



**Universitat**  
de les Illes Balears

**TESIS DOCTORAL 2020-21**

**REVISIÓN CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA DE CASOS DE LEISHMANIASIS  
CUTÁNEA POR *LEISHMANIA INFANTUM* EN MANACOR. DIAGNÓSTICO  
EN MUESTRAS CUTÁNEAS MEDIANTE RT-PCR Y VALORACIÓN DE SU  
UTILIDAD EN DERMATOLOGÍA.**

**Programa de Doctorado en Investigación Translacional en Salud  
Pública y Enfermedades de Alta Prevalencia (RD99)**

**Vicenç Andreu Rocamora Duran**





**Universitat**  
de les Illes Balears

**TESIS DOCTORAL 2020-21**

**REVISIÓN CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA DE CASOS DE LEISHMANIASIS  
CUTÁNEA POR *LEISHMANIA INFANTUM* EN MANACOR. DIAGNÓSTICO  
EN MUESTRAS CUTÁNEAS MEDIANTE RT-PCR Y VALORACIÓN DE SU  
UTILIDAD EN DERMATOLOGÍA**

**Programa de Doctorado en Investigación Translacional en Salud  
Pública y Enfermedades de Alta Prevalencia (RD99)**

**Vicenç Andreu Rocamora Duran**

**Directora de tesis: Cristina Riera Lizandra**

**Directora de tesis: Roser Fisa Saladrigas**

**Tutor: Rafael M. Prieto Almirall**

**Doctor por la Universitat de les Illes Balears**



*«Lo único imposible es aquello que no intentas».*



## **Dedicatoria**

A la actividad deportiva matutina, a la ciencia de día y a todas las mujeres de mi familia, especialmente a mi madre, que desde donde esté, me ha transmitido ilusión, energía, vitalidad y ganas de superación en mi profesión.



## Agradecimientos

En primer lugar, quiero dar las gracias de todo corazón a mis directoras de tesis Dra. Roser Fisa y Dra. Cristina Riera, ambas del Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Barcelona, por haber aceptado dirigir mi tesis doctoral aún estando a cientos de kilómetros de distancia. Gracias por su paciencia, sus consejos, su experiencia y su visión sobre este tema que ha enriquecido mis conocimientos adquiridos en esta tesis doctoral.

Cómo no, agradecer inmensamente la ayuda de «na Magdalena», que gracias a su labor científica, apoyo y visitas a nuestro hospital, me motivó para terminar esta tesis doctoral. Ella fue el vínculo necesario en mi relación académica con el citado Departamento de Parasitología.

Agradezco al personal del Hospital Comarcal de Manacor que permitieran que mi motivación por investigar no decayera y que en algunos momentos de monotonía, me motivasen a seguir con mi labor investigadora

También quisiera agradecer al Servicio de Dermatología del Hospital Comarcal de Manacor su paciencia y el apoyo recibido por mis compañeros de profesión, los profesionales de enfermería y el personal auxiliar.

Gracias al Departamento de Microbiología y Anatomía Patológica del Hospital Comarcal de Manacor por facilitarme la recogida de datos y muestras.

Gracias a los pacientes, por su paciencia y la colaboración que tienen siempre con nuestra labor científica y asistencial. A ellos le digo de corazón: «No lo dudéis, sois nuestra motivación en nuestra labor científica y de innovación».

Gracias al Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Barcelona y al Departamento de Microbiología del Hospital Universitario Son Espases por implantar y realizar la técnica de PCR que tanto me ayudó en el planteamiento de la idea de esta tesis doctoral.

Gracias al Centro de Epidemiología de las Islas Baleares por su esfuerzo en la recogida de datos y declaración de la leishmaniasis cutánea en las Islas Baleares.

Gracias al Dr. Joan Antoni Puigserver Rosselló y al Dr. Joan Garcías Ladaria por rescatar mi proyecto y devolverme la ilusión de acabar la revisión iniciada.

Gracias a mis dos hijas, compañeras de vocación, por pasar horas a mi lado y motivarme para terminar este trabajo sin caer en el desánimo.

Gracias a la Facultad de Medicina de la Universidad de las Islas Baleares y a mi labor como docente, que me indujeron a acabar el proyecto iniciado hacía años.

Gracias también al Servicio de Dermatología del Hospital de Sant Pau en Barcelona, donde me formé.

Gracias a todos mis compañeros de las Islas Baleares.

Gracias a mis amigos y familiares que, sin tener conocimientos científicos, empatizaron con mi tesis doctoral y me ayudaron a sobrellevar la carga de trabajo animándome a seguir adelante.

Gracias especialmente a Xisca, Maria del Mar, Francina y Vicenç.



## Índice

Publicaciones y presentaciones relacionadas con la presente tesis doctoral.....	I
Tablas.....	II
Figuras.....	IV
Abreviaturas.....	VIII
Resúmenes.....	IX
Resum IX	
Resumen.....	XI
Abstract.....	XIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. <i>Leishmania</i> y la leishmaniasis.....	1
1.1.1. Morfología y ciclo biológico.....	2
1.1.2. Organización genómica.....	4
1.2. Epidemiología de la leishmaniasis.....	5
1.2.1. La leishmaniasis en el mundo.....	5
1.2.2. La leishmaniasis en España.....	5
1.3. Respuesta inmunitaria frente a <i>Leishmania</i> .....	8
1.4. Presentaciones clínicas de la leishmaniasis cutánea.....	10
1.4.1. Leishmaniasis cutánea aguda.....	10
1.4.2. Leishmaniasis cutánea de inoculación mucosa.....	13
1.4.3. Leishmaniasis cutánea crónica.....	13
1.4.4. Diagnóstico diferencial.....	13
1.4.5. Leishmaniasis cutánea en pacientes con inmunodepresión.....	13
1.5. Diagnóstico de la leishmaniasis cutánea.....	14
1.5.1. Diagnóstico clínico.....	14
1.5.2. Diagnóstico parasitológico.....	14
1.5.3. Diagnóstico histopatológico.....	15
1.5.4. Diagnóstico molecular.....	15
1.5.5. Otros métodos diagnósticos.....	16
1.6. Tratamiento de la leishmaniasis cutánea.....	17
1.6.1. Tratamiento tópico.....	17
1.6.2. Tratamiento intralesional.....	17
1.6.3. Tratamiento sistémico.....	18
1.6.4. Otros tratamientos.....	18
2. OBJETIVOS.....	21
3. METODOLOGÍA.....	22
3.1. Diseño, pacientes y limitaciones del estudio.....	22
3.2. Muestras.....	25
3.2.1. Raspado de la lesión.....	25
3.2.2. Biopsia cutánea.....	25
3.2.3. Muestra recogida en papel de filtro Whatman.....	26
3.3. Técnicas de diagnóstico parasitológico.....	27
3.3.1. Coloración de Giemsa.....	27
3.3.2. Test de Tzanck.....	28
3.4. Técnicas de diagnóstico histopatológico.....	28
3.4.1. Tinción de hematoxilina-eosina.....	28
3.5. Técnicas de diagnóstico molecular.....	29
3.5.1. PCR en tiempo real.....	29
3.5.2. PCR-RFLP ITS-1.....	30
4. RESULTADOS.....	32
4.1. Subdeclaración de la enfermedad en Baleares.....	32

4.2.	Características de la población estudiada .....	35
4.2.1.	Área geográfica y sanitaria de los pacientes del estudio .....	35
4.2.2.	Sexo y edad .....	36
4.3.	Diagnóstico clínico .....	37
4.3.1.	Sospecha clínica inicial .....	37
4.3.2.	Presentación clínica de las lesiones .....	39
4.3.3.	Diagnóstico diferencial clínico .....	48
4.4.	Pruebas diagnósticas .....	61
4.4.1.	Resultados de las pruebas parasitológicas e histopatológicas .....	61
4.4.2.	Resultados de la RT-PCR del exudado de la lesión en fresco y en papel de filtro .....	63
4.4.3.	Resultados de todas las pruebas diagnósticas utilizadas en el estudio .....	65
4.4.4.	Resumen de los resultados de todas las pruebas diagnósticas .....	69
4.4.5.	Resultados de RT-PCR en el grupo de pacientes con lesiones granulomatosas .....	70
4.4.6.	Lesiones y diagnóstico en los grupos de poblaciones especiales .....	72
4.4.7.	Propuesta de protocolo diagnóstico de la leishmaniasis cutánea en zona endémica .....	81
4.5.	Tratamiento .....	82
4.5.1.	Pacientes sin tratamiento .....	86
4.5.2.	Pacientes con tratamiento .....	86
4.5.3.	Tratamientos en poblaciones especiales .....	91
4.5.4.	Resumen de los tratamientos en nuestra serie y evolución de diferentes pacientes con el tratamiento .....	94
4.6.	Recidivas .....	98
4.6.1.	Lesiones .....	98
4.6.2.	Tratamiento de las recidivas .....	100
5.	CONCLUSIONES .....	102
6.	BIBLIOGRAFÍA .....	104
	ANEXO .....	116
A1.	Tablas de recogida de datos .....	117
	Tabla A1.1. Sexo, edad, características de las lesiones, tratamiento y tiempo de evolución en los pacientes de nuestra serie con lesiones múltiples .....	117
A2.	Formularios de consentimiento informado en el Servicio de Dermatología del Hospital de Manacor (Mallorca) .....	119
A2.1.	Formulario de consentimiento informado en catalán .....	119
A2.2.	Formulario de consentimiento informado en castellano .....	120
A3.	Formulario para el estudio de la leishmaniasis cutánea .....	121
A4.	Formulario del Servei d'Epidemiologia del CAIB para la declaración obligatoria de la leishmaniasis .....	123

## Publicaciones y presentaciones relacionadas con la presente tesis doctoral

Tomás-Pérez M, Pujol A, Bula I, Oliver L, Lama M, Iniesta L, et al. Utilidad de dos métodos moleculares de detección e identificación de *Leishmania* sobre muestras cutáneas no invasivas conservadas en papel de filtro. En: Congreso de la Sociedad Española de Parasitología (SOCEPA). Gran Canaria, 17-20 de septiembre de 2013.

Garcías-Ladaria J, López-Brito K, Pascual-López M, Rocamora V. An itching plaque. *Dermatol Pract Concept*. 2015 Jan 30;5(1):51-3. DOI 10.5826/dpc.0501a09

Alcover MM, Rocamora V, Guillén MC, Berenguer D, Cuadrado M, Riera C, et al. Case report: Diffuse cutaneous leishmaniasis by leishmania infantum in a patient undergoing immunosuppressive therapy: Risk status in an endemic mediterranean area. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;98(5):1313–6. DOI 10.4269/ajtmh.17-0769

Profesor invitado en el Master de Microbiología Avanzada de la Facultad de Farmacia de la Universitat de Barcelona. Título de la clase: «*Leishmaniasis* cutània». Barcelona, 3 de junio de 2019.

Actividades durante el 47 Congreso Nacional de Dermatología y Venereología AEDV 2019. Barcelona, 5-8 de junio de 2019.

Rocamora Durán V, Sahuquillo Torralba A, Mateu Puchades A, Valenzuela Oñate C, Vila Payeras A, Garcías Ladaria J, et al. Poster 922 - 221. *Leishmaniasis* en pacientes en tratamiento biológico e inmunosupresor. Estudio multicéntrico de casos y controles.

Coordinador del seminario «*Leishmania* cutánea: aspectos clínicos, diagnósticos y tratamiento». En: 47 Congreso Nacional de Dermatología y Venereología AEDV 2019. Barcelona, 6 de junio de 2019.

Ponente en el mismo seminario con «Aspectos epidemiológicos y clínicos de la leishmania cutánea».

Participación como ponente en la 1ª Jornada d'actualització en el diagnòstic i tractament de la leishmania. Hospital de Manacor (Mallorca), 27 de septiembre de 2019.

Sahuquillo-Torralba A, de Unamuno B, Quintero-Duarte A, Puchades AM, Martínez-Domenech A, Vila A, et al. 16811 *Leishmaniasis* in patients undergoing biologic and immunosuppressive treatment: Case-control multicenter study. *J Am Acad Dermatol*. 2020 Dec 1;83(6):AB185.

## Tablas

Tabla 1. Taxonomía del género <i>Leishmania</i> . Elaboración propia a partir de datos de Ruggiero et al. (2015), <sup>2</sup> Akhouni et al. (2015) <sup>3</sup> y Mauricio (2018) <sup>4</sup> .....	1
Tabla 2. Número de casos autóctonos y tasas de incidencia de leishmaniasis por comunidades autónomas en España. Reproducción autorizada de Fernández Martínez B, Gómez Barroso D y Cano Portero R, 2019 (tabla basada en datos de RENAVE 2014 a 2017) <sup>25</sup> .....	6
Tabla 3. Resumen de los últimos informes de vigilancia epidemiológica del GOIB en referencia a la leishmaniasis. Fuente: elaboración propia basada en datos de los informes correspondientes a los años 2013-2018 de la Red de Vigilancia Epidemiológica de las Islas Baleares <sup>26-31</sup> .....	8
Tabla 4. Características específicas de la leishmaniasis cutánea según la especie de <i>Leishmania</i> causante. Fuente: elaboración propia, basada en datos de Akilov et al. (2007) <sup>45</sup> y Sangüeza et al. (2012) <sup>46</sup> .....	12
Tabla 5. Regímenes recomendados para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea según sea del Viejo o Nuevo Mundo. Tabla adaptada de WHO Technical Report Series <sup>75</sup> .....	20
Tabla 6. Métodos para el diagnóstico de la leishmaniasis cutánea en nuestra serie .....	22
Tabla 7. Casos de leishmaniasis cutánea e incidencia en Baleares <sup>30,31+</sup> y Llevant (2013-2017).....	32
Tabla 8. Distribución de los casos de LC declarados y localizados por búsqueda activa en Baleares en 2017. Basada en datos del Informe 2017 de la Red Epidemiológica de las Islas Baleares. <sup>30</sup> .....	33
Tabla 9. Sexo y edad de la población estudiada (n = 126) .....	36
Tabla 10. Sospecha clínica inicial (n = 126) .....	38
Tabla 11. Tipo de lesión según el sexo y la edad de los pacientes (n = 126) .....	44
Tabla 12. Tamaño de las lesiones* por sexo y grupo de edad (n = 126).....	44
Tabla 13. Localización y tipo de lesiones según el sexo y la edad de los pacientes (n = 126) .....	46
Tabla 14. Diagnóstico diferencial de la leishmaniasis cutánea en nuestra serie en comparación con el propuesto por Gurel et al. (2020) <sup>49</sup> .....	48
Tabla 15. Diagnóstico mediante Giemsa y HE de las lesiones en los pacientes del estudio .....	62
Tabla 16. Diagnóstico mediante Giemsa y HE en 10 pacientes cuya lesión se estudió con ambas técnicas.....	63
Tabla 17. Correlación de los resultados hallados por RT-PCR en exudado y papel con respecto a los resultados de HE* en las 126 lesiones.....	63
Tabla 18. Resultados de la HE y las pruebas RT-PCR en una misma lesión .....	64
Tabla 19. Resultados de la RT-PCR exudado y papel en las 126 lesiones estudiadas .....	64
Tabla 20. Resultado de la RT-PCR a partir del exudado y papel en una misma lesión.....	65
Tabla 21. Relación de las pruebas diagnósticas, sus resultados y su sensibilidad en el conjunto de los pacientes (n = 126). .....	65
Tabla 22. Resumen de los resultados de las pruebas diagnósticas en los pacientes del estudio (n = 126).....	66
Tabla 23. Diagnóstico de sospecha clínica y resultados de todas las pruebas realizadas en los 126 pacientes.....	70
Tabla 24. Pruebas RT-PCR para el diagnóstico de lesiones granulomatosas* en nuestra serie (n = 12). .....	71
Tabla 25. Tipo de afectación y localizaciones en los pacientes menores de 18 años por sexos y en total .....	72
Tabla 26. Localizaciones y tipos de lesiones en los pacientes menores de 18 años por sexos y en total .....	73
Tabla 27. Diagnóstico en los menores de 18 años sin diagnóstico parasitológico realizado y con biopsia y pruebas de biología molecular (n = 10).....	73
Tabla 28. Diagnóstico en los menores de 18 años con diagnóstico parasitológico y con o sin pruebas de biología molecular (n = 19).....	74
Tabla 29. Tipo de afectación y localización según el sexo y totales en pacientes mayores de 65 años (n = 33).....	75
Tabla 30. Localización y tipo de lesión según el sexo y totales en mayores de 65 años (n = 33) .....	75
Tabla 31. Resultados de las pruebas diagnósticas en los pacientes mayores de 65 años (n = 33) .....	76
Tabla 32. Causas de inmunodepresión en pacientes de nuestra serie (n = 9) .....	77
Tabla 33. Afectación y tipo de lesión en los pacientes con inmunodepresión (n = 9) .....	78

Tabla 34. Resultados de la diferentes técnicas diagnósticas en los pacientes inmunodeprimidos incluidos en el estudio (n = 9).....	79
Tabla 35. Sexo, edad, características de las lesiones, primer tratamiento y tiempo de evolución en los pacientes de nuestra serie .....	82
Tabla 36. Indicaciones del tratamiento sistémico en la leishmaniasis cutánea. Basada en Ameen (2010) <sup>158</sup> .....	91
Tabla 37. Tratamientos previos y recidivas en pacientes menores de 18 años por sexo y en total (n = 29). .....	92
Tabla 38. Recidiva y tratamiento previo según el sexo y en total en mayores de 65 años (n = 33).....	93
Tabla 39. Tratamientos en los pacientes con inmunodepresión (n = 9).....	94
Tabla 40. Diferentes tratamientos farmacológicos de la leishmaniasis cutánea en nuestra serie (n = 126). .....	95
Tabla 41. Recidivas según las características clínicas de la lesión o lesiones iniciales.....	99
Tabla 42. Localización de las lesiones por grupos de edad de los pacientes que presentaron una recidiva.....	99
Tabla 43. Tratamientos previos y su correspondencia con los tratamientos de las recidivas (n = 9). 100	
Tabla 44. Tratamientos de las recidivas por grupos de edad y sexo de los pacientes (n = 9).....	100

## Figuras

Figura 1. Promastigotes. A) teñidos con Giemsa; B) en cultivo. Imágenes de archivo propio. ....	2
Figura 2. Amastigotes dentro de un macrófago. Imagen de archivo propio. ....	2
Figura 3. Ciclo biológico de Leishmania. ....	3
Figura 4. Zonas con leishmaniasis cutánea endémica en 2018. Fuente: Organización Mundial de la Salud, 2019. <sup>22</sup> Reproducida con licencia Creative Commons CC BY-NC-SA 3.0 IGO. ....	5
Figura 5. Díptero hembra del género Phlebotomus. Reproducida con permiso de Centers for Disease Control and Prevention (CDC)/Frank Collins, CDC Public Health Image Library (PHIL), 2006. Autor: James Gathany. Imagen #10277. En <a href="https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=10277">https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=10277</a> Imagen de dominio público. <sup>24</sup> .....	6
Figura 6. Incidencia de leishmaniasis autóctona por provincias. Reproducción autorizada de una figura basada en datos de RENAVE 2014 a 2017 del artículo de Fernández Martínez B, Gómez Barroso D y Cano Portero R (2019). <sup>25</sup> .....	7
Figura 7. Respuesta inmunitaria en la leishmaniasis cutánea. Reproducida de Lauthier y Korenaga, 2018. <sup>33</sup> .....	9
Figura 8. Zona de influencia del Hospital de Manacor (Mallorca). En: <a href="https://www.ibsalut.es/es/servicio-de-salud/organizacion/ordenacion-sanitaria-territorial">https://www.ibsalut.es/es/servicio-de-salud/organizacion/ordenacion-sanitaria-territorial</a> Fuente: OpenStreetMap® ©Colaboradores de OpenStreetMap. <a href="https://www.openstreetmap.org/copyright">https://www.openstreetmap.org/copyright</a> .....	23
Figura 9. Sectores sanitarios en Mallorca. La zona de influencia del hospital de Manacor es el sector sanitario de Llevant (zona en naranja), situado en la parte oriental de la isla. Los otros sectores son Migjorn (en morado), Ponent (en verde) y Tramuntana (en azul). En: <a href="https://www.ibsalut.es/es/servicio-de-salud/organizacion/ordenacion-sanitaria-territorial">https://www.ibsalut.es/es/servicio-de-salud/organizacion/ordenacion-sanitaria-territorial</a> Fuente: OpenStreetMap® ©Colaboradores de OpenStreetMap. <a href="https://www.openstreetmap.org/copyright">https://www.openstreetmap.org/copyright</a> .....	24
Figura 10. Número de tarjetas sanitarias individuales asignadas a los distintos hospitales de Mallorca. Fuente: Memoria anual de IBSALUT, 2018. <sup>86</sup> .....	24
Figura 11. Punch (bisturí hueco para la biopsia en punch o biopsia en sacabocados). Imagen de archivo propio. ....	26
Figura 12. Herida cerrada con un punto de sutura tras la realización de la biopsia. A veces, el procedimiento es terapéutico porque se extirpa toda la lesión. Imagen de archivo propio. ....	26
Figura 13. A) Recogida de muestra de exudado en papel de filtro n.º 3 de Whatman. B) Papel de filtro Whatman con la muestra seca preparado para ser introducido en un sobre y guardarlo o enviarlo por correo postal u otros medios. Imágenes de archivo propio.....	27
Figura 14. Formas amastigotes de Leishmania visibles con la coloración de Giemsa en una muestra de exudado de una lesión. Imagen de archivo propio.....	28
Figura 15. Test de Tzanck. Amastigotes visibles con coloración Diff-Quik™ en una muestra de exudado de una lesión. Imagen de archivo propio.....	28
Figura 16. Formas amastigotas visibles x 63 con tinción de hematoxilina-eosina en una muestra de biopsia de una lesión. Imagen de archivo propio. ....	29
Figura 17. Identificación de diferentes especies de Leishmania mediante PCR-RFLP ITS-1. Digestión de regiones ITS1 amplificadas de diferentes especies de Leishmania con la endonucleasa de restricción HaeIII. M: marcador de pesos moleculares. Reproducida de Schönian et al. (2003). <sup>93</sup> .....	31
Figura 18. Declaración de la leishmaniasis cutánea en nuestra serie: número de casos declarados y no declarados (n = 126). Fuente: elaboración propia.....	32
Figura 19. Subnotificación de la leishmaniasis cutánea. ....	34
Figura 20. Algoritmo para favorecer la declaración de la leishmaniasis cutánea en Baleares. Elaboración propia. ....	35
Figura 21. Distribución de los pacientes por sector sanitario de procedencia (n = 126). Fuente: elaboración propia. ....	36
Figura 22. Número de pacientes con lesiones únicas, múltiples y en mucosa en A) toda la serie; B) los hombres y C) las mujeres. Fuente: elaboración propia. ....	39

