

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

E.A.P. DE MEDICINA HUMANA

**Características de leishmaniasis cutánea en una
población de Iquitos: 2012 - 2015**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Cirujano

AUTOR

Liliana Elizabeth Alvarez Chauca

ASESOR

Jorge Odón Alarcón Villaverde

Lima - Perú

2017

AGRADECIMIENTO

A mi asesor, Dr. Jorge Alarcón, quién me ha brindado su tiempo y apoyo en el desarrollo de esta idea y a quién admiro profundamente por todo lo que significa ser investigador, ser maestro y un ejemplo a seguir.

A Willy Lescano, Christian Baldeviano, Edward Smith, Juan F. Sanchez, Maxy De los Santos, Carmen Lucas, Carmen Franco, Elisa Vidal, Bob Gilman y a todos los que trabajan en NAMRU-6 por permitirme aprender de ellos porque son personas que viven y aman la investigación en su forma más pura.

A mis maestros de la universidad, en especial a la firme y cariñosa guía de la Dra. Julia Piscoya, al queridísimo y perspicaz Dr. Carlos Galarza (de quien su recuerdo y enseñanzas perduran en la mente y el corazón de quienes lo conocimos), al constante y confiable Dr. Eduardo Ticona, al siempre amigo e investigador Dr. Eduardo Monge y al maestro de maestros Dr. Fausto Garmendia quienes han marcado profundamente el camino que quiero seguir, porque me han demostrado que con constancia, esfuerzo y amor por lo que se hace se pueden alcanzar grandes cosas.

DEDICATORIA

A mi familia, mi madre que siempre ha confiado en mí y me ha brindado su amor incondicional y mi hermano quien me ha enseñado que no todo está a la mano y si quieres alcanzar las estrellas debes salir de tu zona de confort y buscarlas, ambos me han guiado con amor y ayudado a tener un espíritu inquisidor y sin quienes no sería quien soy. A mi universidad, a la gran familia San Fernandina donde he aprendido a ser médico y mejor ser humano que busca el bienestar de una sociedad más sana y más justa. A ADIECS que más que un grupo de investigación ha sido una gran familia donde he formado mi espíritu y mi carácter de investigadora y me ha brindado las herramientas para poder seguir creciendo. Espero que esta tesis motive mayor investigación formal extracurricular en mis hermanos menores así como decidan graduarse por tesis a pesar de las dificultades administrativas que puedan pasar porque hacer investigación es hacer universidad y significa cerrar el círculo de aprendizaje con aplicación de conocimientos y destrezas.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTO	I
DEDICATORIA	II
RESUMEN	IV
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	5
RESULTADOS	11
DISCUSIÓN	14
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	19
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
ANEXOS	27

RESUMEN

Introducción: La leishmaniasis es una enfermedad olvidada y distribuida por el mundo, es causada por un protozoo del género *Leishmania* que genera una variedad de formas clínicas, entre ellas la Leishmaniasis cutánea (LC) que es la forma más común. A nivel mundial la LC produce 2 millones de enfermos anualmente; en el Perú se notificaron 6231 nuevos casos en el año 2014. El diagnóstico es clínico, epidemiológico y de laboratorio, para lo cual es importante conocer las especies de leishmania y las características clínicas y epidemiológicas de la enfermedad. El presente estudio tuvo como objetivo describir las características demográficas, clínicas y epidemiológicas de la LC y conocer mejor las especies que son frecuentes en una población de Iquitos entre febrero 2012 a enero 2015. **Métodos:** Estudio descriptivo donde se recolectaron datos demográficos, clínicos y epidemiológicos como parte del proyecto Leishmania Disease Protocol (LDP) de Centro de investigación de la marina de guerra de los Estados Unidos (NAMRU6). El PCR del DNA del kinetoplasto (kDNA-PCR) y PCR en tiempo real (RT-PCR) fueron para la identificación molecular y tipificación de Leishmaniasis de las muestras de pacientes reclutados entre febrero 2012 y enero 2015, fueron reclutados en el Hospital de Apoyo de Iquitos y en el Hospital Militar Central que habían residido en Iquitos. **Resultados:** Se reclutó 122 individuos, de los cuales 95,9% varones y 70% fueron de las fuerzas armadas o agricultores o de la industria del petróleo. La mediana de la lesión fue 10.5mm y 80% fueron lesiones únicas. Se observó pobre aplicación de formas de prevención o control de vector y el 85% han observado en algún momento al vector transmisor. 70% de casos se confirmó Leishmaniasis y de estos *L. braziliensis* fue la mayor cantidad seguido por *L. guyanensis* y *L. lainsoni*. **Conclusión:** El estudio reveló que la LC en esta población consultante se presenta más en varones y personal de las fuerzas armadas, las lesiones en tamaño y características son similares a las descritas en otros estudios y que los factores epidemiológicos y de prácticas de salud pública son pobres. Así mismo la especie predominante es la misma que se encuentra a nivel nacional y es reportado en otros estudios.

ABSTRACT

Introduction: Leishmaniasis is a vector-burden forgotten illness, widely distributed around the world. A protozoarian of genus *Leishmania* caused the disease, expressed in three clinical spectrum, Cutaneous Leishmania (CL) is the most common spectrum. There is two million people affected for CL annually; diagnosis is epidemiologic, clinic and laboratory. CL is a disease of great importance for Public Health, because of this, the aim of this study is knowing demographic, clinical and epidemiological features of CL and most frequent *Leishmania* species of a population of Iquitos between 2012 February and 2015 January. **Metodology:** A Descriptive Study, demographic, clinical and epidemiological data were collected as a part of Leishmania Disease Protocol (LDP) of NAMRU 6, molecular identification and typification were made by kDNA-PCR y RT-PCR of samples of recruited patients in Hospital of Iquitos and Militar Hospital where go patients who lived in Iquitots, between 2012 February and 2015 January. **Results:** 122 patients were recruited, 95.9% were male and 70% were army forces personnel, farmers, or oil industry people. Median of lesion was 10.5mm and 80% were unique lesions. There was poor applying of prevention or vector control and 85% saw at any moment the transmitter sand fly. Leishmaniasis was confirmed in 70% of cases and *L. braziliensis* was the most common specie follow by *L. guyanensis* and *L. lainsoni*. **Conclusion:** This study reveal CL in this particular population is more common in men and force army personal. Size lesions and its characteristics are similar to other studies. Epidemiological factors and practices on public health are poor. The most common specie in the population is as well in nation and other studies reports.

INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis es una enfermedad infectocontagiosa y su tasa de incidencia anual mundial es de 1.5 a 2 millones (1). En el Perú el 2011 se reportaron más de 9000 nuevos casos lo que representa un importante incremento desde el 2008 (2). En el mundo se presenta 0,7 a 1,2 millones de nuevos casos de Leishmaniasis Cutánea (LC) al año (3); en el Perú el 2014 se reportó 6231 nuevos casos de LC (4).

El agente etiológico es un protozooario, orden Kinetoplástida, familia Trypanosomatidae y género *Leishmania* (5); existen 23 especies de *Leishmania* que se han asociado con la infección en humanos (1). En nuestro país se han identificado 5 especies: *L. peruviana*, *L. lainsoni*, *L. amazonensis*, *L. guyanensis* y *L. braziliensis*, esta última es la especie más común en nuestro país (5, 6).

La Leishmaniasis se transmite a través de insectos hembra de la subfamilia Phlebotominae, se han detectado más de 90 especies como posibles vectores (1), se las conoce como los Flebótomos en el Viejo Mundo y en el Nuevo Mundo como Lutzomias (7). En Perú las lutzomias son llamadas popularmente “titira” o “manta blanca” y abundan todo el año en las zonas tropicales y en el verano en las zonas templadas, así los vectores identificados en nuestro país son la *Lutzomyia peruvensis*, *L. ayacuchensis*, *L. verrucarum*, *L. noguchii*, *L. Cayennensis* y *L. Tejadai* (5).

El ciclo de vida de la leishmania comienza cuando el insecto se infecta a través de un animal o un humano infectado, el parásito en forma de promastigote es extracelular y se multiplica en el intestino del insecto para luego pasar a las glándulas salivales donde se transforman en amastigotes que es la forma infectante, luego el insecto que sale a alimentarse de preferencia en las

noches infecta a un nuevo hospedero, y finalmente el ciclo se cierra cuando otro insecto al alimentarse se infecta (7-9).

