace girar en el interior de la masa celular.

Blefaritis: Enfermedad inflamatoria de los folículos de la pestañas y de las glándulas del Meibomio de los párpados que se caracteriza por hinchazón, enrojecimiento y formación de costras de moco desecado.

Bronconeumonía: Inflamación aguda de los bronquiolos y pulmones que se caracteriza por escalofríos, fiebre, taquicardia, estertores respiratorios, respiración bronquial, tos con esputo purulento y sanguinolento, dolor torácico intenso y distensión abdominal.

Cilio: Párpados o pestañas. Pequeños procesos en forma de pelo situados en las superficies externas de algunas células, que ayudan al metabolismo produciendo movimiento, remolinos o corrientes en un líquido.

Cloroplasto: Orgánulo celular característico de ciertos organismos autótrofos, cuya función principal estriba en su participación en la fotosíntesis.

Conjuntivitis: Inflamación conjuntival causada por bacterias, virus, alérgenos o factores ambientales. Se caracteriza por enrojecimiento de los ojos, secreción espesa, párpados pegajosos por las mañanas e inflamación indolora.

Cutánea, prueba: Prueba para determinar la reacción de un organismo frente a una sustancia observando las alteraciones producidas tras su inyección intradérmica o su aplicación tópica sobre la piel. Se emplean para detectar alérgenos, determinar el grado de inmunidad y diagnosticar ciertas enfermedades.

Díptero: Cada uno de los componentes del orden dípteros de insectos pterigógenos holometábolos, con sólo un par de alas membranosas y aparato bucal picador y chupador. Las alas posteriores están representadas por unos órganos sensitivos. Comprenden mosquitos y moscas.

Edema: Acúmulo anormal de líquido en los espacios intersticiales, sacos pericárdico, espacio intrapleural, cavidad peritoneal o cápsulas articulares.

Emaciación: Proceso de deterioro caracterizado por pérdida de peso y disminución de la energía física, el apetito y la actividad mental.

Eritema: Enrojecimiento o inflamación de la piel o las membranas mucosas como resultado de la dilatación o congestión de los capilares superficiales.

Espundia: Forma cutánea de Leishmaniosis americana, más frecuente en Brasil, producida por *Leishmania braziliensis*.

Exoesqueleto: Esqueleto externo, segregado por el ectodermo o por la epidermis.

Exudado: Líquido, células u otras sustancias que se han eliminado lentamente de las células o vasos sanguíneos a través de pequeños poros o roturas en las membranas celulares. La transpiración es considerada para algunos como un exudado.

Fibrosis: Proliferación del tejido conectivo fibroso. El proceso es normal durante la formación de la cicatriz para sustituir el tejido que se perdió por traumatismo o infección.

Filiforme: Que tiene forma o apariencia de hilo.

Fisión binaria: División directa de una célula o un núcleo en dos partes iguales. Es la forma habitual de reproducción asexual de bacterias, protozoos y otras formas inferiores de vida.

Fitófago: Dícese el organismo heterótrofo que se alimenta de sustancias vegetales.

Granuloma: Masa de tejido de granulación nodular, producido como consecuencia de un estado inflamatorio, una lesión o una infección crónica.

Hemimetábolo: Dícese de los insectos en cuyo desarrollo larvario se realizan metamorfosis sencillas, de forma que el aspecto de la larva suele ser análogo al adulto, al que sólo le faltan las alas.

Hematófago: Dícese de todo animal que se alimenta de sangre. Las hembras presentan un aparato bucal adaptado para cortar la piel de las presas y para succionar su líquido hemático.

Hepatomegalia: Aumento del tamaño del hígado que suele deberse a una enfermedad del mismo.

Hiperemia: Aumento de la cantidad de sangre presente en una parte del cuerpo que puede deberse a aumento del flujo sanguíneo, como ocurre en la inflamación, la dilatación arteriolar local o la obstrucción del drenaje del área.

Jején: Díptero propio de América, de tamaño inferior al del mosquito y de picadura más irritante.

Hiperplasia: Aumento del número de células.

Holometábolo: Dícese de los insectos en cuyo desarrollo larvario tienen lugar metamorfosis complejas, sucediéndose al menos tres estados distintos: larva, pupa e imago o adulto, los dos primeros desprovistos de alas.

Leishmania: Género de protozoos parásitos que producen la Leishmaniosis en el hombre al ser inoculados por flebótomo intermedios.

Leishmaniosis: Infección producida por cualquiera de las especies del género *Leishmania*. Puede ser cutánea o visceral.

Lepra: Enfermedad crónica transmisible, producida por *Mycobacterium leprae* que adopta dos formas dependiendo del grado de inmunidad del paciente.

Lepra lepromatosa: Enfermedad que afecta gran número de sistemas corporales, con placas amplias, nódulos en la piel, irritis, queratitis, destrucción del hueso y cartílagos nasales, atrofia testicular, edema periférico y afectación del sistema reticuloendotelial.

Leucopenia: Disminución anormal del número de glóbulos blancos, por debajo de 5,000 por milímetro cúbico.

Linfangitis: Inflamación de uno o más vasos linfáticos que por lo general se debe a una infección estreptocócica aguda de una de las extremidades.

Macrófago: Célula fagocítica del sistema reticuloendotelial como las células de Kupffer del hígado, los esplenocitos del bazo y los histiocitos del tejido conjuntivo laxo.

Monocito: Célula del sistema retículo-endotelial, presente en la sangre normal con carácter fagocítico, que se supone precursora de los macrófagos.

Mononuclear: De un solo núcleo.

Mucocutánea: Relacionado con las mucosas y la piel.

Necrosis: Muerte de una porción de tejido consecutiva a enfermedad o lesión.

Nódulo: Estructura de pequeño tamaño semejante a un nodo.

Pápula: Lesión cutánea pequeña, sólida, acuminada y con un diámetro menor a un centímetro, como las lesiones del liquen plano y del acné no pustuloso.

Polimorfo: Que adopta varias formas distintas, posiblemente por cambio estructural o morfológico en distintos estadios.

Probóscide: Aparato chupador de algunos insectos: ejemplo la trompa de la mariposa.

Prueba intradérmica: Procedimiento utilizado para la detección de alérgenos, mediante la inyección subcutánea de pequeñas cantidades del alérgeno sospechado.

Pústula: Excrescencia pequeña y circunscrita de la piel que contiene líquido, habitualmente purulento.

Queratitis: Inflamación de la córnea existiendo varios tipos como son: queratitis dendríticas, intersticial, queratoconjuntivitis seca y tracoma.

Quiste: Saco cerrado situado en el interior de la piel, revestido de epitelio y que contiene líquido o materia semisólida, como un quiste sebáceo.

Quitina: sustancia orgánico nitrogenada en la cutícula e los insectos y otros animales reticulados, en muchos hongos y bacterias,

Reservorio de infección: Fuente continúa de una enfermedad infecciosa. Tanto las personas como los animales y las plantas pueden actuar como tales.

Rizópodo: Clase de protozoos de citoplasma desnudo que les permite un movimiento por seudópodos, utilizados en la locomoción y en la captura de alimentos.

Serología: Rama de la bioquímica clínica que estudia el suero en busca de los signos de infección mediante la evaluación de reacciones antígeno-anticuerpo in vitro.

Seudópodos: Expansión del citoplasma y de los rizópodos y de las células ameboides de los metazoos, que sirve para la locomoción y captura de partículas.

Subcutáneo: Que está por de bajo de la piel.

Trófico: Sufijo que significa “referente a un tipo de nutrición o requerimiento nutricional”.

Trombocitopenia: Situación hematológica anormal en el que el número de plaquetas está disminuido, debido a destrucción de tejido eritrocítico en la medula ósea, por ciertas enfermedades neoplásicas o por respuesta inmunológicas a un medicamento.

Úlcera: Lesión en forma de cráter, circunscrita, que afecta a la piel o mucosas. Consecutiva a la necrosis que acompaña a ciertos procesos inflamatorios, infecciosos o malignos.

Uveítis: Inflamación del tracto uveal. Se caracteriza por pupila deformada, inflamación pericorneal, pus en la cámara anterior del ojo depósitos opacos en la córnea, dolor y lagrimeo.

Úvula: Pequeña eminencia carnosa que cuelga del borde posterior del paladar blando, en la línea media.

Vector: Portador capaz de transmitir una enfermedad. Los vectores biológicos suelen ser artrópodos en los cuales el organismo infectante completa parte de su ciclo vital.

Vesícula: Lesión de la piel consistente en una pequeña colección de líquido seroso contenida entre los espacios intercelulares de la epidermis y recubierta por una fina membrana.

CAPÍTULO III
SISTEMA DE HIPÓTESIS

3. SISTEMA DE HIPÓTESIS.

3.1 HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Hi 1. Las lesiones encontradas en la piel de los individuos que residen en los caseríos Casa Blanca, Volcancillo, Rancho Quemado y La Joya, municipio de Perquin departamento de Morazán corresponden a la variante de Leishmaniosis cutánea.

Hi 2. Las lesiones encontradas en la piel de los individuos que residen en los caseríos, Casa Blanca, Volcancillo, Rancho Quemado y La Joya municipio de Perquin departamento de Morazán corresponden a la variante de Leishmaniosis mucocutánea.

3.2 HIPÓTESIS NULAS.

Ho1. Los individuos estudiados en los caseríos del municipio de Perquín, departamento de Morazán no presentan en su piel lesiones que correspondan a Leishmaniosis cutánea.

Ho2. Los individuos estudiados en los caseríos del municipio de Perquín, departamento de Morazán no presentan en su piel lesiones que correspondan a Leishmaniosis mucocutánea.

3.3 HIPÓTESIS ALTERNA.

Ha. La población de los caseríos estudiados presentan con mayor frecuencia lesiones de piel características a Leishmaniosis cutánea que a Leishmaniosis mucocutánea.

3.4 DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL DE LAS VARIABLES. VARIABLES:

Lesiones en la piel de los individuos

Leishmaniosis cutánea.
Leishmaniosis mucocutánea.



DEFINICIÓN CONCEPTUAL.

Lesiones de la piel: Son alteraciones visibles de los tejidos de la piel que pueden aparecer en forma de ulcera o de erupción, se caracterizan por que carecen de sensibilidad, pueden ser de tamaño variable y de bordes irregulares o bien definidos y además presentan un halo claro que permite diferenciarlas de otras lesiones.

Leishmaniosis cutánea: Enfermedad dermatológica causada por parásitos del género *Leishmania* y que se caracteriza por lesiones ulcerativas en la piel.

Leishmaniosis mucocutánea: Infección mucocutánea originada por distintas especies de *Leishmania* y que se caracteriza por lesiones ulcerosas desfigurantes en la nariz, boca y garganta.



DEFINICIÓN OPERACIONAL.

- Guía de observación para la clasificación de cada una de las lesiones.

- Prueba de Leishmanina.
- Obtención de material por raspado de de la lesión.
- Realización del frotis o impronta.
- Obtención de material para cultivo por medio del aspirado de la lesión de la piel.
- Inoculación del medio de cultivo NNN (Novy-Nicolle-McNeal)
- Coloración del material del raspado por la técnica de Giemsa.
- Observación microscópica del material obtenido.
- Montaje directo del medio de cultivo.

CAPÍTULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO

4. DISEÑO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN

4.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN O ESTUDIO.

Según el tiempo de ocurrencia de los hechos y registro de la información; la investigación es:

Según el periodo y la secuencia del estudio, este es:

Transversal, ya que las variantes de Leishmaniosis cutánea y mucocutánea, se estudiaron simultáneamente, en un período de tiempo establecido de julio a septiembre de 2007.

Según el análisis y alcance de los resultados es:

Descriptivo, Debido a que se estudió detalladamente cada una de las lesiones en la piel sugestivas a Leishmaniosis cutánea y/o mucocutánea, se realizó la toma de muestra y se analizaron las láminas y medios de cultivo inoculados en busca del parásito.

De laboratorio, Puesto que se inició con la recolección de la muestra de piel lesionada y su posterior procesamiento y análisis en el laboratorio, con su respectivo control de calidad en el Laboratorio Central “Dr. Max Bloch” del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

4.2 POBLACIÓN.

Estuvo conformada por las personas que residen en los caseríos: Casa Blanca, que cuenta con 70 viviendas y 348 pobladores; Volcancillo con 38 viviendas y 194 pobladores; Rancho Quemado, 118 viviendas y 527 pobladores y La Joya 29 viviendas y 162 pobladores. Todos en área rural del municipio de Perquin departamento de Morazán.

4.3 MUESTRA.

Estuvo conformada por los pobladores con lesiones en la piel sugestivas a Leishmaniosis cutánea y/o mucocutánea y que residen en los caseríos antes mencionados, sin importar el sexo ni la edad de dichos pobladores previamente seleccionados.

4.4 TIPO DE MUESTREO.

Es **no probabilístico por conveniencia**, es decir, que no está basado en la teoría de las probabilidades, si no que se tomaron en cuenta solamente aquellas personas que presentaban lesiones en la piel sugestivas a Leishmaniosis.

Para determinar la muestra fue necesario establecer los siguientes criterios:

Criterios de inclusión.

Todos los residentes de los caseríos en estudio que presenten lesiones cutáneas y/o mucocutáneas en la piel características a la Leishmaniosis.

Aquellos individuos que residan en los caseríos considerados para el estudio.

Criterios de exclusión.

Los pobladores de los caseríos en estudio que no presenten las lesiones en la piel anteriormente descritas.

Aquellos individuos que no residan en los caseríos considerados para el estudio.

4.5 TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN.

Las técnicas a utilizarse para recolectar la información son:

- **La entrevista:** se entrevistó al personal que labora en la Unidad de Salud de Perquin, como son: médicos generales, promotores de salud, así como también líderes comunitarios y aquellas personas seleccionadas para la toma de muestra; con el propósito de obtener información que sirva de complemento para el trabajo de investigación.
- **Observación directa:** Esta técnica permitió obtener información mediante la observación directa de la población en estudio, buscando signos clínicos de la enfermedad.

4.6 TÉCNICAS DE LABORATORIO.

- Frotis.
- Coloración de Giemsa.
- Cultivo.
- Prueba de Intradermoreacción de Montenegro.

FROTIS.

Esta técnica tiene una especificidad del 100 % pero es de una sensibilidad variable ya que depende del tipo de muestra, la buena coloración y la experiencia del observador.

Se colocó el material obtenido por raspado de la lesión de la piel, a manera de impronta, en dos láminas limpias, secas y desengrasadas. Una vez seco el frotis, se procedió a colorear por la técnica de Giemsa.

Procedimiento de la toma de muestra para el frotis por la técnica de raspado (Ver Anexo 10).

COLORACIÓN.

Fundamento.

La técnica de Giemsa se basa en el método de Romanowsky, el cual consiste en emplear un colorante ácido y un colorante básico en una misma solución.

Estos colorantes son la eosina y el azul de metileno, los cuales son muy sensibles a las variaciones de pH de las diferentes estructuras celulares, tanto las del parásito como las de las células sanguíneas; de tal forma que los organelos que tienen carácter básico, fijan en mayor medida la eosina (colorante ácido), mientras que las que tienen carácter ácido fijan principalmente el azul de metileno (colorante básico).