Figura 23. Número de pacientes con lesiones únicas, múltiples y en mucosa por grupos de edad, valorando la descripción de la primera lesión. A) menores de 18 años; B) de 18 a 65 años y C) mayores de 65 años. Fuente: elaboración propia.....	40
Figura 24. Pápula única, sonrosada, eritematosa y con costra central que constituye la forma típica llamada botón de Oriente. Imagen de archivo propio. ....	41
Figura 25. Pápulas costrosas múltiples en un niño. Imagen de archivo propio. ....	41
Figura 26. Pápulas sin costra múltiples en un niño. Imagen de archivo propio. ....	42
Figura 27. A y B) Lesiones múltiples con costra signo de evolución tórpida. C) Lesiones múltiples sin costra, que sugieren un proceso precoz y son un signo de buena evolución de la lesión. Imágenes de archivo propio.....	42
Figura 28. Placa con costra. Imagen de archivo propio. ....	43
Figura 29. Lesión de 14 mm con costra central en la mejilla derecha de un niño. Imagen de archivo propio.....	45
Figura 30. Lesión retroauricular derecha de 12 mm en un hombre. El tamaño medio de las lesiones en los hombres fue mayor que en las mujeres. Imagen de archivo propio.....	45
Figura 31. Localización de las lesiones en los pacientes de nuestra serie (n = 126). Fuente: elaboración propia. CC, cabeza y cuello; ES, extremidad superior; EI, extremidad inferior; T, tronco.	46
Figura 32. Ejemplos de pacientes con lesiones múltiples en el mismo estadio evolutivo y con las mismas características. La imagen de la izquierda y la central muestran lesiones con una ulceración central mínima. En la imagen de la derecha, lesiones con costra. Imágenes de archivo propio. ....	47
Figura 33. Ejemplo de pápulas múltiples en un mismo estadio evolutivo y con las mismas características. Imagen de archivo propio.....	47
Figura 34. Patrón psoriasiforme. Imagen de archivo propio. ....	50
Figura 35. Placa eritematosa con costras, descamación y coloración amarillo anaranjada. Imagen de archivo propio.....	50
Figura 36. Ejemplo de lesión eritematosa en mejilla con costra central adherida que simula un forúnculo infeccioso o una lesión lupoides. El tratamiento consistió en 8 administraciones de antimoniato de meglumina intralesional. Imagen de archivo propio. ....	51
Figura 37. Leishmaniasis cutáneas que simulaban una erisipela (patrón erisipeloides). Imágenes de archivo propio.....	51
Figura 38. Placa eritematosa en dorso nasal y mejilla de un paciente anciano. Imagen de archivo propio.....	52
Figura 39. Lesión erisipeloides avanzada en una paciente anciana. Imagen de archivo propio.....	52
Figura 40. Lesión de patrón erisipeloides en mejilla derecha. Imagen de archivo propio.....	53
Figura 41. Lesión evolucionada en mejilla izquierda. Imagen de archivo propio.....	53
Figura 42. Ejemplo de dos tipos de lesiones coincidentes: dos placas y dos pápulas en un paciente con inmunodepresión por un tratamiento con un anti-TNF $\alpha$ . El paciente, que presentó un total de 12 lesiones, fue tratado con anfotericina B liposomal (Caso n.º 113). Imagen de archivo propio. ....	53
Figura 43. Lesiones maculares con descamación en pierna que parecían un eccema de estasis. El tratamiento a largo plazo con corticoesteroides tópicos había alterado el componente inflamatorio de las lesiones y tuvimos ciertas dudas diagnósticas. Imagen de archivo propio.....	54
Figura 44. Duda diagnóstica de lesión en párpado con eccema. Imagen de archivo propio. ....	54
Figura 45. Lesión en mejilla izquierda. Hubo certeza diagnóstica inicial con respecto al diagnóstico de LC, sin que surgieran dudas a pesar de que simulaba un quiste facial. Imagen de archivo propio.....	54
Figura 46. Lesión en mejilla izquierda. Años atrás, se sospechó que esta lesión era una LC y se realizaron pruebas parasitológicas y de biología molecular (RT-PCR) con resultados negativos. La lesión era un granuloma aséptico facial que se resolvió espontáneamente. Otros autores han encontrado lesiones similares en el párpado. <sup>125</sup> Imagen de archivo propio. ....	55
Figura 47. Pápula marronosa eritematosa en el centro del tórax. La lesión aumentó de tamaño durante el verano y el médico de primaria nos envió a la paciente con sospecha de nevus. Al realizar el estudio dermatoscópico se apreciaron hallazgos sugestivos de leishmaniasis y el estudio histopatológico confirmó el diagnóstico. Imagen de archivo propio. ....	55
Figura 48. Lesión de leishmaniasis cutánea que simulaba una verruga. A) Pápula con collarite costroso central y con apariencia crateriforme. B) Vista ampliada de la lesión. Imágenes de archivo propio.....	56

Figura 49. Placa exudativa con cráter central que parece una celulitis, un forúnculo o un pioderma gangrenoso. Se diagnosticó por RT-PCR en papel del exudado y curó por completo con AM intralesional. Imagen de archivo propio. Caso n.º 10. ....	56
Figura 50. Lesión en placa simulando un impétigo en la cara de una niña. Debido al origen marroquí de la paciente, se sospechó una LC por <i>L. tropica</i> . La tipificación mediante PCR-RFLP confirmó que se trataba de <i>L. infantum</i> . Imagen de archivo propio. Caso n.º 11. ....	57
Figura 51. Patrón forunculoso múltiple. Imagen de archivo propio. ....	57
Figura 52. Lesiones en mejillas y párpado superior simulando infección impetiginizada por color amarillo. Imagen de archivo propio. ....	57
Figura 53. A) La lesión inicial hizo sospechar un linfoma pero sin certeza diagnóstica. Se realizó una biopsia de piel que permitió diagnosticar una LC. El tratamiento consistió en tres inyecciones intralesionales de antimoniato de meglumina. B) Se consiguió una respuesta completa con un eritema residual mínimo que a los 12 meses ya había desaparecido. Imágenes de archivo propio. ...	58
Figura 54. Placa en sien izquierda tipo carcinoma in situ o queratosis actínica. Imagen de archivo propio. ....	58
Figura 55. Pápula no costrosa única con eritema, ubicada en mejilla izquierda. La lesión podría ser sospechosa de carcinoma escamoso in situ. Imagen de archivo propio. ....	58
Figura 56. Pápula brillante sin costra en nuca. Se extirpó la lesión con la sospecha de carcinoma basocelular, pero fue diagnosticada de leishmaniasis en el estudio histopatológico. Imagen de archivo propio. ....	59
Figura 57. Placa blanda eritematosa de gran tamaño con pequeña costra central localizada en el codo de un paciente con ácido úrico elevado y psoriasis y en tratamiento con un anti-TNF $\alpha$ . Imágenes de archivo propio. ....	59
Figura 58. Lesión ulcerada que simulaba una celulitis o una úlcera vascular en un paciente con inmunodepresión por fármacos. También se planteó un posible pioderma gangrenoso porque el paciente sufría una enfermedad de Crohn. Imagen de archivo propio. ....	59
Figura 59. Paciente con inmunodepresión que presentó A) una lesión tipo dactilitis con placa ulcerada en dedo índice. B) La lesión mejoró con AM intralesional y C) se resolvió sin tejido cicatricial anómalo. Imágenes de archivo propio. ....	60
Figura 60. Infección purulenta en mentón tipo placa simulando cualquier tipo de infección profunda en un paciente con inmunodepresión. Imagen de archivo propio. ....	60
Figura 61. A) Lesión en placa ulcerada y supurativa en el pie izquierdo de paciente en tratamiento con un fármaco inmunosupresor (caso n.º 62). La lesión simulaba una úlcera infecciosa o vascular o un pioderma gangrenoso. B) Placa ulcerada y sin supuración simulando una infección bacteriana en el brazo de un paciente con inmunodepresión. Imágenes de archivo propio. ....	60
Figura 62. Lesión nodular ulcerada o placa ulcerada incluida en el grupo de placas y que simula una queratosis seborreica o un queratoacantoma. Imagen de archivo propio. ....	61
Figura 63. Placa en cuero cabelludo que simula un carcinoma escamoso en un paciente con inmunodepresión. Imagen de archivo propio. ....	61
Figura 64. Estudio histológico de material de biopsia y exudado mediante Giemsa. A) A partir de un corte histológico, aumento de 630 x. B) A partir de un frotis del exudado de la lesión, aumento de 1000 x. Se observan formas amastigota de Leishmania. Imágenes de archivo propio. ....	62
Figura 65. Estudio histológico a partir de biopsia mediante tinción de HE. Se observan abundantes amastigotes de Leishmania visibles 630 x. Imagen de archivo propio. ....	62
Figura 66. Protocolo para el diagnóstico de la LC en zona endémica. Fuente: elaboración propia. ....	81
Figura 67. Tratamientos de la primera lesión de leishmaniasis cutánea en nuestra serie. *Imiquimod en monoterapia (n = 2; casos 85 y 89); clindamicina (n = 1); clobetasol (n = 1), triamcinolona (n = 2). Un paciente recibió imiquimod y anfotericina B liposomal sistémica. ....	87
Figura 68. Eritema debido a la aplicación de crema de lidocaína y prilocaína antes del tratamiento con antimoniato de meglumina intralesional en un niño. Imagen de archivo propio. ....	88
Figura 69. Tratamiento con antimoniato de meglumina intralesional en 97 pacientes. ....	88
Figura 70. A y B) Lesión inicial con ulceración cicatricial. C) Aspecto al cabo de dos años. Imágenes de archivo propio. ....	96
Figura 71. Lesión en placa desarrollada durante el tratamiento que simulaba un carcinoma escamoso. Imágenes de archivo propio. ....	97
Figura 72. Lesión eritematosa en mejilla derecha en un paciente pediátrico. Imagen de archivo propio. ....	97

Figura 73. Placa única con mala respuesta inmunitaria en un niño multitratado. En las imágenes se muestra la evolución en tiempo así como los distintos tratamientos administrados. Imágenes de archivo propio.....98

## Abreviaturas

<b>AM</b>	Antimoniato de meglumina
<b>AnfB</b>	Anfotericina B
<b>AP</b>	Anatomía patológica, Servicio de Anatomía Patológica
<b>ARNr</b>	Ácido ribonucleico ribosómico
<b>ATP</b>	Trifosfato de adenosina
<b>CD</b>	Células dendríticas
<b>CDC</b>	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
<b>CPA</b>	Células presentadoras de antígenos
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico ( <i>deoxyribonucleic acid</i> )
<b>DNAk</b>	DNA del kinetoplasto
<b>dNTP</b>	Trifosfato de desoxinucleótido ( <i>deoxynucleotide triphosphate</i> )
<b>EDO</b>	Enfermedad de declaración obligatoria
<b>ELISA</b>	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima, también llamado enzimoanálisis de adsorción ( <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> )
<b>HAEIII</b>	Enzima de restricción que corta enlaces diéster del DNA al reconocer una secuencia específica
<b>HE</b>	Hematoxilina-eosina
<b>IFI</b>	Inmunofluorescencia indirecta
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferón gamma
<b>Ig</b>	Inmunoglobulina
<b>IHQ</b>	Inmunohistoquímica
<b>IL</b>	Interleucina
<b>IM</b>	Intramuscular
<b>ITS</b>	Espaciador transcrito interno ( <i>internal transcribed spacer</i> )
<b>IV</b>	Intravenoso
<b>LC</b>	<i>Leishmaniasis</i> cutánea
<b>LPG</b>	Lipofosfoglicano
<b>LV</b>	<i>Leishmaniasis</i> visceral
<b>NK</b>	<i>Natural killer</i>
<b>NNN</b>	Medio de cultivo Novy-McNeal-Nicolle
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>pb</b>	Pares de bases
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> )
<b>PCR- RFLP</b>	Reacción en cadena de la polimerasa-polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción ( <i>Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism</i> )
<b>PHIL</b>	<i>Public Health Image Library</i>
<b>RENAVE</b>	Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica
<b>RT-PCR</b>	PCR en tiempo real
<b>SMF</b>	Sistema mononuclear fagocítico
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Factor de crecimiento tumoral beta
<b>TLR</b>	Receptores de tipo Toll ( <i>Toll-like receptors</i> )
<b>TNF-<math>\beta</math></b>	Factor de necrosis tumoral beta
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Factor de necrosis tumoral alfa
<b>VIH</b>	Virus de la inmunodeficiencia humana

## Resúmenes

### Resum

La leishmaniosi és un grup de malalties infeccioses causades per diferents espècies del protozou *Leishmania*. A la nostra àrea, és una zoonosis que es transmet per picadures de flebòtoms, té el gos com a principal reservori i està causada per *Leishmania infantum*. Pot cursar de forma visceral o cutània, tot i que la leishmaniosi cutània (LC) és la més comú.

Els objectius de l'estudi van ser conèixer l'epidemiologia de la LC a les Balears i la seva possible subnotificació; descriure els patrons de presentació clínica; determinar el valor de la tècnica molecular de la reacció en cadena de la polimerasa en temps real (RT-PCR) per al diagnòstic de la LC i comparar els resultats amb els dels mètodes diagnòstics directes convencionals, tant parasitològics com d'anatomia patològica; establir que l'obtenció i la recollida de l'exsudat de la lesió en paper de filtre Whatman és un procediment vàlid per detectar infeccions per *Leishmania* i avaluar la seva utilitat per determinar la presència de DNA de *Leishmania* amb una RT-PCR; valorar l'eficàcia del tractament tenint en compte el tipus de lesió, l'edat i l'estat immunològic del pacient; proposar un protocol d'actuació estandarditzat que faciliti el diagnòstic de la LC i la seva declaració obligatòria.

Es va realitzar un estudi retrospectiu de tots els casos de LC diagnosticats i tractats al Servei de Dermatologia de l'Hospital Comarcal de Manacor (Mallorca, Illes Balears) entre 2013 i 2017. Les dades es varen recopilar i gestionar, però degut a la falta d'un protocol diagnòstic, no va ser possible disposar de les mateixes dades per a tots els pacients.

La població de l'estudi comprenia 126 pacients, dels quals 124 presentaven una LC i uns altres dos, leishmaniosi mucosa. Es van incloure 65 dones (51,6 %) i 61 homes (48,4 %), amb una mitja d'edat de  $44,6 \pm 25,5$  anys i un rang de 0 a 86 anys. Es va classificar els pacients per grups d'edat: menors de 18 anys ( $n = 29$ ; 23 %), de 18 a 65 anys ( $n = 64$ ; 50,8 %) i majors de 65 anys ( $n = 33$ ; 26,2 %). Nou pacients (7,1 %) presentaven immunodepressió. La convivència o contacte estret amb gossos només es va recollir en 25 pacients (19,9 %), tots amb resposta afirmativa.

Al comparar les nostres xifres amb les dades oficials de Balears sobre leishmaniosi durant el període de l'estudi, va ser evident la subnotificació de la LC. Entre 2013 i 2017, es van declarar només 109 casos en tota la comunitat autònoma. A la sèrie de l'estudi, de 126 casos només se'n van declarar 36 (28,6 %). Per millorar la notificació de la LC a Balears, s'ha desenvolupat un algoritme que es proposa en aquesta tesi.

La sospita clínica inicial va ser de certesa de LC en 87 pacients (67,5 %). Aquest alt percentatge s'atribueix a l'experiència dels dermatòlegs del centre. Al estar en un àrea amb LC endèmica, sempre tenen present aquesta malaltia, i a més estan familiaritzats amb les nombroses formes de presentació de la LC, que s'ha arribat a anomenar «la gran imitadora».

Les lesions elementals van ser les pàpules i les plaques, amb una mida mitja d'1 cm i localitzades principalment a cap, cara i coll. La majoria de les lesions van ser úniques i van respondre al tractament sense deixar cicatriu. L'antimoniato de meglumina intralesional va ser el tractament més emprat. S'inclouen nombroses imatges d'arxiu propi per mostrar no tan sols la presentació clàssica del botó d'Orient, sinó també lesions de LC que obliguen a plantejar un diagnòstic diferencial amb altres malalties. A la sèrie de l'estudi, els diagnòstics diferencials de la LC van ser quistos, granuloma asèptic, limfoma cutani, carcinomes cutanis, erisipela, pioderma gangrenós, furúncol, dactilitis, tofus gotós, cel·lulitis, nevus,

èczema i psoriasi. Pel que fa a les poblacions especials, destaquen els pacients amb immunodepressió, que van presentar lesions més grans i més difícils de tractar.

El diagnòstic es va confirmar amb diverses combinacions de proves parasitològiques (coloració de Giemsa i test de Tzank), tècniques de diagnòstic histopatològic (tinció d'hematoxilina-eosina) i tècniques de diagnòstic molecular (RT-PCR en fresc i en paper). En els pacients sense un diagnòstic parasitològic, les proves RT-PCR van ser molt valuoses, especialment en aquells amb un diagnòstic histopatològic inespecífic d'infiltrat granulomatós o linfoplasmocitari. La RT-PCR va resultar ser molt sensible, facilitant la presa i conservació de la mostra i identificant a pacients amb totes les altres proves negatives o no realitzades, inclús casos que no s'havien detectat amb la RT-PCR en fresc d'exsudat o biòpsia.

Tanmateix, es proposa un algoritme per al diagnòstic de la LC. Davant d'una lesió sospitosa de LC, es recomana utilitzar preferentment proves incruentes com l'examen directe del frotis amb coloració de Giemsa i la RT-PCR en paper o exsudat. Si aquestes proves són negatives, es proposa realitzar tècniques més agressives com la biòpsia de la lesió per detectar el paràsit per tinció amb hematoxilina-eosina o mitjançant RT-PCR.

## Resumen

La leishmaniasis es un grupo de enfermedades infecciosas causadas por distintas especies del protozoo *Leishmania*. En nuestra área, es una zoonosis que se transmite por picaduras de flebótomos, tiene como principal reservorio el perro y está causada por *Leishmania infantum*. Puede cursar de forma visceral o cutánea, aunque la leishmaniasis cutánea (LC) es la más común.

Los objetivos del estudio fueron conocer la epidemiología de la LC en Baleares y su posible subnotificación; describir los patrones de presentación clínica; determinar el valor de la técnica molecular de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) para el diagnóstico de la LC y comparar los resultados con los de métodos diagnósticos directos convencionales, tanto parasitológicos como de anatomía patológica; establecer que la obtención y la recogida del exudado de la lesión en papel de filtro Whatman es un procedimiento válido para detectar infecciones por *Leishmania* y evaluar su utilidad para determinar la presencia de DNA de *Leishmania* mediante una RT-PCR; valorar la eficacia del tratamiento teniendo en cuenta el tipo de lesión, la edad y el estado inmunitario del paciente; proponer un protocolo de actuación estandarizado que facilite el diagnóstico de la LC y su declaración obligatoria.

Se realizó un estudio retrospectivo de todos los casos de LC diagnosticados y tratados en el Servicio de Dermatología del Hospital Comarcal de Manacor (Mallorca, Illes Balears) entre 2013 y 2017. Los datos se recopilaron y gestionaron, aunque debido a la falta de un protocolo diagnóstico, no fue posible disponer de los mismos datos para todos los pacientes.

La población del estudio estuvo formada por 126 pacientes, de los que 124 presentaban LC y otros 2 pacientes, leishmaniasis mucosa. Se incluyó a 65 mujeres (51,6 %) y 61 hombres (48,4 %), con una media de edad de  $44,6 \pm 25,5$  años y un rango de 0 a 86 años. Se clasificó a los pacientes por grupos de edad: menores de 18 años ( $n = 29$ ; 23 %), de 18 a 65 años ( $n = 64$ ; 50,8 %) y mayores de 65 años ( $n = 33$ ; 26,2 %). Nueve pacientes (7,1 %) presentaban inmunodepresión. La convivencia o contacto estrecho con perros solo se había recogido en 25 pacientes (19,9 %), todos con respuesta afirmativa.

Al comparar nuestras cifras con los datos oficiales de Baleares sobre leishmaniasis durante el periodo del estudio, fue evidente la subnotificación de la LC. Entre 2013 y 2017, se declararon solo 109 casos en toda la comunidad autónoma. De la serie del estudio, solo fueron declarados 36 casos (28,6%) de 126. Para mejorar la notificación de la LC en Baleares, se ha desarrollado un algoritmo que se propone en esta tesis.

La sospecha clínica inicial fue de certeza de LC en 87 pacientes (67,5 %). Este alto porcentaje se atribuye a la experiencia de los dermatólogos del centro. Al estar en un área con LC endémica, siempre tienen presente esta enfermedad y además están familiarizados con las numerosas formas de presentación de la LC, que se ha llegado a denominar «la gran imitadora».

Las lesiones elementales fueron las pápulas y las placas, con un diámetro medio de 1 cm y localizadas sobre todo en cabeza, cara y cuello. La mayoría de lesiones fueron únicas y respondieron al tratamiento, generalmente antimonio de meglumina intralesional, sin dejar cicatriz. Se incluyen numerosas imágenes de archivo propio para mostrar no solo la presentación clásica del botón de Oriente, sino también lesiones de LC que obligan a plantear un diagnóstico diferencial con otras enfermedades. En la serie del estudio, los diagnósticos diferenciales de la LC incluyeron quistes, granuloma aséptico, linfoma cutáneo,

carcinomas cutáneos, erisipela, pioderma gangrenoso, forúnculo, dactilitis, tofo gotoso, celulitis, nevus, eccema y psoriasis. En cuanto a las poblaciones especiales, destacan los pacientes con inmunodepresión, que presentaron lesiones de mayor tamaño y más difíciles de tratar.

El diagnóstico se confirmó con diversas combinaciones de pruebas parasitológicas (coloración de Giemsa y test de Tzank), técnicas de diagnóstico histopatológico (tinción de hematoxilina-eosina) y técnicas de diagnóstico molecular (RT-PCR en fresco y en papel). En los pacientes sin un diagnóstico parasitológico, las pruebas RT-PCR fueron de gran valor, sobre todo en aquellos con un diagnóstico histopatológico inespecífico de infiltrado granulomatoso o linfoplasmocitario. La RT-PCR en papel del exudado resultó ser muy sensible, facilitando la toma y conservación de la muestra e identificando a pacientes con todas las otras pruebas negativas o no realizadas, incluso casos que no habían sido detectados con la RT-PCR en fresco de exudado o biopsia.