Los mecanismos fisiopatológicos e inmunológicos son diferentes y dependientes del parásito, el ambiente y el hospedero (10, 11). Lo que consecuentemente se explica con la heterogeneidad de la presentación clínica y respuesta al tratamiento (11). Se ha observado que por lo general solo una especie afecta al hospedero; sin embargo, en los últimos años se han observado reportes de co-infecciones mixtas y que muestran lesiones de diferentes características por lo que podríamos pensar en la influencia de la respuesta del hospedero y posiblemente también de la especie de *Leishmania* (12, 13).

Dentro del espectro clínico de la LC encontramos tres formas de presentación: Leishmaniasis Cutánea, Leishmaniasis Mucosa, Leishmaniasis Visceral; de las cuales la más frecuente es la Leishmaniasis Cutánea (7-9). En el Perú las formas que se hallan son dos: Leishmaniasis Cutánea (LC) y Mucosa (LM) (4, 5).

El primer signo de LC es un típico eritema pequeño que se desarrolla luego de un período variable de incubación, el eritema evoluciona a pápula, luego a nódulo y progresa a úlcera, todo en un período de 2 semanas a 6 meses (8). La última lesión que es la úlcera presenta bordes indurados, no dolorosos que en el caso del Nuevo Mundo puede estar cubierta por una fina capa de material blanco-amarillo fibrinoso (8, 14); las lesiones múltiples pueden existir y presentarse de diferentes formas como esporotricoides, verrucosa, zosteriforme, psoriasisiforme, eczematosa y/o erisipeloides (8). Estas lesiones pueden autolimitarse y curarse por sí solas en meses o años pero existen otras que no se curan por sí solas, es así que a veces no son muy tomados en cuenta por el paciente por lo que deja que este progrese y luego recién buscar ayuda médica (9, 14). La LC aparentemente curada puede expresarse

en LM luego de un período de incubación hasta de 1 a 5 años, que es una forma severa de la enfermedad y que produce problemas en la morbilidad y mortalidad (7).

El diagnóstico de LC se realiza con la clínica y el laboratorio, clínicamente es necesario conocer las características de las lesiones que se pueden presentar y asociarlo a una historia de provenir de una zona endémica. En cuanto a los métodos de laboratorio el diagnóstico parasitológico es el método más usado debido a su alta especificidad y por ser asequible, también existe el examen histopatológico, el cultivo y pruebas serológicas como la prueba de Montenegro que generalmente se usa en trabajos epidemiológicos por su alta sensibilidad y especificidad pero no distingue entre infección pasada y presente (8). Sin embargo, los métodos de diagnóstico han evolucionado y particularmente la biología molecular que ayuda a identificar de manera más efectiva y rápida las diferentes especies de *Leishmania* (15), pero que requieren de más presupuesto, instrumental y personal experimentado.

La LC cura por reepitelización y deja una cicatriz atrófica, el tratamiento busca disminuir el tiempo de curación, disminuir el tamaño final de la cicatriz, la diseminación de la enfermedad o las recaídas (7). Existen diferentes medicamentos tópicos, orales y parenterales; de los cuales la Organización de las Naciones Unidas (ONU) recomienda el tratamiento de LC con antimonial pentavalente a 20mg/Kg por día por 20 a 28 días consecutivos (8). En diferentes estudios se ha observado que cada especie responde mejor a un tipo de medicamento que a otro (7, 8). Los pacientes deben tener controles médicos de 6 a 12 meses donde muestren curación completa y no recaídas, debido a que se han visto más casos de cepas resistentes al tratamiento convencional así como reacciones adversas al antimonio pentavalente usualmente reversibles como dolores musculares, falla renal, hepatotoxicidad y cardiotoxicidad (7, 8, 16).

Debido a que la ONU en el año 2016 formuló la Agenda 2030 para el desarrollo sostenible y el objetivo número tres contempla brindar salud y bienestar; y dentro de esta se considera acabar con las epidemias de enfermedades infectocontagiosas como la Leishmaniasis y por ello es necesario que se estudie más esta enfermedad. Por lo tanto el presente estudio tuvo como objetivo describir las características demográficas, clínicas y epidemiológicas de la población afectada por Leishmaniasis cutánea durante el 2012 al 2015 en una población de Iquitos así como identificar la especie de Leishmania más común en la población estudiada mediante kDNA y RT PCR.

METODOLOGÍA

Diseño de investigación

Estudio descriptivo que se realizó como parte del proyecto “Characterization of the infectious agent causing tegumentary Leishmaniasis in South America” (Leishmania Disease Protocol [LDP]- NMRD.2007.0018) del Centro de Enfermedades Infecciosas de la Marina de Guerra de los Estados Unidos (NAMRU 6). LDP es un estudio prospectivo llevada a cabo en 12 lugares del país caracterizados por ser zonas endémicas o de referencia nacional para Leishmaniasis tegumentaria como el Hospital Regional de Cuzco, Dirección Regional de Salud Madre de Dios, Hospital de Apoyo Iquitos, Hospital Nacional Arzobispo Loayza y el Hospital Militar Central. LDP incluye hombres o mujeres, casos con sospecha clínica de Leishmaniasis y que cuenten con consentimiento informado firmado; y excluye pacientes bajo tratamiento para leishmaniasis en los pasados 6 meses o en el momento de la encuesta. LDP considera sujetos entre 5 a 65 años y procedentes de diversas partes del Perú desde febrero del 2012 hasta setiembre del 2018. Previa solicitud de Consentimiento informado o asentimiento se procede a aplicación de un cuestionario y toma de muestras.

Población:

Los participantes para el presente estudio se captaron de manera pasiva en 35 meses entre febrero 2012 y enero 2015. La detección de estos casos probables de Leishmaniasis se realizó en el Hospital Apoyo de Iquitos (HAI), donde los pacientes llegaban al servicio de infectología y en el Hospital Militar Central (HMC), donde llegaba población militar destacada a Iquitos procedente de diferentes zonas del Perú. Por lo tanto, se consideró casos probables (“Toda persona procedente de una zona endémica de leishmaniasis y que presente cuadro clínico compatible”) que hayan habitado en Iquitos y adquirido Leishmaniasis en esta zona.

Descripción del área de estudio.

Iquitos es una ciudad perteneciente a la provincia de Maynas, departamento de Loreto. Ubicada al Noreste de Perú, tiene un área de 5692.74 Km² y a una altitud entre 70 a 220 msnm. En el 2015 se censó una población de 471 993 con una densidad de 1100 habitantes/Km². Presenta un clima ecuatorial con precipitaciones constantes.



Recolección de información

Durante el proyecto LDP en la población ya mencionada se identificaron a los pacientes clínicamente compatibles de casos probables de LC, por el infectólogo en HAI o el dermatólogo en HCM; luego se les informó acerca del estudio LDP y se les solicitó firmar una consentimiento informado (Anexo 1) luego fueron entrevistados mediante un cuestionario estructurado que fue usado para recolectar información demográfica, clínica y epidemiológica (Anexo 2); así como parámetros demográficos se consideraron la edad, sexo, procedencia y ocupación; los parámetros clínicos fueron el tiempo de evolución de la enfermedad, tipo de lesión, número de lesiones, localización

de lesiones, tamaño mediante diámetro máximo de la lesión y un examen clínico donde se enfatizó la ubicación de adenomegalias y parámetros epidemiológicos. Cada ficha fue rotulada con un código por participante para conservar el anonimato del participante.

Para el presente estudio, se identificaron los códigos de los sujetos de las sedes de HAI y HCM (población que provenía de la zona de Iquitos en general) examinados entre febrero del 2012 y enero del 2015. Toda esa data fue vaciada a Excel para ser analizada posteriormente.

Muestras de lesiones

Según el LDP luego de la aplicación del cuestionario se procedía a la toma de muestras de la lesión que incluían papel filtro en lesión, muestra con lanceta, aspirado de tejido y biopsia de 2 mm con punch. Todas las muestras se rotularon estrictamente y luego fueron preservadas.

Se usó la muestra de biopsia. La criopreservación de dicha muestra se realiza posterior a la extracción de DNA, para la extracción de DNA se hace uso de un reactivo QIAamp DNeasy que asociado a otros insumos y procedimientos se consigue la extracción DNA.