Esto explica por que ciertas estructuras basófilas se colorean de azul, mientras que otros componentes acidófilos se colorean de rosado o rojo púrpura.

Procedimiento de la técnica o método de giemsa. (Ver Anexo 11).

CULTIVO DE NNN (Novy - Nicolle – Mc Neil).

El medio que se empleó, es un medio bifásico, es decir que presenta una fase sólida y una líquida, es de enriquecimiento y permite el crecimiento y aislamiento del parásito.

Los medios de cultivo no inoculados se almacenaron a una temperatura de 4° a 8° C mientras que los medios ya sembrados se mantuvieron a temperatura ambiente.

Preparación del Medio de Cultivo (Ver Anexo 12).

Condiciones e interpretación del medio de cultivo (Ver Anexo 12).

Toma de muestra para cultivo (Ver anexo 12).

INTRADERMOREACCIÓN DE MONTENEGRO

Fundamento.

La prueba se basa en la reacción de anticuerpos producidos por la respuesta inmune del humano, inducidos por la presencia de ciertos epitopos antigénicos del parásito, anticuerpos estos que están presentes en el suero de los individuos que han tenido contacto previo con el parásito. Estos anticuerpos sirven como marcadores que indican si ha existido contacto previo con el parásito, mas no si el parásito aun esta presente.

Procedimiento (Ver Anexo 13).

4.7 INSTRUMENTOS.

Instrumentos.

Para recolectar información se hará uso de los siguientes instrumentos:

- Guía de entrevista. (Anexo N° 14).
- Guía de observación. (Anexo N° 15).
- Cámara fotográfica.

4.8 MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

- Portaobjetos de 3 X 1 pulgada, limpios y secos.
- Cubreobjetos 22 x 22 mm.
- Porta láminas.
- Tubos de ensayo vacutainer de 5 ml.
- Erlenmeyer de 250 ml de capacidad.
- Bisturí estéril N° 11.
- Mango para bisturí.
- Algodón o gasas quirúrgicas.
- Pipetas Pasteur Estériles.
- Bulbo o perillas para pipetas.
- Jeringas de 3 cc.
- Jeringa tipo tuberculina.
- Gradillas para tubos.
- Hielera.
- Marcador indeleble o lápiz graso.
- Etiquetas o cinta para rotular tubos.
- Regla marcada en centímetros.
- Guantes de látex.
- Gabachas.
- Medios de cultivo.
- Papel limpia lentes.
- Cronómetro.
- Jabón antiséptico.
- Pingüinos.
- Mechero.
- Bandeja para coloración.

Equipo de laboratorio.

- Microscopio.
- Autoclave.
- Incubadora.
- Refrigeradora.
- Cámara de Flujo Laminar.

Reactivos.

- Colorante de Giemsa.
- Metanol.
- Aceite de inmersión.
- Sangre de conejo.
- Reactivo de Montenegro (Leishmanina).
- Penicilina - Estreptomicina Antibiótico en polvo 5,000 – 10,000 U
- Agua destilada
- NaCl (Puro).

6.9 PROCEDIMIENTO.

6.9.1 PLANEACIÓN.

El proceso de graduación inició con una reunión informativa con la coordinadora de metodología, en la cual se dio a conocer información general acerca de este, así como también las etapas que comprende el trabajo de investigación como son perfil, protocolo e informe final.

Al mismo tiempo se definieron los grupos de tesis y sus respectivos asesores. Posteriormente se procedió a una reunión con el asesor de contenido, para así seleccionar el tema de investigación.

Dadas las circunstancias de que existían múltiples alternativas a elegir como tema, fue necesaria una reunión con un experto del laboratorio central “Max Bloch” con el fin de poder definirlo y efectivamente dicha reunión influyo mucho en la elección del mismo.

Aclarado lo anterior, se procedió a consultar con el asesor para definir el área de estudio; ya contando con su aprobación se busco el apoyo del personal de salud de la zona a estudiar, para lo cual se entrevisto al director de la Unidad de Salud de Perquin departamento de Morazán y a los promotores de salud de cada uno de los caseríos del municipio de Perquin a estudiar.

Por otra parte se elaboro el perfil de investigación con las respectivas revisiones del asesor de contenido y de metodología y luego a su posterior defensa.

6.9.2 EJECUCIÓN.

En primer lugar se organizó el área de trabajo, se preparó todo el material, reactivos y equipo de laboratorio a utilizar para cada uno de los procedimientos a seguir.

El reactivo para la prueba de Intradermorección de Montenegro, así como el medio de Cultivo de NNN, los cuales fueron preparados con la supervisión de expertos del Laboratorio Central Dr. “Max Bloch”, fueron transportados al menos una semana antes de comenzar el muestreo y se almacenaron en refrigeración de 4° - 8° C hasta el momento de utilizarlos.

Posteriormente se efectuó un reconocimiento de los caseríos del municipio de Perquin que serian objeto de estudio. Hecho esto, se procedió a la capacitación del personal de la Unidad de Salud de Perquin, para lo cual se les proporcionó material que les serviría de guía para la identificación de las lesiones en la piel sugestivas a Leishmaniosis.

A continuación se llevaron a cabo visitas domiciliarias en los caseríos a estudiar, para así seleccionar a los individuos que conformaron la muestra de estudio, únicamente aquellos que presentaron lesiones en la piel sugestivas a Leishmaniosis cutánea o mucocutánea fueron considerados como parte de la muestra; esto se hizo en coordinación con los promotores de salud y/o líderes comunitarios de cada una de las zonas a estudiar.

Una vez seleccionadas, las personas fueron convocadas uno o dos días después a la casa del promotor de su respectiva comunidad. (Las personas del caserío La Joya fueron convocadas a la casa del líder comunitario por ser el lugar más accesible para los pobladores de dicho lugar).

Tanto las visitas domiciliarias como la convocatoria de las personas, se realizaron tres a cuatro días por semana hasta cubrir todos los caseríos considerados.

El día que correspondió la convocatoria a las personas de un caserío específico, se procedió a dar una charla informativa acerca de la Leishmaniosis y luego fueron entrevistados.

En conjunto con la entrevista se efectuó la observación directa para seleccionar la lesión o lesiones de las cuales se tomó la muestra, luego se aplicó la prueba de Leishmanina en el brazo izquierdo, la lectura de esta se realizó posteriormente.

En seguida se explicó al paciente todo el procedimiento a realizar, se seleccionó la lesión y se tomó la muestra de esta, haciendo un pequeño corte con un bisturí estéril en uno de los bordes de la lesión y raspando con el mismo las paredes de dicho corte.

El material obtenido de este raspado, fue colocado a manera de impronta en dos láminas limpias, secas y desengrasadas para su posterior tinción por la técnica de Giemsa, luego se observaron al microscopio con el objetivo de inmersión 100 X en busca del parásito.

A continuación, de la misma lesión se tomó una porción del líquido que emergía, por aspiración con una jeringa estéril y al instante se inoculó en el medio de cultivo de NNN.

Estos medios inoculados se mantuvieron a temperatura ambiente en el área de trabajo y fueron revisados 4 días después de inoculados. Transcurrido ese tiempo, se tomó material de la fase líquida de cada uno de los medios, utilizando una pipeta Pasteur y se colocó entre lamina y laminilla, en seguida se observó al microscopio en busca de la forma promastigote del parásito.

Dos días después de realizada la prueba de intradermoreacción, se visitó nuevamente a los pobladores a los cuales se les aplicó, para la medición del halo ó papula desarrollada.

Luego se efectuó control de calidad de las laminas y medios de cultivo, enviándolos al laboratorio central Dr. "Max Bloch", donde fueron revisadas minuciosamente por expertos en el área correspondiente.

Seguidamente se procedió a la tabulación de los datos e interpretación de los resultados, posteriormente se realizo la prueba de hipótesis.

Por ultimo se procedió a reportar los resultados del estudio a las autoridades pertinentes, tal es el caso, la Unidad de Salud de Perquin, así como también a los individuos a los que se les tomo muestra.

CAPÍTULO V

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

5. PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS.

Durante la ejecución del proyecto de investigación, Leishmaniosis cutánea y mucocutánea en los residentes de los caseríos Casa Blanca, Volcancillo, Rancho Quemado y La Joya del municipio de Perquin departamento de Morazán, durante el periodo de julio a septiembre de 2007, se emplearon diversas pruebas para determinar la existencia del parásito en las lesiones de los individuos seleccionados, como son la prueba de Montenegro siembra en el medio de cultivo NNN.

De las 18 personas que fueron seleccionadas, luego de aplicar la prueba e interpretarla a las 48 horas después, el 100 % dio negativo en esta prueba, lo cual sustenta así el examen microscópico de las laminas, de igual forma, el 100 % de las personas a las cuales se les realizó raspado de la lesión dieron resultados negativos, es decir, que no se observo el parásito.

Puesto que en la prueba de Intradermoreacción de Montenegro, se toma como resultado positivo un halo o zona de induración mayor de 5 mm en el lugar donde se aplicó, se determina que en las 18 pruebas aplicadas se obtuvieron resultados negativos, dado que ninguna de ellas midió más de 5 mm en su zona de induración.

El diseño usado en la sección estadística, fue un diseño completamente al azar, utilizando también una prueba de Duncan, que permitió conocer cual fue el resultado que mas predomino y que a su vez nos comprueba que con la ausencia de casos positivos, a esta zoonosis, se aprueban las hipótesis nulas, las cuales afirman la inexistencia del parásito y de las variantes relacionadas a la enfermedad.

5.1 TABULACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA GUÍA DE ENTREVISTA.

Cuadro N° 1.

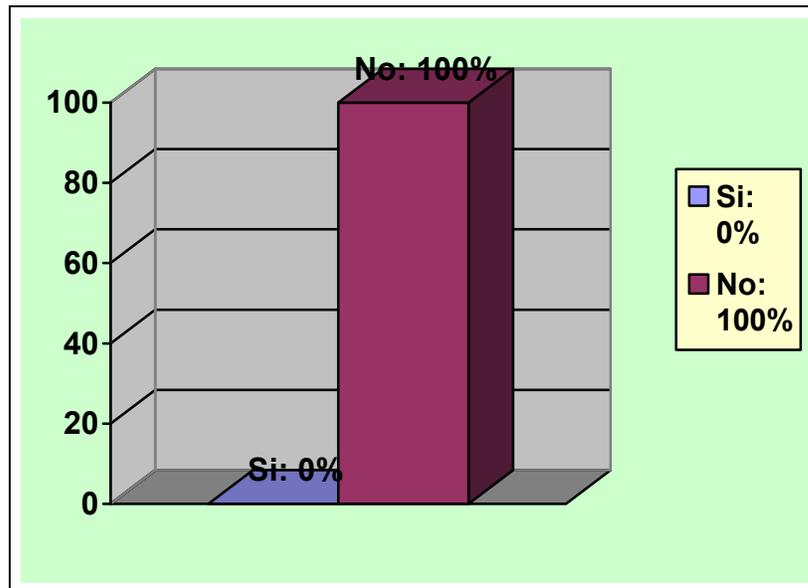
¿Ha escuchado acerca de la enfermedad de la Leishmaniosis?

Opinión	Frecuencia	Porcentaje
O	0	0%
No	18	100%
Total	18	100%

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 1.

¿Ha escuchado acerca de la enfermedad de la Leishmaniosis?



Fuente: Cuadro No. 1

Análisis:

De las personas muestreadas, que presentaban lesiones sugestivas a Leishmaniosis en su piel, las 18 personas que se seleccionaron dijeron no haber escuchado acerca de esta enfermedad y ninguna persona manifestó conocerla.

Interpretación:

Durante la visita a los pobladores de los caseríos estudiados, un total de 18 personas, que corresponden al 100 % de la población en estudio, dijeron no conocer acerca de la enfermedad de Leishmaniosis, esto como resultado de la escasa o nula información brindada por el área de salud y por la falta de programas que permitan a los habitantes conocer sobre esta zoonosis.

Cuadro N° 2.

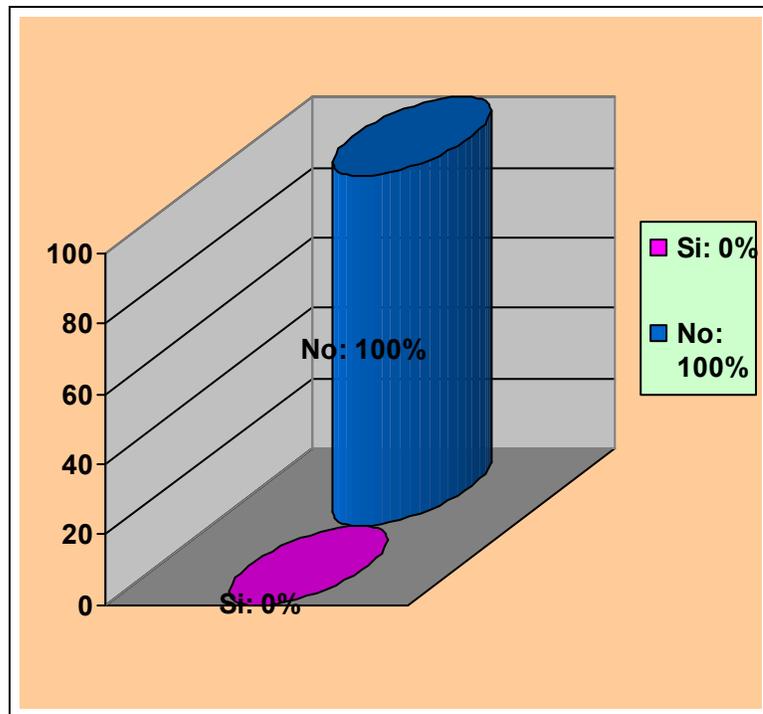
¿Sabía que esta enfermedad es transmitida por la picadura de un mosquito?

Opinión	Frecuencia.	Porcentaje
Si	0	0%
No	18	100%
Total	18	100%

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 2.

¿Sabía que esta enfermedad es transmitida por la picadura de un mosquito?



Fuente: Cuadro No. 2

Análisis:

Se puede observar que del total de personas encuestadas, aquellas que conocen el mosquito tienen una frecuencia de 0 al igual que su porcentaje, pero las que no lo conocen presentan una frecuencia de 18 con un 100 %, representando el total de los individuos.

Interpretación:

De las 18 personas que se seleccionaron por presentar lesiones en su piel sugestivas a Leishmaniosis cutánea, 18 de ellas no conocen el vector que la transmite, esto debido a la falta de educación que les impide conocer acerca de la enfermedad y del agente transmisor.

Cuadro N° 3.