Asimismo, se propone un algoritmo para el diagnóstico de la LC. Ante una lesión sospechosa de LC, se recomienda usar preferentemente pruebas incruentas como el examen directo del frotis con coloración de Giemsa y la RT-PCR en muestra fresca o recogida en papel. Si estas pruebas son negativas, se propone realizar técnicas más agresivas como la biopsia de la lesión para detectar el parásito por tinción con hematoxilina-eosina o mediante RT-PCR.

## Abstract

Leishmaniasis is a group of infectious diseases caused by protozoan parasites from different species of *Leishmania*. In our area, it is a zoonosis transmitted by bites of sandflies of the genus *Phlebotomus*, with the dog as main reservoir host, and caused by *Leishmania infantum*. It can present as visceral or cutaneous forms, but cutaneous leishmaniasis (CL) is the most common in the Balearic Islands.

The study had multiple objectives: to know the epidemiology of CL in the Balearic Islands and its possible subnotification; to describe patterns of clinical presentation; to determine the worth of the molecular technique real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) to CL diagnosis and to compare its results with those of conventional direct methods of diagnosis, both parasitological and anatomopathological; to establish that obtaining and collection of lesion exudate in Whatman filter paper is a valid procedure to detect infections by *Leishmania* and to assess whether it is useful to determine presence of *Leishmania* DNA by means of RT-PCR; to evaluate the efficacy of the treatment taking into account lesion type, age and immune status; to suggest a standardized protocol to facilitate CL diagnosis and mandatory notification.

A retrospective study was performed to assess all LC cases that had been diagnosed and treated at the Dermatology Department of the Hospital de Manacor (Mallorca, Balearic Islands) from 2013 to 2017. Data were collected and managed, but not the same data were available for all patients because there was not a protocol for CL diagnosis.

Study population was composed of 126 patients, 124 presenting with CL and 2 patients with mucosal leishmaniasis. They were 65 women (51.6 %) and 61 men (48.4 %), with a mean age of  $44.6 \pm 25.5$  years and a range from 0 to 86 years. Moreover, patients were classified according to their age in three groups: younger than 18 years ( $n = 29$ ; 23 %), between 18 and 65 years ( $n = 64$ ; 50.8 %), and older than 65 years ( $n = 33$ ; 26.2 %). Nine patients (7.1 %) had immunosuppression. Data on living or having close contact with a dog were available for 25 patients (19.9 %), all them with affirmative answer.

When comparing our numbers with official leishmaniasis data in the Balearic Islands during the study period, CL subnotification was evident. Only 109 cases were notified in the whole autonomous community between 2013 and 2017. In the study series, only 36 cases (28.6%) from 126 were notified. To improve CL notification in Baleares, we developed an algorithm that is suggested in this dissertation.

Early clinical suspicion was of certainty in 87 patients (67.5%). This high degree of certainty can be attributed to the experience of our dermatologists. As our hospital is located in an area with endemic disease, they have CL always in mind. Furthermore, they are familiar with the many presentation forms of the disease, which has come to be known as “the great imitator”.

The elementary lesions were papules and plaques, with a mean diameter of 1 cm and mainly located on the head, face and neck. Most lesions were unique and improved with treatment, which used to be intralesional meglumine antimoniate, and no residual scar was seen. This document includes a large number of pictures from the author’s own file; these photographs show not only the classical presentation of Oriental sore (*botón de Oriente*), but also CI lesions that force dermatologists to make a differential diagnosis with other diseases. In the study series, possible diagnosis were cyst, aseptic granuloma, skin lymphoma, skin carcinoma, erysipelas, pyoderma gangrenosum, boil, dactylitis, tophus, cellulitis, nevus, eczema and psoriasis. With regard to special populations, lesions in

immunosuppressed patients were larger and more difficult to treat than in immunocompetent patients.

Diagnosis was confirmed with several combinations of parasitological tests (Giemsa stain and Tzanck test), histopathological techniques (hematoxylin and eosin staining) and molecular techniques (RT-PCR using fresh and filter paper-collected samples). In patients with no parasitological diagnosis, RT-PCR tests were of high value, especially in those with an unspecific histopathological diagnosis of granulomatous or lymphoplasmocytary infiltrate. RT-PCR on paper with exudate sample was very sensitive, making easier the taking and preservation of samples and allowing the identification of patients with all other tests negative or not performed, even cases not detected by RT-PCR on fresh sample of exudate or biopsy.

Furthermore, an algorithm for CL diagnosis is proposed. In front of a suspicious CL lesion, it is recommended to use preferentially non-invasive tests such as direct smear observation using Giemsa stain and RT-PCR in fresh or paper-collected sample. If these tests are negative, more invasive tests such as lesion biopsy to detect the parasite by hematoxylin and eosin staining or by RT-PCR.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. *Leishmania* y la leishmaniasis

Leishmaniasis es un término que engloba un conjunto de enfermedades causadas por diferentes especies del género *Leishmania* y transmitidas a través de la picadura de dípteros nematóceros de la subfamilia *Phlebotominae*, de los géneros *Phlebotomus* en el Viejo Mundo y *Lutzomyia* en el Nuevo Mundo. Puede afectar a unas 70 especies de animales, incluyendo la humana.<sup>1</sup> En la zona mediterránea es considerada una zoonosis, con el perro como uno de los principales reservorios, mientras que en otras zonas geográficas se presenta como zoonótica o antroponótica. Las diferentes formas clínicas dependen directamente de la especie de *Leishmania* y su tropismo, de la interacción entre huésped y parásito y de la respuesta inmunitaria del huésped.

#### Agente etiológico y taxonomía

Inicialmente la clasificación del género *Leishmania* se basaba en criterios biológicos y se tenían en cuenta el vector, la distribución geográfica, el tropismo, las propiedades antigénicas y las manifestaciones clínicas. En la actualidad, se tiende a una clasificación genética basada en técnicas de biología molecular que permiten construir un árbol filogenético más fiable. Aun así, no existe consenso sobre la clasificación de *Leishmania*, sobre todo para definir las especies o el método de referencia para abordar una buena clasificación filogenética.

Se han desarrollado nuevos sistemas de clasificación que han supuesto una reorganización de la taxonomía de *Leishmania* (Tabla 1).<sup>2-4</sup>

**Tabla 1. Taxonomía del género *Leishmania*. Elaboración propia a partir de datos de Ruggiero et al. (2015),<sup>2</sup> Akhoundi et al. (2015)<sup>3</sup> y Mauricio (2018)<sup>4</sup>**

Reino	Protozoa (Cavalier-Smith, 2002)
Filo	Euglenozoa (Cavalier-Smith, 1981)
Clase	Kinetoplastida (Honigberg, 1963 modificada por Vickerman, 1976)
Subclase	Metakinetoplastina (Vickerman, 2004)
Orden	Trypanosomatida (Kent, 1880)
Familia	Trypanosomatidae (Doflein, 1901)
Género	<i>Leishmania</i> (Ross, 1903)

Hace más de veinte años ya se habían descrito 30 especies diferentes de *Leishmania* basándose en criterios clínicos, epidemiológicos y biológicos. En el ser humano se habían aislado 21 especies, que se consideraron responsables de las distintas variantes de leishmaniasis.<sup>5</sup> Con la introducción de técnicas de biología molecular se han validado algunas especies, pero para otras ha habido incoherencias notables porque no pueden diferenciarse a nivel genético. Un ejemplo es la coincidencia de *Leishmania pifanoi* y *L. mexicana*. Por lo tanto, es probable que el número de especies descrito en la actualidad sea excesivo; así también lo sugiere la diversidad filogenética de *Leishmania* en comparación con otros parásitos similares.<sup>6</sup>

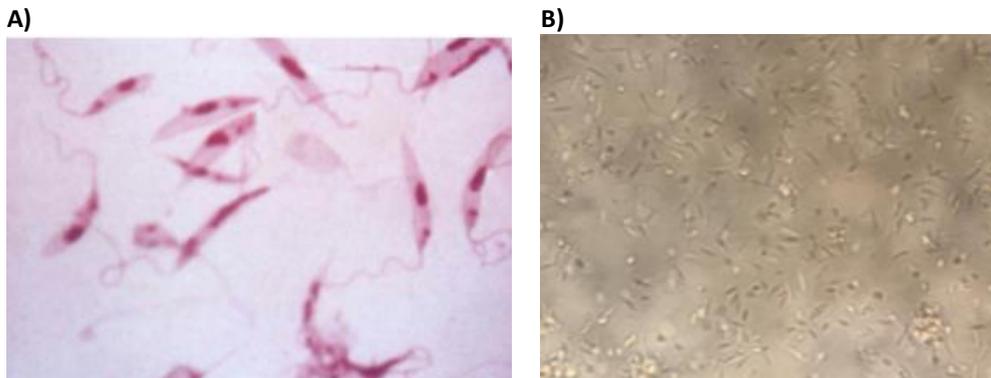
## 1. INTRODUCCIÓN

La clasificación actual propone además la división del género *Leishmania* en cuatro subgéneros: *Leishmania*, *Viannia*, *Sauroleishmania* y *Mundinia*.<sup>5</sup> Las especies que no pueden ser incluidas en los subgéneros anteriores se incluyen dentro de la sección *Paraleishmania*.<sup>3</sup> Se conocen 54 especies de *Leishmania*, sin incluir aquellas sinónimas según los resultados del tipado y la secuenciación.<sup>5</sup> Al menos 21 especies son patógenas para el ser humano.<sup>3</sup> Unas son propias del Viejo Mundo, como *L. major*, *L. tropica*, *L. donovani* y *L. infantum*. Esta última es la presente en España. Otras especies pertenecen al Nuevo Mundo, entre ellas *L. chagasi* (sinónimo de *L. infantum*), *L. mexicana*, *L. amazonensis* y *L. braziliensis complex*.<sup>5</sup>

### 1.1.1. Morfología y ciclo biológico

Al igual que muchos otros protozoos, el ciclo biológico de *Leishmania* es digenético. Una parte tiene lugar como forma promastigota en el tubo digestivo del hospedador invertebrado (vector). La otra parte del ciclo ocurre tiene lugar en el hospedador vertebrado como forma amastigota.<sup>7</sup>

Los promastigotes (**Figura 1**) son las formas extracelulares flageladas que se encuentran en el intestino medio del hospedador invertebrado (el vector) y en medios de cultivo. Tienen una morfología alargada con un flagelo en la región anterior. Su tamaño oscila entre 10  $\mu\text{m}$  y 30  $\mu\text{m}$  de largo y entre 1,5  $\mu\text{m}$  y 3  $\mu\text{m}$  de ancho. Además, cuentan con un núcleo ovalado central y un kinetoplasto bastoniforme prenuclear.<sup>8-10</sup>



**Figura 1.** Promastigotes. A) teñidos con Giemsa; B) en cultivo. Imágenes de archivo propio.

Los amastigotes (**Figura 2**) son formas intracelulares que se multiplican dentro de los macrófagos y otras células del sistema mononuclear fagocítico (SMF) del hospedador vertebrado (mamífero). Son inmóviles y tienen forma ovalada, con un flagelo muy corto que casi no sobresale de la bolsa flagelar y solo es visible con microscopía electrónica. Su tamaño oscila entre 3  $\mu\text{m}$  y 5  $\mu\text{m}$  de largo y entre 1,5  $\mu\text{m}$  y 2,5  $\mu\text{m}$  de ancho. Presenta un núcleo y un kinetoplasto bastoniforme en el citoplasma. Mediante tinción de Giemsa, pueden observarse el citoplasma de color azul pálido y el núcleo y el kinetoplasto de color azul-violeta.<sup>8,9</sup>

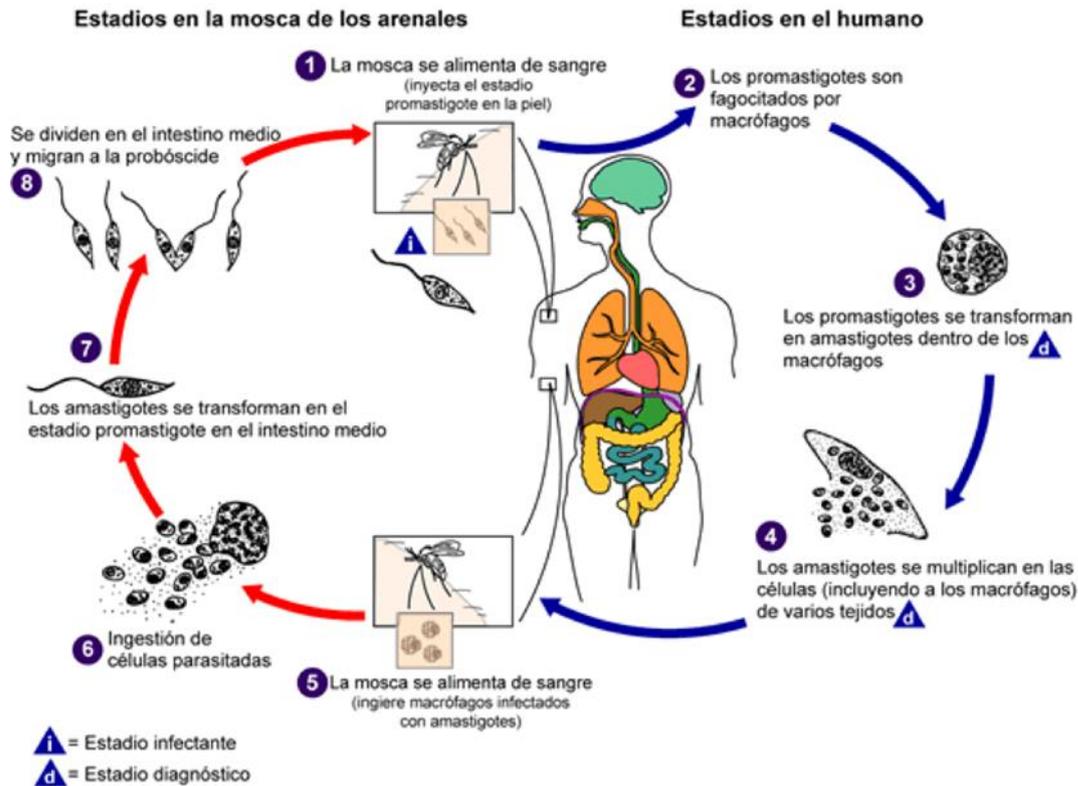


**Figura 2.** Amastigotes dentro de un macrófago. Imagen de archivo propio.

El ciclo biológico del parásito (**Figura 3**)<sup>11</sup> es similar para todas las especies del género *Leishmania*. Se inicia cuando la hembra del flebótomo ingiere sangre del hospedador vertebrado infectado con macrófagos parasitados con amastigotes. Una vez dentro del tubo digestivo, los macrófagos se lisan y liberan las formas amastigotas, que a su vez se van transformando en promastigotes. Estos últimos evolucionan hasta formas metacíclicas infestantes que se sitúan en la probóscide del vector. De esta manera, cuando el flebótomo vuelve a picar a un huésped vertebrado, inocula parte de las formas promastigotas infectantes durante el mismo acto de succión.<sup>12-14</sup>

A continuación, los promastigotes, gracias a la glucoproteína de membrana gp63 y el lipofosfoligano (LPG) de su superficie, se adhieren a los macrófagos de la piel y otras células del SMF. Los macrófagos fagocitan estas formas del parásito y, una vez dentro de la vacuola parasitófora del citoplasma, evolucionan a la forma amastigota. Entonces, los amastigotes se multiplican mediante sucesivas divisiones binarias hasta que la célula se escinde. Cuando los parásitos quedan libres pueden invadir otros macrófagos y repetir el proceso de multiplicación, pueden diseminarse directamente a través de la piel y de la circulación cutánea hasta llegar a las mucosas o pueden ser transportados junto con macrófagos circulantes por el torrente sanguíneo y linfático hasta órganos que forman parte del SMF (hígado, bazo, médula ósea).<sup>16</sup> Factores que dependerán del parásito y del hospedador determinarán si la infección se convierte en sintomática y se desarrolla una leishmaniasis cutánea (LC) o una leishmaniasis visceral (LV).

## 1. INTRODUCCIÓN



**Figura 3.** Ciclo biológico de *Leishmania*.

Fuente: Image #3400, Centers for Disease Control and Prevention (CDC)/Alexander J. da Silva, 2002. En: CDC Public Health Image Library (PHIL). <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=3400>.<sup>11</sup> Traducción de Grill y Zurmendi, Arch Ped Uruguay, 2017.<sup>15</sup> Imagen de dominio público<sup>11</sup> y traducción de uso libre con licencia Creative Commons.<sup>15</sup>

### 1.1.2. Organización genómica

Los protozoos del género *Leishmania* pertenecientes a la clase *Kinetoplastida* presentan un genoma que consiste en al menos tres tipos de DNA: genómico o nuclear, del kinetoplasto y extracromosómico.<sup>17</sup> Actualmente se cree que el genoma de *Leishmania* presenta aneuploidía con una organización mosaica en todos sus cromosomas<sup>18</sup> en lugar de un genoma diploide, tal y como había sido aceptado en los últimos 20 años.<sup>19</sup>

Las especies del Viejo Mundo cuentan con 36 cromosomas, mientras que las del Nuevo Mundo tienen 34 o 35. Sin embargo, *Leishmania* tiene una organización genómica única dentro del grupo eucariota: sus genes carecen de intrones y los cromosomas son más pequeños que la media, con un mayor número de genes confinados en un espacio menor dentro del núcleo.<sup>20</sup>

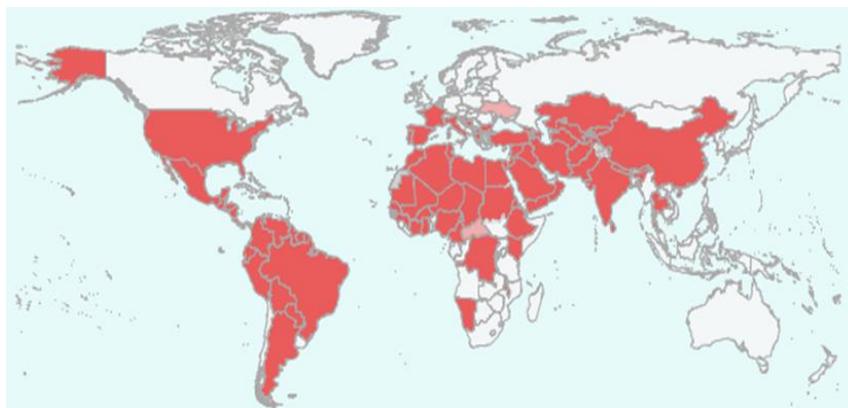
Las leishmanias presentan DNA genómico o nuclear, encargado de la replicación del parásito. Se ha demostrado que el contenido de DNA varía entre especies, subespecies y cepas. El genoma se encuentra distribuido en varios cromosomas. En la mayoría de las especies, el genoma contiene secuencias de DNA repetitivas específicas de cada especie. Estas secuencias constituyen un porcentaje importante del genoma nuclear y, por lo tanto, son una diana interesante para métodos diagnósticos basados en reacciones de amplificación.<sup>17</sup>

Además, presentan DNA kinetoplástico (DNAk) o mitocondrial, que forma una red de maxicírculos y minicírculos que se replican independientemente. Es uno de los DNA más inusuales de la naturaleza y es característico de la orden Kinetoplastida. Situado en una organela citoplasmática denominada kinetoplasto en la membrana mitocondrial, está constituido por un disco de 1-2  $\mu\text{m}$  de diámetro, visible al microscopio óptico y que contiene  $10^7$  pb de DNAk.<sup>19</sup> El DNAk representa entre el 10 % y el 20 % de todo el DNA del parásito. Está formado por una red gigante de miles de moléculas circulares, maxicírculos y minicírculos, unidas por enlaces covalentes. Los maxicírculos son de 30 a 40 kilobases, hay de 30 a 50 copias en cada organismo y presentan una región conservada y otra variable. Su función es codificar proteínas mitocondriales. Los minicírculos varían en longitud según las especies, entre 450 pb y 2500 pb, y se presentan en un mayor número de reproducciones (de 10 000 a 30 000 por kinetoplasto). También presentan una secuencia variable en el 80 % de su longitud y unos 120 pb conservados que se repiten muchas veces, por lo que se los considera buenas dianas para ser amplificadas para el diagnóstico.<sup>17</sup>

## 1.2. Epidemiología de la leishmaniasis

### 1.2.1. La leishmaniasis en el mundo

La leishmaniasis es una enfermedad parasitaria desatendida y un problema de gran envergadura desde el punto de vista de la salud pública, dado que afecta a muchos lugares con climas tropicales o subtropicales, entre ellos la cuenca del Mediterráneo. Su distribución es muy amplia, desde Sudamérica, África y Asia hasta Europa, pero no está presente en Oceanía. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2018 la leishmaniasis era endémica o previamente se habían comunicado casos en 83 países o territorios para la forma visceral y en 92 para la forma cutánea<sup>21,22</sup> (**Figura 4**). Se calcula que un 95 % de los casos de LC están localizados en América, la cuenca del Mediterráneo, Oriente Medio y Asia Central. En 2018, más del 85 % de los nuevos casos de LC se produjeron en Afganistán, Argel, Bolivia, Brasil, Colombia, República Islámica de Irán, Iraq, Pakistán, República Árabe Siria y Túnez.<sup>23</sup>



**Figura 4.** Zonas con leishmaniasis cutánea endémica en 2018. Fuente: Organización Mundial de la Salud, 2019.<sup>22</sup> Reproducida con licencia Creative Commons CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

## 1. INTRODUCCIÓN

La OMS ha advertido de que más de 1000 millones de personas viven en zonas endémicas de leishmaniasis y tienen riesgo de contraerla.<sup>21</sup> Cada año hay entre 50 000 y 90 000 nuevos casos de LV, que es mortal en un 95 % de los pacientes sin tratamiento, y entre 600 000 y 1 millón de nuevos casos de LC.<sup>23</sup>

### 1.2.2. La leishmaniasis en España

La leishmaniasis es hipoendémica en los países del área mediterránea, tanto en la forma cutánea como en la visceral. En España, ambas formas están causadas por *L. infantum*, sin tener en cuenta los casos importados causados por otras especies de *Leishmania*. *L. infantum* es transmitida por los flebotomos *Phlebotomus ariasi* y *P. perniciosus* (**Figura 5**),<sup>24</sup> con el perro como principal reservorio.



**Figura 5.** Díptero hembra del género *Phlebotomus*. Reproducida con permiso de Centers for Disease Control and Prevention (CDC)/Frank Collins, CDC Public Health Image Library (PHIL), 2006. Autor: James Gathany. Imagen #10277. En <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=10277> Imagen de dominio público.<sup>24</sup>

La prevalencia declarada de leishmaniasis en España es de 0,3 casos por cada 100 000 habitantes. La enfermedad está presente en todas las comunidades autónomas, pero aparece con una mayor distribución en la Meseta Central y en la cuenca mediterránea, con las comunidades de Valencia, Madrid, Cataluña e Islas Baleares como las de mayor número de casos.