Luego de lo anterior se realiza un procedimiento para la criopreservación en tanques con nitrógeno líquido, se usa agar Senekjie para aislar el promastigote y solución Schneider para una fase multiplicación, luego se centrifuga para finalmente poner en un medio de criopreservación y colocar lo viales a -80°C.

Para el presente estudio, se identificaron los códigos de los sujetos de las sedes de HAI y HCM (población que provenía de la zona de Iquitos) entre

febrero 2012 y enero 2015. La mayoría de las muestras fueron procesadas por personal experto, para las muestras que no se realizaron se procedió a ir al archivo de muestras que se ubicaban en tanques de criopreservación en condiciones adecuadas; luego con las medidas de bioseguridad necesarias en un envase con hielo seco se colocaban las muestras del archivo y se procedía a llevarlos al laboratorio donde se realizaba el procedimiento para descongelar los viales para ello se hace uso de un medio de descongelamiento que junto al contenido de los viales se centrifuga y el sedimento resultante se coloca en Agar Senekjie, posteriormente se realizaron el kDNA y RT PCR.

Análisis en laboratorio

kDNA PCR

Para la amplificación del kinetoplasto DNA se usó los primer MP1-L (sense) 5'-TAC TCC CCG ACA TGC CTC TG-3' y MP3-H (antisense) 5' GAA CGG GGT TTC TGT ATG C-3'. Así mismo para el control positivo se usó la cepa de *L. braziliensis* MHOM/BR/84/LTB300 y para el control negativo, DNA de muestras negativas para leishmaniasis. En un volumen total de 20µL se mezcló 9.2 µL de agua (grado PCR), buffer PCR 2µL (10X), 0.6µL MgCl₂ (50mM), 1 µL primer MP1-L, 1µL primer MP3-H, 2µL dNTPs, 0.2µL Taq DNA polimerasa y 4 µL de la muestra. La mezcla se incubó en el termociclador GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems) a 94°C por 5 minutos (denaturación), seguido de 35 ciclos que consistían en 94°C por 45 segundos, 58°C por 45 segundos y 72°C por 1 minutos, y finalmente 72°C por 5 minutos. Se preparó gel de agarosa al 2.5% y se colocó los productos de PCR para correrlos a 95V por 45 minutos a 1 hora. Finalmente se registró los resultados usando el programa Gel Doc and Quantity One (Anexo 3).

RT-PCR

Esta técnica está basada en las mutaciones conocidas en los genes 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6PGD) y manosa fosfato isomerasa (MPI)

que son usados para identificar especies de Leishmania: *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. preuviana*, *L. panamensis* y *L. lainsoni*.

Para el gen 6PGD tuvo 50 μL total de mezcla, 14.2 μL de agua (grado PCR), 5 μL de buffer PCR (10X), 1.5 μL MgCl_2 (50mM), 8 μL dNTPs (1.25mM), 8 μL primer 6PGD.909.F (5 μM), 8 μL primer 6PGD.1537.R (5 μM), 0.3 μL Taq polimerasa platinum (5U/ μL) y 5 μL de la muestra. Se corrió el PCR en un termociclador (GeneAmp PCR system 9700) a 94°C por 5 minutos luego por 35 ciclos 94°C por 45 segundos, 62°C por 45 segundos y 72°C por 1 min; y 72°C por 5 minutos. Para el gen MPI se tuvo 50 μL total de mezcla, 25.2 μL de agua (grado PCR), 5 μL de buffer PCR (10X), 1.5 μL MgCl_2 (50mM), 8 μL dNTPs (1.25mM), 2.5 μL primer MPI.969.F (10 μM), 2.5 μL primer MPI.1690.R (10 μM), 0.3 μL Taq polimerasa platinum® (5U/ μL) y 5 μL de la muestra. Se corrió el PCR en un termociclador (GeneAmp PCR system 9700) a 94°C por 5 minutos luego por 35 ciclos 94°C por 45 segundos, 62°C por 45 segundos y 72°C por 1 min; y 72°C por 5 minutos (Anexo 4).

Luego se realizó la transferencia de energía resonante y fluorescente (FRET) basada en el ensayo de tiempo real (RT), para esto se realizaron mezclas finales para MPI se mezcló 5 μL del último producto, 4.3 μL agua, 4 μL LightCycle 480 Genotyping Master (5X), 5 μL MPI.1083.F (Sense), 1 μL MPI.1032.R (antisense) y 0.7 μL MPI.1083.a/s (anclaje y sensor); y para el gen 6PGD 5 μL del último producto, 4.3 μL agua, 4 μL LightCycle 480 Genotyping Master (5X), 5 μL 6PGD.1262.F (Sense), 1 μL 6PGD.1262.R (antisense) y 0.7 μL 6PGD.1262.a/s (anclaje y sensor). Con las mezclas hechas se procedió con el RT-PCR para el que se usó el LightCycler® 480 (Roche) con condiciones de 95°C (4.4°C/s) por 5 min, luego 45 ciclos de 95°C (4.4°C/s) por 10 s, 60°C (2.2°C/s) por 20 s y 72°C (4.4°C/s) por 20 s; y seleccionar la combinación de filtro apropiado según el gen (MPI: 483-670nm y 6PGD: 483-610nm) (Anexo 4).

Finalmente, se calculó el tiempo de fusión usando el filtro de corrección para ambos genes y se interpretó la altura del pico correspondiente al resultado comparándose con el set de controles (Anexo 4).

Plan de análisis estadístico de los datos

Se realizó el análisis descriptivo para la caracterización demográfica y epidemiológica de la población. Se procedió con el mismo análisis para describir las variables clínicas como tiempo de evolución de la lesión, tamaño de lesión y tipo de lesión. Para describir los resultados de los análisis moleculares también se realizó el análisis descriptivo. Para estos análisis se empleó el programa STATA versión 13 para Windows.

Consideraciones éticas

El proyecto original LDP ha sido aprobado por el comité de ética del NAMRU-6 (NMRCD.2007.0018). Dentro del proyecto LDP el consentimiento informado fue obtenido por un médico o personal calificado y realizado individualmente para cada participante. A los sujetos participantes se les enfatizó que la participación es completamente voluntaria. Cuando se trata de enrolar a miembros militares ningún otro personal militar estuvo presente durante el proceso de enrolamiento para evitar cualquier percepción o acto de coerción.

Para el presente estudio se mantuvo la identidad de los sujetos en total anonimato y se trabajó con los códigos asignados en el momento de enrolamiento, debido a que tanto las fichas como las muestras han sido rotuladas con dicho código único correspondiente a cada sujeto. Todos los datos electrónicos fueron almacenados en una computadora de NAMRU y sólo el personal clave tuvo acceso a esos datos.

RESULTADOS

Características demográficas

Se estudiaron un total de 122 pacientes considerados casos probables de leishmaniasis cutánea. El 96% fue de género masculino, con una mediana de edad de 30 años; en su mayoría pertenecían a la policía o fuerzas armadas. Para más detalles observar la **Tabla 1**.

Tabla 1. Características demográficas de la población

Características	% (n)
Sexo (% masculino)	95,9 (117)
Edad*	30 ± 16 (0, 84)
Residencia	
Lima	41 (50)
Loreto	34 (41)
Junín	6 (7)
Otros	19 (24)
Ocupación	
Fuerzas Armadas	63 (76)
Agricultor e	
Industria del	10 (14)
petróleo	
Otros	27 (32)

* Mediana ± IQR (mín,máx)

Características clínicas

El tiempo de enfermedad, desde el brote de lesión hasta el momento de consulta, fue de aproximadamente 2 meses, 18% (23 casos) manifestaron que la lesión tenía más de 5 meses, 80% de pacientes presentaron lesión única. En este estudio solo describiré las características de lesiones únicas para evitar confusiones. El 88% fueron lesiones tipo úlcera, seguidas de nódulo y placa y generalmente en miembros inferiores. La mediana del tamaño de la lesión ha sido 10.5mm (**Tabla 2**).