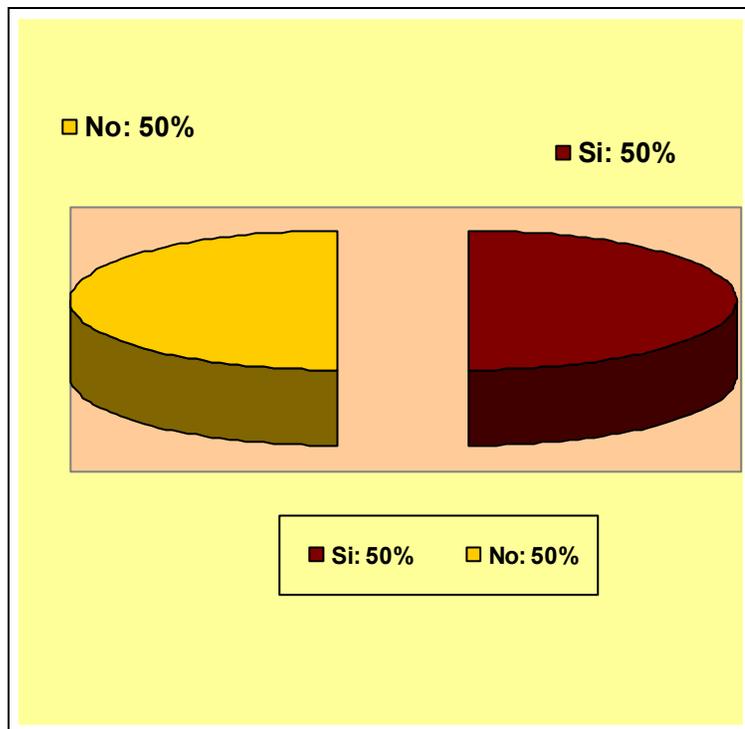
¿Ha viajado usted últimamente?

Opinión	Frecuencia.	Porcentaje
Si	9	50%
No	9	50%
Total	18	100%

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 3.

¿Ha viajado usted últimamente?



Fuente: Cuadro No. 3.

Análisis:

En la información obtenida se pudo observar que el 50 % de las personas dijeron si haber viajado últimamente con una frecuencia de, 9 igual número de personas no lo hicieron, sumando estos al final el 100 % del total de entrevistados.

Interpretación:

Prácticamente se puede comprobar que del total de la población a la que se entrevistó, el 50 % del 100 % corresponde a 9 individuos que manifestaron desplazarse fuera de sus hogares, la mayoría de ellos por motivos de trabajo.

Cuadro N° 4.

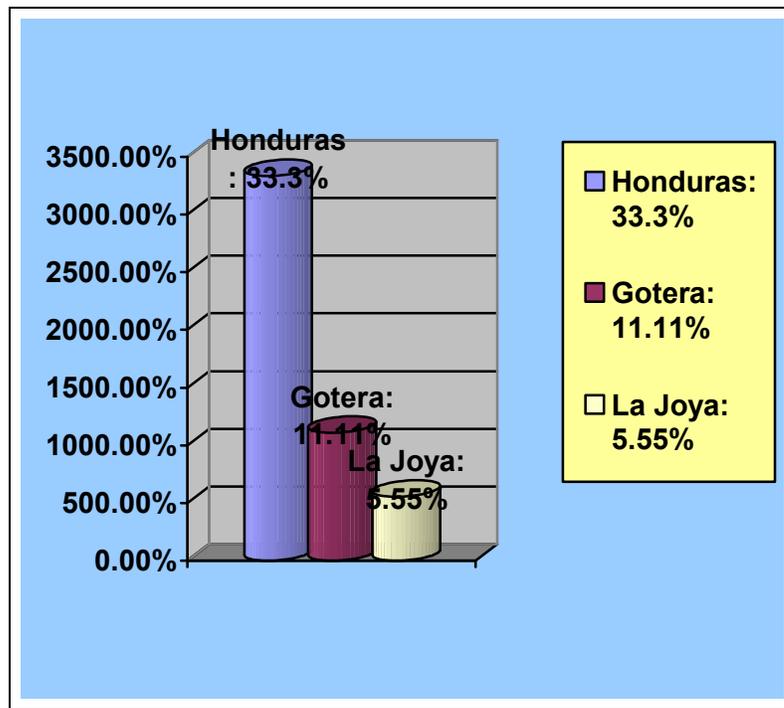
Personas que respondieron positivamente a la pregunta número 3 de la guía de entrevista.

Lugar	Frecuencia.	Porcentaje
Honduras	6	33.33%
Gotera	2	11.11%
La Joya	1	5.55%
Total	9	50 %

Fuente: Pregunta número 3 de la guía de entrevista dirigida a la población estudiada.

Gráfico N° 4.

Personas que respondieron positivamente a la pregunta número 3 de la guía de entrevista.



Fuente: Cuadro No. 4.

Análisis:

El cuadro número 4 con su respectivo gráfico número 4, muestran las personas que respondieron positivamente en la pregunta número 3, en donde 6, que corresponde al 33.33 %, viajaron a Honduras, 2 con un 11.11 % dijeron haber viajado a Gotera y 1 persona que representa el 5.55 %, dijo haber viajado a La Joya.

Interpretación:

El cuadro número 4 representa que el 50 % de las personas que contestaron positivamente la pregunta número 3 de la guía de entrevista, el mayor porcentaje muestra haber viajado hacia Honduras; por lo contrario el menor porcentaje que es de 5.55 %, fueron personas que viajaron a La Joya, el cual es uno de los caserío considerados para el muestreo; este constante viaje pudiera convertirse en un factor de riesgo para que se presente la enfermedad.

Cuadro N° 5.

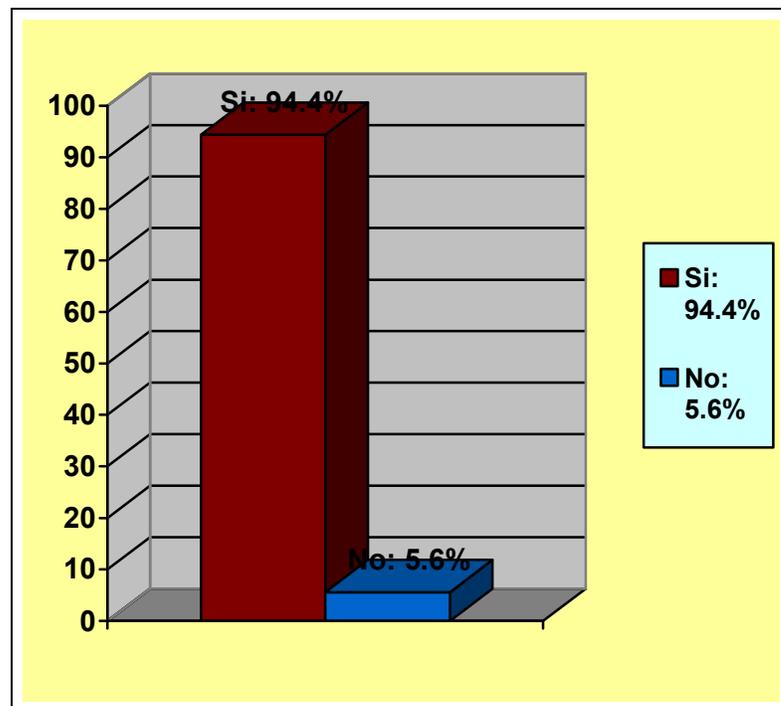
¿Tiene perros en su hogar?

Opinión	Frecuencia.	Porcentaje
Si	17	94.4%
No	1	5.6%
Total	18	100

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 5.

¿Tiene perros en su hogar?



Fuente: Cuadro No. 5

Análisis:

La mayoría de habitantes de la zona, especialmente aquellas que fueron seleccionadas, respondieron tener animales en su hogar, lo que corresponde a 17 el valor de su frecuencia, mientras que solo 1 persona manifestó no tener animales en su hogar, sumando un total de 18 personas.

Interpretación:

En relación al cuadro número 5, los individuos que tienen perros en su hogar representan el 94.4 % de la población en estudio y un 5.6 %, que no tienen perros en su hogar, siendo estos últimos los que tienen menor riesgo de adquirir la Leishmaniosis, ya que estos animales son considerados como hospederos de este parásito.

Cuadro N° 6.

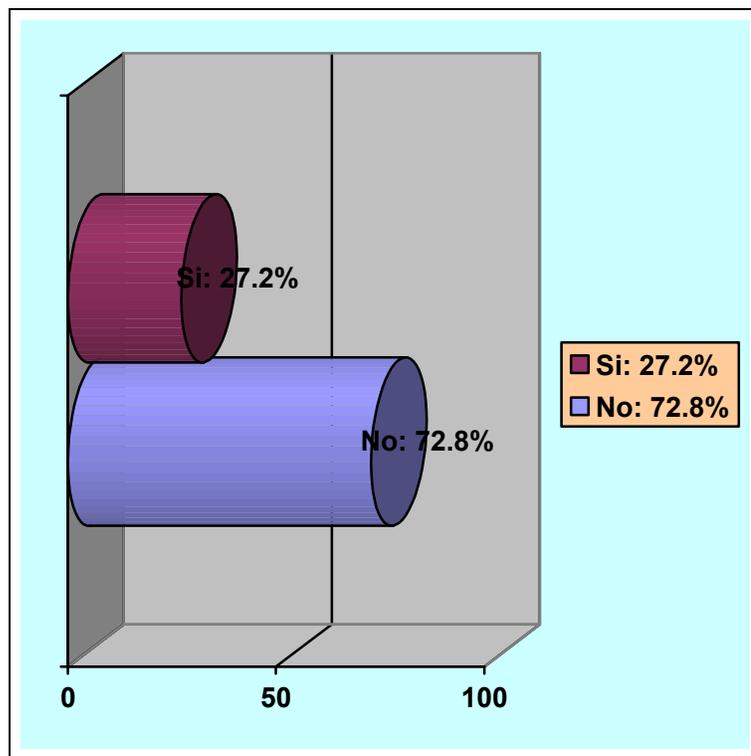
¿Tiene algún otro tipo de mascota en su casa?

Opinión	Frecuencia.	Porcentaje
Si	5	27.8%
No	13	72.2%
Total	18	100%

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 6.

¿Tiene algún otro tipo de mascota en su casa?



Fuente: Cuadro No. 6

Análisis:

De las 18 personas entrevistadas, 5 de ellas respondió si tener otro tipo de mascota en su hogar, lo cual equivale a un 27.8 % del total; esto refleja que 13 de los individuos manifestaron no tener algún otro tipo de mascota, equivalente a un 72.2 %, lo que comprende 100 % de la población estudiada.

Interpretación:

De las personas con lesiones sugestivas a Leishmaniosis en su piel, a las que se les realizó la entrevista, 5 de ellas respondieron positivamente en la pregunta 5 y en relación a los que respondieron que no, que es un total de 13 personas, esto debido a que no existen condiciones económicas apropiadas en la mayoría de pobladores que permitan que estos tengan algún otro tipo de mascota en sus hogares.

Cuadro N° 7.

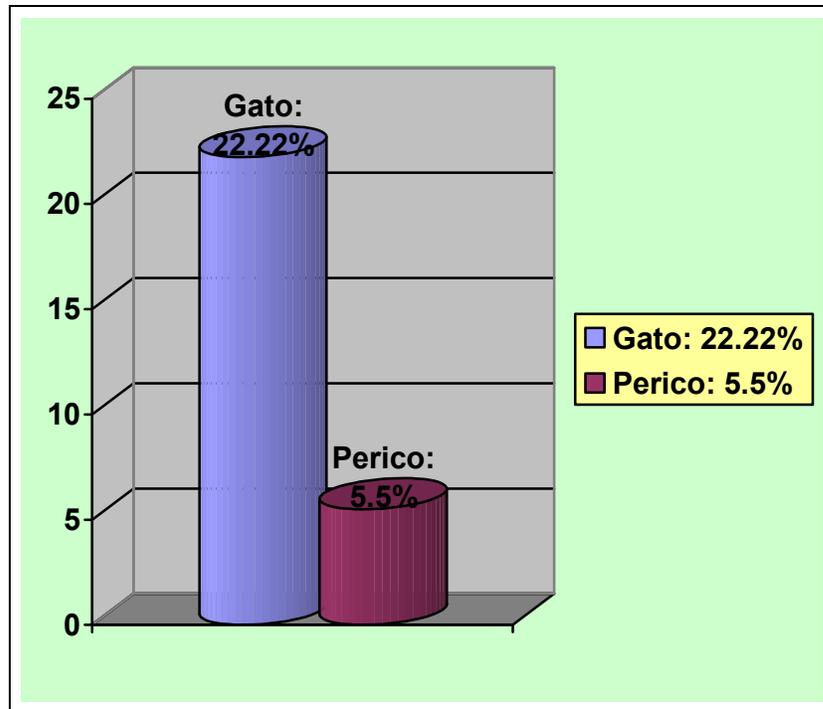
Personas que respondieron si tener otro tipo de mascota en su hogar, en la pregunta número 6 de la guía de entrevista.

Animales	Frecuencia.	Porcentaje
Gato	4	22.22%
Perico	1	5.5%
Total	5	27.8%

Fuente: Pregunta número 6 de la guía de entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 7.

Personas que respondieron si tener otro tipo de mascota en su hogar, en la pregunta número 6 de la guía de entrevista.



Fuente: Cuadro No. 7.

Análisis:

En el cuadro número 7 y su respectivo gráfico, se presentan a los individuos que tienen otro tipo de mascota en su hogar, de los cuales 4 manifestaron tener gato de mascota y una persona menciono tener perico en su hogar.

Interpretación:

De las personas que respondieron positivamente en la pregunta número 5, solo 1 dijo tener perico de mascota en su hogar, lo cual representa el 5.5 % de la población, mientras que 4 de ellas, que equivalen al 22.22 % de la población, dijeron tener gato como mascota, lo que complementa un 27.8 % de personas que manifestaron tener otro tipo de mascota en su hogar.

Cuadro N° 8.

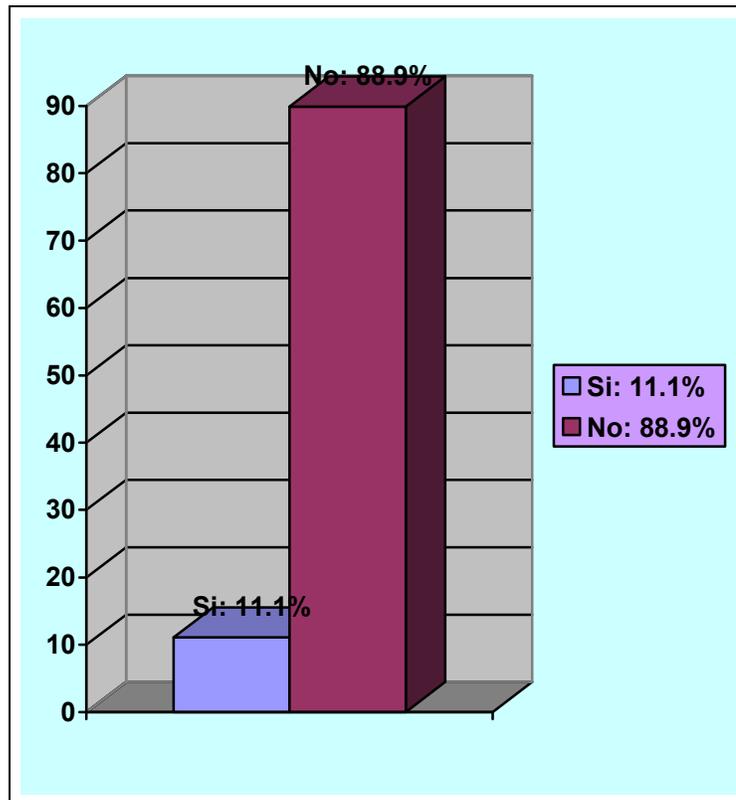
¿Ha consultado por las lesiones que presenta en su piel?