Los datos epidemiológicos son controvertidos, ya que el estado de notificación de la leishmaniasis ha sufrido varios cambios a lo largo de los años. Entre 1982 y 1994 fue Enfermedad de Declaración Obligatoria (EDO) y entre 1995 y 2004 fue enfermedad de notificación regional (Real Decreto 2210/1995), de manera que solo se vigilaba activamente en aquellas comunidades autónomas en las que era de interés. Desde 2015, la leishmaniasis ha vuelto a ser una EDO (Orden SSI/445/2015). Además de la carencia de información fiable, también cabe destacar una subnotificación evidente.

Según los datos publicados en el Boletín Epidemiológico Semanal del Centro Nacional de Epidemiología,<sup>25</sup> de 2005 a 2017 se notificaron 2733 casos a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). De ellos, 2415 se confirmaron por criterios de laboratorio y los demás se describieron como casos probables basándose solamente en criterios clínicos y epidemiológicos. Ocho comunidades autónomas (Andalucía, Aragón, Baleares, Extremadura, La Rioja, Madrid, Murcia y Navarra) han mantenido una notificación estable desde 2005 y lentamente se han ido incorporando otras

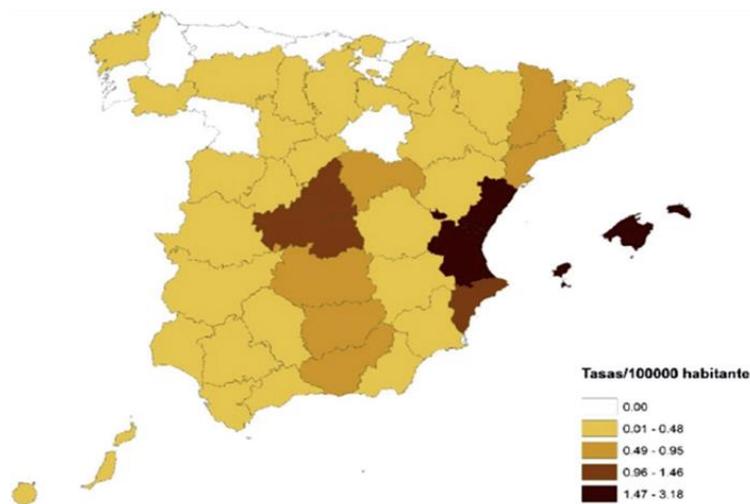
(Comunidad Valenciana, Canarias, Castilla y León, Castilla-La Mancha, Cataluña, Galicia y País Vasco) hasta un total de 15.

En cuanto a los casos autóctonos en España, de 2005 a 2017 se notificaron 1840 casos, de los que 1687 se confirmaron por criterios de laboratorio en las ocho comunidades autónomas con notificación estable. Más concretamente, durante el periodo de 2014 a 2017 se notificaron 1451 casos, de los cuales 1359 eran autóctonos (**Tabla 2**), 58 importados y el resto se desconoce. La incidencia durante ese periodo de España fue 0,76 casos/100 000 habitantes, siendo Baleares y la C. Valenciana las comunidades autónomas con las incidencias más elevadas: 2,74 y 2,39, respectivamente, por 100 000 habitantes (**Figura 6**).<sup>25</sup>

**Tabla 2.** Número de casos autóctonos y tasas de incidencia de leishmaniasis por comunidades autónomas en España. Reproducción autorizada de Fernández Martínez B, Gómez Barroso D y Cano Portero R, 2019 (tabla basada en datos de RENAVE 2014 a 2017)<sup>25</sup>

Comunidad autónoma	Año				Total (n)	Incidencia 2014-2017 (casos/100 000 habitantes)
	2014	2015	2016	2017		
Andalucía	20	28	27	32	107	0,32
Aragón	4	4	2	7	17	0,32
Asturias	-	-	-	-	-	-
Baleares	24	37	36	28	125	2,74
Canarias	0	0	0	1	1	0,01
Cantabria	-	-	-	-	-	-
Castilla y León	0	0	3	8	11	0,13
Castilla La Mancha	10	20	22	13	67	0,79
Cataluña	20	31	44	49	143	0,49
Ceuta	-	-	-	-	-	-
Galicia	0	1	1	0	1	0,02
Extremadura	4	2	0	10	16	0,37
La Rioja	0	0	1	0	1	0,08
Comunidad de Madrid	139	85	72	79	375	1,46
Melilla	-	-	-	-	-	-
Región de Murcia	3	6	3	5	17	0,29
Navarra	2	2	1	0	5	0,20
Comunidad Valenciana	72	112	143	144	471	2,39
País Vasco	0	0	1	1	2	0,02
<b>Total</b>	<b>298</b>	<b>328</b>	<b>356</b>	<b>377</b>	<b>1359</b>	<b>0,76</b>

## 1. INTRODUCCIÓN



**Figura 6.** Incidencia de leishmaniasis autóctona por provincias. Reproducción autorizada de una figura basada en datos de RENAVE 2014 a 2017 del artículo de Fernández Martínez B, Gómez Barroso D y Cano Portero R (2019).<sup>25</sup>

Se dispuso de información clínica en el 94 % de los casos, con un 51,6 % de formas viscerales y un 48,4 % de formas cutáneas. La LC fue más frecuente en hombres (57,2 %) y en pacientes de 45 a 75 años (más del 50 % de los casos). Entre junio y octubre se notificaron más del 50 % de los casos, lo que puede relacionarse con una mayor densidad del vector durante estos meses. Asimismo, la incidencia de LC varía según las zonas de España, con Baleares (2,13 casos/100 000 habitantes) y la C. Valenciana (1,16 casos/100 000 habitantes) como las comunidades autónomas con mayor incidencia.<sup>25</sup>

### La leishmaniasis en las Islas Baleares

Baleares es la comunidad autónoma española con mayor incidencia de leishmaniasis (**Tabla 2**). La información sobre leishmaniasis incluida en los informes de vigilancia epidemiológica del Govern de les Illes Balears (GOIB)<sup>26-31</sup> se resume en la Tabla 3.

Los datos más recientes, correspondientes a los años 2017 y 2018, muestran que Mallorca fue la isla más afectada, con cerca de un 78,5 % de los casos en 2017<sup>30</sup> y un 88,5 % en 2018.<sup>31</sup> La **Tabla 3** muestra un aumento de los casos declarados en los últimos años, aunque sigue habiendo un problema de notificación de la enfermedad.

Se calculó también el índice epidémico (EP), que indica la importancia de una enfermedad en una población durante un tiempo determinado.<sup>32</sup> La leishmaniasis en Baleares tuvo un EP de 1,17 en 2017 y de 0,93 en 2018. Ambos valores están situados dentro del rango de un EP intermedio (mayor que 0,75 pero inferior a 1,2), lo que significa que el número de casos observados está cerca del esperado en situación endémica.

La forma clínica predominante fue la cutánea, con 22 casos (78,5 %) de 28 en 2017<sup>30</sup> y 20 casos (77 %) de 26 en 2018.<sup>31</sup> Esta distribución es diferente a la encontrada en el conjunto de España: según el artículo de Martínez et al. (2019) comentado más arriba, las formas viscerales representaron más del 50 % de los casos registrados en la red RENAVE entre 2014 y 2017.<sup>25</sup>

**Tabla 3.** Resumen de los últimos informes de vigilancia epidemiológica del GOIB en referencia a la leishmaniasis. Fuente: elaboración propia basada en datos de los informes correspondientes a los años 2013-2018 de la Red de Vigilancia Epidemiológica de las Islas Baleares<sup>26-31</sup>

Año	Casos	LC	LV	Tasa/100 000 habitantes	Índice epidémico
2013	16	12	4	1,4	1,14
2014	24	17	7	2,2	1,5
2015	37*	28	8	3,3	1,85
2016	36	30	6	3,3	1,80
2017	28	22	6	3,8	1,17
2018	26	20	6	2,3	0,93

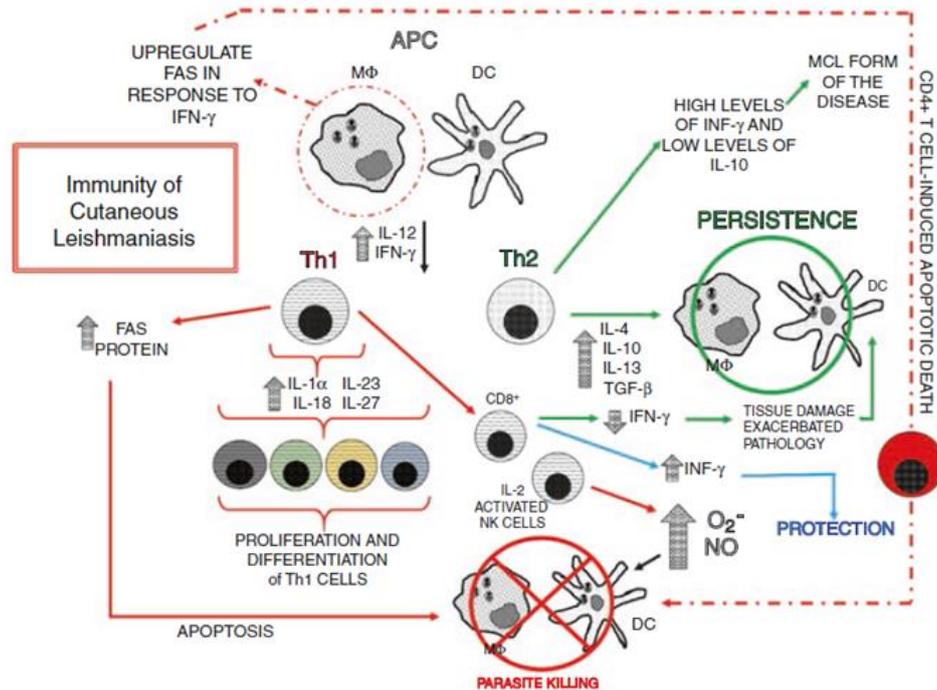
LC, leishmaniasis cutánea; LV, leishmaniasis visceral. \*Uno de los casos presentaba clínica mixta (LC+LV).

### 1.3. Respuesta inmunitaria frente a *Leishmania*

La complejidad de la respuesta inmunitaria y la patogenia de la leishmaniasis son el resultado de una combinación de factores genéticos y celulares implicados en el proceso de resistencia y vulnerabilidad a la infección. Tanto la especie infectante de *Leishmania* como la inmunidad del huésped son aspectos importantes que marcan la forma y la gravedad de la enfermedad.

La respuesta inmunitaria en las formas cutáneas de leishmaniasis (**Figura 7**)<sup>33</sup> se inicia en el sitio de infección con un infiltrado intenso de células presentadoras de antígeno (CPA). Las primeras células fagocíticas en llegar al lugar de la infección son los neutrófilos de la dermis, considerados la primera línea de defensa contra los parásitos porque son las primeras células que acuden al lugar de picadura del flebótomo, produciendo un potente entorno tóxico.<sup>34</sup> Los neutrófilos a su vez son fagocitados por los macrófagos, donde los promastigotes son internalizados en el fagosoma y luego se fusionan con lisosomas (fagolisosoma). Los macrófagos, al entrar en contacto con los parásitos, inducen una cascada inflamatoria mediante la producción de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina 1 (IL-1) y la inducción de expresión de moléculas de adhesión en la superficie endotelial, que permitirán la migración transendotelial de leucocitos al lugar de inflamación.<sup>35</sup>

## 1. INTRODUCCIÓN



**Figura 7.** Respuesta inmunitaria en la leishmaniasis cutánea. Reproducida de Lauthier y Korenaga, 2018.<sup>33</sup>

Dentro del fagolisosoma, los parásitos se ven rodeados por un entorno defensivo con una serie de células inmunitarias del huésped como neutrófilos, macrófagos, células *natural killer* (NK) y células dendríticas (CD). Estas células, junto con receptores de reconocimiento de patrones como los receptores de tipo Toll (TLR, [Toll-like receptors]) y productos solubles (citocinas, complemento, IL-1, IL-12 y TNF- $\alpha$ ), coordinan una respuesta inmunitaria adecuada, tanto innata como adaptativa.<sup>35</sup> Los diferentes mecanismos de defensa de inmunidad innata conducen a la producción de IL-12, que a su vez activa la inmunidad celular, mediada por linfocitos CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>.<sup>36</sup>

Se debe diferenciar entre respuesta Th1, responsable de inmunidad protectora, y respuesta Th2, asociada con la progresión de la enfermedad.<sup>37</sup> El proceso inflamatorio cuenta con la producción de citocinas y otras moléculas que pueden activar los macrófagos. Una respuesta inmunitaria desmesurada puede dañar los tejidos.<sup>38</sup>

La respuesta de tipo Th1 induce la producción de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) e IL-2. De forma general, la IL-12 se incrementa por acción de otras citoquinas (IL-1 $\alpha$ , IL-18, IL-23 e IL-27, como mecanismo innato) e induce la diferenciación y proliferación de las células Th1. Estas células, y en menor grado las células NK activadas por CD8<sup>+</sup> e IL-12, producen IFN- $\gamma$  y desempeñan un importante papel en la mediación de la activación de los macrófagos mediante la producción de óxido nítrico (NO) y enzimas hidrolíticas. También es relevante la apoptosis provocada por linfocitos CD4<sup>+</sup> en células que expresan la proteína Fas (interacción Fas/FasL). A su vez, los linfocitos CD8<sup>+</sup> confieren protección mediante la producción de IFN- $\gamma$ , promueven un incremento en la patología dada su capacidad de citotoxicidad y producen una pequeña cantidad de IFN- $\gamma$  en lesiones primarias que puede llevar a una respuesta inflamatoria exagerada y al daño tisular.<sup>39</sup>

Por otro lado, la respuesta de tipo Th2 provoca la producción de IL-4, IL-10, IL-13 y factor de necrosis tumoral beta (TNF- $\beta$ ). Estas citocinas activan a los linfocitos B, que a su vez producen anticuerpos específicos frente a los antígenos del parásito, pero que no

pueden eliminar las formas parásitas intracelulares y por lo tanto son capaces de inducir la progresión de la enfermedad. Niveles bajos de IFN- $\gamma$  sin IL-4 son típicos de enfermedad activa, mientras que niveles elevados de IFN- $\gamma$  junto con niveles bajos de citocinas antiinflamatorias como la IL-10 pueden promover la evolución hacia formas de afectación mucocutánea.<sup>40</sup>

La IL-10 tiene también un papel notorio, ya que es responsable de la tolerancia periférica a autoantígenos y previene respuestas inmunitarias exageradas a antígenos externos, obstaculizando de este modo la secreción de citocinas propias de respuesta tipo Th1.<sup>41</sup>

Algunas especies del género *Leishmania* inhiben la expresión de citocinas proinflamatorias, lo que aumenta su virulencia. Por ejemplo, la expresión de LPG, presente en la superficie de la mayoría de promastigotes, puede inhibir la secreción de mediadores inflamatorios y de este modo se imposibilita el reclutamiento de más células.<sup>42</sup>

#### 1.4. Presentaciones clínicas de la leishmaniasis cutánea

Aunque la LC no supone en principio un peligro para la vida del paciente, puede provocar una morbilidad cosmética notable, estigmatización social y afectación psicológica.

Los signos y síntomas clínicos pueden diferir según la especie de *Leishmania* causante (**Tabla 4**), por lo general siguiendo un patrón similar según la distribución geográfica.

##### 1.4.1. *Leishmaniasis cutánea aguda*

La LC más frecuente es la forma aguda, que incluye los casos de evolución inferior a 1 año en infecciones zoonóticas e inferior a 2 años en antroponóticas. En la zona mediterránea la principal especie causante es *L. infantum*. Sin embargo, la LC aguda también puede estar causada por otras especies procedentes de otras zonas geográficas: *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica*, *L. mexicana* y *L. braziliensis*.<sup>43</sup> Con respecto a la localización de las lesiones, se ubican preferentemente en zonas expuestas como la cara (sobre todo), las manos y los brazos. La lesión típica es una pápula eritematosa que evoluciona durante semanas hacia una forma nodular o placa, ulcerada y con costra, conocida como botón de Oriente. En ocasiones se pueden ver múltiples lesiones. Existen variantes hipoestésicas, psoriasiformes, eccematosas, variceliformes, verrucosas o hasta queloidales, entrando así en el diagnóstico diferencial de otras muchas afecciones dermatológicas.

La mayor parte de lesiones por LC aguda se resuelven en los meses siguientes a la picadura del flebótomo mediante cicatrización. Sin embargo, un pequeño porcentaje evoluciona a LC crónica o diseminada.<sup>44</sup>

1. INTRODUCCIÓN

**Tabla 4.** Características específicas de la leishmaniasis cutánea según la especie de *Leishmania* causante. Fuente: elaboración propia, basada en datos de Akilov et al. (2007)<sup>45</sup> y Sangüeza et al. (2012)<sup>46</sup>

Característica	Viejo Mundo			<i>L. infantum</i> *	Nuevo Mundo	
	<i>L. major</i>	<i>L. tropica</i>	<i>L. aethiopica</i>		<i>L. braziliensis</i>	<i>L. mexicana</i>
<b>Tipo</b>	Localizada	Localizada, recidivante (lupoide) <sup>‡</sup>	Localizada, difusa	Localizada, post-kala-azar	Localizada	Localizada, difusa, en mucosa.
<b>Sinónimos</b>	Forma rural, húmeda, ulcerosa, zoonótica	Forma urbana, seca, ulcerosa tardía, antroponótica	-	-	-	Úlcera del chiclero
<b>Reservorio</b>	Roedores, jerbos, meriones	Perros, humanos	Damán roquero ( <i>Procapra capensis</i> )	Perros, ratas	Roedores	Roedores
<b>Área</b>	Rural	Urbana	Montañosa	Urbana	Forestal	Forestal
<b>Periodo de incubación</b>	2 semanas a 2 meses	2-8 meses	1-9 meses	6-8 meses	-	-
<b>Lesión primaria</b>	Forúnculo-like sobre base eritematosa e irregular (escara con pápulas granulomatosas)	Pápula con tendencia a la ulceración	Similar a la de <i>L. major</i> o, en un subgrupo, lesiones cutáneas diseminadas similares a las de la lepra lepromatosa	Similar a la de <i>L. major</i>	Patrón esporotricoides con múltiples úlceras o linfangitis nodular	Pequeñas úlceras crónicas
<b>Diámetro de la úlcera</b>	2-5 cm	1-3 cm	-	2-5 cm	-	-
<b>Costra</b>	Hemorrágica	Serosa	-	Hemorrágica	-	-
<b>Periodo de curación</b>	3-12 meses	> 24 meses	3-15 meses	Menor duración de las lesiones	6-12 meses	4-6 meses, suele dejar cicatriz deprimida
<b>Otra información</b>	Desconocido	Desconocido	Un 20 % disemina	Tendencia a la afectación visceral	Frecuente afectación linfática. Posible afectación mucosa (boca, nariz, faringe, laringe)	Desconocido

\**L. infantum* se halla en ambas zonas. <sup>‡</sup>*Leishmania* cutánea recidivante (lupoide): síndrome asociado a un periodo de incubación de meses a años, pápulas recurrentes alrededor de la cicatriz y apariencia seca de las lesiones.

#### 1.4.2. *Leishmaniasis cutánea de inoculación mucosa*

La L de inoculación mucosa se produce por una picadura en mucosas expuestas como la de la nariz, el labio, la lengua o la mucosa oral. No tiene una única forma de presentación, sino que puede parecer otras afecciones como un forúnculo de la mucosa nasal, un angioedema de labio o una queilitis granulomatosa. Esta entidad debe ser diferenciada de la LC que afecta secundariamente a mucosas o de las formas mucocutáneas porque la evolución y el pronóstico son diferentes.<sup>47</sup>

#### 1.4.3. *Leishmaniasis cutánea crónica*

La LC crónica suele afectar a adultos y ancianos debido a sus condiciones inmunológicas diferentes. Generalmente se presenta como una úlcera cutánea crónica en la que no suelen encontrarse parásitos. Existe también la forma sin ulceración.

El diagnóstico es siempre histopatológico. Se halla un infiltrado granulomatoso crónico no necrotizante, con células plasmáticas y linfocitos, que obliga a plantear el diagnóstico diferencial con afecciones granulomatosas como la sarcoidosis, la tuberculosis, la lepra, la sífilis y la micosis profunda.<sup>48</sup>

#### 1.4.4. *Diagnóstico diferencial*

La LC entra dentro del diagnóstico diferencial de muchas lesiones cutáneas, sobre todo en aquellos lugares donde es endémica.<sup>49,50</sup>

El diagnóstico diferencial de la LC aguda incluye entre otras enfermedades el impétigo, el forúnculo, el ectima, el querion, la verruga, la tuberculosis cutánea, el molusco contagioso, el goma sifilítico, el pian, el granuloma piogénico, el linfoma, el queratoacantoma, el carcinoma basocelular, la esporotricosis y otras enfermedades. En cuanto al diagnóstico diferencial de la LC crónica, deben evaluarse el lupus vulgar, la lepra, la sarcoidosis, el granuloma facial, la psoriasis y la granulomatosis con poliangeítis, entre otras afecciones.<sup>51</sup>

#### 1.4.5. *Leishmaniasis cutánea en pacientes con inmunodepresión*

La depresión del sistema inmune puede deberse a causas como la coinfección con VIH, un tratamiento inmunosupresor en trasplantes de órgano sólido, la malnutrición y un tratamiento inmunomodulador. En los pacientes con inmunodepresión por cualquier causa, la LC puede presentarse y evolucionar de forma distinta a la habitual. También hay variabilidad en las formas de presentación, con mayor frecuencia de la forma visceral, ya que la inmunodepresión incrementa de 100 a 2000 veces el riesgo de desarrollar una LV. En estos pacientes aumentan las formas atípicas de leishmaniasis, disminuye la respuesta terapéutica y la mortalidad es mayor.<sup>52</sup>

En pacientes con coinfección de VIH y leishmaniasis, la activación inmune crónica puede conducir a un incremento de la carga viral y acelerar la progresión hacia SIDA. Al mismo tiempo, el estado de inmunodepresión condicionado por la infección por VIH crea un ambiente ideal para el crecimiento del parásito. Se estima que hay coinfección entre el 2 % y el 10 % de los pacientes con LV que viven en zonas endémicas.<sup>53,54</sup>

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.5. Diagnóstico de la leishmaniasis cutánea

Para realizar un diagnóstico correcto de la LC, han de considerarse tres criterios que deben ser abordados en el orden siguiente:

- a) antecedentes epidemiológicos;
- b) cuadro clínico y características clínicas sugestivas de leishmaniosis;
- c) diagnóstico parasitológico y pruebas de laboratorio.