Tabla 2. Características clínicas de la población

Variables	% (n)
Tiempo de enfermedad (meses)*	2 ± 3 (0;36)
Nº de lesiones *	1 ± 0 (0;9)
1	80.3 (98)
2	10.7 (13)
3	4 (5)
>4	5 (6)
Tipo de Lesión	
<i>Úlcera</i>	88,1 (86)
<i>No úlcera</i>	11,9 (12)
Ubicación de Lesión	
<i>Extremidades inferiores</i>	42,8 (42)
<i>Extremidades superiores</i>	40,3 (39)
<i>Rostro</i>	9,2 (9)
<i>Múltiples áreas</i>	7,7 (8)
Lesiones infectadas	25,7 (27)
Tamaño de lesión (mm)*	10.5 ± 15 (0.5;150)

Linfadenopatía (Sí) 12.6 (15/119)

* Mediana ± IQR (mín,máx)

Características Epidemiológicas

El 80% realiza actividades a campo abierto y sólo 6% nunca ha dormido cerca a la vegetación de la selva o de campos de cultivo. El 43% de los pacientes reclutados refiere que nunca usa repelente de mosquito y sólo el 8% lo usa siempre; el 89% nunca usa ropa con insecticida; sin embargo, el 53% manifiestan que ha rociado insecticida en su habitación los pasados 6 meses. El uso de prendas con mangas largas es de algunas veces (38%). De manera regular el 50% tiene contacto con perros y/o algún otro animal doméstico. El 73% usa con alguna frecuencia mosquiteros al dormir. Por lo menos una vez han observado la presencia y percibido la picadura de una manta blanca o titira un 85% de los reclutados.

Hallazgos de laboratorio

El 70% (85/122) de todos los casos probables de LC el kDNA PCR fue positivo para Leishmaniasis. De estos, se identificaron las especies causales mediante RT-PCR en 82% (70/85); el 18% (15/85) restante fue identificado como *Leishmania spp.* Las especies identificadas fueron en orden de frecuencia las siguientes: *L. braziliensis* (74.3%; 52/70), *L. guyanensis* (20%; 14/70) y *L. lainsoni* (5,7%; 4/70).

DISCUSIÓN

La cantidad de población reclutada en este estudio es un número pequeño en comparación a los casos reportados en los países endémicos de América en general (4) y en el Perú en particular que donde la tasa de incidencia acumulada ha ido incrementando en los últimos 10 años (17).

A nivel de América Latina se observa un mayor porcentaje de población masculina afectada (18-21); sin embargo, en países de África y Oriente próximo la población es igualmente afectada (22) o con mayor casos de mujeres afectadas (23). La causa de dicha diferencia aún no queda dilucidada, pero se debe considerar la importancia de comportamientos socioculturales entre hombres y mujeres según la sociedad donde se estudia (24). Por ejemplo en un estudio del 2010 las fuerzas armadas del Perú tuvo una epidemia de LC, donde 90% fueron varones (25), en general en las Fuerzas Armadas peruanas la proporción de mujeres es menor que el de varones. Así como existe una explicación sociocultural también existe una explicación biológica para la cual es importante el rol neuroendocrino dentro de la respuesta inmunológica contra LC (26, 27). LC produce reducción de los niveles de prolactina, dihidroepiandrosterona (DHEA) y testosterona que afecta la regulación neuroendocrina y restringe la respuesta de los linfocitos TH1 lo que genera una producción disminuida de interferón gamma y que clínicamente se traduce en la relación con el tamaño incrementado de las lesiones, así mismo se observó en varones que a mayor estradiol en plasma mayor tamaño de lesión (27). En el presente estudio la mayoría de casos reclutados son varones y dos de las posibles explicaciones a la mayoría de este género es primero porque la población estudiada ha pertenecido a las fuerzas armadas y personas que trabajaban en el sector agricultura o petrolífera, actividades que son ligadas con frecuencia al sector masculino y una segunda explicación es la influencia hormonal dentro de respuesta inmunológica que favorece el número de casos masculinos frente a los femeninos; sin embargo, dicho factor no fue causal de estudio por lo que no

se determinó los niveles hormonales ni parámetros inmunológicos por ende es fuente de mayor estudio.

La LC es una enfermedad dermatológica por lo que se esperaría que las personas acudan por atención médica temprana; sin embargo, el tiempo de evolución de la LC desde el inicio de la lesión hasta acudir al médico es por lo general una media de dos meses en Sudamérica (18, 25) o de un mes en Marruecos (28). Este estudio presenta datos compatibles con la de Sudamérica, pero con el dato extremo de 36 meses que en comparación con los estudios mencionados es el tiempo de evolución más largo; la leishmaniasis es considerada una enfermedad olvidada (7). Una causa de porqué el tiempo de evolución puede prolongarse es que la población afectada no tiene un buen acceso a salud. Para poder determinar mejor las causas del mayor tiempo de enfermedad debería realizarse mayores estudios de las poblaciones afectadas y los quintiles de pobreza a los que pertenecen.

Se puede observar que los pacientes con LC por lo general tienen una única lesión en la zona de picadura del agente transmisor (21, 29, 30); a pesar de ello, es importante tener en cuenta el número de lesiones que un paciente pueda tener al examen clínico inicial y otras características de la anamnesis para poder distinguirla de una LCD (9), aunque por el tipo de Leishmania que tenemos en Perú la posibilidad de padecer de LCD es menor (9). Es necesario tener en cuenta el número de lesiones porque se ha visto su posible importancia en el manejo o en la predicción de falla de respuesta al tratamiento (21). Es importante continuar con el estudio de la respuesta TH1 y la relación con el número de lesiones que un paciente pueda tener para poder mejorar así la terapéutica de esta enfermedad. También es importante determinar el tipo de lesión clínica para poder distinguir si es o no una lesión de LC. En este estudio se encontró que la mayoría de lesiones son de tipo úlcera, lo cual concuerda con la descripción de la mayoría de revisiones clínicas de LC (14) y que se atribuye a un complejo resultado entre la carga parasitaria, y el estado del sistema inmunológico del hospedero (31).

La ubicación de las lesiones son diversas y están relacionadas a la exposición con el ambiente (9), se puede observar que existen mayor cantidad de lesiones en rostro y miembros superiores en zonas de África y Oriente próximo (22, 23, 28) a diferencia de este estudio que tiene mayor afectación en miembros inferiores lo que concuerda más con reportes de Perú, Argentina y Brasil (18, 19, 21). Al parecer no existe asociación entre la localización de la lesión y falla de tratamiento (21). La diferencia entre ambos continentes se puede explicar por el componente cultural y hábito de vestimentas que puedan tener. Las lesiones por lo general eran de 3cm (18, 21) a diferencia de este estudio en el que se encontró una mediana pequeña más compatible con lesiones reportadas en Yemen o Marruecos (22, 28); el tamaño de las lesiones y el hallazgo de adenopatías se han asociado a la falla de tratamiento: a menor tamaño mayor falla (13, 21, 31). Esto podría explicarse por la activación del sistema TH1 que produce interferón gamma y TNF alfa en cantidades para activar la cascada y atacar la zona infectada y eliminar los parásitos (10, 31). Se ha descubierto que existe una asociación positiva con TNF y mayor tamaño de lesión (31) pero aún quedan mayores interrogantes entra la relación del sistema inmunológico de cada hospedero y su relación clínica tanto en presentación como en respuesta a tratamientos.

La Leishmaniasis es una enfermedad ligada a un entorno por lo general rural o en su defecto una zona rural urbanizada en las que la altitud y el clima favorecen la supervivencia de los vectores (20, 22, 32), lo que es compatible con este estudio donde más del 80% de pacientes observaron a la "Titira" en la zona donde vivían. Por ello es necesario el control de vectores de alguna forma; sin embargo, en nuestro estudio se ha hallado que las características epidemiológicas que ayudan a la limitación del vector son pobres; este hallazgo es compatible con otros estudios donde se encontró que el dormir al aire libre, y que el uso de protectores de mallas, ropa apropiada o insecticidas es pobre (18-20, 23, 25, 28). En particular en nuestro estudio ligado a mayor población militar con posible falta de conocimientos acerca de enfermedades infecciosas en general, y la LC en particular, es probable que estos hábitos

jueguen un rol importante en el desarrollo de la enfermedad (33). Esto también implica que la educación de la población expuesta puede orientar mejor y conseguir disminuir la incidencia de LC (25). También en el caso de la población expuesta por temas de trabajo, vivienda o zona de residencia se deberían implementar servicios básicos y de salud, así como programas de manejo de vectores, porque los resultados nos arrojan pobre adherencia a estas medidas de salud pública.