Opinión	Frecuencia.	Porcentaje
Si	2	11.1%
No	16	88.9%
Total	18	100%

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 8.

¿Ha consultado por las lesiones que presenta en su piel?



Fuente: Cuadro No. 8

Análisis:

El cuadro número 8 con su respectiva grafica número 8, muestran que 16 individuos del total de la población no consultaron por las lesiones en su piel, mientras que 2 manifestaron haber consultado.

Interpretación:

El 11.1 % de las personas entrevistadas dijeron haber consultado por sus lesiones, mientras que la mayoría, el 88.9 %, no lo hicieron, debido talvez a que no las consideraban graves por no presentar el parásito y que no persistían por mucho tiempo, por lo cual las personas les restaban importancia.

Cuadro N° 9.

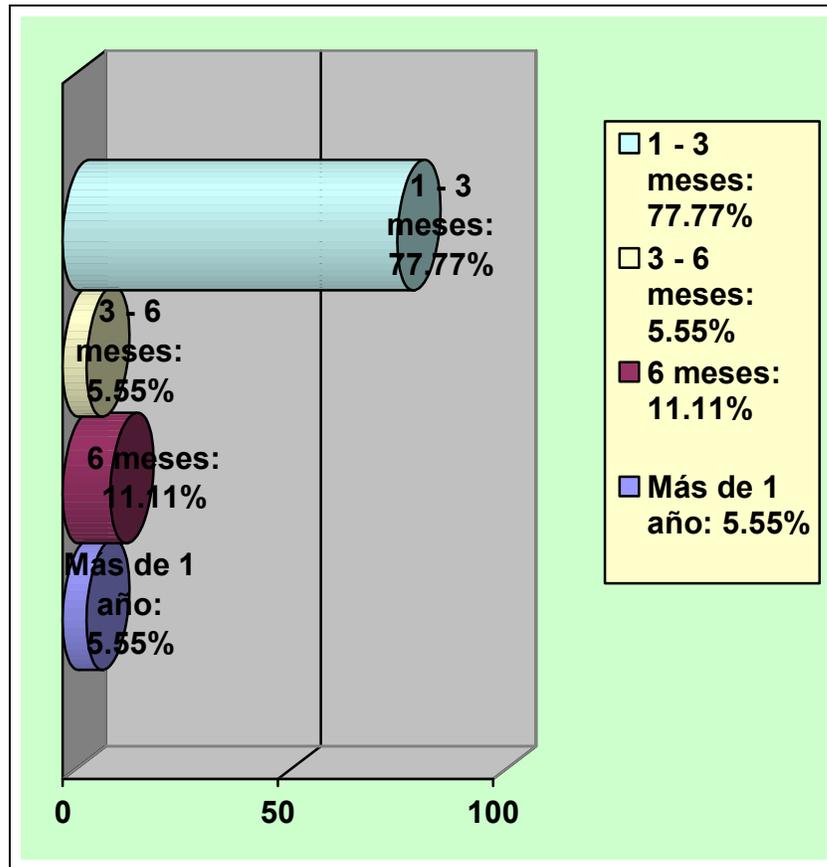
¿Hace cuanto tiempo usted presenta estas lesiones?

Tiempo	Frecuencia.	Porcentaje
1 – 3 meses	14	77.77%
3 -6 meses	1	5.55%
6 meses	2	11.11%
Mas de 1 año	1	5.55%
Total	18	100%

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 9.

¿Hace cuanto tiempo usted presenta estas lesiones?



Fuente: Cuadro No. 9

Análisis:

El cuadro número 9 y su respectivo gráfico número 9, representa los tiempos aproximados de duración de las lesiones de las personas a quienes se les tomo muestra. 14 personas tenían lesiones con una duración de 1 – 3 meses, 1 persona de 3 – 6 meses, 2 de aproximadamente 6 meses y solamente 1 de mayor de un año.

Interpretación:

Del 100 % de la población, el 77.77 %, tenían lesiones de 1 – 3 meses de duración, lo que muestra que no eran lesiones de larga duración y por lo tanto no las consideraban de gravedad, mientras que solamente 1 persona presento una lesión con más de 1 año de duración.

Cuadro N° 10.

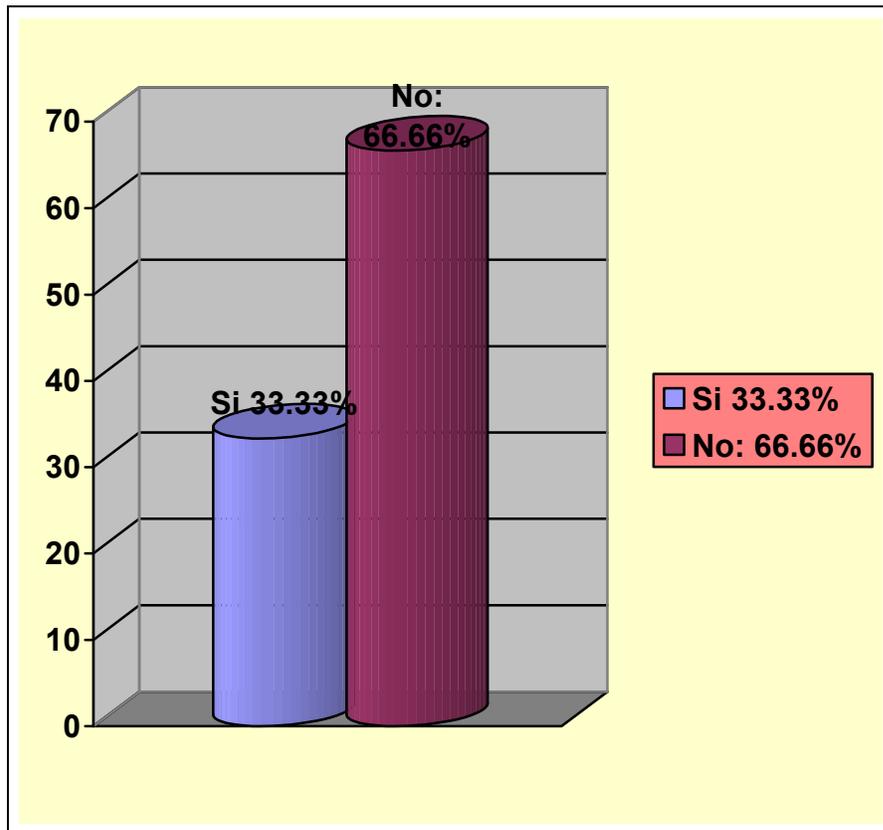
¿Alguien más de su familia presenta estas lesiones?

Opinión	Frecuencia.	Porcentaje
Si	6	33.33%
No	12	66.66%
Total	18	100%

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 10.

¿Alguien más de su familia presenta estas lesiones?



Fuente: Cuadro No. 10.

Análisis:

El cuadro número 10 con su respectivo gráfico número 10, muestra que de las 18 personas muestreadas, 12 respondieron no tener familiares con lesiones, mientras que 6 manifestaron que si.

Interpretación:

Las 6 personas que equivalen a 33.33 % de la población y que manifestaron que si tenían familiares con lesiones similares resultan ser parientes, de estos 6 individuos, 3 eran la madre y sus 2 hijos, los otros 3 eran la madre, su hija y su sobrino. Por lo tanto se encontró este número de personas en dos viviendas; las otras 12 personas que representan el 66.66 % de la población dijeron no tener familiares con lesiones similares en su piel, por la cercanía de ellas existe mayor probabilidad de adquirir la enfermedad.

Cuadro N° 11.

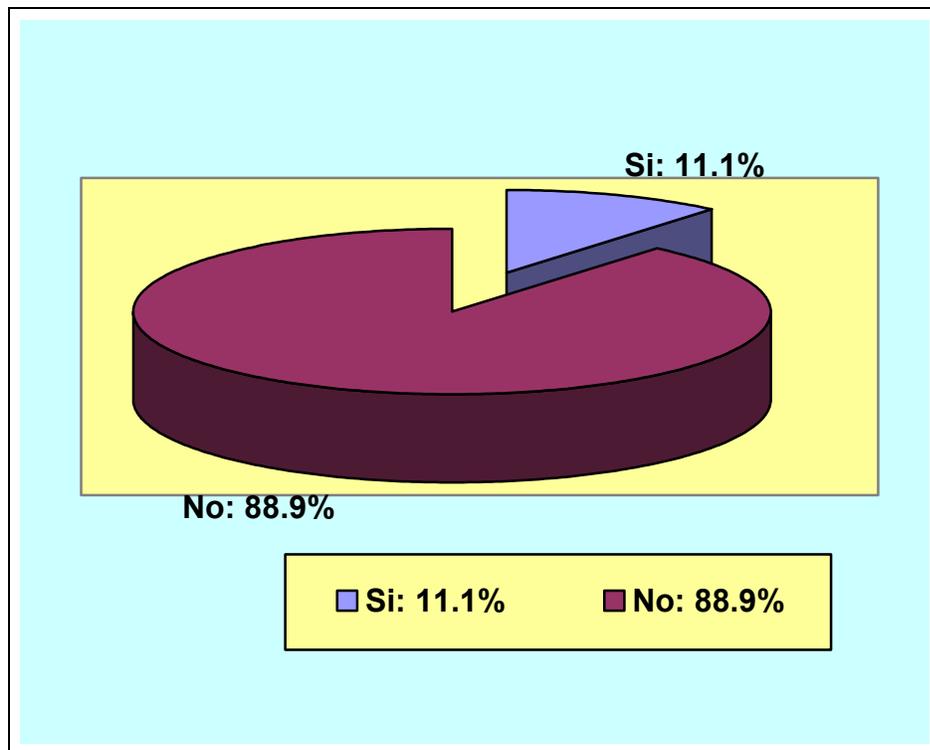
¿Ha observado lesiones parecidas o iguales en otras personas de su comunidad?

Opinión	Frecuencia.	Porcentaje
Si	2	11.1
No	16	88.9
Total	18	100

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 11.

¿Ha observado lesiones parecidas o iguales en otras personas de su comunidad?



Fuente: Cuadro No. 11.

Análisis:

Según los datos obtenidos de las personas con lesiones en su piel sugestivas a Leishmaniosis, 2 de ellas demostraron que existían otros individuos que si presentaban lesiones parecidas, mientras que 16 mencionaron que no.

Interpretación:

El 88.9 % de la población manifestó no haber observado lesiones parecidas o iguales en las personas de su comunidad, lo cual puede deberse a la falta de atención o poca importancia que las personas ponen sobre las lesiones, la minoría representada por un 11.1 % de la población, manifestó si haberlas observado, esto contribuyo para que se visitaran específicamente estos lugares así como también rastrear mejor esa zona.

Cuadro N° 12.

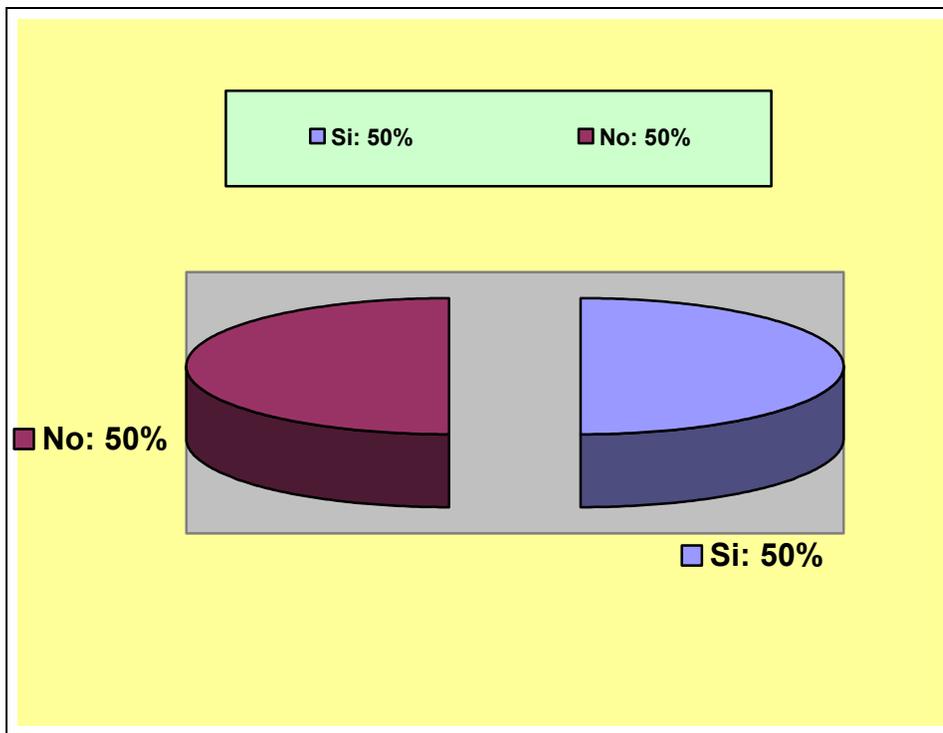
¿Tiene problemas de mosquitos en su casa?

Opinión	Frecuencia.	Porcentaje
Si	9	50
No	9	50
Total	18	100

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 12.

¿Tiene problemas de mosquitos en su casa?



Fuente: Cuadro No. 12

Análisis:

En el cuadro anterior y su gráfica correspondiente, se refleja que del total de la población a las que se les realizó el estudio, 9 tenían problemas con mosquitos en su casa y las 9 restantes respondieron que no.

Interpretación:

Del 100 % de la población muestreada, el 50 % manifestó tener problemas con mosquitos en su casa, mientras que el 50 % restante dijo no tenerlos, por que se observa una distribución con iguales partes, estos hogares donde se encontró el vector trasmisor del parásito, convierten a la población en un grupo susceptibles a la enfermedad.

Cuadro N° 13.