Debe tenerse en cuenta que muchos de los métodos diagnósticos utilizados tienen una precisión muy variable.<sup>55,56</sup>

#### 1.5.1. Diagnóstico clínico

La LC suele comenzar con una lesión eritematosa situada en el lugar de la posible picadura y que evoluciona a una pápula (lesión de 1 cm de diámetro como máximo). Esta puede acompañarse de una costra mínima en la superficie (botón de Oriente) o ser completamente lisa. Cuando la pápula evoluciona, puede aumentar de tamaño y superar el cm de diámetro, convirtiéndose en una placa o un nódulo. Posteriormente, estas lesiones papulares o en placa pueden ulcerarse en el centro y formar una costra (lesión seca) en el centro que al retirarla puede desprender un exudado serohemático o ser exudativas con una capa de fibrina que precede a la formación de la costra. Estas lesiones ulceradas presentan un borde sobreelevado, eritematoso y rosado, generalmente bien definido, aunque a veces puede ser friable. En otras ocasiones la lesión no se ulcera, pero puede desarrollarse una hiperqueratosis o evolucionar a una forma más nodular. La mayoría de las veces las lesiones se localizan en zonas corporales expuestas. Suelen ser lesiones únicas, pero en un porcentaje de pacientes puede observarse más de una lesión parasitaria y en ocasiones en varios estadios clínicos. Las lesiones de LC no suelen acompañarse de sintomatología clínica; no causan prurito ni dolor salvo que se compliquen por una sobreinfección bacteriana y entonces sí pueden provocar dolor o la aparición de adenopatías reactivas dolorosas.

Se conoce a la LC como «la gran imitadora».<sup>49</sup> Puede presentar un amplio polimorfismo y por ello su diagnóstico diferencial es complejo. Sin embargo, en zonas endémicas hay ciertas lesiones típicas, como el botón de Oriente, que siempre deben sugerir como primer diagnóstico una LC.

#### 1.5.2. Diagnóstico parasitológico

El diagnóstico parasitológico sigue considerándose el método de referencia para confirmar una LC por su gran especificidad. Consiste en el aislamiento o la observación del parásito en una muestra de piel. El raspado de la lesión permite obtener una muestra de exudado y sangre con la que se podrá realizar un frotis y posteriormente teñirlo. Siempre que se pueda, este método de obtención de muestra es preferible a la biopsia porque al ser menos cruento el paciente lo acepta mejor.<sup>57</sup>

La identificación directa se realiza con tinción de la muestra con el colorante de Giemsa y la posterior visualización con el microscopio óptico de los amastigotes de *Leishmania* aislados o dentro de los macrófagos. Una variante de esta técnica para la observación directa del parásito se conoce como test de Tzanck.

Otro método de diagnóstico directo es el cultivo *in vitro* a partir de biopsia o exudado de la lesión. El cultivo de *Leishmania* es positivo en un 40 % de los casos. Requiere medios especiales como Novy-McNeal-Nicolle (NNN) o medios de cultivo líquidos definidos tales como el de Schneider o el medio Roswell Park Memorial Institute o RPMI enriquecidos con suero bovino fetal. A pesar de que tiene una gran especificidad y permite realizar posteriormente estudios de tipado con las cepas aisladas, si todo el proceso tanto de extracción de la muestra como de cultivo no se ha realizado en condiciones estériles estrictas, este método presenta el problema de las contaminaciones.<sup>58</sup>

Otro problema del cultivo es que el tiempo de crecimiento puede ser muy variable en función del inóculo y de la selección correcta del área de la lesión (donde haya más parásitos), lo que retrasa el diagnóstico.

### 1.5.3. Diagnóstico histopatológico

#### Estudio con tinción de hematoxilina-eosina

El patrón histopatológico varía según la respuesta inmunológica desencadenada por el parásito. En caso de mala respuesta inmunitaria se observan numerosos amastigotes e histiocitos sin otras células inflamatorias. En cambio, si la respuesta inmunitaria celular es adecuada, se deben observar escasos amastigotes junto con necrosis epidérmica o formación de granulomas y células plasmáticas. Por lo tanto, se puede decir que hay correlación entre la presentación clínica y la histología subyacente.

La histología típica de LC aguda consiste en hiperplasia y ulceración epidérmica, así como inflamación e infiltrado dérmico celular denso y difuso, principalmente de macrófagos (con o sin parásitos en su interior), aunque también hay linfocitos y células plasmáticas.<sup>59</sup> Los infiltrados dérmicos densos se asocian habitualmente a destrucción de estructuras adyacentes, mientras que la presencia de granulomas se asocia a una buena respuesta al tratamiento y la resolución de las lesiones.

En el caso de lesiones de LC crónica, se suele observar un componente granulomatoso más marcado junto con células plasmáticas, siendo difícil la observación de las formas amastigotas en la lesión.

#### Estudio por inmunohistoquímica

Los cortes de biopsia en parafina pueden estudiarse también con inmunohistoquímica (IHQ). Este método consiste en revelar la presencia de amastigotes en la muestra fijada en un portaobjetos utilizando como anticuerpo primario un anticuerpo monoclonal o policlonal anti-*Leishmania*. El revelado se realiza incubando con diaminobenzidina (Dako®) y posteriormente utilizando como contracoloración la hematoxilina de Harris. La observación de la muestra con microscopio óptico a 1000 aumentos permite ver los amastigotes y medir de manera semicuantitativa la carga parasitaria, desde no presente (0) hasta intensa (+++).<sup>60</sup>

### 1.5.4. Diagnóstico molecular

Se han desarrollado diferentes pruebas para el diagnóstico molecular de LC, con una sensibilidad y una especificidad mayores que las de los métodos diagnósticos parasitológicos clásicos e histopatológicos, además de requerir menos muestra de tejido.<sup>61,62</sup>

## 1. INTRODUCCIÓN

La aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el diagnóstico de la leishmaniasis ha sido un importante avance. Se han desarrollado numerosas pruebas con diversas secuencias genéticas diana que no solo permiten la identificación del género *Leishmania*, sino también la especie causante.<sup>5</sup>

La elección de la diana a amplificar y los cebadores a utilizar es esencial para obtener una sensibilidad adecuada que facilite el diagnóstico. El minicírculo del DNA del kinetoplasto (DNAk) y el DNA ribosómico son muy buenas dianas para la amplificación, ya que están presentes en múltiples copias y, además, ambos tienen tanto regiones variables como conservadas. Los cebadores que amplifican segmentos de DNAk tienen un gran potencial como método diagnóstico porque permiten detectar cantidades diminutas de DNA y hasta 1/10 de un microorganismo de *Leishmania* cultivado.<sup>63</sup>

Una variante muy utilizada es la PCR en tiempo real (RT-PCR, por sus siglas en inglés). A diferencia de la PCR convencional, esta técnica permite detectar y cuantificar al mismo tiempo el producto amplificado.<sup>64,65</sup> La RT-PCR presenta ventajas tales como un menor tiempo de reacción y la prevención de contaminaciones cruzadas de amplicones. Un importante inconveniente es la necesidad de equipos sofisticados y costosos y de personal entrenado.

Se han desarrollado métodos moleculares para la diferenciación de las especies que pueden ser necesarios en zonas endémicas donde coexisten varias especies. Destacan los métodos basados en la combinación de la PCR con otras metodologías, como la secuenciación directa de los productos amplificados<sup>66</sup> o el análisis de fragmentos de restricción (PCR-RFLP, siglas de *restriction fragment length polymorphism*).<sup>67</sup>

### 1.5.5. Otros métodos diagnósticos

La **dermatoscopia** puede ser de ayuda para el diagnóstico de la LC.<sup>68</sup> El eritema es constante (100 % de casos) y también son frecuentes las estructuras vasculares (90,6 %), en especial los vasos polimorfos (40,2 %), en horquilla (39,4 %) y arboriformes (38,6 %). Otros hallazgos pueden ser una costra (70,1 %) y erosión/ulceración (44,1 %), así como estructuras en lágrima de color blanco amarillento (42,5 %) y un patrón en estallido de estrellas blancas (8,6 %). Estos dos últimos hallazgos, aunque menos frecuentes, son más característicos de LC.<sup>69</sup>

La **prueba de Montenegro** o test de la leishmanina tiene una sensibilidad del 86,4-100 %. Consiste en la inyección intradérmica de una suspensión preparada con amastigotes muertos con la intención de valorar la respuesta inmunitaria celular. A las 48-72 horas se lee la reacción inflamatoria; se considera que la reacción de hipersensibilidad retardada es positiva cuando la reacción es  $\geq 5$  mm y negativa cuando es  $< 5$  mm. Los pacientes con prueba de Montenegro negativa, pero con infección diagnosticada por otros métodos, tienen un mayor riesgo de recaída o fracaso del tratamiento.<sup>70</sup> Los mayores inconvenientes de esta prueba son que se necesitan medios de cultivo para la producción de antígeno, que la sensibilidad se ve afectada según la preparación del antígeno y que no distingue entre infecciones actuales o pasadas.<sup>71</sup>

Los **test serológicos** son métodos diagnósticos indirectos que incluyen el estudio de inmunofluorescencia indirecta (IFI), el enzoinmunoanálisis de adsorción (ELISA, *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*), la inmunoelectrotransferencia (*Western blot*), los ensayos rápidos inmunocromatográficos de flujo lateral y el test de aglutinación directa (AD). Estos métodos son más útiles en formas viscerales y ocasionalmente mucocutáneas, aunque tienen una especificidad baja por posible reacción cruzada con otras enfermedades.<sup>72</sup> En la LC, debido a la falta de respuesta humoral, son poco sensibles.

### 1.6. Tratamiento de la leishmaniasis cutánea

La zona geográfica donde se ha adquirido la infección, la especie de *Leishmania* causante, el lugar de la lesión, su gravedad y las características del huésped son factores que deben tenerse en cuenta para establecer un plan terapéutico adecuado.

El tratamiento en las formas cutáneas sirve para acelerar el proceso de curación, disminuir cicatrices y prevenir una posible diseminación o recaída. Estaría indicado también en aquellos casos con persistencia superior a 6 meses, afectación de zonas muy sensibles (como la cara o sobre articulaciones) o lesiones múltiples ( $\geq 5$ -10 lesiones) o grandes ( $\geq 4$ -5 cm).<sup>73</sup>

La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas plantea un tratamiento distinto según el tipo de LC:

- tratamiento local en las formas cutáneas simples (sin afectación mucosa, una o pocas lesiones cutáneas de diámetro inferior a 1 cm en zonas no expuestas y huésped inmunocompetente) que no curan por sí solas;
- tratamiento sistémico en la LC compleja expresada por la presencia de nódulos subcutáneos, grandes adenopatías regionales, más de 4 lesiones de diámetro superior a 1 cm o una única lesión de diámetro superior a 5 cm, inmunodepresión (sobre todo celular) y falta de respuesta al tratamiento local.<sup>74</sup>

A continuación se exponen las diferentes opciones de tratamiento para la LC según la OMS.<sup>75</sup>

#### 1.6.1. Tratamiento tópico

- La **paromomicina** es un antibiótico de la familia de los aminoglucósidos. La formulación propuesta es sulfato de paromomicina al 15 % con metilcloruro de benzetonio al 12 % dos veces al día durante un máximo de 20 días. Se ha visto como esta pauta puede ser una alternativa al tratamiento intralesional con antimonio de meglumina (AM). Sin embargo, puede aparecer irritación, edema y dolor en la zona de aplicación.<sup>76</sup>
- El **imiquimod** es una imidazoquinolina cuya diana principal son los macrófagos; al activarlos aumenta la secreción de NO y se induce la destrucción intracelular de amastigotes de *Leishmania*. Entre sus efectos adversos, destacan prurito, dolor y quemazón en la zona de aplicación, adenopatía e infección.<sup>77</sup>

#### 1.6.2. Tratamiento intralesional

- **Antimoniales pentavalentes** como el **antimoniato de meglumina** o el **estibogluconato de sodio**, que se transforman en trivalentes dentro de los macrófagos y bloquean el metabolismo energético del parásito. Se administran en dosis de 0,5-5 ml inyectada en la base y los márgenes de la lesión. El tratamiento se inyecta a diario, cada 48 horas o semanalmente (de 1 a 8 infiltraciones) hasta la curación de la lesión. Estos fármacos son de elección en las formas cutáneas del Viejo Mundo, pero no existe una evidencia concluyente de su eficacia en variantes del Nuevo Mundo.<sup>76</sup>

La administración intralesional permite una mayor concentración de fármaco en la lesión con mínimos efectos adversos sistémicos en comparación con la administración parenteral. Puede producirse un aumento de amilasa y lipasa, sobre todo a los 7-14 días

## 1. INTRODUCCIÓN

de tratamiento, pero posteriormente las concentraciones suelen normalizarse. También se pueden observar alteraciones hematológicas (anemia, neutropenia o trombocitopenia) que pueden ser graves, sobretudo en formulaciones parenterales o intramusculares. Además, con este tipo de formulaciones pueden observarse alteraciones electrocardiográficas inespecíficas; en algunos casos se ha descrito taquicardia ventricular polimórfica con intervalos QT prolongados y episodios de síncope.<sup>76</sup>

### 1.6.3. Tratamiento sistémico

El tratamiento de LC con terapias sistémicas fue utilizado durante mucho tiempo, pero a partir de 1991 se dejó de recomendar porque la relación entre riesgo y beneficio es desfavorable para el paciente. En la actualidad, solo se debe plantear un tratamiento sistémico para casos complejos (usualmente causados por especies del Nuevo Mundo) y donde haya una clara evidencia científica de eficacia y seguridad.

- En primera línea está el tratamiento sistémico con **antimoniales pentavalentes**, que presenta efectos adversos no despreciables como hipersensibilidad con erupciones cutáneas, náuseas y vómitos, cefaleas, mialgias, artralgias, fiebre y dolor abdominal. Además, está contraindicado en pacientes con morbilidad cardíaca, hepática, renal, pancreática y hematológica preexistentes.<sup>76</sup> Efectos adversos: véase el segundo párrafo del punto 1.6.2.
- El tratamiento de segunda línea incluye la **anfotericina B (AnfB)**, que se puede utilizar en su forma convencional de desoxicolato de anfotericina o como **AnfB liposomal**, 3 mg/kg/día por vía intravenosa (IV) (pauta de administración de 1-5 días + día 10 o de 1-7 días). La AnfB liposomal, a diferencia de la AnfB desoxicolato, tiene un perfil de toxicidad menor. Sus efectos adversos más frecuentes se deben a disminución del potasio en sangre. Otros posibles efectos adversos de la AnfB liposomal son sensación de mareo o náusea, fiebre y escalofríos.<sup>78</sup>
- Otro fármaco de segunda línea es la **pentamidina**, que inhibe la síntesis de proteínas y de fosfolípidos, lo que causa un daño irreversible a la mitocondria. Administrada en 3 o 4 dosis de 3-4 mg/kg IV o intramuscular (IM) cada 48 h, puede dañar el páncreas, el riñón y la médula ósea y puede causar rabdomiólisis aunque sin repercusión renal. También se han observado casos de diabetes transitoria.<sup>76</sup>
- En tercera línea de tratamiento destacan los **imidazólicos** como el **ketoconazol** (600 mg/día durante 28 días) o el **fluconazol** (200 mg/día durante 6 semanas), ambos por vía oral (VO).<sup>79</sup>
- La **miltefosina**, una alquilfosfocolina que se usa como antineoplásico oral, es efectiva en LC por *L. panamensis* a dosis de 2 mg/kg/día durante 28 días. Sus principales efectos adversos son esencialmente digestivos y destacan la anorexia, las náuseas, los vómitos y la diarrea.<sup>76</sup>

### 1.6.4. Otros tratamientos

- **Tratamiento quirúrgico**

En la LC solo se plantea el acto quirúrgico cuando se necesita una biopsia para confirmar el diagnóstico o descartar otras posibles causas de la lesión.

- **Termoterapia**

La termoterapia, en una o dos aplicaciones de calor local (50 °C durante 30 s), fue más efectiva que AM intralesional y AM sistémico en LC por *L. major* en Afganistán.<sup>80</sup> Requiere la aplicación de anestesia local y puede causar quemaduras de segundo grado.

- **Crioterapia**

La crioterapia con nitrógeno líquido (-195 °C), aplicado una o dos veces por semana durante un máximo de 6 semanas, fue más efectiva que AM intralesional en Egipto, Israel y Jordania y menos efectiva que dicho tratamiento en Turquía.<sup>81</sup>

Los diferentes regímenes de tratamiento de LC causada por una especie del Viejo Mundo o del Nuevo Mundo según la OMS (2010)<sup>75</sup> se resumen en la **Tabla 5**.

1. INTRODUCCIÓN

**Tabla 5. Regímenes recomendados para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea según sea del Viejo o Nuevo Mundo. Tabla adaptada de WHO Technical Report Series<sup>75</sup>**

	LC del Viejo Mundo	LC del Nuevo Mundo
TERAPIA LOCAL	<p><b>L. major</b> Sulfato de paromomicina al 15 % + metilcloruro de benzetonio al 12 % dos veces al día hasta 20 días (A) Antimoniales intralesionales 1-5 ml + crioterapia, cada 3-7 días, 1-5 sesiones (A) 1-2 sesiones de termoterapia (A) Antimoniales intralesionales o crioterapia (D)</p> <p><b>L. tropica, L. aethiopica, L. infantum</b> Sulfato de paromomicina al 15 % + metilcloruro de benzetonio al 12 % dos veces al día hasta 20 días (D) Antimoniales intralesionales 1-5 ml + crioterapia, cada 3-7 días, 1-5 sesiones (D) 1-2 sesiones de termoterapia (A) Crioterapia (C)</p>	<p><b>Todas las especies</b> Sulfato de paromomicina al 15 % + metilcloruro de benzetonio al 12 % dos veces al día hasta 20 días (B) 1-3 sesiones de termoterapia (A) Antimoniales intralesionales 1-5 ml cada 3-7 días, 1-5 infiltraciones (B)</p>
TERAPIA SISTÉMICA	<p><b>L. major</b> Fluconazol vo 200 mg/día durante 6 semanas (A) Antimoniales pentavalentes 20 mg/kg/día iv o im 10-20 días (D) Antimoniales pentavalentes 20 mg/kg/día iv o im + 400 mg/8 h de pentoxifilina 10-20 días (A)</p> <p><b>L. tropica, L. infantum</b> Antimoniales pentavalentes 20 mg/kg/día iv o im 10-20 días (D) Para leishmaniasis recidivante causada por <i>L. tropica</i>: antimoniales pentavalentes 15-20 mg/día iv o im 15 días + alopurinol vo 20 mg/kg 30 días (C)</p> <p><b>L. aethiopica</b> Para L.C difusa: antimoniales pentavalentes 20 mg/kg/día iv o im + 15 mg/kg/día paromomicina im durante 60 días (D)</p>	<p><b>L. mexicana</b> Ketoconazol vo 600 mg/día durante 28 días (B) Miltefosina 2,5 mg/kg/día vo durante 28 días (B)</p> <p><b>L. guyanensis, L. panamensis</b> Isetionato de pentamidina im o iv cada 48 h, 3 dosis (C) Antimoniales pentavalentes 20 mg/kg/día im o iv 20 días (C) Miltefosina 2,5 mg/kg/día vo durante 28 días (B)</p> <p><b>L. braziliensis</b> Antimoniales pentavalentes 20 mg/kg/día im o iv 20 días (A) Anfotericina B desoxicolato 0,7 mg/kg/día iv, 25-30 dosis (C) Anfotericina B liposomal de 2-3 mg/kg/día a dosis total de 20-40 mg/kg (C)</p> <p><b>L. amazonensis, L. peruviana, L. venezuelensis</b> Antimoniales pentavalentes 20 mg/kg/día im o iv 20 días</p>

Grados de evidencia: (A) al menos un estudio aleatorizado y controlado; (B) estudios sin aleatorización pero con buen diseño; (C) opiniones de autoridades en la materia a partir de su experiencia clínica, comités de expertos o estudios descriptivos; (D) opiniones de expertos sin estudios concluyentes.

## 2. OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis ha sido revisar los datos epidemiológicos y clínicos, los diferentes métodos diagnósticos y el tratamiento durante el periodo comprendido entre 2013 y 2017 en los pacientes diagnosticados de LC por el Servicio de Dermatología del Hospital de Manacor (Mallorca).

### Objetivos específicos

- Conocer mejor el alcance de la LC en las Islas Baleares y su posible subdeclaración, comparando los casos declarados en los boletines epidemiológicos de las Islas Baleares con los casos de LC recopilados durante 5 años (2013-2017) en el Servicio de Dermatología del Hospital Comarcal de Manacor (Mallorca).
- Describir los patrones de presentación clínica de las lesiones y las posibles diferencias según algunas características de los pacientes como la edad, el sexo, la zona de residencia o el estado inmunitario.
- Determinar el valor de la técnica molecular RT-PCR para el diagnóstico de la LC sobre exudado o biopsia de la lesión y comparar los resultados con los de métodos de diagnóstico directos convencionales, tanto parasitológicos como de anatomía patológica.
- Establecer que la obtención y recogida del exudado de la lesión en papel de filtro Whatman es un procedimiento válido para detectar infecciones por *Leishmania* y evaluar su utilidad para determinar la presencia de DNA de *Leishmania* mediante una RT-PCR.
- Valorar la eficacia del tratamiento teniendo en cuenta el tipo de lesión y la edad y el estado inmunitario del paciente.
- Proponer un protocolo de actuación estandarizado que facilite el diagnóstico de la LC y su declaración obligatoria.

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1. Diseño, pacientes y limitaciones del estudio

Se ha realizado un estudio retrospectivo de todos los casos de LC diagnosticados y tratados en el Servicio de Dermatología del Hospital Comarcal de Manacor (Mallorca, Illes Balears) entre los años 2013 y 2017.

Se revisaron las historias clínicas de los pacientes, así como los registros de los servicios de Microbiología y de Anatomía Patológica, para la identificación de los pacientes y la recopilación de los resultados de las pruebas.

Se consideró diagnóstico de LC la existencia de clínica compatible junto con la observación directa del parásito, una RT-PCR positiva o ambas. Aunque no se siguió ningún protocolo diagnóstico estandarizado, se tuvieron en consideración las pruebas de confirmación de LC en diferentes tipos de muestras (**Tabla 6**). Los casos que no cumplieron estos requisitos fueron excluidos.

**Tabla 6. Métodos para el diagnóstico de la leishmaniasis cutánea en nuestra serie**

---

**Diagnóstico parasitológico y molecular**

- Visualización de amastigotes en el frotis de exudado/biopsia teñido con Giemsa.
- Detección de DNA del parásito: RT-PCR en tiempo real en muestras recogidas en fresco (RT-PCR en fresco) o en papel de filtro Whatman (RT-PCR en papel).