El avance de la tecnología ha permitido que el método diagnóstico de LC evolucione desde la histología, inmunología, cultivos hasta técnicas moleculares (14), pero hasta el momento no se sabe qué método diagnóstico elegir, incluso dentro del diagnóstico molecular existen diferentes métodos que implican diferentes procedimientos y por ende diferentes instrumentos (15, 34-38). En este estudio se realizaron dos técnicas moleculares, en general se ha visto que la técnica de PCR es una técnica muy sensible para Leishmaniasis llegando hasta el 96.9% (34). Se usó el KDNA PCR para determinar LC y esta técnica es usada regularmente en los trabajos de campo por ser un método de mediana tecnología (15, 35). Así mismo se empleó RT PCR que es un método de alta tecnología que necesita más tiempo, instrumentos, inversión y personal más experimentado, es decir, no es un método de campo (8); este método, siendo un método cuantitativo, permite determinar la carga parasitaria y tipificar las especies de Leishmania (36).

La tipificación de especie es importante porque cada especie tiene una singularidad en la manifestación clínica, la *L. braziliensis* tiene un cuadro prodrómico al desarrollo de úlcera mientras *L. mexicana* presenta sus úlceras sin pródromos pero son más crónicas. Tanto *L. braziliensis*, *L. panamensis* como la *L. guyanensis* están ligadas a formas de Leishmaniasis mucosa, la primera en forma temprana tanto como crónica y las otras dos incluso 5 años después de la forma cutánea curada (7, 9, 14). Algunas especies pueden co infectar un sujeto y puede generar lesiones diferentes, los híbridos o co infecciones reportados son *L. braziliensis/ L. lainsoni* (12), *L. braziliensis/ L.*

peruviana (39, 40); sin embargo, en este estudio no se presentó ningún híbrido. *L. braziliensis* ha sido la especie que ha causado más casos en este estudio a diferencia de un reporte en el que *L. peruviana* es la principal especie pero en el que se colectó información de lugar de referencia no endémico (40). En trabajos generados a nivel nacional se reportan que la mayor cantidad de agente causal es la *L. braziliensis* (6, 25, 39), también en Sudamérica se reporta mayores casos de LC por *L. braziliensis* (18-20). Así mismo la tipificación de la especie puede ser un factor importante en el pronóstico de la enfermedad y si el tratamiento puede fallar (13, 21, 40). Según un score para fallo al tratamiento *L. braziliensis* es un importante factor de riesgo con OR=25.7 (13), también se ha determinado que *L. braziliensis* y *L. Peruviana* están más asociadas a falla de tratamiento que *L. guyanensis* (21, 40); en este estudio no se hizo seguimiento a los pacientes pero la mayoría presentaba infección por *L. braziliensis*.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La leishmaniasis y en particular la LC es una enfermedad infecciosa compleja tanto en su distribución como en su presentación clínica, su diagnóstico y su tratamiento, es por ello que se necesita una vigilancia activa de esta enfermedad y realizar más estudios de este tipo según cada región del país, dado que se sabe poco de los factores ambientales y socioeconómicos que puedan permitir la alta incidencia y diseminación de la enfermedad.

Este estudio muestra que existen características demográficas como género, edad y ocupación que podrían ser de importancia en el desarrollo de LC; sin embargo, por no ser motivo de estudio no se ha identificado variables confusoras para poder determinar con mayor precisión si en realidad influyen o no, por lo tanto se recomienda continuar haciendo estudio que permitan dilucidar el papel de estos factores.

Así mismo las características clínicas que se presentan son importantes para una mejor atención médica, el reconocer el tipo lesión más frecuente pero sin olvidar que existen formas que son poco singulares y a pesar de ello el estudio clínico, epidemiológico y de laboratorio son necesarias para un adecuado tratamiento; por ello, se recomienda continuar con estudios que muestren más características clínicas que permitan distinguir mejor la LC de otras patologías.

La Leishmaniasis en general es una enfermedad característica de pueblos en desarrollo, por ello es necesario implementar políticas de salud pública y educación a la población afectada, para disminuir la incidencia de LC. En este estudio se ha observado que existe poca práctica de las recomendaciones para evitar la picadura del vector así como la erradicación de éste. Se recomienda realizar trabajos que generen cambios en estas poblaciones tal como investigaciones con factores de impacto.

La tipificación de especies de Leishmaniasis es importante porque nos brindará un mapa de qué agente causal predomina en esta región. Es importante estudiar la asociación de las especies con factores como respuesta a tratamiento o respuesta inmunológica.

Por todo lo expuesto, es necesario contribuir con más investigación básica, clínica, epidemiológica y de impacto sobre esta enfermedad olvidada. La unión entre la salud pública y la educación sobre estos temas son relevantes para generar mayor conciencia tanto en la población en general como en la comunidad científica en particular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO Technical Report Series 949. "Control of the Leishmaniasis". 2010. http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_949_eng.pdf
2. Dirección General de Epidemiología, 2011. Sala de Situación de Salud. Perú. Semana Epidemiológica No 52-2011. Lima, Perú. Ministerio de Salud del Perú, 44.
3. Aronson N. Epidemiology and control of cutaneous leishmaniasis. In: UpToDate. Weller PF (Ed), UpToDate, Waltham, MA. 2014.
4. OPS. Leishmaniasis: Informe Epidemiológico de las Américas. Organización Panamericana de la Salud; 2016.
5. Dirección General de Salud. Norma Técnica: Diagnóstico y Tratamiento de la Leishmaniosis en el Perú, 2005. Ministerio de Salud del Perú.
6. Lucas CM, Franke ED, Cachay MI, Tejada A, Cruz ME, Kreutzer RD, et al. Geographic distribution and clinical description of leishmaniasis cases in Peru. The American journal of tropical medicine and hygiene. 1998;59(2):312-7.
7. Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. Lancet. 2005;366:1561-77.
8. Reithinger R, Dujardin J-C, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. Lancet Infect Dis. 2007;7:581-96.
9. Handler MZ, Patel PA, Kapila R, Al-Qubati Y, Schwartz RA. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: Clinical perspectives. Journal of the American Academy of Dermatology. 2015;73(6):897-908; quiz 9-10.
10. Sharma U, Singh S. Immunobiology of leishmaniasis. Indian journal of experimental biology. 2009;47(6):412-23.

11. Ríos JM, Sousa O. Inmunología en la infección por leishmania: Conceptos actuales. *Rev méd cient.* 2010;1(23):19-31.
12. Veland N, Valencia BM, Alba M, Adai V, Llanos-Cuentas A, Arevalo J, et al. Case Report: Simultaneous Infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (V.) lainsoni* in a Peruvian Patient with Cutaneous Leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;88(4):774-7.
13. Valencia C, Arevalo J, Dujardin JC, Llanos-Cuentas A, Chappuis F, Zimic M. Prediction score for antimony treatment failure in patients with ulcerative leishmaniasis lesions. *PLoS neglected tropical diseases.* 2012;6(6):e1656.
14. Aronson N. Clinical manifestations and diagnosis of cutaneous leishmaniasis. In: *UpToDate.* Weller PF (Ed), UpToDate, Waltham, MA. 2014.
15. Reithinger R, Dujardin JC. Molecular diagnosis of leishmaniasis: current status and future applications. *J Clin Microbiol.* 2007;45(1):21-5.
16. Aronson N. Treatment of cutaneous leishmaniasis. In: *UpToDate.* Weller PF (Ed), UpToDate, Waltham, MA. 2014.
17. Cabrera R. Leishmaniosis. *Bol Epidemiol (Lima).* 2008;17(53):1001-5.
18. Garcia Bustos MF, Gonzalez-Prieto G, Ramos F, Mora MC, Hashiguchi Y, Parodi C, et al. Clinical and epidemiological features of leishmaniasis in northwestern-Argentina through a retrospective analysis of recent cases. *Acta tropica.* 2016;154:125-32.
19. Fonseca. EdS, D'Andrea LA, Taniguchi HH, Hiramoto RM, Tolezano JE, Guimaraes RB. Spatial epidemiology of American cutaneous