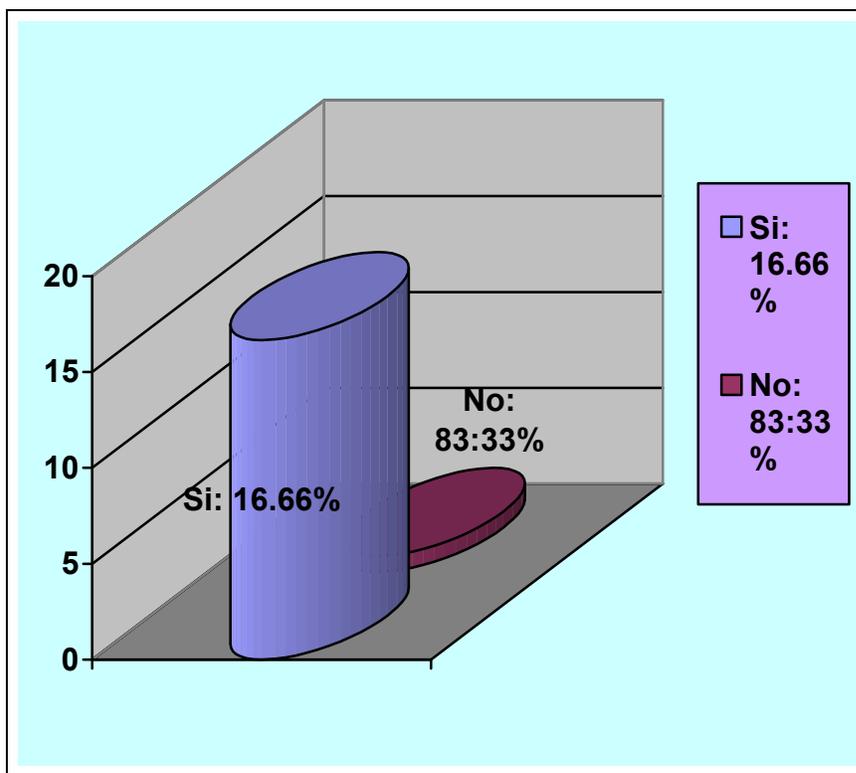
¿Usa mosquitero al momento de descansar (dormir)?

Opinión	Frecuencia.	Porcentaje
Si	3	16.66%
No	15	83.33%
Total	18	100%

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 13.

¿Usa mosquitero al momento de descansar (dormir)?



Fuente: Cuadro No. 13.

Análisis:

El cuadro número 13 y gráfica número 13, muestran las personas que usan mosquitero para dormir, de los 18 individuos que corresponden al total de la población, 15 no lo utilizan, mientras que solamente 3 manifestaron que si.

Interpretación:

15 personas que representan el 83.33 % de la población estudiada, es decir, la mayoría de los individuos, no usan mosquitero para dormir, mientras que solamente 3 personas que representan el 16.66 % de la población estudiada manifestaron usarlo; esto probablemente se debe a la situación económica en la que viven dichas personas, esto representa un problema por que fácilmente pueden ser picados por el vector.

Cuadro N° 14.

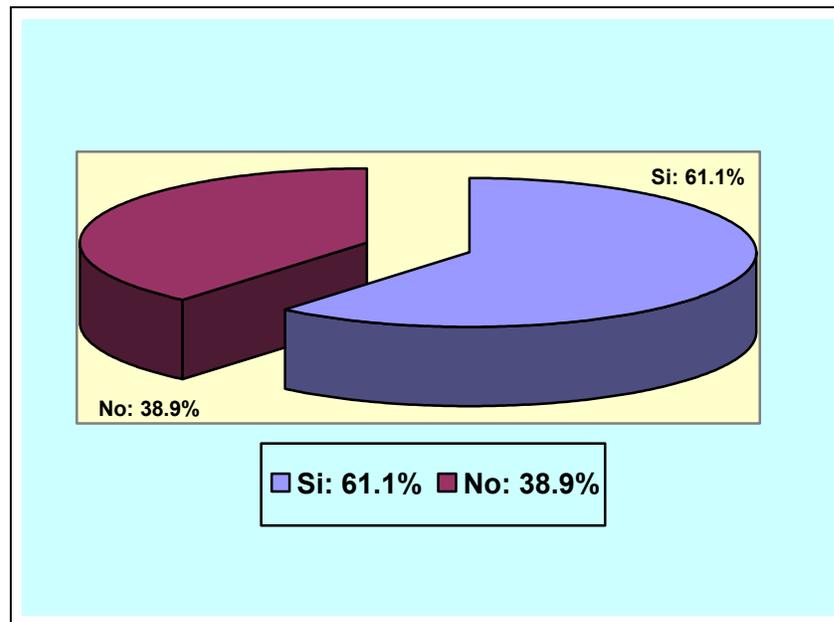
¿Acostumbra salir por las tardes / noches?

Opinión	Frecuencia.	Porcentaje
Si	11	61.1%
No	7	38.9%
Total	18	100%

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 14.

¿Acostumbra salir por las tardes / noches?



Fuente: Cuadro No. 14.

Análisis:

El cuadro 14 y gráfica respectiva, muestra que 11 personas de las 18 muestreadas acostumbran salir por las tardes, mientras que 7 no lo hacen.

Interpretación:

11 personas que representan el 61.1 % de la población, acostumbra a salir por las tardes, lo cual representa la mayoría. Esto podría deberse al hecho de que las personas ignoran que por las tardes/noches son las horas en las que el vector sale para alimentarse y por lo tanto tienen mayor riesgo de adquirir la enfermedad.

Cuadro N° 15.

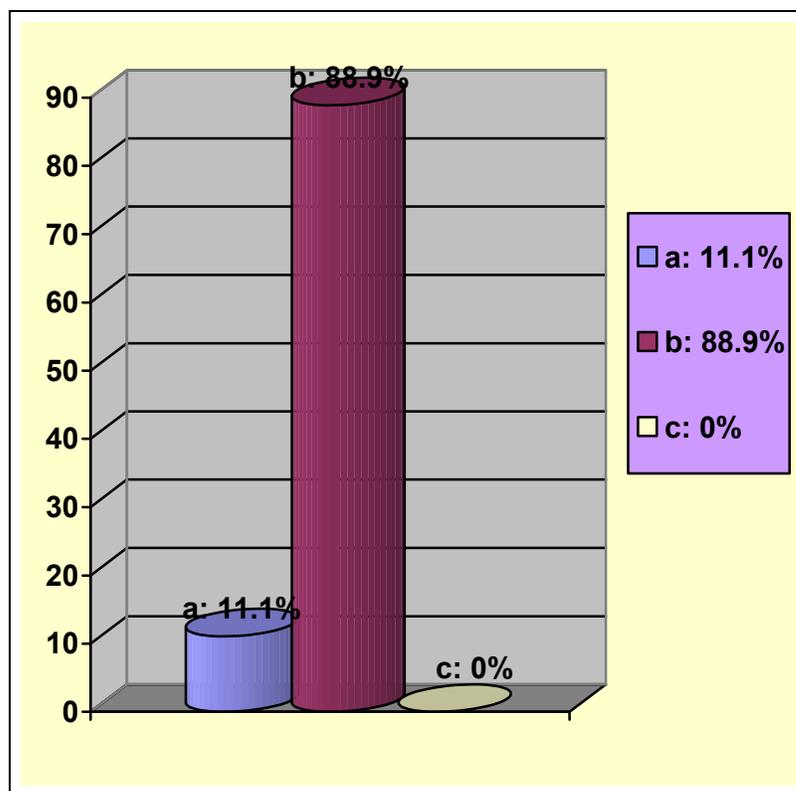
¿Su vestimenta al momento de salir es?

Vestimenta	Frecuencia.	Porcentaje
Vestido / Camisa manga larga (a)	2	11.1%
Vestido / Camisa manga corta. (b)	16	88.9%
Vestido / Camiseta o desnudo (c)	0	0%
Total	18	100%

Fuente: Guía de Entrevista dirigida a la población en estudio.

Gráfico N° 15.

¿Su vestimenta al momento de salir es?



Fuente: Cuadro No. 15.

Análisis:

El cuadro número 15 y su respectiva grafica número 15 muestran que de las 18 personas muestreadas, 16 de ellas usan camisa manga corta, mientras que 2 usan camisa manga larga.

Interpretación:

Del 100 % de población estudiada el 11.1 % usa camisa manga larga, el 88.9 % usa camisa manga corta, mientras que ninguna manifestó usar camiseta o no usar camisa, esto demuestra que la mayoría de personas usan vestimenta adecuada, motivo por el cual tienen menor riesgo de adquirir la enfermedad.

5.2 PRUEBA DE HIPÓTESIS.

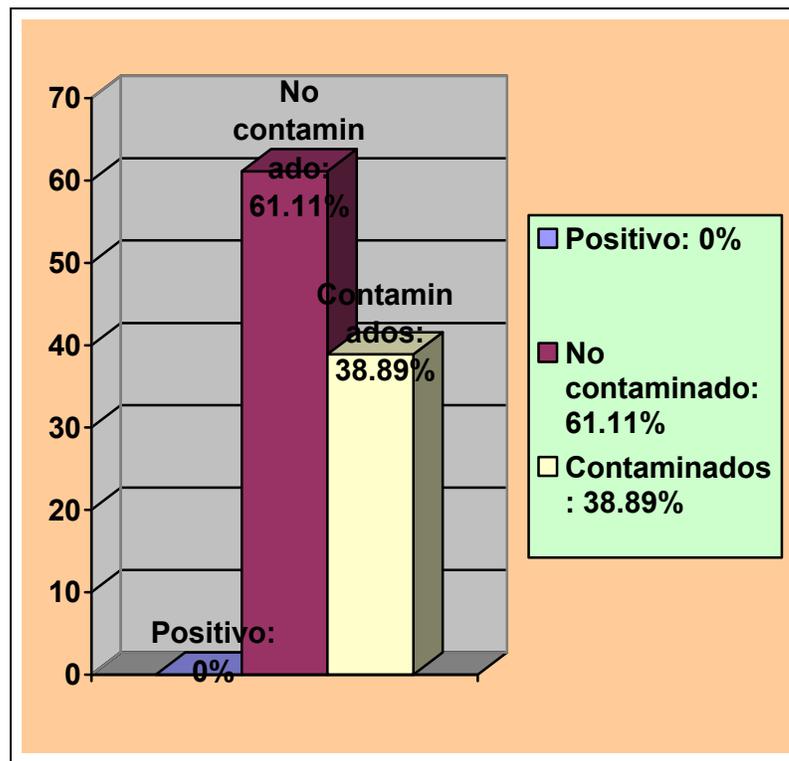
Cuadro N° 16.

Resultados sobre el crecimiento del parásito en el medio de cultivo NNN.

Resultados		Frecuencia.	Porcentaje
Positivo		0	0%
Negativos	Contaminados	11	61.11%
	No contaminados	7	38.89%
Total		18	100%

Gráfico N° 16.

Resultados sobre el crecimiento del parásito en el medio de cultivo NNN.



Fuente: Cuadro No. 16.

Análisis:

Se observaron los medios de cultivo inoculados con muestra de raspado de las lesiones de piel sugestivas a Leishmaniosis, fueron un total de 18 individuos correspondiente al 100 % de la población, en el cual los positivos fueron 0 %. Por otro lado los medios negativos que comprenden aquellos contaminados, y presentan una frecuencia de 11, lo que es equivalente al 61.11 %. Los no contaminados con una frecuencia de 7, lo cual en porcentaje equivale a un 38.89 %, todo esto suma al final el 100 % del total de la población.

Interpretación:

De los resultados obtenidos de la siembra en el medio de cultivo NNN, el 100% no presentó crecimiento de formas parasitarias a *Leishmania*. Sin embargo un 38.89% presentó contaminación por bacterias y por levaduras, lo que sugiere que esas lesiones pueden ser ocasionadas por los microorganismos antes mencionados; un 61.11% no presentó ningún tipo de contaminación, lo que indica que se realizó una excelente asepsia previo a la toma de muestra.

DISEÑO COMPLETAMENTE AL AZAR.

Cuadro N° 17.

Datos de la determinación del crecimiento del parásito que produce la enfermedad de Leishmaniosis cutánea en los individuos en estudio.

Resultado		Numero de medios de cultivo de cada paciente.																n	X	ΣX		
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				0	0
Positivos		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0	0
Negativos	Contaminados	0	0	3	0	3	0	0	0	0	3	0	0	3	3	0	3	3	0	18	1.17	21
	No contaminados	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	0	0	2	2	18	1.22	22

Fuente: Resultados obtenidos en la revisión de los medios de cultivo inoculados con las muestra de los pacientes.

T1 = Positivo = 1

T2 = No contaminado = 2

T3 = Contaminado = 3 (contaminado con bacterias y/o levaduras)

Análisis:

En el cuadro número 17 se muestran los datos para evaluar el crecimiento del parásito en los medios de cultivo inoculados, con material obtenido de las lesiones. Estadísticamente a los casos positivos se les da el valor de 1, y negativos dentro de los cuales se encuentran los contaminados, (hongos y/o bacterias) que se les da el valor de 3 y a los que no presentaron contaminación el valor de 2.

A todos estos se les calculo la media aritmética (X) y la sumatoria (Σ).

Cuadro N° 18.

Análisis de varianza.

F de V	gl	SC	CM	FC	0.05
Tratamiento	(T - 1) (3 - 1) = 2	17.70	8.95	10.17	3.16
Error	53-2 =51	45.06	0.88		
Total	(n-1) 54-1 = 53	62.76			

Fuente: Cuadro 17.

Donde:

FV: Fuente de variación.

gl: Grados de libertad.

SC: Suma de cuadrados (Sc / gl).

CM: Cuadro medio (CM / gl).

Fc: "F" calculado: (CM / CMEE).

Fx: "F" Tabla.

t: Número de tratamientos (Resultados).

n: Número de observaciones totales.

Análisis:

En el análisis de varianza (ANVA), se presenta el resumen del diseño completamente al azar, el cual está constituido por la fuente de variación que son tratamientos (positivo, contaminado y no contaminado), error experimental y totales, presentan los grados de libertad, sumas de cuadrado nulo, “f” calculado. Este último se compara con el rango “f” tabla al 0.05 % de probabilidad estadística, resultando que los datos del FC fueron superiores que el Fx, demostrándose así que hay significación estadística.

Motivo por el cual se realizará una prueba de Duncan, para determinar cual fue el resultado que predominó estadísticamente.

Prueba de Duncan.

Pasos:

1. Error típico de diferencia (ETD).

$$ETD = r \sqrt{\frac{2(CMEE)}{r}} \quad T_x = 0.05 = \underline{2.014}$$

$$ETD = 2.014 \sqrt{\frac{2(0.88)}{8}} = 2.014 \times 0.313 = \underline{0.627}$$

2. Posición Relativa en Arreglo de Media.

No contaminados.	Contaminados.	Positivos.
1.22	1.17	0

3. Factor de significación ®:

	2	3
R = 0.05 %	= 1.00	1.05

4. Diferencia mínima significativa (DMS).

$$DMS = R \times X \times ETD$$

$$DMS \quad 0.05 \% \quad = \quad \begin{matrix} 2 & 3 \\ 0.627 & 0.638 \end{matrix}$$

Cuadro N° 19.

5. Arreglo de media en orden de magnitud y prueba de significación.

	1.22	1.17	0
1.22	–	0.05 ns	1.22*
1.17	–	–	1.17*
0	–	–	–

a) En línea

T3 T2 T1

b) En letras.

T3 = a

T2 = a

T1 = b

Gráfico N° 17.