**Diagnóstico histopatológico**

- Visualización de amastigotes a partir de cortes histológicos de la biopsia mediante tinción de HE.
- 

Teniendo en cuenta estos parámetros, la población objeto del estudio fue de 126 pacientes: 124 con LC y 2 pacientes con LC en mucosa.

#### Área de estudio

El Hospital Comarcal de Manacor es un centro sanitario integrado en el Servicio de Salud de las Islas Baleares, que depende de la Conselleria de Salut del Govern de les Illes Balears. Inaugurado en 1997, cuenta con más de 1000 profesionales y más de 200 camas de hospitalización. El hospital atiende a una población de unas 150 000 personas, que en verano aumenta en más de 20 000 personas de población flotante.<sup>82</sup> También ha de tenerse en cuenta a la población no censada.

El área de influencia del hospital es el sector sanitario de Llevant (**Figura 8**),<sup>83</sup> con una superficie total de 248 548 ha<sup>84</sup> y que comprende las zonas siguientes:<sup>83</sup>

- la comarca de Llevant, con los términos municipales de Artà, Capdepera, Son Servera, Sant Llorenç des Cardassar y Manacor;
- parte de la comarca del Pla de Mallorca, con los términos municipales de Vilafranca de Bonany, Montuïri, Petra, Porreres, Ariany y Sant Joan;
- parte de la comarca de Migjorn, con los términos municipales de Felanitx, Santanyí, Ses Salines y Campos.

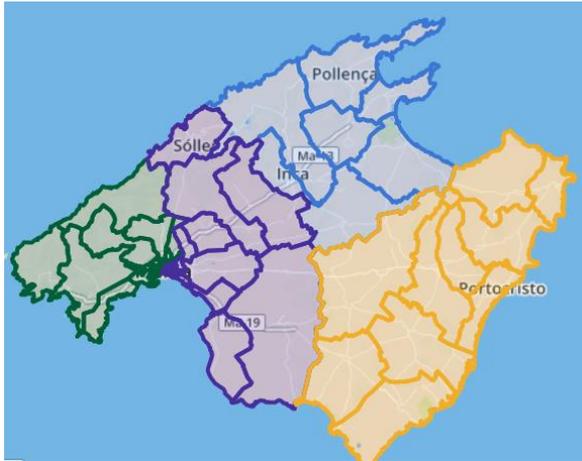
**Figura 8.** Zona de influencia del Hospital de Manacor (Mallorca). En: <https://www.ibsalut.es/es/servicio-de-salud/organizacion/ordenacion-sanitaria-territorial> Fuente: OpenStreetMap® ©Colaboradores de OpenStreetMap. <https://www.openstreetmap.org/copyright>



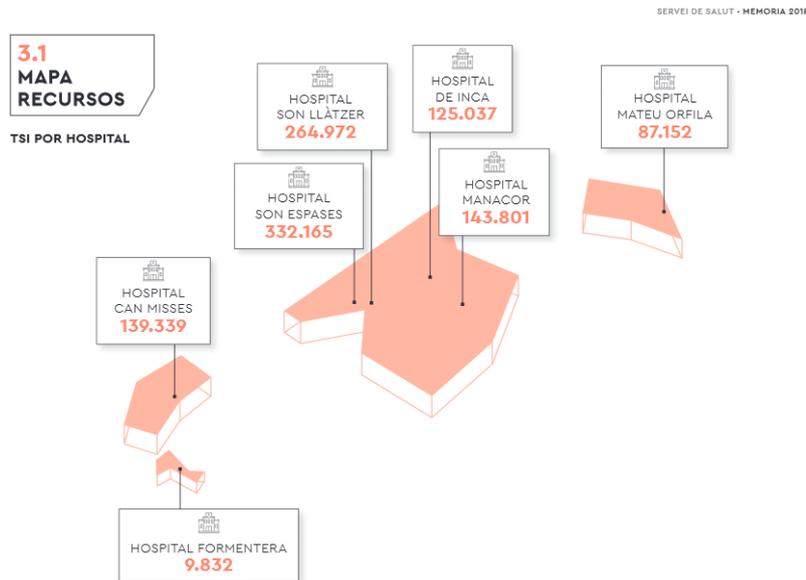
La zona está dominada por la Serra de Llevant, una formación montañosa que recorre el este de la isla, desde Artà a Santanyí. Llevant cuenta con parques naturales como el de la Península de Llevant i el de Mondragò. La costa alberga puntos muy turísticos, como Porto Cristo (Manacor), pero también lugares protegidos como Cala Figuera (Santanyí). Su clima es mediterráneo, con temperaturas templadas casi todo el año, aunque en verano pueden superarse los 30 °C.

Desde el punto de vista demográfico y sanitario, Llevant no es un área tan habitada como otras de la isla. A pesar de abarcar un área más extensa que otros sectores sanitarios mallorquines (**Figura 9**),<sup>85</sup> la población es menor y esto se refleja en los datos sanitarios. El sector de Ponent, con una extensión menor pero que abarca la mitad occidental de la ciudad de Palma, comprende 17 zonas básicas de salud (ZBS) frente a las 10 de Llevant. El sector de Migjorn tiene una extensión mayor que el de Ponent, incluye la mitad oriental de Palma y se divide en 14 ZBS.<sup>83</sup> Según datos incluidos en la última Memoria disponible públicamente del Servei de Salut balear, en 2018 el número de tarjetas sanitarias individuales (TSI) asignadas al Hospital de Manacor era inferior a 145 000. Esta cifra era casi un 60 % menor que el número de TSI del Hospital Universitario Son Espases (sector de Ponent) y alrededor del 45 % inferior al del Hospital Universitario Sant Llàtzer (sector de Migjorn) (**Figura 10**).<sup>86</sup> Por lo tanto, Llevant es una zona menos poblada y, en consecuencia, con más espacios naturales.

### 3. METODOLOGÍA



**Figura 9.** Sectores sanitarios en Mallorca. La zona de influencia del hospital de Manacor es el sector sanitario de Llevant (zona en naranja), situado en la parte oriental de la isla. Los otros sectores son Migjorn (en morado), Ponent (en verde) y Tramuntana (en azul). En: <https://www.ibsalut.es/es/servicio-de-salud/organizacion/ordenacion-sanitaria-territorial> Fuente: OpenStreetMap® ©Colaboradores de OpenStreetMap. <https://www.openstreetmap.org/copyright>



**Figura 10.** Número de tarjetas sanitarias individuales asignadas a los distintos hospitales de Mallorca. Fuente: Memoria anual de IBSALUT, 2018.<sup>86</sup>

### Recolección y análisis de los datos

Se estudiaron las características epidemiológicas, clínicas y del tratamiento de los pacientes. La información recogida incluyó numerosas variables, entre otras el sexo, la edad y la población de residencia; los procedimientos diagnósticos y sus resultados; el número de afectaciones y la localización y el tamaño de las lesiones. En cuanto al tratamiento, se registró el fármaco, la dosis, la duración, la fecha de inicio y las complicaciones, así como el seguimiento del paciente. Se consideró curación cuando se observó una remisión clínica y mantenida de la lesión. La recaída se definió como la recurrencia de la lesión objetivada clínicamente después de completar un tratamiento con éxito.

Los datos se anonimizaron y se introdujeron en una base de datos codificada creada para el estudio. Se emplearon tablas de frecuencia y los datos se analizaron usando el programa Excel® versión 13 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA). Se realizó estadística descriptiva para algunos parámetros, con el cálculo de porcentajes, intervalos de confianza y medias y desviaciones estándar o medianas y rangos.

### Aspectos éticos

Todos los pacientes habían firmado un consentimiento informado antes de la realización de las pruebas diagnósticas. Se utilizó el formulario estándar «Consentimiento informado Dermatología» del Hospital de Manacor para «intervención quirúrgica u otros procedimientos diagnósticos/terapéuticos o toma de imágenes fotográficas para seguimiento de la patología». El formulario está disponible en castellano y catalán (véanse los puntos **A2.1** y **A2.2** del Anexo). Además de manifestar que conoce los motivos, la conveniencia, las ventajas y los riesgos de la intervención o procedimiento que se le propone, el paciente autoriza la realización de fotografías para el seguimiento de su caso o con finalidades científicas. Se dispone también de formularios de revocación del consentimiento informado.

### Limitaciones

Como no se disponía de un protocolo sobre las pruebas diagnósticas de la LC, cada médico seguía el procedimiento que consideraba más adecuado para cada caso. Por lo tanto, al revisar retrospectivamente las historias clínicas, no se obtuvieron los resultados de todas las pruebas en todos los pacientes y la información recogida no fue la misma para todos ellos.

## 3.2. Muestras

### 3.2.1. Raspado de la lesión

El raspado de la lesión permite obtener una muestra de exudado y sangre. Se limpia la zona con un antiséptico, se retira la costra si existe y se frota (raspan) los bordes y el centro de la lesión con un bisturí. A continuación, se realiza un frotis, que es la extensión del material obtenido sobre un portaobjetos. En el Hospital de Manacor, la muestra se remite al Servicio de Microbiología para observar directamente el parásito previa coloración de Giemsa o se envía para realizar un diagnóstico molecular.<sup>87</sup>

### 3.2.2. Biopsia cutánea

Antes de realizar una biopsia debe decidirse dónde se realizará porque el resultado puede variar según la zona escogida. Se limpia la zona con un antiséptico y se inyecta anestesia local. Después, con un punch de 3-4 mm (**Figura 11**), se extrae un cilindro de tejido de la lesión y se cierra la herida con un punto de sutura (**Figura 12**). Si la lesión es de pequeño tamaño, se extirpa en su totalidad. Se intentará biopsiar el borde de la lesión para conseguir el mayor número de parásitos posible.<sup>60</sup> Por el mismo motivo, si hay múltiples lesiones, se actúa sobre la menos evolucionada. En el Hospital de Manacor, la muestra se fija en formol y se envía al servicio de Anatomía Patológica para su estudio.

**Figura 11.** Punch (bisturí hueco para la biopsia en punch o biopsia en sacabocados). Imagen de archivo propio.



**Figura 12.** Herida cerrada con un punto de sutura tras la realización de la biopsia. A veces, el procedimiento es terapéutico porque se extirpa toda la lesión. Imagen de archivo propio.

### 3.2.3. Muestra recogida en papel de filtro Whatman

La recogida de una muestra en papel de filtro Whatman puede llevarse a cabo durante el raspado, frotando el papel sobre la lesión para recoger una muestra de exudado (**Figura 13A**). También puede obtenerse una muestra durante la biopsia; en este caso, se frota el papel tanto sobre el área de la biopsia como sobre el tejido extraído mediante el *punch*.

La muestra se deja secar, luego se introduce en una bolsita de plástico debidamente rotulada y se remite al laboratorio dentro de un sobre (**Figura 13B**). En nuestra serie, las muestras se enviaron a la Sección de Parasitología de la Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación de la Universitat de Barcelona (UB), donde se estudió la muestra por RT-PCR previa extracción del DNA.

A)



B)



**Figura 13.** A) Recogida de muestra de exudado en papel de filtro n.º 3 de Whatman. B) Papel de filtro Whatman con la muestra seca preparado para ser introducido en un sobre y guardarlo o enviarlo por correo postal u otros medios. Imágenes de archivo propio.

### 3.3. Técnicas de diagnóstico parasitológico

La demostración directa de *Leishmania* continúa siendo una importante herramienta en el diagnóstico de la leishmaniasis. En nuestra serie, la observación del parásito se realizó generalmente a partir del exudado teñido con el colorante de Giemsa. En algún caso, la muestra se remitió al servicio de Anatomía Patológica, donde se realizó un test de Tzanck. La realización de uno u otro tipo de prueba dependía del criterio del dermatólogo.

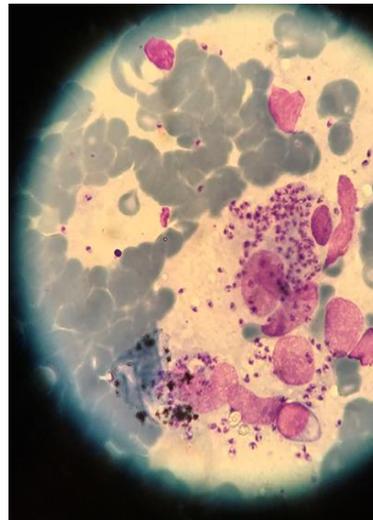
### 3.3.1. Coloración de Giemsa

La coloración de Giemsa consiste en utilizar un contraste entre colorantes ácidos y básicos, para lograr teñir las estructuras básicas y ácidas respectivamente. El colorante básico utilizado es el azul de metileno y sus derivados oxidados (Azure A y Azure B), mientras que el colorante ácido es la eosina. Las estructuras ácidas de las células son los ácidos nucleicos, que quedan teñidos de color rosado, mientras que las otras estructuras quedan de color azul. Es una técnica fácil, rápida y sencilla que se utiliza para el diagnóstico de parásitos hemotísulares.

En nuestro estudio se coloreó el exudado con el colorante de Giemsa para poder observar el parásito (**Figura 14**). Para *Leishmania*, esta coloración tiene una sensibilidad entre un 50 % y un 65 % y una especificidad del 100 %.<sup>60</sup>

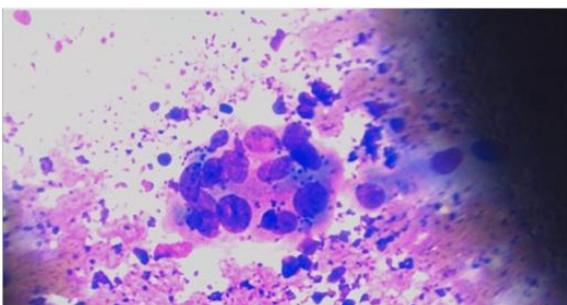
La tinción se realizó en el Servicio de Microbiología del Hospital de Manacor según el procedimiento establecido<sup>88</sup> a partir de una extensión de la muestra de exudado y posteriormente se observó al microscopio óptico a 1000 aumentos.

**Figura 14.** Formas amastigotes de *Leishmania* visibles con la coloración de Giemsa en una muestra de exudado de una lesión. Imagen de archivo propio.



### 3.3.2. Test de Tzanck

El test de Tzanck es útil para el diagnóstico de lesiones cutáneas por diferentes microorganismos, especialmente virus. La muestra se obtiene a partir del raspado de la base y los bordes de la lesión y posteriormente se tiñe con el método del colorante de Giemsa o con la tinción de Diff-Quik™ (**Figura 15**). Es una técnica fácil y rápida, aunque no se usa mucho para el diagnóstico de la LC.<sup>89</sup>



**Figura 15.** Test de Tzanck. Amastigotes visibles con coloración Diff-Quik™ en una muestra de exudado de una lesión. Imagen de archivo propio.

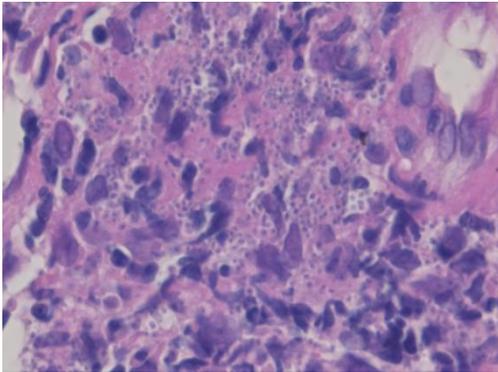
### 3.4. Técnicas de diagnóstico histopatológico

#### 3.4.1. Tinción de hematoxilina-eosina

La tinción HE se usa para el estudio de las muestras de biopsia en parafina (**Figura 16**). La sensibilidad de este método en biopsias cutáneas de lesiones sospechosas de LC es variable, entre un 60 % y un 80 %.<sup>60</sup>

Esta tinción consiste en el uso de dos colorantes:

- la hematoxilina, un colorante de naturaleza catiónica o básica que tiñe de tonos azulados y púrpuras las estructuras con pH ácido;
- la eosina, un colorante aniónico o ácido que tiñe de tonos rosados los componentes con pH básico.



**Figura 16.** Formas amastigotas visibles x 63 con tinción de hematoxilina-eosina en una muestra de biopsia de una lesión. Imagen de archivo propio.

El proceso de tinción con HE está automatizado mediante el aparato Dako CoverStainer® (Agilent, Santa Clara, CA, EE. UU.). Los cortes histológicos obtenidos de los bloques de biopsia parafinada se tiñen siguiendo una serie de etapas en un orden secuencial establecido y con unos tiempos orientativos. Posteriormente, se observan las muestras en el servicio de Anatomía Patológica y se obtiene un diagnóstico.

### 3.5. Técnicas de diagnóstico molecular

Las técnicas de PCR para el diagnóstico tienen una elevada sensibilidad, entre un 75 % y un 100 % según los estudios, y una especificidad del 100%.<sup>90</sup> Su gran sensibilidad facilita el diagnóstico diferencial de lesiones granulomatosas e infiltrados linfoplasmocitarios sin amastigotes visibles, aplicando la técnica sobre muestras de biopsias cutáneas realizadas por sospecha de leishmaniasis. Por lo tanto, con la PCR puede detectarse el parásito en casos en los que, con otras pruebas, pasaría inadvertido.<sup>90</sup>

#### 3.5.1. PCR en tiempo real

La PCR en tiempo real (RT-PCR) permite detectar la presencia de DNA de *Leishmania* en una muestra de tejido (RT-PCR en fresco) o de exudado (RT-PCR en papel). El proceso consiste en la extracción de DNA y la posterior amplificación y detección del DNA del kinetoplasto de *Leishmania*. El proceso se lleva a cabo según un protocolo establecido.<sup>60</sup>

En nuestra serie, las muestras de tejido se enviaban al Servicio de Microbiología del Hospital Son Espases (Palma de Mallorca) y las muestras del exudado recogido en papel de filtro Whatman (RT-PCR en papel) se enviaban a la UB como se ha comentado en el punto 3.2. *Muestras*.

Se extrae el DNA de las muestras con el sistema High Pure RT-PCR Template Preparation Kit (Roche Life Science, Mannheim, Alemania) según las instrucciones del fabricante. El DNA se eluye en 200 µl de solución tampón de elución y luego se almacena a -40 °C.

A continuación, se detecta *Leishmania* mediante la amplificación por RT-PCR del DNA del kinetoplasto, con una técnica modificada de Mary et al. (2004)<sup>91</sup> por Martín-Ezquerria et al. (2009).<sup>90</sup> Cada amplificación se realiza por triplicado en un volumen final de 20 µl que contiene 1X iTaq supermix con Rox (Bio-Rad, Hercules, CA, U.S.A), 15 pmol del cebador directo Leim1 (CTTTTCTGGTCCTCCGGGTAGG), 15 pmol del cebador inverso Leim2 (CCACCCGGCCCTATTTTACACCAA), 50 pmol de la sonda marcada TaqMan® Leim3 FAM-TTTTCGAGAACGCCCTACCCGC-TAMRA y 5 µl de DNA de la muestra a estudiar.

Para la amplificación y detección, se usa el termociclador ABI Prism® 7700 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) en un ciclado con dos fases de temperatura (94 °C y 55 °C) durante 45 ciclos. Además, en cada ensayo RT-PCR se incluyen controles positivos (DNA de *L. infantum* MHOM /ES/04/BCN-61 en diluciones seriadas de 10<sup>5</sup> parásitos/ml a 10<sup>-3</sup> parásitos/ml), así como controles negativos.

La prueba se interpreta mediante el Ct (*Cycle threshold* o Ciclo umbral), que es el primer ciclo de la reacción de RT-PCR en el que se detecta fluorescencia por encima de la línea base. El valor de Ct depende de la cantidad inicial de DNA de la muestra, de modo que, a mayor cantidad, Ct más bajo. Se considera que la RT-PCR era positiva para *Leishmania* si el Ct era inferior a 40.<sup>60</sup>

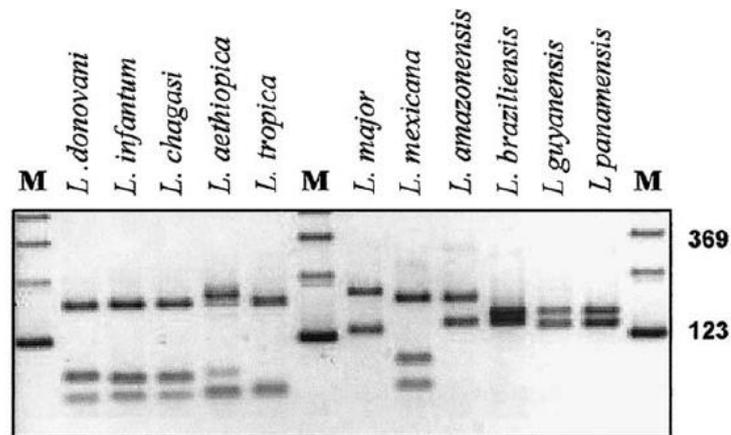
#### 3.5.2. PCR-RFLP ITS-1

El tipado interespecífico por PCR-RFLP de la región ITS-1 permite identificar la especie de *Leishmania*. A continuación, se describe el procedimiento habitual para esta técnica.<sup>92</sup>

La reacción de amplificación se realiza en un volumen de 50 µl que contiene 5 µl de solución tampón 10X (BIOTAQ DNA Polymerase, Bioline, Londres, RU); 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,2 mM de mezcla de dNTP; 0,2 µM de cada cebador (cebador LITSR [5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3'] y cebador L5.8S [5'-TGATACCACTTATCGCACTT-3']);<sup>92</sup> 1,5 unidades de *Taq* polimerasa (BIOTAQ DNA Polymerase, Bioline, Londres, RU). Añadimos 3 µl de DNA de la muestra problema y se incuba en un termociclador (MJ Research PTC-200 DNA Engine, Alameda, CA, EE.UU.) a tres temperaturas (95 °C, 53 °C y 72 °C) durante 35 ciclos. Se añaden 3 µl de DNA de la muestra problema y se incuba en un termociclador (MJ Research PTC-200 DNA Engine, Alameda, CA, EE.UU.) a tres temperaturas (95 °C, 53 °C y 72 °C) durante 35 ciclos.

Para el análisis de fragmentos, se realiza la digestión del producto amplificado mediante la enzima HaeIII y la posterior electroforesis en gel de agarosa al 3 %. Los fragmentos de DNA

obtenidos se visualizan bajo luz ultravioleta, permitiendo reconocer los patrones característicos para las distintas especies de *Leishmania* (Figura 17).