- leishmaniasis in a municipality of west Sao Paulo State, Brazil. *Journal of vector borne diseases*. 2014;51(4):271-5.
20. Olalla HR, Velez LN, Kato H, Hashiguchi K, Caceres AG, Gomez EA, et al. An analysis of reported cases of leishmaniasis in the southern Ecuadorian Amazon region, 1986-2012. *Acta tropica*. 2015;146:119-26.
 21. Llanos-Cuentas A, Tulliano G, Araujo-Castillo R, Miranda-Verastegui C, Santamaria-Castrellon G, Ramirez L, et al. Clinical and parasite species risk factors for pentavalent antimonial treatment failure in cutaneous leishmaniasis in Peru. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2008;46(2):223-31.
 22. Mogalli NM, El Hossary SS, Khatri ML, Mukred AM, Kassem HA, El Sawaf BM, et al. Clinicoepidemiologic pattern of cutaneous leishmaniasis and molecular characterization of its causative agent in Hajjah governorate, northwest of Yemen. *Acta tropica*. 2016;163:130-4.
 23. Bsrat A, Berhe N, Balkew M, Yohannes M, Teklu T, Gadisa E, et al. Epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Saesie Tsaeda-emba district, eastern Tigray, northern Ethiopia. *Parasites & vectors*. 2015;8:149.
 24. Bernin H, Lotter H. Sex Bias in the Outcome of Human Tropical Infectious Diseases: Influence of Steroid Hormones. *JID*. 2014;209:S107-S13.
 25. Ore M, Saenz E, Cabrera R, Sanchez JF, De Los Santos MB, Lucas CM, et al. Outbreak of Cutaneous Leishmaniasis in Peruvian Military Personnel Undertaking Training Activities in the Amazon Basin, 2010. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2015;93(2):340-6.
 26. Soares L, Abad-Franch F, Ferraz G. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in central Amazonia: a comparison of sex-biased incidence

- among rural settlers and field biologists. *Tropical medicine & international health : TM & IH*. 2014;19(8):988-95.
27. Baccan GC, Oliveira F, Sousa AD, Cerqueira NA, Costa JM, Barral-Netto M, et al. Hormone levels are associated with clinical markers and cytokine levels in human localized cutaneous leishmaniasis. *Brain, behavior, and immunity*. 2011;25(3):548-54.
 28. Fatima A, Faiza S, Hajiba F, Francine P, Dedet JP, Bouchra el M, et al. Epidemiological characteristics of a new focus of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* in Settat, Morocco. *Acta tropica*. 2015;150:116-21.
 29. Brito G, Dourado M, Polari L, Celestino D, Carvalho LP, Queiroz A, et al. Clinical and immunological outcome in cutaneous leishmaniasis patients treated with pentoxifylline. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2014;90(4):617-20.
 30. Souza MA, Castro MC, Oliveira AP, Almeida AF, Reis LC, Silva CJ, et al. American tegumentary leishmaniasis: cytokines and nitric oxide in active disease and after clinical cure, with or without chemotherapy. *Scandinavian journal of immunology*. 2012;76(2):175-80.
 31. Oliveira F, Bafica, Rosato, Favali C, Costa JM, Cafe V, et al. Short Report : Lesion Size Correlates with *Leishmania* Antigen-Stimulated TNF-Levels in Human Cutaneous Leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;85(1):70-3.
 32. Mokhtari M, Miri M, Nikoonahad A, Jalilian A, Naserifar R, Ghaffari HR, et al. Cutaneous leishmaniasis prevalence and morbidity based on

- environmental factors in Ilam, Iran: Spatial analysis and land use regression models. *Acta tropica*. 2016;163:90-7.
33. Murray CK, Horvath LL, Ericsson CD, Hatz C. An Approach to Prevention of Infectious Diseases during Military Deployments. *Clinical Infectious Diseases*. 2007;44(3):424-30.
 34. Boggild AK, Ramos AP, Espinosa D, Valencia BM, Veland N, Miranda-Verastegui C, et al. Clinical and demographic stratification of test performance: a pooled analysis of five laboratory diagnostic methods for American cutaneous leishmaniasis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2010;83(2):345-50.
 35. Lopez M, Inga R, Cangalaya M, Echevarria J, Llanos-Cuentas A, Orrego C, et al. Diagnosis of Leishmania using the polymerase chain reaction: a simplified procedure for field work. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1993;49(3):348-56.
 36. Valdivia HO, De Los Santos MB, Fernandez R, Baldeviano GC, Zorrilla VO, Vera H, et al. Natural Leishmania Infection of *Lutzomyia auraensis* in Madre de Dios, Peru, Detected by a Fluorescence Resonance Energy Transfer–Based Real-Time Polymerase Chain Reaction. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2012;87(3):511-7.
 37. Marlene Jara, Vanessa Aduai, Braulio Valencia, Dalila Martinez, Milena Alba, Castrillon C. Real-Time PCR Assay for Detection and Quantification of Leishmania (Viannia) Organisms in Skin and Mucosal Lesions: Exploratory Study of Parasite Load and Clinical Parameters. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;51(6):1826.

38. Antinori S, Calattini S, Piolini R, Longhi E, Bestetti G, Cascio A, et al. Is real-time polymerase chain reaction (PCR) more useful than a conventional PCR for the clinical management of leishmaniasis? *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2009;81(1):46-51.
39. Koarashi Y, Caceres AG, Saca FM, Flores EE, Trujillo AC, Alvares JL, et al. Identification of causative *Leishmania* species in Giemsa-stained smears prepared from patients with cutaneous leishmaniasis in Peru using PCR-RFLP. *Acta tropica*. 2016;158:83-7.
40. Arevalo J, Ramirez L, Adui V, Zimic M, Tulliano G, Miranda-Verastegui C, et al. Influence of *Leishmania* (*Viannia*) species on the response to antimonial treatment in patients with American tegumentary leishmaniasis. *The Journal of infectious diseases*. 2007;195(12):1846-51.

ANEXOS

Anexo 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio: Caracterización del parásito causante de "Uta" (leishmaniasis mucocutánea).

Introducción y Propósito

El Ministerio de Salud de Perú (MINSA) junto a investigadores peruanos del Centro de Investigaciones de la Marina de Guerra de los Estados Unidos (NAMRU-6) quiere estudiar la distribución de las especies causantes de "Uta" así como la persona infectada por "Uta" responde al tratamiento. Para esto, necesitamos recabar una pequeña muestra de la lesión de la piel para exámenes de laboratorio. Si usted es diagnosticada con "Uta" se le brindará el tratamiento de manera gratuita por el MINSA siguiendo los estándares de guías nacionales. Así mismo, nosotros monitorizaremos su tratamiento para poder aprender más de cómo el parásito responde al tratamiento y qué tipo de síntomas adicionales se presentan durante la fase de tratamiento. La información recolectada en este estudio ayudará a los médicos establecer mejores tratamientos y plantear estrategias de prevención para el control de la "Uta" en muchas regiones del Perú afectadas por la enfermedad.

Procedimientos

Si está de acuerdo para formar parte de este estudio, quisiéramos fotografiar su lesión. Si las lesiones están cerca de su rostro, cubriremos parte de su cara y así proteger su confidencialidad. Durante y después del tratamiento, tomaremos fotografías adicionales de la lesión y así monitorizar como cura la lesión durante el tratamiento. Para propósito del diagnóstico, recolectaremos una pequeña cantidad de material alrededor de la lesión. Este material se colectará por diferentes técnicas (lanceta raspado, aspirado de tejido o biopsia), las cuales son procedimiento estándares recomendados por el Ministerio de Salud para el diagnóstico de "Uta". Adicionalmente, como parte de nuestra investigación, nos gustaría recolectar un total de 30 ml de sangre (aproximadamente 2 cucharadas) en tres tubos de 10 ml cada uno. Si usted es diagnosticado con "Uta", el tratamiento será administrado por un establecimiento del Ministerio de salud siguiendo la guía nacional de tratamiento en el Perú. Durante la fase de tratamiento, monitorizaremos su enfermedad para así poder aprender más acerca cómo reacciona a la medicina y si sus lesiones curan.

Si 8 semanas después de terminar el tratamiento, su lesión no ha curado. La guía del Ministerio de Salud recomienda una segunda ronda de tratamiento antimonial. En este caso, recolectaremos nuevas muestras de la lesión usando las mismas técnicas mencionadas previamente. Además, 20 ml más de sangre será recolectada en dos tubos cada uno de 10 ml. Estas muestras ayudarán a la comprensión de su sistema de defensa contra la "Uta". Las muestras de sangre se tomarán al final del Nuevo tratamiento y tres meses después.