Interpretación:

Los resultados de la prueba de Duncan nos demuestran, que existe significación estadística entre los tratamientos, comprobando así, que las personas que presentan en su piel lesiones, no son por causa de Leishmaniosis si no por otro tipo de microorganismo (Levaduras y/o bacterias) aceptando así la hipótesis nula y rechazando la de investigación.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

6.1 CONCLUSIONES.

Habiendo desarrollado completamente esta investigación, de acuerdo con el método científico y empleando correctamente diversos instrumentos para recolección de información, así como también técnicas para la toma de muestra; comprendidos dentro de una metodología de trabajo debidamente organizada y planificada para seleccionar a los individuos que comprenderían la muestra de estudio, e concluye lo siguiente:

Se encontraron lesiones que correspondían a la picadura del mosquito, sin embargo estas no estaban parasitadas, lo cual se concluye después de revisar minuciosamente al microscopio las láminas; además del control de calidad implementado por parte del Laboratorio Central Dr. “Max Bloch”, en cuanto a la toma de muestra, la coloración y la calidad de las láminas, avalan estos resultados (Ver Anexo 16).

Por otro lado la ausencia de crecimiento en los medios de cultivo y los resultados negativos de la prueba de Montenegro, la cual es bastante sensible y por lo tanto permite confirmar que las personas no había tenido contacto previo con el parásito.

Durante el muestreo, al entrevistar a las personas seleccionadas, estos manifestaban conocer perfectamente el mosquito, los lugares en los que habita y las horas en las que sale para alimentarse, razón por la cual se concluye que dicho vector habita en la zona.

Sin embargo debido a los resultados negativos de las diferentes pruebas realizadas, se concluye también que el vector no se encuentra parasitado.

La mayoría de las personas a las que se les tomó muestra, manifestaron durante la entrevista, haber estado recientemente en territorio Hondureño, ya sea por que residían

ahí con anterioridad o por viaje y otros porque trabajan o trabajaron en algún momento en el lugar antes mencionado, excepto los individuos seleccionados en La Joya.

Con esto se concluye que únicamente presentaron lesiones las personas que invadieron el hábitat del mosquito y que mientras más selvático es este hábitat, hay mayor presencia del vector.

Cabe mencionar que la zona se puede considerar susceptible a un posible brote de la enfermedad y que requiere para ello únicamente que ingrese una persona o reservorio parasitado, que este sea picado por el vector presente en la zona y finalmente que este transmita el parásito a los residentes del lugar, quienes invaden su hábitat constantemente, además estas posibilidades se incrementan si se toma en cuenta que la invasión del hábitat del vector es cada vez mayor debido al crecimiento poblacional, el incremento del turismo y la tala de árboles que cada vez es mayor.

De las 18 personas a las que se les tomó muestra, solamente se encontró 1 persona adulta del sexo masculino, puesto que en el momento en el que se realizó la selección de las personas, en la mayoría de las casas el hombre se encontraba trabajando.

En aquellas casas en las que se encontraron hombres adultos, estos no presentaban lesiones, lo cual tiene sentido pues manifestaban usar camisa manga larga al momento de salir a trabajar, además que a la hora en la que sale el mosquito para alimentarse ellos ya no se encontraban en su sitio de trabajo.

Por otro lado la mayoría de los hombres trabajan en la tala de árboles y el combustible usado en las maquinas para talar árboles aleja los mosquitos, siendo esto de forma indirecta una protección para ellos.

Finalmente de los resultados obtenidos durante el muestreo se aceptan las hipótesis nulas, descartando la existencia de cualquiera de las variantes en estudio.

6.2. RECOMENDACIONES.

Tomando los resultados obtenidos del estudio de investigación se sugieren las siguientes recomendaciones:

A los pobladores de los caseríos del municipio de Perquin:

Estos individuos según los resultados no muestran la presencia del parásito, pero dado la existencia del vector en la zona, el cual a pesar de no estar parasitado representa un riesgo; deben seguirse recomendaciones como:

- Usar mosquiteros para dormir.
- Usar camisa manga larga.
- Evitar salir en horas que el mosquito sale para alimentarse.
- Usar insecticidas.
- En caso de presentar lesiones en la piel provocadas por este, acudir a la Unidad de Salud.

A la Unidad de Salud de Perquin:

- Mantenerse a la expectativa sobre la enfermedad, tomando una actitud de prevención y control de dicha entidad.
- Capacitar a médicos, enfermeras, licenciados en laboratorio clínico y promotores de salud, en todo lo relacionado a la Leishmaniosis, ya que se desconoce en gran manera la enfermedad.
- Capacitar a líderes comunitarios sobre la enfermedad y reconocimiento de la lesión, para que puedan dar las indicaciones debidas a la población.

Al Laboratorio Central Dr. “Max Bloch”

- La implementación de un estudio entomológico en la zona estudiada para investigar que especie del vector esta presente y verificar si este se encuentra parasitado.
- La realización de un estudio micológico, ya que a través de la observación directa de las personas y la observación microscópica, en muchos residentes de los caseríos en estudio se determinó la existencia de hongos.
- Mantener un monitoreo constante, ya que por la ubicación fronteriza de la zona es susceptible a posibles brotes de la enfermedad.

Al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

- Para que brinden apoyo a el área de salud en este municipio como también a la zona en general, con la apertura de un programa que contribuya a que todos los residentes de la zona conozcan la existencia de la enfermedad en nuestro país y cuales son los principales riesgos de adquirirla, todo esto enfocado a evitar la propagación de dicha zoonosis.

A la Universidad de El Salvador, Facultad Multidisciplinaria Oriental.

Que incentiven a los estudiantes a seguir realizando estudios de este tipo, para dar seguimiento y evaluar la existencia del parásito productor de la enfermedad de la Leishmaniosis.

A los profesionales en laboratorio clínico.

Que sigan enriqueciendo sus conocimientos acerca de este tema, involucrándose en programas y capacitaciones para la detección tratamiento adecuado y de esta forma proporcionar un mejor control de esta zoonosis en nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA.

LIBROS.

AGUILAR CABALLERO, Isidro. GAIBES GARCIA, Teresa. Tratado de Medicina Moderna, 1ª Edición, México, Publicaciones Interamericanas, 1982, 718 Págs.

ARANA, Flora. PANIAGUA, Francisco. Guía de Apoyo para el Diagnostico de la Leishmaniosis en los servicios de salud en Guatemala, 1ª Edición, Guatemala, Serviprensa Centroamericana, 1993, 23 Págs.

BECERRIL, Marco. CABELLO, Raul. Parasitología Médica de las moléculas a la enfermedad, Mc Graw-Hill Interamericana editores, 2006, 301 Págs.

BERKOW, Robert, H. BREES, Marck, J. FLECTCHER, Andrew. Manual Merk. Sin Edición, Barcelona, España. 1517 Págs.

BOTERO, David. RESTREPO, Marcos. Parasitosis humanas, 3ª edición, Medellín Colombia, Ampreandes, 1998, 457 Págs.

GARCIA, Ramón. PELAYO, Cross. Larousse diccionario manual, Querétaro, México, Montalbán editores, 1998, 997 Págs.

GIRARD DE KAMINSKY, Rina. Manual de Parasitología “Métodos para Laboratorio de Atención Primaria de Salud”, 2ª edición, Tegucigalpa Honduras, 2003, 141 Págs.

MOSBY. Diccionario Medico. 4ª Edición 1504 Págs.

MOLLINEDO PEREZ, Sergio. Manual de Procedimientos de Laboratorio para el Diagnostico de la Leishmaniosis, 1ª Edición, Unidad de Parasitología y Entomología, JNLASA, La Paz, Bolivia, 2002, 47 Págs.

NIVES CORRONS, Joan Lluís. Manual de Técnicas de Laboratorio en Hepatología, 2ª Edición, España, MASSON, 650 Págs.

OCEANO. Atlas visual de las ciencias, Barcelona, España, Editorial Océano, 1998, 1072 Págs.

OCEANO. Mentor Interactivo “Enciclopedia Temática Estudiantil”, Barcelona, España, Editorial Océano, 1997, 1032 Págs.

OCEANO. Diccionario de Sinónimos y Antónimos, Barcelona, España, Océano Editores, 1999, 789 Págs.

PEREZ FUENTES, Josefina. González, Irma Yolanda. Como entender y aplicar el método de investigación científica, 2ª Edición, Universidad de El Salvador, San Salvador, 2006, 127 Págs.

ROMERO CABELLO, Raul. Microbiología y Parasitología Humana, 2ª Edición, Editorial Panamericana, SA de CV, 1999, 2700 Págs.

SCHMELKES, Corina. Presentación de Anteproyectos e Informes de Investigación (Tesis), 2ª Edición, México, Editorial Mexicana, 1998, 201 Págs.

WALTON, BC. Leishmaniosis en las Americas, situación actual y alternativas para su control, mimeografiado Organización Panamericana de La Salud, 1996, 230 Págs.

OTRAS FUENTES.

CEDILLOS, Rafael. 6 de junio de 2007, Información sobre Leishmaniosis, Censalud, Director. Información de los procedimientos de laboratorio para identificar *Leishmania* en El Salvador.

COSENZA, Humberto. KROEGER, Axel. Enfermedades parasitarias de mayor prevalencia y transmitidas por vectores en Centroamérica, Tegucigalpa, Honduras, 1992, 285 Págs.

HERNANDEZ, Marta Alicia. 13 de Febrero de 2007, Leishmaniosis, Laboratorio Central Max Bloch, Jefe de sección de Leishmaniosis. Información de la existencia de *Leishmania* en El Salvador.

Leishmaniosis: 11ª Reunión, 11 de Mayo 2006, Consejo Ejecutivo E1311818, Universidad Autónoma de Santa Ana, Facultad de Ciencias de La Salud, Escuela de Post Grado UNASA.

Leishmaniosis. Frotis del parásito. (Documento disponible en www.amastigotesLeishmania.com). Consultado el 20/julio/07

Leishmaniosis. Fotos del parásito. Documento disponible en www.fotos/leishmaniosis.qf.com) obtenido el 04/sep./07.

Parasitosis. Imágenes del parásito(Documento disponible en www.parasito/.com). 2222/julio/07.

Problema de salud. (Documento disponible en www.problemasdesalud.com).
05/agosto/07.

Prueba de Montenegro (Documento disponible en
www.montenegro+leishmania.com) Consultado 10/julio/07.

ROMERO, B. QUINTANA, M. CRUZ, L. SUAREZ, G. FLORES, R. Vigilancia de Leishmaniosis en La Unión, La Unión, El Salvador.

Sospechan Contagio de padecimiento mortal en 44 soldados por enfermedad, La Prensa Grafica. San Salvador, El Salvador, 16 de febrero, 2004, 12 Págs.

A N E X O S

ANEXO N° 1
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES GENERALES

Meses	Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio				Julio				Agosto				Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Inscripción del proceso.																																											
2	Elaboración y entrega del perfil.																																											
3	Elaboración del protocolo de investigación.																																											
4	Entrega del protocolo de investigación.																																											
5	Ejecución de la investigación.																																											
6	Tabulación, análisis e interpretación de datos.																																											
7	Elaboración del informe final.																																											
8	Presentación del informe final.																																											
9	Exposición oral de los resultados.																																											

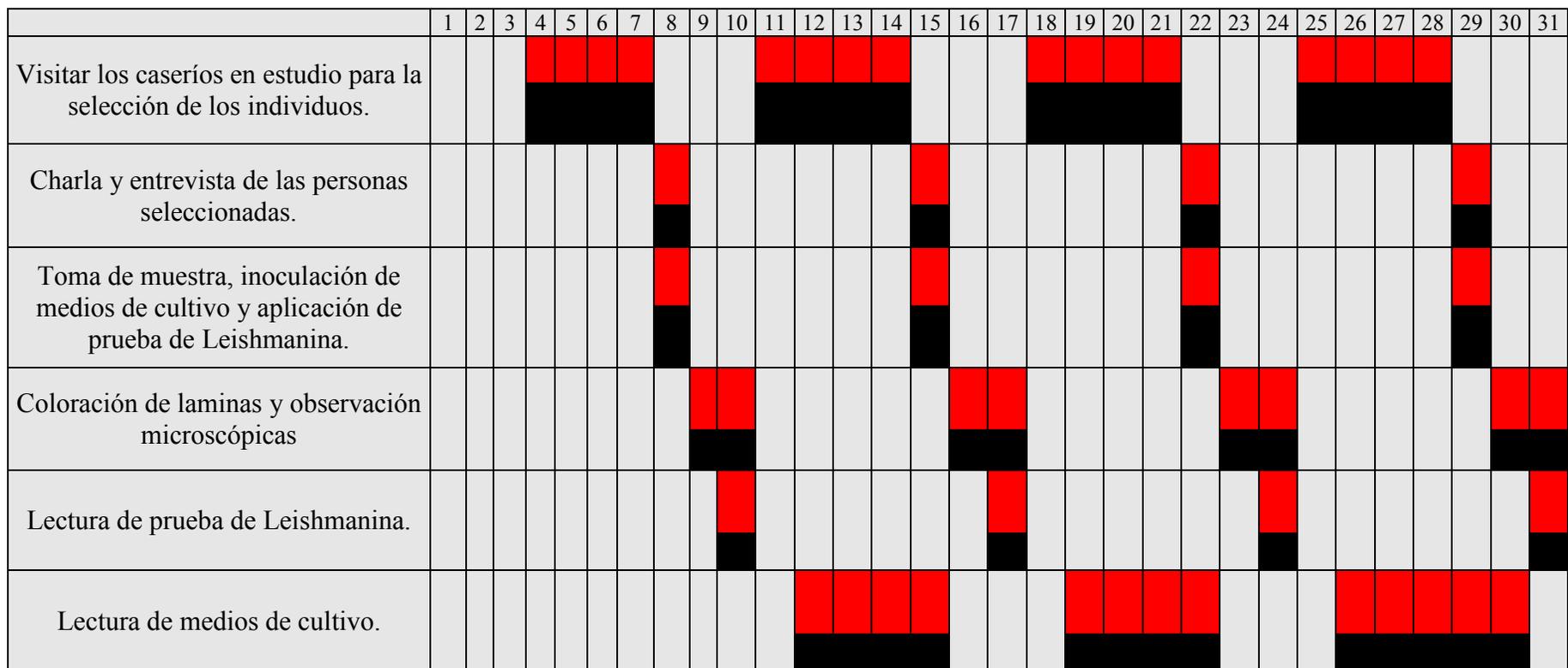
ANEXO N° 2
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES ESPECÍFICAS
Mes de Julio de 2007.

Actividades.	Días.																															
	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
Organización y preparación del área de trabajo.																																
Selección y preparación del material de trabajo.																																
Reunión con los promotores de salud y líderes comunitarios.																																
Reconocimiento de los caseríos en estudio																																
Visitar los caseríos en estudio para la selección de los individuos.																																
Charla y entrevista de las personas seleccionadas.																																
Toma de muestra, inoculación de medios de cultivo y aplicación de prueba de Leishmanina.																																
Coloración de laminas y observación microscópicas																																
Lectura de prueba de Leishmanina.																																
Lectura de medios de cultivo.																																

 Patricia Amaya  Rony Blanco

ANEXO N° 3
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES ESPECÍFICAS

Días.	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V
-------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---



Mes de Agosto de 2007.

■ Patricia Amay ■ Rony Blanco

ANEXO N° 4
CRONOCRAMA DE ACTIVIDADES ESPECÍFICAS
Mes de Septiembre de 2007.