**Figura 17.** Identificación de diferentes especies de *Leishmania* mediante PCR-RFLP ITS-1. Digestión de regiones ITS1 amplificadas de diferentes especies de *Leishmania* con la endonucleasa de restricción *HaeIII*. M: marcador de pesos moleculares. Reproducida de Schönian et al. (2003).<sup>93</sup>

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Subdeclaración de la enfermedad en Baleares

La leishmaniasis es una enfermedad de declaración obligatoria en Baleares. Entre 2013 y 2017 se notificaron 109 casos de LC en toda la comunidad autónoma de las Islas Baleares. Sin embargo, los informes epidemiológicos no especifican los números de LC solo en Mallorca, por lo que no puede compararse cuál fue la incidencia en toda la isla y en el sector sanitario de Llevant (según nuestros datos) durante ese periodo. En cambio, puede calcularse la incidencia estimada en nuestra zona y compararla con los datos de la Tabla 3.<sup>30,31+</sup>

Para calcular la incidencia anual de LC en Llevant, se han clasificado los 126 casos del estudio según el año de diagnóstico y se ha calculado la incidencia (casos por 100 000 habitantes) cada año. A continuación, se ha creado la **Tabla 7**, en la que se comparan las incidencias en el conjunto de las Baleares y en Llevant.

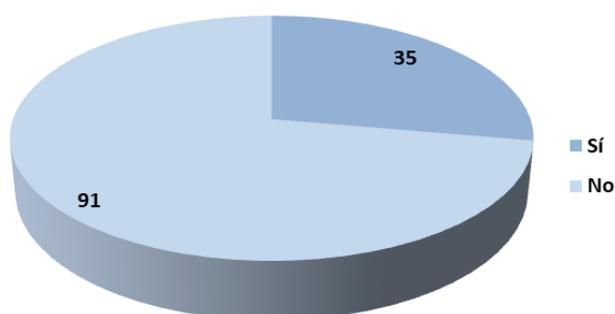
**Tabla 7. Casos de leishmaniasis cutánea e incidencia en Baleares<sup>26-31</sup> y Llevant (2013-2017)**

Año	Baleares		Llevant	
	LC	Casos/100 000 habitantes	LC	Casos/100 000 habitantes
2013	12	1,4	39	26
2014	17	2,2	17	11,3
2015	28	3,3	26	17,3
2016	30	3,3	24	16
2017	22	3,8	20	13,3

LC, leishmaniasis cutánea.

En el Hospital de Manacor, durante el periodo 2013-2017, aumentaron los diagnósticos de LC y su declaración, lo que podría atribuirse a una mayor concienciación sobre la enfermedad debido a los hallazgos de un trabajo de fin de grado realizado en este centro.<sup>94</sup> Incluso así, solo se declaró un 27,8 % de los 126 de nuestra serie (**Figura 18**), lo que implica que más del 70 % de los casos quedó sin declarar.

**Figura 18.** Declaración de la leishmaniasis cutánea en nuestra serie: número de casos declarados y no declarados (n = 126). Fuente: elaboración propia.



La infradeclaración de la LC en Llevant podría estar relacionada con varios factores: no es una enfermedad muy grave, no suele verse afectación mucosa a distancia ni LV derivada y el tratamiento es eficaz. Aunque la LC es más frecuente que la forma visceral, el número de casos declarados de LV es mayor porque es una enfermedad con más morbilidad. Otro factor que podría influir en la infradeclaración, si bien se trata solo de una hipótesis basada en la experiencia, sería la alta carga asistencial que sufre el sistema sanitario público. Sin embargo, en los boletines epidemiológicos se declaran más casos en la sanidad pública que en la privada.<sup>30</sup>

Un ejemplo de la situación actual de la declaración de la LC en las Islas Baleares se muestra en la **Tabla 8**. El informe de vigilancia epidemiológica sobre leishmaniasis en las Islas Baleares en 2017 expone que ese año se registraron 28 casos, de los que 22 (78,6 %) eran LC, pero solo se declararon 16 casos (57,1 %). Todos procedían de hospitales públicos excepto un caso de atención primaria y otro de un centro privado. Al realizar una búsqueda activa, se detectaron 12 casos más, todos ellos en la sanidad pública.<sup>30</sup> Por lo tanto, es evidente que ni en atención primaria ni en los centros hospitalarios de Baleares se notifican todos los casos de LC.

**Tabla 8. Distribución de los casos de LC declarados y localizados por búsqueda activa en Baleares en 2017. Basada en datos del Informe 2017 de la Red Epidemiológica de las Islas Baleares.**<sup>30</sup>

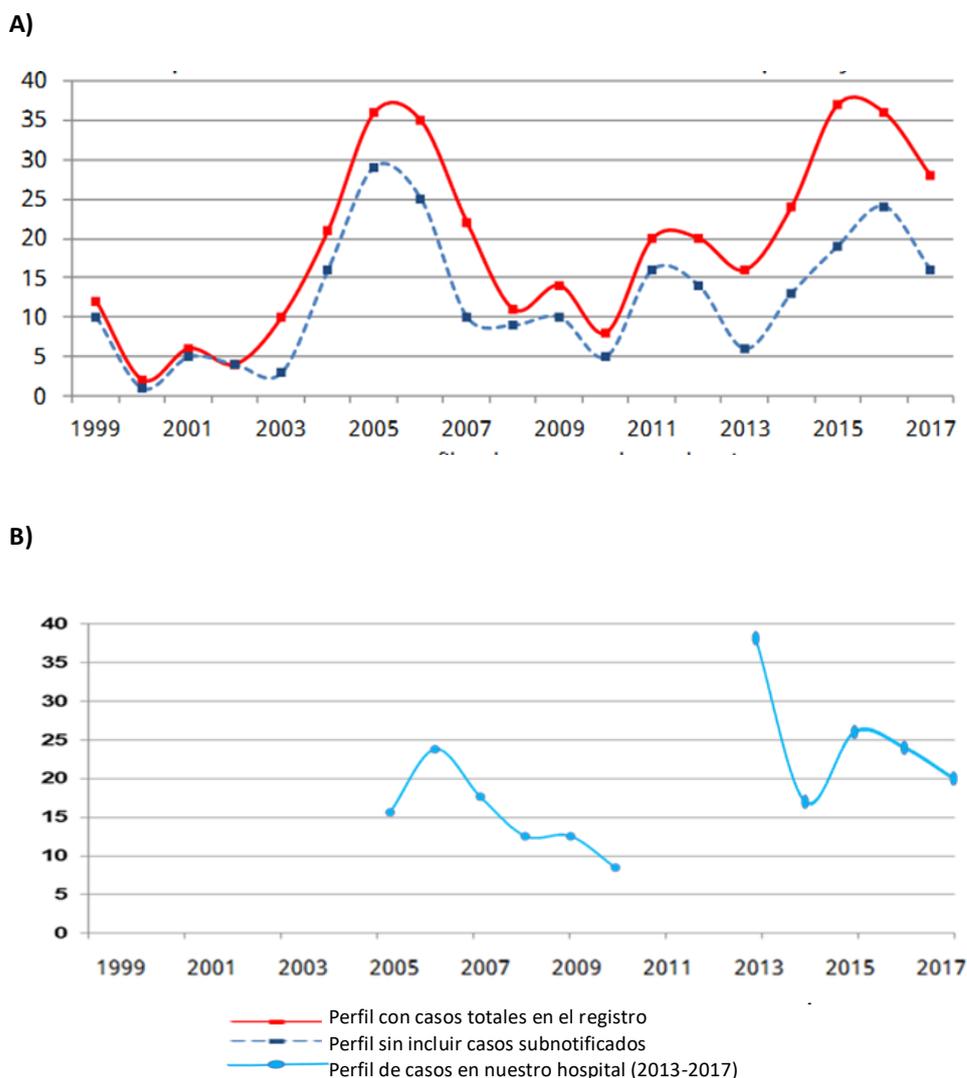
Centros sanitarios que declararon casos de LC	Casos*	
	Declarados	Localizados por búsqueda activa
Centros públicos		
Consultas de atención primaria	1	0
Hospital de Manacor	7 (D, MI)	0
Hospital Son Llätzer	4 (D)	1 (D)
Hospital Can Misses (D, MI)	3	2 (D)
Hospital Son Espases	0	6 (D, MI, P)
Hospital d'Inca	0	3 (D, MI)
Centros privados		
Clínica Juaneda (MI)	1	0
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>12</b>

\*Entre paréntesis, los departamentos o servicios que notificaron los casos. D, Dermatología, MI, Medicina interna, P, Pediatría.

En el informe de vigilancia epidemiológica correspondiente a 2018, se presentan los datos acumulados entre 1999 y 2018: de 388 casos acumulados, 143 (37 %) no se notificaron, sino que se detectaron por búsqueda activa. Los principales métodos para la localización de casos de leishmaniasis no notificados fueron la revisión de códigos de alta hospitalaria (54 %), el sistema de información de atención primaria (e-SIAP, 29 %) y la revisión de datos facilitados por laboratorios hospitalarios de microbiología (15 %). El informe incluye también una gráfica con los datos de 1999 hasta 2017 y el impacto de la subnotificación (**Figura 19A**).<sup>31</sup> Para ilustrar las diferencias entre las cifras oficiales y la realidad en Baleares, la **Figura 19B** muestra los datos de nuestro hospital entre 2005 y 2010<sup>94</sup> y entre 2013 y 2017. No es probable que los 388 casos recogidos entre 1999 y 2018<sup>31</sup> reflejen la realidad

#### 4. RESULTADOS

de la leishmaniasis en las Islas Baleares, sino que el número real de casos tiene que ser muy superior.



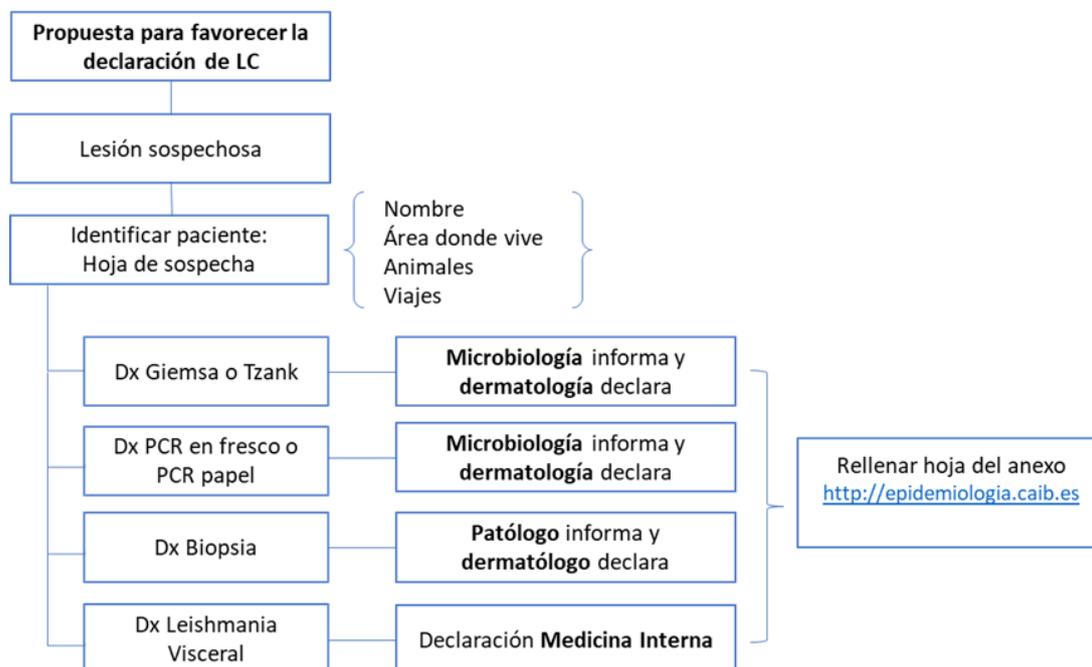
**Figura 19.** Subnotificación de la leishmaniasis cutánea.

A) Leishmaniasis cutánea en las Islas Baleares 1999-2017. Impacto de la corrección de la subnotificación. Casos por año.<sup>31</sup>

B) Casos de leishmaniasis cutánea diagnosticados en nuestro hospital entre 2005 y 2010<sup>94</sup> y en nuestra serie (2013-2017).

Fuente: Fulls setmanals de Vigilància Epidemiològica 33/2019. Servei d'Epidemiologia de la Direcció General de Salut Pública i Participació, Conselleria de Salut i Consum de les Illes Balears.<sup>31</sup> Figura bajo licencia Creative Commons CC BY-SA.

Las notificaciones de LC han de incrementarse. El paso más importante es crear una mayor conciencia de la enfermedad, con lo que se conseguiría detectar más casos, como se muestra en la siguiente propuesta de algoritmo (**Figura 20**). El formulario de declaración obligatoria de la leishmaniasis en Baleares puede consultarse en el **Anexo 2**.



**Figura 20.** Algoritmo para favorecer la declaración de la leishmaniasis cutánea en Baleares. Elaboración propia.

## 4.2. Características de la población estudiada

### 4.2.1. Área geográfica y sanitaria de los pacientes del estudio

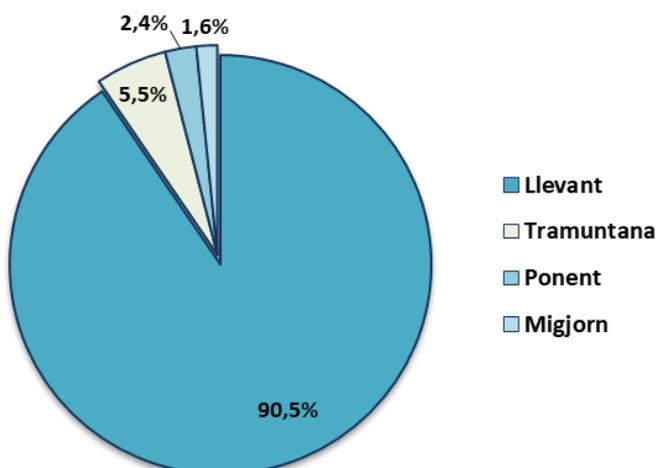
Mallorca es la isla con más casos de leishmaniasis de las Illes Balears y Llevant es un sector sanitario con una especial incidencia de la enfermedad. Al revisar los datos sobre leishmaniasis de la Xarxa de Vigilància Epidemiològica de les Illes Balears, encontramos que en 2017 la mayor incidencia fue en Felanitx y Santanyí, con 2,22 casos/100 000 habitantes y 2,24 casos/100 000 habitantes, respectivamente.<sup>30</sup> Ambas poblaciones pertenecen al sector sanitario de Llevant. Asimismo, de los 215 casos registrados entre 2010 y 2018, el mayor número de casos acumulados correspondió a Vilafranca, Manacor, Felanitx, Lluçmajor y Santanyí,<sup>31</sup> poblaciones todas ellas pertenecientes al sector de Llevant excepto Lluçmajor. Estos datos se refieren a leishmaniasis en conjunto, sin diferenciar entre LC y LV.

Las historias clínicas de los pacientes de nuestra serie no contenían datos epidemiológicos que indicaran la presencia de factores relacionados con un mayor riesgo de desarrollar una leishmaniasis, como sería una posible exposición a flebótomos o un contacto estrecho con perros. Solo en 25 pacientes se confirmó que tenían perro, mientras que este dato se desconocía para todos los demás.

En cuanto a la procedencia de los 126 pacientes del estudio, todos eran autóctonos. El mayor número de pacientes (n = 114) provenía del sector mallorquín de Llevant, que es el

#### 4. RESULTADOS

que corresponde al Hospital de Manacor.<sup>83</sup> En los demás sectores el número de pacientes fue muy bajo: siete en Tramuntana, tres en Ponent y dos en Migjorn (**Figura 21**).



**Figura 21.** Distribución de los pacientes por sector sanitario de procedencia (n = 126). Fuente: elaboración propia.

#### 4.2.2. Sexo y edad

Los datos del sexo y la edad de los pacientes se muestran en la **Tabla 9**. Con respecto al sexo, se encontró un ligero predominio de mujeres, con cerca de un 52 %. Se observaron además diferencias en la distribución del sexo por grupos de edad, con más pacientes masculinos que femeninos en los menores de 18 años y más mujeres que hombres en los mayores de 65 años. Para el análisis de los datos referentes a la edad, se clasificó a los pacientes en menores de 18 años, de 18 a 65 años y mayores de 65 años.

**Tabla 9.** Sexo y edad de la población estudiada (n = 126)

Característica	Total	Grupos de edad, años		
		<18	18-65	>65
<b>Número de pacientes, n (%)</b>	126 (100)	29 (23,0)	64 (50,8)	33 (26,2)
<b>Sexo</b>				
Mujeres, n (%)	65 (51,6)	11 (8,7)	32 (25,4)	22 (17,5)
Hombres, n (%)	61 (48,4)	18 (14,3)	32 (25,4)	11 (8,7)
<b>Edad</b>				
Media $\pm$ DE, años	44,63 $\pm$ 25,50	6 $\pm$ 4	56 $\pm$ 4	75 $\pm$ 1
Mediana, años	49	5	55	57
Rango, años	0-86	0-16	19-64	65-86

Analizando la frecuencia de la infección según las edades, en los menores de 18 años hubo 29 pacientes, con 16 (55,1 %) entre 0 y 5 años de edad, 10 (34,5 %) entre los 6 y los 11 años y 3 (10,4 %) entre los 12 y los 16 años. No se incluyó a ningún paciente de 17 o 18 años. Por lo tanto, al hablar del grupo «menores de 18 años» en este estudio, hay que recordar que la mayoría eran niños y niñas pequeños. En este grupo la LV fue muy rara: de los 10 pacientes con LV que se excluyeron del estudio, solo uno era menor de 18 años.

La leishmaniasis se ha considerado más frecuente en niños, especialmente la LC. La mayor incidencia en la infancia podría explicarse por la inmadurez del sistema inmune, una exposición al vector más prolongada y la mayor penetrabilidad de la piel, que facilitaría la inoculación del parásito por el vector.<sup>95</sup> Algunos autores teorizan que la exposición prolongada al vector podría aumentar el número de pacientes pediátricos.<sup>96</sup> No obstante, nuestros resultados indican que no hay una mayor prevalencia de LC en niños respecto a la población adulta, ya que el 77 % de nuestros pacientes eran mayores de 18 años. Esto podría deberse a que las lesiones en los menores de edad hubieran curado espontáneamente y, en consecuencia, los pacientes ya no llegaron a nuestro hospital. Otra causa podría ser que no se hubieran realizado todas las pruebas diagnósticas necesarias, tal como se comenta en el estudio de Garrido-Jareño et al. (2020),<sup>97</sup> que incluyó a ocho niños menores de 10 años y en el que tampoco se vio una mayor incidencia de LC en la infancia. Otros estudios en España han tenido resultados variables con respecto a la población infantil. En la serie de Alcalde et al. (1989), se describe un 56 % de menores de 5 años.<sup>98</sup> En cambio, los niños tampoco eran mayoría en la serie de Daudén et al. (1990), con un 38 % de menores de 12 años,<sup>99</sup> en la de Urrutia et al. (2000), con un 30 % de menores de 14 años,<sup>96</sup> ni en la de Aguado et al. (2013), con un 8 % de menores de 14 años.<sup>95</sup>

El grupo de pacientes más numeroso fue el de 18 a 65 años, con más de la mitad de los incluidos en la serie. En la serie de Fuenlabrada, la mayoría de los pacientes tenían entre 46 y 60 años.<sup>95</sup> Con respecto a los pacientes mayores de 65 años, se observó una prevalencia mayor que en menores de 18 años, pero inferior a la del grupo de 18 a 65 años de edad. Al comparar con otras series, nuestros datos coinciden con otros estudios españoles como el de Garrido-Jareño et al. (2020), con 13 pacientes (30 %) mayores de 65 años de un total de 42.<sup>97</sup> En el estudio de Urrutia et al. (2000), un 30 % de pacientes se hallaba en la franja de edad de 60 a 75 años.<sup>96</sup>

En conjunto, los datos de sexo y edad de nuestros pacientes eran distintos a los de RENAVE 2014-2017 citados en el artículo de Fernández Martínez et al. (2019).<sup>25</sup> En los 619 casos de LC y LMC descritos a nivel nacional, la enfermedad fue más frecuente en hombres (57,2 %), al contrario que en nuestra serie. Aunque la clasificación por edades de los resultados de RENAVE fue diferente a la de nuestro estudio, coincidió en que los pacientes de 45 a 75 años representaron alrededor del 50 % de los casos.<sup>25</sup>

En cuanto al periodo abarcado por nuestro estudio, hay pocas publicaciones españolas. Por ejemplo, aunque no sea posible una comparación directa, en un estudio retrospectivo de los pacientes diagnosticados de leishmaniasis en el Hospital Universitario La Fe en Valencia entre 2010 y 2012 y entre 2013 y 2017, se registraron 42 casos, de los cuales 37 eran LC y 5 LMC. Durante el periodo 2013-2017 se diagnosticaron 36 casos, pero no se especifica cuántos eran de LC.<sup>97</sup>

### 4.3. Diagnóstico clínico

#### 4.3.1. Sospecha clínica inicial

La sospecha clínica de LC en la primera visita fue de certeza en 85 (67,5 %) de los 126 pacientes. Este alto índice de certeza diagnóstica clínica se debe a que estamos familiarizados con las diferentes formas de presentación de la enfermedad, ya que la incidencia de LC en Llevant es mayor que en otras zonas de Baleares (véanse cifras de incidencia en el apartado *Área geográfica del estudio*).

#### 4. RESULTADOS

Sin embargo, en otros 41 pacientes (32,5 %), el cuadro clínico hizo sospechar otras enfermedades. Los diagnósticos de sospecha clínica distintos de una LC más frecuentes fueron carcinoma basocelular, carcinoma escamoso, infección por micobacteria y nevus, con tres casos cada uno, seguidos de forúnculo, linfoma y tiña, con dos casos cada uno (Tabla 10).

**Tabla 10. Sospecha clínica inicial (n = 126)**

Grupo de edad	Diagnóstico de sospecha	M	H	Total
Menores de 18 años	Forúnculo		1	1
	Mastocitoma	1		1
	Paniculitis		1	1
	Rosácea granulomatosa		1	1
	Nevus de Spitz		1	1
	Xantogranuloma	1		1
	Leishmaniasis	9	14	23
<b>Total</b>	<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>18</b>	<b>29</b>
De 18 a 65 años	Carcinoma basocelular		1	1
	Carcinoma escamoso		1	1
	Cicatriz	1		1
	Eccema	1		1
	Enfermedad granulomatosa		1	1
	Erisipela		1	1
	Forúnculo		1	1
	Forúnculo/tiña		1	1
	Granuloma piógeno		1	1
	Micosis		1	1
	Linfoma	1	1	2
	Liquen plano	1		1
	Melanoma amelanótico		1	1
	Micobacteria		1	1
	Micobacteria/hongo		1	1
	Picadura		1	1
	Pioderma gangrenoso		1	1
	Úlcera	1		1
	Verruga/nevus		1	1
	Leishmaniasis	27	17	44
<b>Total</b>	<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>64</b>
Mayores de 65 años	Carcinoma basocelular	2	1	3
	Carcinoma escamoso	2		2
	Foliculitis	1		1
	Foliculitis/cicatriz	1		1
	Granuloma actínico		1	1
	Linfoma		1	1
	Lipoma	1		1
	Micobacteria		1	1
	Nevus/picadura		1	1
	Quiste	1		1
	Sarcoidosis		1	1
	Tiña		1	1
	Leishmaniasis	14	4	18
	<b>Total</b>	<b>Total</b>	<b>22</b>	<b>11</b>
<b>Total general</b>		<b>65</b>	<b>61</b>	<b>126</b>

M, mujeres; H, hombres.