Participación voluntaria y alternativas de tratamiento

Usted puede decidir si quiere unirse a este estudio o no. Unirse a este estudio no le costará nada a usted o su familia. Usted puede dejar el estudio en cualquier momento y por cualquier razón sin perder sus derechos al tratamiento. Si así usted lo decidiera, no será castigado. Usted seguirá siendo visto por un personal de salud y no perderá ningún beneficio de tratamiento.

Beneficios

Un beneficio directo de participar en este estudio es que realizaremos pruebas adicionales a las que se hace de rutina en el Ministerio de Salud. Esto puede ayudar al médico en su diagnóstico de "Uta". Además, hay un beneficio significativo en su comunidad porque la información que aprendamos de sus muestras puede ayudarnos a mejorar el tratamiento de la enfermedad en su comunidad

Riesgos

Los riesgos en éste estudio son mínimos. Puede sentir un momento de dolor o miedo cuando tomemos muestras de su lesión. Muy raramente una infección puede producirse. Una pequeña cantidad de sangrado es normal luego de los procedimientos. Las biopsias pueden dejar una pequeña cicatriz. Cuando la toma de muestra de sangre se dé, puede sentir un pequeño discomfort o sentirse ligeramente aturdido.

Confidencialidad

La información acerca de usted será almacenada en un lugar seguro en NAMRU-6 en Lima y solo los investigadores del estudio tendrán acceso a sus muestras e información. Cualquier información sobre usted será mantenida en privado tanto como lo permita la ley. Su nombre y otra posibilidad de identificarlo no serán usados en ningún reporte de resultados. Cuando las muestras y la información no sean necesarias, serán destruidas mediante la quema.

Esta copia es suya para que lo archive.

La decisión para participar en este estudio es voluntario, lo que significa que eres libre de elegir si quiere o no entrar al estudio. Puede negarse de participar o puede detener su participación en cualquier momento. No hay sanciones por no participar en este estudio.

Gracias por todo su tiempo y colaboración.

Detalles de la persona que administra el consentimiento informado
Nombre: _____
Firma: _____
Fecha: ___/___/20___

Mi firma abajo indicará que he decidido a participar en este estudio como un sujeto de investigación y el estudio me ha sido explicado, he tenido la oportunidad de que me respondan mis preguntas y que en el futuro responderán las dudas que tenga.

Nombre del participante: _____

Edad: _____

Firma del participante _____

Fecha: ___/___/20___

Consentimiento para almacenamiento de muestras

Nos gustaría contar con su permiso para almacenar su muestra sobrante y usarlo en proyectos de investigación de enfermedades infecciosas en el futuro. Esta muestra sobrante no será usada para fines comerciales y estos proyectos serán conducidos si se tiene su aprobación y la de un comité de ética.

Si acepta el uso de la muestra sobrante para futuro, será sólo identificada con un código y no por nombre, luego lo almacenaremos en NAMRU-6. Si no está de acuerdo, destruiremos la muestra sobrante. Esta decisión acerca de almacenar la muestra sobrante NO afectará su participación en este estudio.

Confidencialidad: Eliminaremos cualquier información personal de la muestra. Cuando publiquemos o discutamos los resultados de la investigación, no usaremos su nombre o información que revele su identidad.

Por favor marque solo uno de los siguientes recuadros con respecto al uso de muestra sobrante

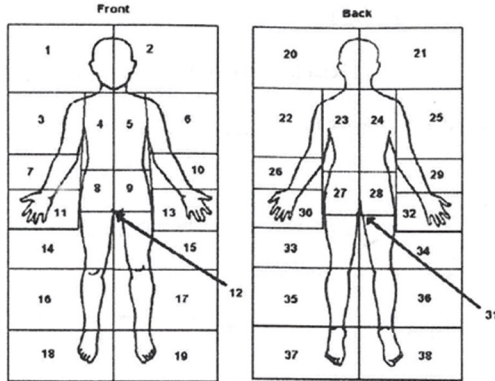
Consentimiento para uso futuro		
Si está de acuerdo su muestra será almacenada en NAMRU-6 para estudios futuros en enfermedades infecciosas. Proveer de estas muestras es voluntario, no se le pagará por esto. Si no acepta, su muestra será almacenada hasta que los resultados sean publicados y luego se destruirán y no serán usados en trabajos de investigación para el futuro.		
Elija uno		
Deseo <input type="checkbox"/>	No deseo <input type="checkbox"/>	proveer mi muestra para investigaciones futuras con una aprobación del comité de ética que me contacte para recibir futuros resultados
Deseo <input type="checkbox"/>	No deseo <input type="checkbox"/>	

Nombre del participante Firma Fecha

Nombre del testigo si el participante es iletrado Firma Fecha

Nombre de la persona aplica el consentimiento Firma Fecha

24. Número total de lesiones activas: ___ lesión(es)



25. Completa la tabla con la información de cada lesión. Usa la figura para localizar las lesiones en el cuerpo del paciente.

#	Fecha Inicio (mm/aa)	Tipo	Localización (cód.)	Tam. (mm)	Muestra tomada	Cód. Foto
1C				/		
2C				/		
3C				/		
4C				/		
5C				/		

Tipo

1. Ulcera
2. Nódulo
3. Pápula
4. Placa
5. Cicatriz

Muestras tomadas

1. Aspirado
2. Lanceta
3. Biopsia
4. Papel filtro

26. ¿Tiene alguna lesión en la piel que esté infectada?

0. No
 1. Si → ¿Qué códigos de lesiones? ___ / ___ / ___

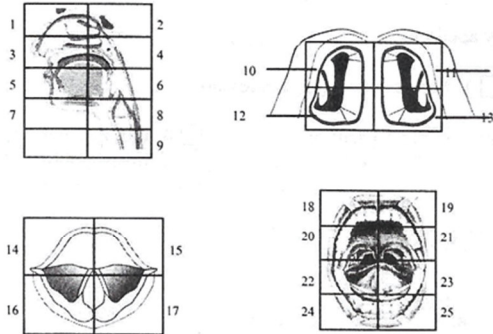
CEI NAMRU-6
 PERU
 N° de Protocolo: NMRCD.2007.0018
 Fecha de Aprobación: 16.05/14
 Fecha de Expiración: 14.05/15
 Verificado por: ZM

III. LEISHMANIASIS MUCOSA

27. ¿Usted tiene alguna lesión en la mucosa (encías, nariz)?

0. No → IR A LA SECCION IV
 1. Si

28. Tiempo de la enfermedad: Años Meses.



29. Completa la tabla con la información de cada lesión. Use la figura para localizar la lesión.

#	Fecha Inicio (mm/aa)	Tipo	Localización (cód.)	Tam. (mm)	Muestra tomada	Cód. Foto
1M				/		
2M				/		
3M				/		
4M				/		
5M				/		

Tipo

1. Ulcera
2. Nódulo
3. Pápula
4. Placa
5. Cicatriz

Muestras tomadas

1. Aspirado
2. Lanceta
3. Biopsia
4. Papel filtro

30. Completa la tabla con la información del compromiso mucoso en el paciente.

Estructura	Tipo	Comentarios
<i>Nariz</i>		
a. Fosas Nasales		
b. Tercio Anterior		
c. Tabique		
d. Cornetes		
<i>Boca</i>		
e. Labios		
f. Paladar		
g. Uvula		
h. Faringe		
i. Epiglotis		
j. Cuerdas vocales		

Tipo de compromiso

0. No comprometido
1. Eritema
2. Edematoso
3. Inflamación
4. Ulcerado

IV. EPIDEMIOLOGIA

31. Lugares de residencia en los últimos 10 años (estadia de más de 3 meses)

#	De (M/A)	A (M/A)	Dpto.	Provinc.	Distrit.	Ocupac.
A						
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						
I						
J						

Ocupación:

- | | | |
|------------------------|--------------------|-------------------------------------|
| 1. Agricultor | 2. Tala de árboles | 3. Minería (Oro) |
| 4. Industria Petrolera | 5. Investigador | 6. Comerciante |
| 7. Turismo | 8. Estudiante | 9. Policía o de las Fuerzas Armadas |

88. Otros (especificar): _____

Por favor, responda estas preguntas acerca de sus prácticas y costumbres durante su rutina diaria: **MARQUE SOLO UNA RESPUESTA POR PREGUNTA:**

1 2 3 4 5
 _____|_____|_____|_____|_____|
 Nunca Casi nunca Algunas veces A menudo Siempre

	Ranking	No Aplica
32. Uso repelente para mosquitos		
33. Uso camisas de manga larga		
34. Uso ropa impregnada con repelente		
35. Tengo contacto con perros		
36. Tengo contacto con otros animales domésticos		
37. Fstoy en campo abierto en el alba o al atardecer		
38. Uso mosquiteros para dormir		
39. Duermo en habitaciones o lugares con ventanas abiertas		
40. Duermo en zonas cercanas a la selva o en campos agrícolas		
41. Tengo picaduras de mosquitos		
42. Tengo picaduras de "manta blanca" o "titira"		

43. ¿Ha roceado su habitación con insecticida en los últimos seis meses?