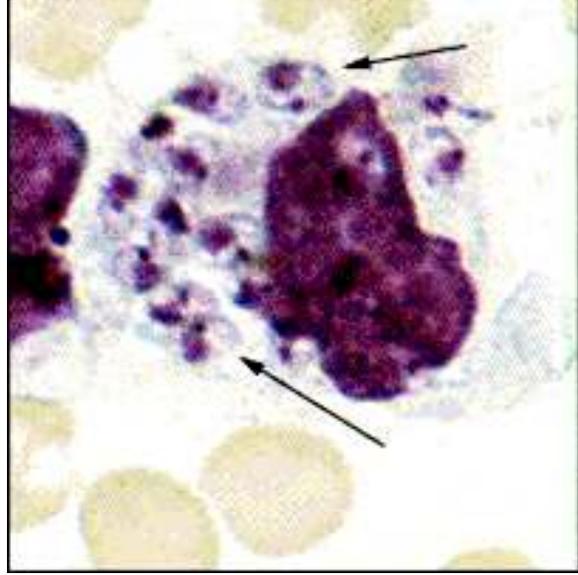
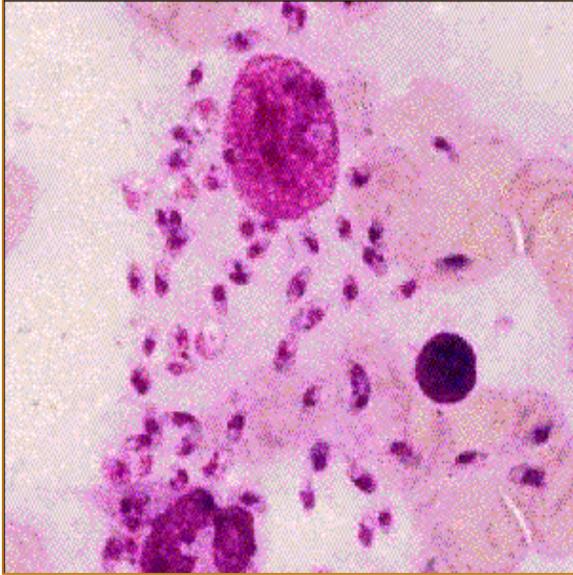
Actividades.	Días.																													
	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Visitar los caseríos en estudio para la selección de los individuos.																														
Charla y entrevista de las personas seleccionadas.																														
Toma de muestra, inoculación de medios de cultivo y aplicación de prueba de Leishmanina.																														
Coloración de laminas y observación microscópicas																														
Lectura de prueba de Leishmanina.																														
Lectura de medios de cultivo.																														
Control de Calidad (Revisión de láminas).																														
Obtención de resultados , tabulación y análisis e interpretación de estos																														

 Patricia Amaya  Rony Blanco

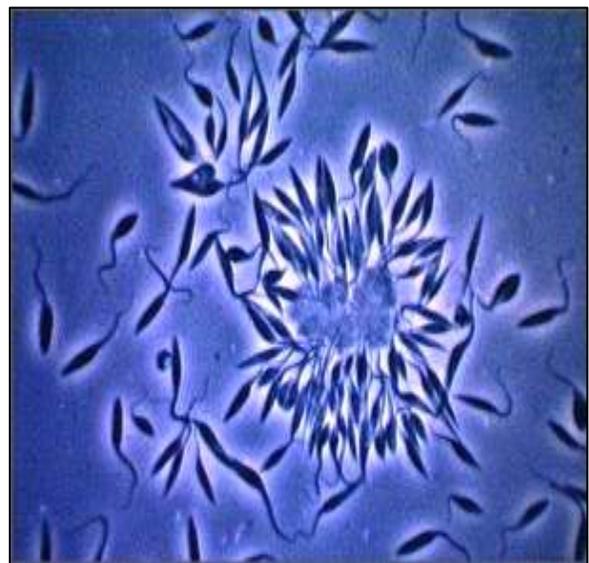
ANEXO N° 5.

FOTOS DEL PARÁSITO.

Amastigotes.



Promastigotes.



ANEXO N° 6.

VECTOR DEL PARÁSITO DE *LEISHMANIA*

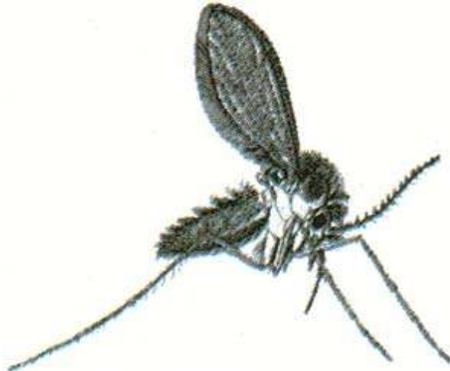


Figura 6. *Lutzomyia* spp.



ANEXO N° 7.

RESERVORIOS DEL PARÁSITO.

RESERVORIOS SILVESTRES



OSO HORMIGUERO.



ZARIGÜEYA.



PEREZOSO.

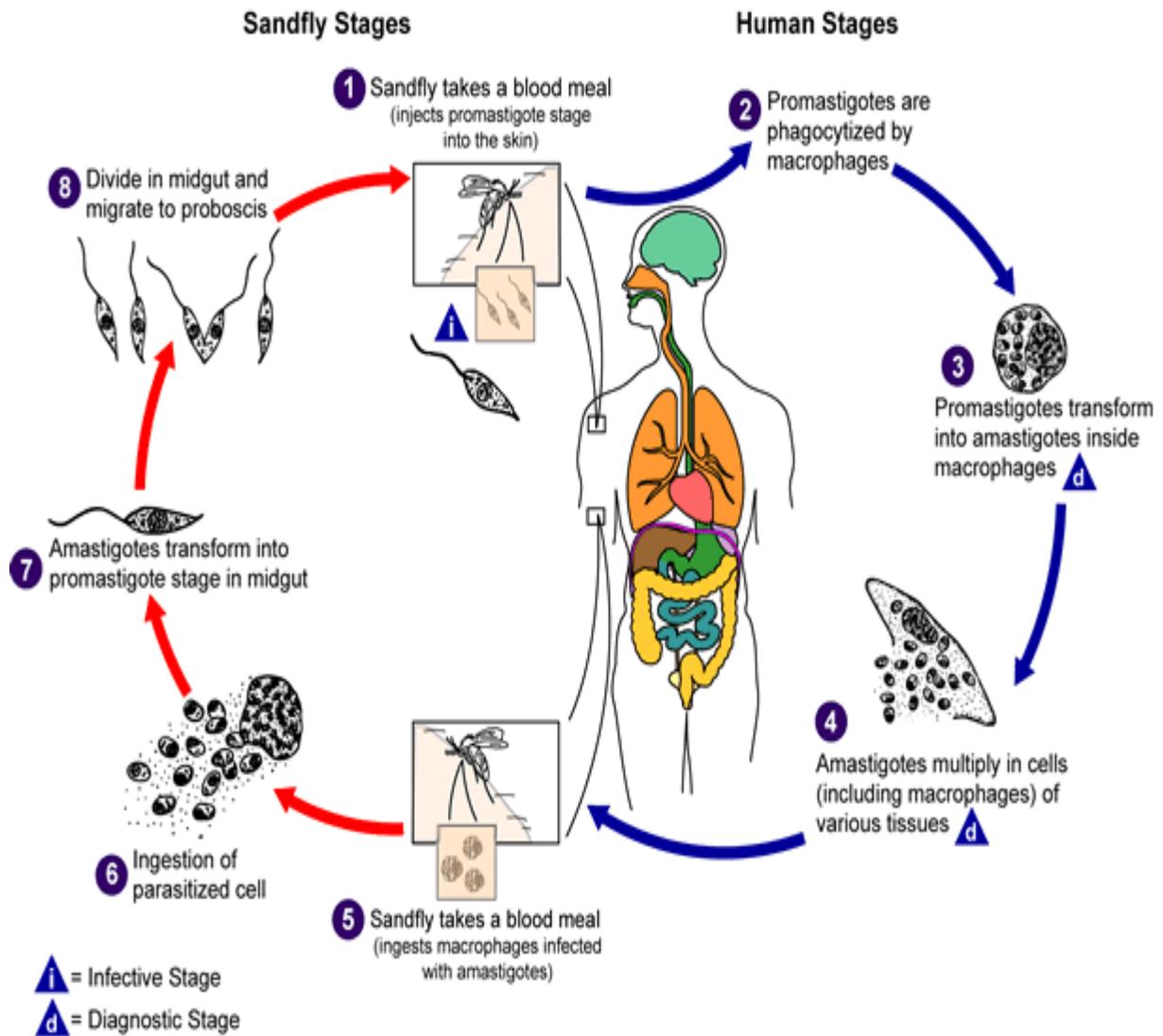
RESERVORIO CASERO

PERRO.



ANEXO N° 8

CICLO DE VIDA DEL PARÁSITO



ANEXO N° 9

LESIONES CUTÁNEAS Y MUCOCUTANEAS

CUTÁNEAS



MUCOCUTANEAS



ANEXO N° 10

Procedimiento de la toma de muestra para el frotis.

- Se seleccionará la lesión (ulcera o papula) de donde se tomara la muestra.
- Se limpiará el área con jabón antiséptico y luego con metanol al 70 %, usando algodón o gasa. Se limpiará sin tocar las costras ni el fondo de la úlcera. Se dejará secar.
- Con la hoja del bisturí sumergida antes en alcohol y de ser posible flameada, se hará una pequeña incisión, por fuera del borde externo de la ulcera, en las zonas mas activas de la misma (o por el centro de la lesión en la Leishmaniosis cutánea atípica), que sangre lo menos posible.
- Se RASPARÁ la superficie cortada para obtener linfa y tejido inflamado y se esparcirá suavemente sobre un portaobjetos limpio y seco.
- Se preparará 2 a 3 láminas, con el fin de incrementar las probabilidades de encontrar parásitos.
- Se dejará secar y se procederá a realizar la coloración.

TOMA DE LA MUESTRA

- Obtención de la muestra por la técnica de raspado.



- Obtención de la muestra por la técnica de raspado.



ANEXO N° 11.

Procedimiento de la técnica o método de giemsa.

- Primeramente se preparará una dilución del colorante con solución amortiguadora o buffer, puede ser una dilución 1:50, pero esto puede variar de acuerdo a diversos factores como la edad del colorante por ejemplo; de acuerdo a la dilución, así será el tiempo de coloración que se aplicará.

Una vez que el frotis se ha preparado, se dejará secar y se procederá a colorear de la siguiente manera:

- Se fijará el frotis por 2 minutos con metanol puro absoluto.
- Se depositará 2 a 3 gotas de este, con un cuentagotas o una pipeta Pasteur, directamente sobre el preparado colocado vertical u horizontalmente, por deslizamiento.
- Se dejará secar.
- Se procederá a colorear con la solución de Giemsa durante una hora (o según el tiempo que convenga).
- Se enjuagará suavemente, se dejará secar y se observará al microscopio al 100 X, usando aceite de inmersión.
- Se buscarán amastigotes de *Leishmania*, hasta por lo menos 30 minutos, dentro o fuera de fagocitos.

INTERPRETACIÓN DE LA COLORACIÓN.

Los amastigotes de *Leishmania* se observaran como cuerpos ovoides, característicamente presentan un citoplasma vacuolado, levemente azul, un núcleo y cinetoplasto, ambos de color rojo púrpura (Visualizar estos dos últimos es clave para diferenciar al parásito con otros organismos como levaduras).

Estos amastigotes pueden encontrarse ya sea dentro o fuera de las células sanguíneas (macrófagos, monocitos, histiocitos).

Positivo.

La observación de formas de 2 a 5 um de longitud intra y extracelulares, redondas u ovoides, Citoplasma azulado, núcleo excéntrico, cinetoplasto de forma bacilar y núcleo de color azul púrpura.

Negativo.

No se observarán formas amastigotes.

ANEXO N° 12

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO BIFÁSICO A BASE DE AGAR – SANGRE NNN (NOVY-NICOLLE-McNEAL)



Para preparar el medio se utiliza sangre de conejo.

Se inmoviliza al conejo para poder obtener la sangre cómodamente.



Afeitar al conejo en el sitio donde se realizara la punción.

Una vez afeitado el sitio de la punción, se realiza asepsia utilizando solución de yodo y alcohol



Se palpa el corazón del conejo tratando de ubicar el ventrículo izquierdo y se punciona cuidadosamente este, se aspira hasta obtener 20 ml de sangre.

Colocar la sangre en un frasco erlenmeyer conteniendo perlas de vidrio estériles, en el la cámara de flujo laminar para evitar la contaminación.



interior de



Desfibrinar la sangre moviéndolo suavemente en superficie plana aproximadamente, hasta no escuchar el sonido de las perlas en el erlenmeyer.

Calentar el medio base de agar hasta disolverlo en baño de Maria y agregar la sangre en el cuidando de no hacerlo cuando el medio aun esta muy caliente y mezclar suavemente.



Distribuir la sangre en tubos estériles al vacío, utilizando una jeringa igualmente estéril.

Colocar los medios inclinados inmediatamente para lograr que se forme un bisel de aproximadamente 3 cm y dejar reposar hasta que solidifique.



Rotular cada medio con la fecha de preparación, la fecha de caducidad y el nombre del medio y luego almacenar en refrigeración de 4° C - 8° C.

TOMA DE LA MUESTRA. PARA CULTIVO.

- En el método de aspirado se inyectará 0.1 ó 0.2 ml de solución salina amortiguada o de solución de lucke que es un antibiótico que inhibe el crecimiento de otros microorganismos.
- Se procederá a entrar por el borde y rotando la aguja varias veces para macerar el tejido internamente y desprender las células que luego se aspiran.
- Es importante realizar previa limpieza del borde de la lesión, cuando los amastigotes son extremadamente escasos.
- El aspirado tomado con aguja hipodérmica puede ser inadecuado, siendo la biopsia y el raspado una mejor muestra.
- Con el material que se obtendrá por cualquiera de los procedimientos, se procederá a inocular los medios de cultivos.

CONDICIONES E INTERPRETACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO.

- Los cultivos se deberán mantener en incubación en un ambiente entre 20° C y 30° C.
- Estos se tornan positivos entre 3-30 días, siendo lo usual 7-15 días, tiempo en el cual se revisarán los cultivos buscando promastigotes en la fase líquida, que con frecuencia están aglomerados y entrelazados por los flagelos formando algunas rosetas características.
- El líquido en el fondo del tubo de cultivo deberá revisarse dos veces por semana a partir del 4° día, utilizando un microscopio invertido; que es más rápido y se evita la contaminación.
- Si no se cuenta con este aparato se tomará una gota de la fase líquida con pipeta pasteur estéril (bajo mechero encendido).
- Se observará al microscopio entre porta y cubreobjeto.
- Los cultivos se retendrán y se observarán durante un mes antes de reportarse como negativos.
- Cuando el medio de cultivo este positivo, se observarán promastigotes en forma de huso con un flagelo libre en el extremo anterior.
- Podrán observarse solos o en grupos entrelazados por el flagelo.
- Puede hacerse una coloración de giemsa extendiendo el cultivo finamente, sobre un porta y cubreobjeto.