0. No
 1. Si
 98. No sé

V. LABORATORIO

NO PREGUNTES AL PACIENTE. COMPLETE ESTA INFORMACION CON LOS RESULTADOS DEL LABORATORIO.

	Resultado
44. Observación directa	
45. Leishmanina	
46. Cultivo	
47. k-DNA	
48. PCR en tiempo real	

Resultado:
 0. Negativo
 1. Positivo
 99. No se realizó

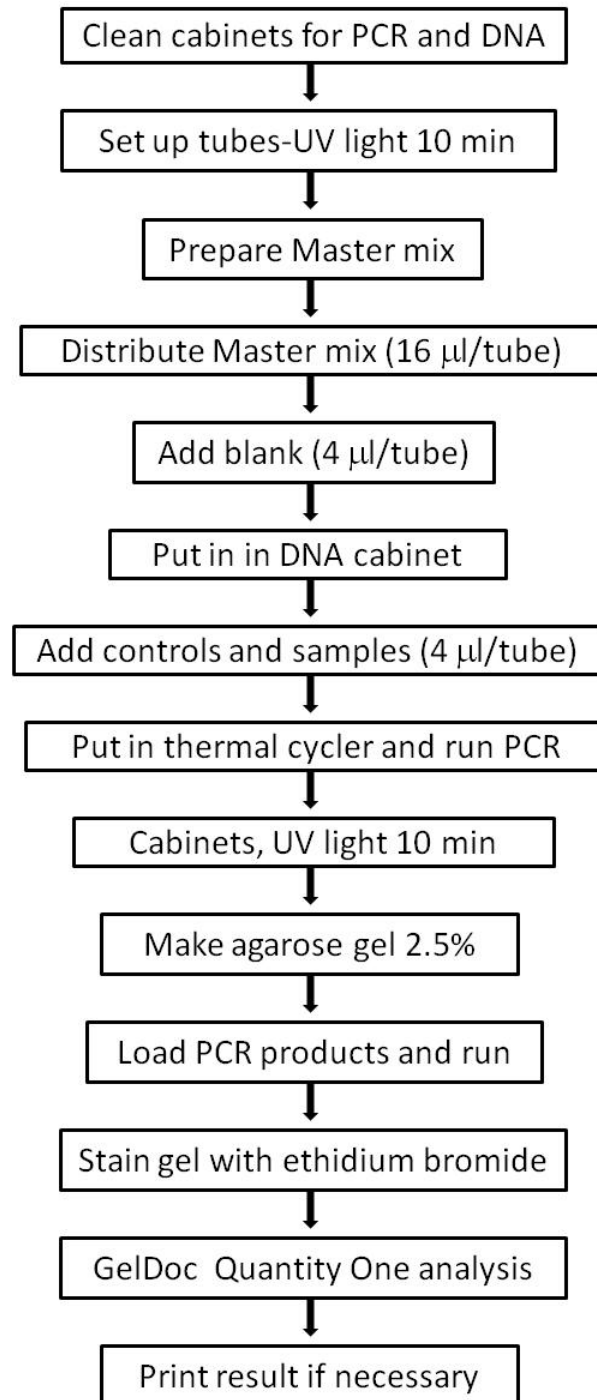
49. Especies de Leishmania causantes del episodio actual:

1. *L. braziliensis*
 2. *L. peruviana*
 3. *L. guyanensis*
 4. *L. panamensis*
 5. *L. lainsoni*
 98. No se sabe

CEI NAMRU-6
 PERU
 N° de Protocolo: NMRCD.2007.0018
 Fecha de Aprobación: 16/05/14
 Fecha de Expiración: 14/05/15
 Verificado por: ZM

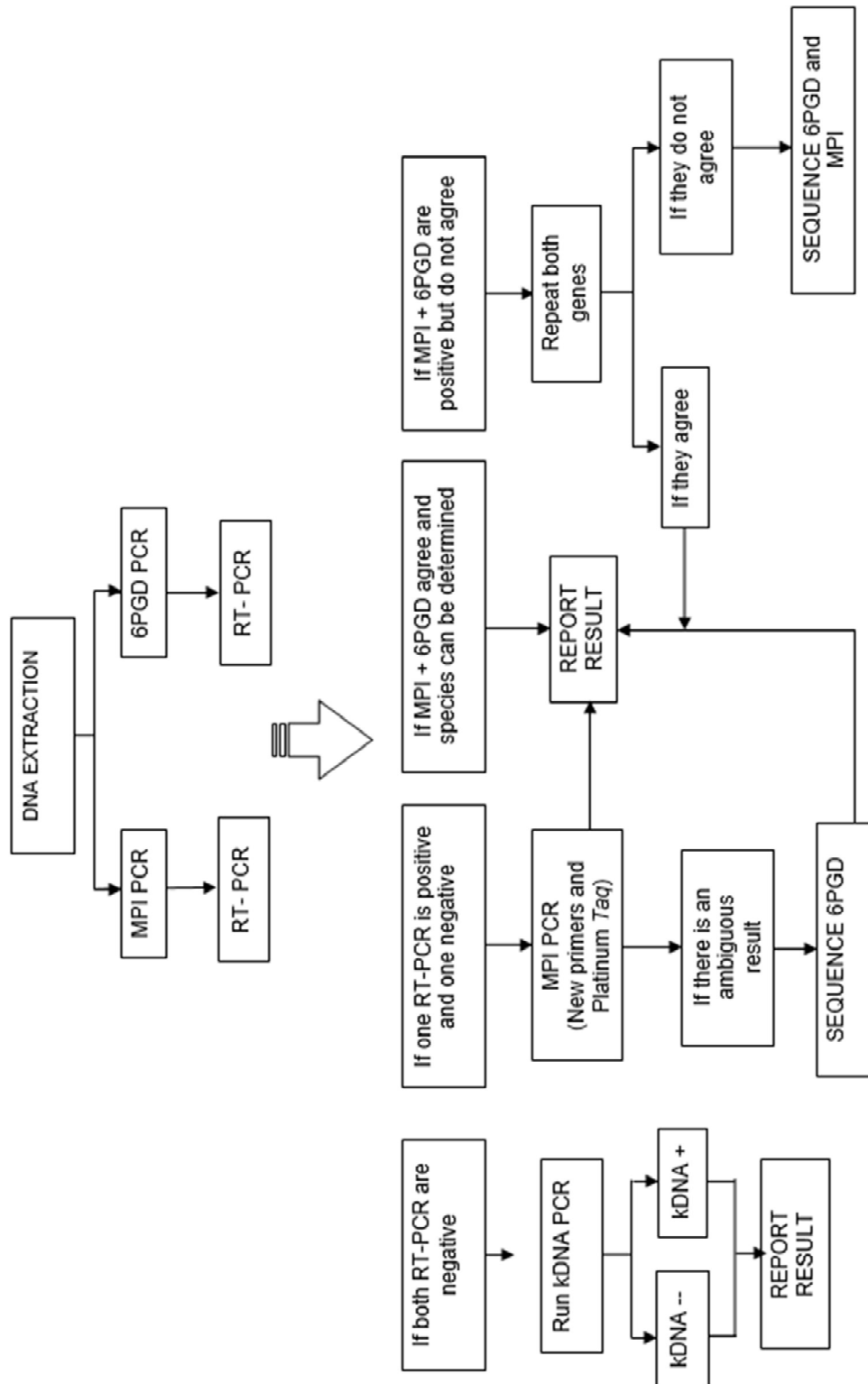
Anexo 3

kDNA PCR: Extracto de Standar Operating Procedure (SOP) de NAMRU6.



Anexo 4

RT-PCR: Extracto de SOP de NAMRU6.



Anexo 5