Positivo.

Presencia de promastigotes fusiformes, de 16 a 18 μm de diámetro con un núcleo situado cerca de la parte central y blefaroplasto situado en la parte anterior donde se origina el flagelo.

Negativo.

Ausencia de promastigotes.

ANEXO N° 13.

Procedimiento de la prueba de Intradermoreacción de Montenegro.

- Se limpiará un área en la cara interna del antebrazo del individuo en estudio.
- Con la jeringa de 1.0 ml se tomará 0.1 ml de reactivo de Montenegro estérilmente.
- En forma intradérmica se inyectará 0.1 ml de este, poco a poco, notando que se forma una pequeña papula que luego desaparece.
- Se inyectará 0.1 ml con 5 a 25 μ g de promastigotes del parásito entero, muerto y fijado en fenol, o bien un lisado de este.
- Se leerá la prueba a las 48 a 72 horas, midiendo el diámetro de la zona de induración con la técnica de bolígrafo que se explica a continuación:
 -
 - Ejerciendo presión moderada, se traza lentamente una línea con un bolígrafo desde un punto exterior distante 1 a 2 cm del borde de la reacción cutánea hacia el centro de esta.
 - En cuanto se advierte resistencia a seguir avanzando (lo que indica el borde de la reacción), se alza el bolígrafo de la piel.
 - Se repite la misma operación en el lado opuesto de la reacción cutánea.
 - Si la redacción es asimétrica, realizar una medida semejante en un eje de 90°, a partir de la primera medición.
 - Esta técnica permitirá visualizar los bordes de la induración cuyo diámetro se puede determinar exactamente midiendo la distancia entre las líneas opuestas.
 - Diámetro igual o mayor a 5 mm, se considera positiva.

ANEXO N° 14.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
LICENCIATURA EN LABORATORIO CLINICO.

Guía de entrevista dirigida a la población objeto de estudio.

OBJETIVO: Recolectar información sobre las lesiones en la piel de los individuos en estudio.

Entrevistado (a): _____
Entrevistador (a): _____
Tiempo de entrevista: _____ Fecha: _____

DATOS PERSONALES

Nombre: _____
Edad: _____ Sexo: _____
Dirección: _____

PREGUNTAS:

1. ¿Ha escuchado acerca de la enfermedad de la Leishmaniosis?

2.

Si

No

3. ¿Sabia que esta enfermedad es transmitida por la picadura de un mosquito?

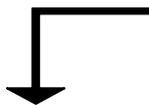
Si

No

4. ¿Ha viajado usted últimamente?

Si

No



¿A que lugar? _____

5. ¿Tiene perros en su hogar?

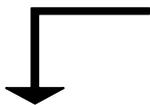
Si

No

6. ¿tiene algún otro tipo de mascota en su casa?

Si

No



¿Cuáles?

a) _____ b) _____ c) _____ d) _____

7. ¿Ha consultado por las lesiones que usted presenta en su piel?

Si

No

8. ¿Hace cuánto tiempo presenta usted estas lesiones?

1-3 Meses

3-6 Meses

6 meses – 1 Año

Más de 1 Año

9. ¿Alguien más de su familia presenta estas lesiones?

Si

No

10. ¿Ha observado lesiones parecidas o iguales en otras personas de su comunidad?

11.

Si

No

12. ¿Tiene problemas de mosquitos en su casa?

Si

No

13. ¿Usted usa mosquitero al momento de descansar (dormir)?

Si

No

14. ¿Acostumbra a salir por las tardes/noches?

Si

No

15. ¿Su vestimenta al momento de salir es?

• ¿Vestido/Camisa manga larga?

• ¿Vestido/Camisa manga corta?

• ¿Vestido/Camiseta o desudo?

ANEXO N° 15.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
LICENCIATURA EN LABORATORIO CLINICO.
GUÍA DE OBSERVACIÓN DIRIGIDA A LA POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO.

Objetivo: Recolectar información que ayude a detectar y diagnosticar la enfermedad.

Observadores: _____

Duración de la toma de la muestra: _____ Fecha: _____

DATOS PERSONALES.

Nombre: _____

Edad: _____ Sexo: _____

Dirección: _____

1. Tipo de lesión: Cutánea Mucocutánea.

2. Lugar de la lesión: _____

3. Numero de lesiones: _____

4. Sensibilidad de la lesión:

Dolor Ardor Prurito Ninguna sensibilidad.

5. Características de la lesión:

Húmedas Secas Carnosas

Asimétricas Simétricas Bordes continuos

Descamación Presencia de halo Purulentas

Sanguinolentas

Elevadas

Escamosas

6. Tamaño de la lesión: _____

7. Reacción de Montenegro:

Reacción:

Negativa

Positiva.

Tamaño del halo _____ Tiempo de lectura _____

8. Síntomas que se observan en los individuos que presentan la lesión:

Dolor de cabeza.

Fiebre.

Obstrucción nasal.

Rinorrea.

Hemorragia nasal.

Úlcera.

Erosión tisular (boca, lengua, encías, labios, tabique nasal).

Disfagia.

Dificultad para respirar.

ANEXO N° 14

PREPARACIÓN DEL MATERIAL DE TRABAJO

- Preparación de pipetas Pasteur para llevarlas al proceso de esterilización.



- Preparación de material.



ANEXO N° 17.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

SUMA DE CUADRADOS

$$Str = \frac{\sum Y_i}{n} - \frac{Y}{n}$$

$$Str = \frac{21 + 22 + 0}{18} - \frac{43}{54}$$

$$Sctr = \frac{935}{18} - \frac{1849}{54} = 51.94 - 34.24 = \underline{\underline{17.70}}$$

$$ScT = \sum \sum Y_{iJ} - \frac{Y}{n}$$

$$ScT = \frac{97 - 1849}{54} = 97 - 34.24 = \underline{\underline{62.76}}$$

$$SCEE = SCT - SCTR$$

$$SCEE = 62.76 - 17.70 = \underline{\underline{45.06}}$$

ANEXO N° 18



**Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social
Laboratorio Central "Dr. Max Bloch"
Sección de Leishmaniasis**

**Informe de resultados Control de Calidad
de "leishmaniasis cutánea y muco cutánea en caseríos de Morazán"**

Fecha de envío Control Calidad: 23/08/07

Responsables :Patricia del Carmen Amaya Landaverde
Rony Dolan Blanco Viera

Resultados obtenidos del Control de Calidad

	Muestra	Resultado Egresados frotis y cultivos	Resultado Lab Central frotis y cultivos	Conclusión
Láminas 36	Frotis Raspado de lesiones	No se observan formas de leishmania	No se observan formas de Leishmania	100 % de concordancia
Cultivos 18	Frotis Raspado de lesiones	No se aíslan formas de leishmania	No se aíslan formas de leishmania	100% de concordancia

Observaciones: Se observa buena coloración y en las láminas observadas un 70 % de los frotis se observa con material de estudio.

Responsable:


Lic. Marta Alicia Hernández R.
Encargado Sección Leishmaniasis



MAHR

ANEXO N° 19



Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social
Laboratorio Central "Dr. Max Bloch"
Área Clínica

Sección Leishmania

Resultados de Láminas en muestras de pacientes con sospecha de leishmaniasis cutánea enviados a control de calidad, provenientes de Perquin Morazán

Fecha	Nombre	Edad	Dirección	Frotis	Cultivo
1- 23/08/07	Manuel Amilcar Romero	8 a	Rancho Quemado, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
2- 23/08/07	Teresa Ester Argueta	18	Casa Blanca ,Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
3- 23/08/07	Elsa Maribel García	27	Rancho Quemado, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
4- 23/08/07	Juan Francisco Chicas	2 meses	Rancho Quemado, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
5- 23/08/07	Antonia Chicas	50	Rancho Quemado, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
6- 23/08/07	Dania Rosibel Romero	6	Rancho Quemado ,Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
7- 23/08/07	María Juana García	34	Rancho Quemado, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
8- 23/08/07	Ana Pastora Hernández	26	Caserío El Volcancillo, Perquin	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
9- 23/08/07	Elmer Argueta Gómez	23	Casa Blanca, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
10-23/08/07	Kelvin Enoc Romero	7	Rancho Quemado, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
11-23/08/07	Candida García	13	Rancho Quemado , Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
12-23/08/07	Dilcia Marilyn Rodriguez	13	Rancho Quemado , Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania

ANEXO N° 20

14-23/08/07	Maritza Antonia García	50	Rancho Quemado, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
15-23/08/07	Griselda Lisseth Nolasco	3	La Joya, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
16-23/08/07	Indranis Noemí López	6	La Joya, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
17-23/08/07	Balmoris Noé Sánchez	9	La Joya, perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania
18-23/08/07	Santos Fidel Sánchez	6	La Joya, Perquin Morazán	No se observan formas de Leishmania	No se aíslan formas de Leishmania

Responsable: Lic. Marta Alicia Hernández Ramírez



Nota.:

Estas muestras fueron enviadas a control de calidad por estudiantes Egresados s de Laboratorio Clínico realizando su seminario de graduación sobre "Leishmaniasis cutánea y muco cutánea en caseríos, Rancho quemado, la Joya, Volcancillo y Casa Blanca del municipio de Perquin, Morazán.

NOTAS DE GESTION

San Francisco Gotera, 05 de junio del 2007.-

Lic. Maria Guadalupe de Guzmán.
Jefe de Unidad de Laboratorio Central "Max Bloch"
San Salvador.-

Respetable licenciada:

Reciba un cordial saludo deseándole muchos éxitos en sus funciones diarias, nosotros, **Patricia del Carmen Amaya y Rony Dolan Blanco**, egresados de la Universidad Nacional de El Salvador, Facultad Multidisciplinaria Oriental, a usted con todo respeto le informamos que estamos desarrollando el trabajo de investigación cuyo tema es: "Leishmaniosis cutánea y mucocutánea", en el municipio de Perquin departamento de Morazán. Razón por la cual solicitamos su colaboración con el aporte de: Reactivo para la realización de la prueba de Intradermoreacción de Montenegro y el medio de cultivo de Senekjje, para darle seguimiento al proceso de investigación.-

Esperando su valiosa cooperación nos suscribimos de usted.

Atentamente.

Patricia del Carmen Amaya

Rony Dolan Blanco.

Oficio: 07-9200-180

San Salvador, 18 de Junio del 2007

Srta. Patricia del Carmen Amaya
Sr. Rony Dolan Blanco
Presente.

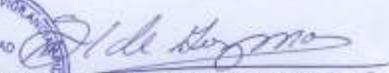
Estimados Sres:

Atraves de la presente tengo a bien comunicarles que luego de leer el protocolo de investigación sobre **"Leishmaniasis cutánea y mucocutanea en el municipio de Perkin, departamento de Morazan"** y conociendo el beneficio que los resultados del estudio daran al Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social y a la población en general el Laboratorio Central "D.r Max Bloch", dara el apoyo solicitado que consiste en:

1. Suministro del reactivo para la prueba de Montenegro.
2. Apoyo para la producción del medio de cultivo Seneckjie y toma de muestra en pacientes sospechosos.

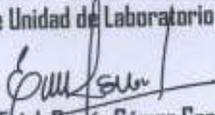
Sin otro particular, atentamente




Licda. María Guadalupe H. de Guzmán
Jefe Unidad de Laboratorio Central "Dr. Max Bloch"

MEMORANDUM No. 2007-0006

PARA: Lic. María Guadalupe de Guzmán
Jefe Unidad de Laboratorio Central "Max Bloch"

DE: 
Dr. Erick Osmaín Gómez Grande
Director Unidad de Salud Perquín



FECHA: 15 de Mayo de 2007

Reciba un cordial saludo deseando los mejores éxitos en sus labores diarias.

Por este medio informo a usted que **Patricia del Carmen Amaya y Rony Dolán Blanco**, egresados de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de El Salvador, Facultad Multidisciplinaria Oriental; se han presentado a esta institución y me han expuesto el proyecto de tesis de graduación "Leishmaniasis cutánea y mucocutánea", manifestando el interés de realizar el estudio en caseríos del municipio de Perquín.

Ante tal iniciativa y después de escuchar el planteamiento de la metodología de estudio; le manifiesto mi interés y buena intención de apoyar el desarrollo de tal actividad; y así fortalecer el conocimiento de esta patología, que en nuestra zona no ha sido investigada.

Sin más sobre el particular, con muestras de estima y respeto me suscribo de usted.

Cc: Dr. Ever Fabrizio Recinos
Coordinador SIBASI Morazán



MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL

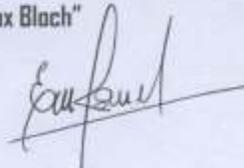
Calle Arce No. 827, San Salvador • Tel.: 2205-7184 y 2221-5008 • www.mspas.gob.sv

ANEXO N° 24

MEMORANDUM No. 2007-0009

PARA: Lic. María Guadalupe de Guzmán
Jefe de Laboratorio Central "Dr. Max Bloch"

DE: Erick Osmin Gómez Grande
Director Unidad de Salud Perquín



FECHA: 25 de Junio de 2007.

Reciba un respetuoso saludo, deseando éxitos en sus labores profesionales.

Por este medio, en relación al estudio "Leishmaniosis cutánea y mucocotanea", que los egresados de la Universidad de El Salvador, Facultad multidisciplinaria de Oriente, en la carrera de Licenciatura en Laboratorio Clínico: Patricia del Carmen Amaya y Rony Dolan Blanco; llevan a cabo en caseríos del municipio de Perquín, atentamente solicito a usted el apoyo para capacitar al personal médico y paramédico de la unidad de salud sobre "Diagnóstico de Leishmaniosis"; para de esa manera brindar un apoyo técnico en relación al tema y optimizar los resultados del estudio.

En espera de contar con su apoyo, sin más sobre el particular me suscribo de usted atentamente

cc Dr. Ever Recinos
Coordinador SIBASI Morazán

cc Lic. Marta Alicia Hernández
Jefe Área Leishmaniosis de Laboratorio Central "Dr. Max Bloch"

San Francisco Gotera, 11 de Julio del 2007.-

Dr. EVER FABRICIO RECINOS
Director de SIBASI
San Francisco Gotera.

Respetable Doctor:

Por la presente reciba un cordial saludo, deseándole mayores éxitos en sus labores diarias, oportunidad que aprovechamos para invitarle al Seminario de Capacitación sobre LEIFHMANIOSIS CUTANEA Y MUCOCUTANEA, a desarrollarse en la unidad de Salud de Perquin el día 12/07/2007, desde las 9.00 A.M. en adelante, la cual será impartida por la Licenciada Marta Alicia Hernández Jefe del Área del Laboratorio Central DR. " Max Bloch", de San Salvador.-

Esperando contar con su valiosa presencia le anticipamos nuestros agradecimientos.-

Atentamente

Patricia del Carmen Amaya Landaverde
Egresados de la Universidad Nacional
de El Salvador, Facultad Multidisciplinaria
de Oriente

Rony Dolán Blanco Viera
Egresado de la Universidad Nacional
de El Salvador, Facultad Multidisciplinaria
de Oriente