En la serie de Garrido-Jareño et al. (2020) de 42 pacientes, se sospechó una LC como diagnóstico inicial en 27. En 14 pacientes la LC fue el único diagnóstico (33,3 % de certeza diagnóstica), mientras que en otros 13 pacientes se planteó una LC junto con otros diagnósticos.<sup>97</sup> Estas diferencias entre dos áreas endémicas similares como son la Comunidad Valenciana y las Islas Baleares, pueden deberse a que en los últimos años se han detectado más pacientes con LC en nuestra comunidad autónoma.

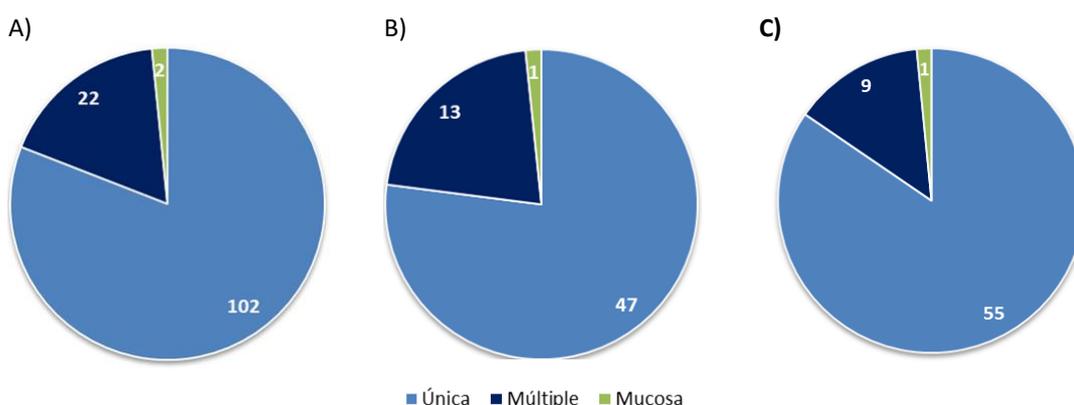
#### 4.3.2. Presentación clínica de las lesiones

##### Número de lesiones y tipo según sexo

Las lesiones fueron clasificadas como únicas, si solo había una lesión, o múltiples, si coexistían dos o más lesiones. En total, se observaron 161 lesiones. La mayoría de las lesiones fueron únicas (n = 102; 81 % [IC 95 % 73,2-86,9]), además de los dos casos de leishmaniasis mucosa (n = 2; 1,6 % [0,1-0,6]).

Este predominio de lesiones únicas no coincide con lo observado en el brote de Fuenlabrada (Madrid), una zona donde la leishmaniasis apareció como un brote epidémico no habitual y distinto a la endemia detectada en Baleares. A diferencia de nuestra serie, en el brote de Fuenlabrada hubo más casos de lesiones múltiples.<sup>95</sup> En cambio, en las otras series españolas publicadas predominan las lesiones únicas.<sup>96,98-100</sup> La aparición de lesiones únicas o múltiples dependerá de diferentes factores como la especie o cepa de *Leishmania*, el vector y la predisposición genética de la persona.<sup>47</sup>

Por sexos, en las mujeres se observó un 84,6 % (IC 95 %: 73,7-91,6) con lesión única, un 13,8 % (IC 95 %: 7,2-24,5) con lesiones múltiples y un solo caso (1,5 %; IC 95 %: 0,01-9) de lesión única en mucosas. En hombres, el 77 % (IC 95%: 64,9-85,9) presentaron una lesión única, el 21,3 % (IC 95 %: 12,7,3-33,2) mostraron lesiones múltiples y un paciente (1,7 %; IC 95%: 0,01-9,5) tuvo una lesión en mucosa única. La **Figura 22** muestra el número de pacientes con lesiones únicas o múltiples según el sexo.



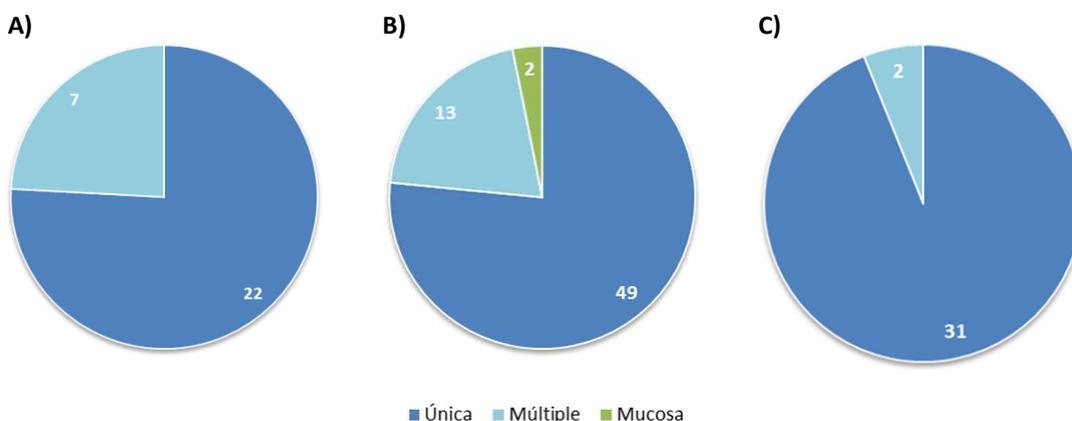
**Figura 22.** Número de pacientes con lesiones únicas, múltiples y en mucosa en A) toda la serie; B) los hombres y C) las mujeres. Fuente: elaboración propia.

En otros estudios españoles se ha encontrado también una mayoría de pacientes de sexo femenino. En un estudio realizado en un área con leishmaniasis endémica del sur de la Comunidad de Madrid, Daudén et al. (1990)<sup>99</sup> incluyeron a 31 pacientes con LC entre 1981 y 1989; diecisiete pacientes (54,83 %) eran mujeres. Por otra parte, en un hospital terciario de Toledo entre 1990 y 1997, Urrutia et al. (2000)<sup>96</sup> estudiaron a 43 pacientes con LC, de los que 30 (70 %) eran mujeres.

En cambio, el resultado fue distinto en otros estudios como el de Aguado et al. (2013),<sup>95</sup> que describieron las características de 116 pacientes con LC. Sin embargo, a diferencia de los dos estudios anteriores y del nuestro, estos pacientes resultaron afectados en un brote epidémico que se produjo entre 2010 y 2012 en la citada área con leishmaniasis endémica de la C. de Madrid. El área contaba por entonces con 220 000 habitantes y el centro del brote fue la localidad de Fuenlabrada. En ese estudio, se incluyeron 71 mujeres (48 %).<sup>95</sup>

#### Número de lesiones y tipo según edad

Por edades, al igual que por sexos, la lesión única fue la más frecuente en todos los grupos (**Figura 23**). En los menores de 18 años hubo un 75,9 % (IC 95%: 57,6-88) de pacientes con lesión única y un 24,1 % (IC 95 %: 11,9-42,3) con lesiones múltiples. En el grupo de 18 a 65 años, un 76,5 % (IC 95%: 64,7-85,3) de pacientes presentó una lesión única, un 23,5 % (IC 95%: 12,1-31,8) tuvo lesiones múltiples y un 3,2 % (IC 95 %: 0,24-11,60) presentó lesión única en mucosa. La lesión única fue mucho más frecuente en el grupo de mayores de 65 años, con un 94 % (IC 95 %: 79,4-99,3) de pacientes con lesión única y solo un 6 % (IC 95 %: 0,6-20,6) con lesiones múltiples. Como posibles motivos de que casi todas las lesiones sean únicas en los pacientes de mayor edad, sugeriríamos que suelen llevar más ropa y pasan menos tiempo al aire libre por la noche, cuando pica el flebótomo.



**Figura 23.** Número de pacientes con lesiones únicas, múltiples y en mucosa por grupos de edad, valorando la descripción de la primera lesión. A) menores de 18 años; B) de 18 a 65 años y C) mayores de 65 años. Fuente: elaboración propia.

Se observó una segunda lesión en el 10 % de los pacientes menores de 18 años y en el 9 % de aquellos entre los 18 y los 65 años. Para una tercera lesión, los porcentajes fueron los mismos. Solo un paciente en cada uno de estos dos grupos presentó cuatro o más lesiones.

En nuestra serie, la localización de la primera y la segunda lesión coincidieron en 14 (64 %) de los 22 pacientes con lesiones múltiples. Si lo comparamos con otro estudio,

encontramos algunas diferencias: en nuestra serie tuvimos un 36 % (8/22) de pacientes con lesiones en diferentes localizaciones frente al 16 % de pacientes con lesiones en diferentes zonas corporales referidas en el estudio del brote de Fuenlabrada.<sup>95</sup>

Maniscalco et al. (2007) plantearon que estas lesiones múltiples podrían deberse a múltiples picaduras de un solo flebótomo o a picaduras simultáneas de varios flebótomos.<sup>101</sup> También se ha propuesto que las lesiones múltiples pueden deberse a diseminación linfática.<sup>47</sup> La primera hipótesis ha sido respaldada por otros autores y parece la más acertada: un solo flebótomo y varias picaduras. Para Del Giudice (2007), la explicación de varias picaduras en una misma localización sería que el flebótomo no puede extraer sangre en la primera picadura y lo intenta de nuevo, depositando parásitos-promastigotes cada vez.<sup>102</sup>

#### Tipos de lesiones elementales

Al revisar los datos clínicos de todos los pacientes se encontraron tres tipos de lesiones elementales: de tipo pápula, placa y úlcera mucosa, que se describen brevemente a continuación.

##### *Lesiones tipo pápula*

Una pápula (**Figura 24**) es una lesión de diámetro inferior a 1 cm. Suele ser de color rosado, aunque en ocasiones tiene un tono amarillento o rojizo. Generalmente con costra (**Figura 25**), pero también puede desarrollarse sin ella (**Figura 26**). La lesión papular típica de la LC es el botón de Oriente (**Figura 24**), una lesión única, sonrosada, eritematosa y con costra central. Si se retira esa costra, aparece un exudado seroso.



**Figura 24.** Pápula única, sonrosada, eritematosa y con costra central que constituye la forma típica llamada botón de Oriente. Imagen de archivo propio.



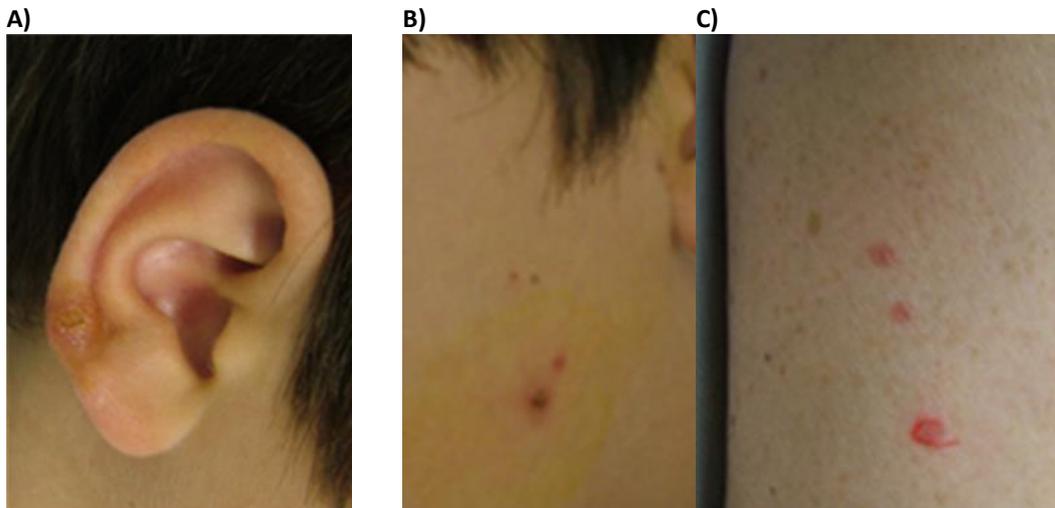
**Figura 25.** Pápulas costrosas múltiples en un niño. Imagen de archivo propio.

#### 4. RESULTADOS



**Figura 26.** Pápulas sin costra múltiples en un niño. Imagen de archivo propio.

En el Hospital de Manacor la mayoría de las lesiones observadas fueron con costra central como las de las **Figuras 27A y 27B**. Solo algunas no tenían costra (**Figura 27C**). Debido a que no se registró la presencia o ausencia de costra en la historia clínica de los pacientes, no se dispone de datos al respecto. Sin embargo, en la práctica, en las lesiones agudas suele apreciarse menos costra que en las lesiones crónicas. La aparición de una costra puede deberse al estadio evolutivo de la lesión que, a su vez, depende en parte de la respuesta inmunitaria del paciente.<sup>40</sup> La ausencia de costra es un signo clínico de buena evolución, porque indica que el patrón de respuesta inmunológica (respuesta Th1) es el adecuado. Es probable que cuando los pacientes acuden a la consulta ya lleven algunos meses de evolución y, en consecuencia, muchas de las lesiones se han resuelto sin tratamiento.



**Figura 27.** A y B) Lesiones múltiples con costra signo de evolución tórpida. C) Lesiones múltiples sin costra, que sugieren un proceso precoz y son un signo de buena evolución de la lesión. Imágenes de archivo propio.

Revisando los datos publicados de otras series españolas, se halló que también se detectaron más lesiones papulares costrosas con predominio de las lesiones únicas tipo pápula o placa pequeña y con costra,<sup>96,98-100</sup> similares a las de nuestra serie.

En el estudio realizado en Fuenlabrada, se observaron más lesiones sin costra, posiblemente porque fue un brote y los afectados acudieron precozmente al hospital.<sup>95</sup> En este mismo estudio se describieron más lesiones múltiples y un número de pápulas mayor que el de placas.<sup>95</sup>

### *Lesiones tipo placa*

La placa es la otra lesión elemental que se observó en la serie del estudio. Se define como una lesión mayor de 1 cm y puede ulcerarse (**Figura 28**).

Las lesiones nodulares se incluyeron dentro del grupo de las placas porque solo hubo tres casos. Al ser tan pocos, se decidió contar estos casos como placas porque no alteraba la decisión diagnóstica ni terapéutica. Asimismo, las pápulas nodulares menores de 1 cm de diámetro están incluidas en el grupo de pápulas, sin diferenciarlas de estas últimas.



**Figura 28.** Placa con costra. Imagen de archivo propio.

### *Úlceras mucosas*

Se considera que una lesión es del tipo úlcera mucosa cuando se aprecian lesiones ulceradas con borde eritematoso y sonrosado y con fondo blanquecino si hay fibrina o rojizo si está en fase más activa. En los pacientes con leishmaniasis mucosa de este estudio, se apreció la lesión ulcerada en la zona contigua a las fosas nasales. Durante la redacción de la tesis doctoral, se visitó a otro paciente que no se incluye en la serie y que presentaba una úlcera con fibrina y de 0,8 cm de diámetro ubicada en el paladar.

### Resumen del número y tipo de lesión

No hubo una lesión elemental predominante, con unos porcentajes similares de lesiones papulares y placas. El tipo de lesión según el sexo y la edad de los pacientes se muestra en la **Tabla 11**.

Como lesión única (o primera en lesiones múltiples) ( $n = 126$ ), se observaron 64 lesiones papulosas (39,8 %) y 60 placas (37,3 %), así como dos úlceras en mucosa (1,2 %). Como segunda lesión ( $n = 22$ ), 11 lesiones papulosas y 11 placas (6,8 % para cada tipo de lesión). La excepción podría ser en el grupo con tres lesiones ( $n = 11$ ), en el que predominaron ligeramente las placas: 4 pápulas (2,4 %) frente a 7 placas (4,5 %). Como cuarta lesión ( $n = 2$ ), se encontraron 2 placas (1,2 %). Los dos pacientes (casos n.º 47 y n.º 113, véase la Tabla A1 del Anexo) con cuatro lesiones en realidad presentaron un mayor número de lesiones, pero no recogimos sus características.

**Tabla 11. Tipo de lesión según el sexo y la edad de los pacientes (n = 126)**

Afectación	Tipo de lesión	Sexo		Total	Edad, años		
		M	H		<18	18-65	>65
Única	Pápula, n	29	24	53	14	22	17
	Placa, n	25	23	49	8	27	14
Total, n (%)		55 (84,6)	47 (77)	102 (81)	22 (75,9)	49 (76,6)	31 (93,9)
[IC 95%]		[73,7-91,6]	[64,9-85,9]	[73,2-86,9]	[57,6-88]	[64,8-85,4]	[79,4-99,3]
Múltiple*	Pápula, n	7	4	11	2	8	1
	Placa, n	2	9	11	5	5	1
Total, n (%)		9 (13,8)	13 (21,3)	22 (17,5)	7 (24,1)	13 (20,3)	2 (6,1)
[IC 95%]		[7,2-24,5]	[12,8-33,3]	[11,8-25,1]	[12-42,4]	[12,1-31,9]	[0,7-20,6]
Mucosa	Úlcera, n	1	1	2	0	2	0
Total, n (%)		1 (1,5)	1 (1,6)	2 (1,6)	0	2 (3,1)	0
[IC 95%]		[0,01-9]	[0,01-9,6]	[0,1-0,6]		[0,2-11,3]	
Total general		65	61	126	29	64	33

\*La tabla se refiere a la primera lesión en caso de lesiones múltiples. M, mujer; H, hombre.

Se encontraron diferencias en el tipo de lesiones según los grupos de edad. Predominaron las lesiones únicas, con una proporción de pápulas y placas por igual, excepto en los pacientes de 18 a 65 años, en los que hubo un ligero predominio de las placas. Este predominio de lesiones únicas en los menores de 18 años se observó también en las series de Alcalde et al. (1989),<sup>98</sup> Daudén et al. (1990),<sup>86</sup> Urrutia et al. (2000),<sup>96</sup> y Garrido-Jareño et al. (2020).<sup>97</sup> Solo en la serie de Fuenlabrada hubo más lesiones múltiples en la población más joven.<sup>95</sup>

#### Tamaño de las lesiones

Las lesiones de 6 a 10 mm fueron las más frecuentes en ambos sexos y en los tres grupos de edad (**Tabla 12**), representando más de la mitad de las lesiones únicas o primeras en caso de lesiones múltiples. Las lesiones de 11 a 15 mm (**Figura 29**) y las de 1 a 5 mm fueron menos frecuentes. Hubo pocos casos con lesiones mayores de 16 mm.

En el conjunto de todas las lesiones, el tamaño fue de 8 a 11 mm. En las lesiones únicas o primeras, el tamaño medio fue de 10 mm. Para las segundas, terceras y cuartas lesiones, los tamaños medios fueron de 8, 8 y 11 mm, respectivamente. Por sexos, teniendo en cuenta todas las lesiones, el tamaño medio fue de 7,6 mm en las mujeres y de 10,2 mm en hombres (**Figura 30**).

**Tabla 12. Tamaño de las lesiones\* por sexo y grupo de edad (n = 126).**

Tamaño, mm	Sexo		Total, n (%)	Edad, años		
	M	H		<18	18-65	>65
1-5	12	9	21 (16,6)	8	11	2
6-10	40	29	69 (54,7)	12	39	18
11-15	9	16	25 (19,9)	8	8	9
16-20	3	3	6 (4,8)	0	5	2
>20	1	4	5 (4)	1	2	2
Total, n	65	61	126	29	64	33

\*En caso de lesiones múltiples, se consideró el tamaño de la primera lesión.



**Figura 29.** Lesión de 14 mm con costra central en la mejilla derecha de un niño. Imagen de archivo propio.

**Figura 30.** Lesión retroauricular derecha de 12 mm en un hombre. El tamaño medio de las lesiones en los hombres fue mayor que en las mujeres. Imagen de archivo propio.

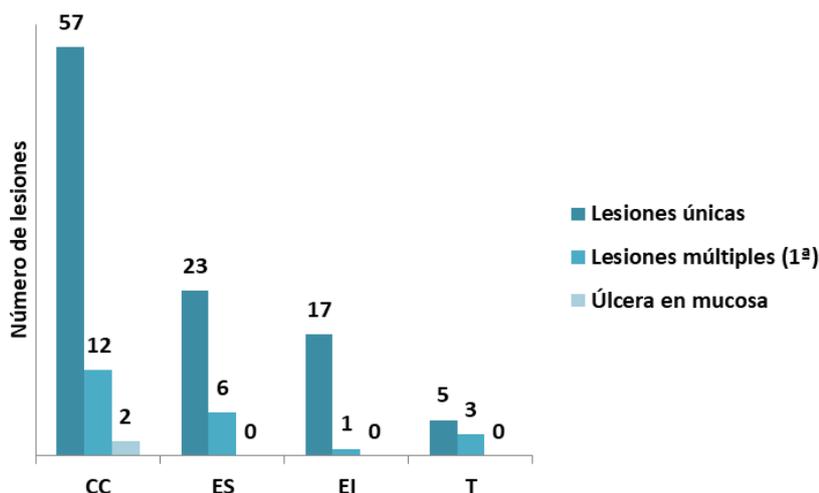


En los artículos de Alcalde et al. (1989),<sup>98</sup> Daudén et al. (1990)<sup>99</sup> y Urrutia et al. (2000),<sup>96</sup> el tamaño medio de las lesiones estudiadas en población española coinciden con el de nuestra muestra. En cambio, las lesiones en nuestra serie tuvieron un tamaño mayor que en el brote de Fuenlabrada, donde el 33 % de las lesiones fueron menores de 5 mm.<sup>95</sup>

#### Localización de las lesiones

El área de la cabeza y el cuello (CC) fue la ubicación más frecuente tanto de la lesión única como de la primera lesión en el caso de múltiples (**Figura 31**), como también se observó en otros estudios españoles.<sup>96,98,99</sup> En nuestra serie, como segunda localización, dominaba la extremidad superior (ES). En cambio, se hallaron pocas lesiones en la extremidad inferior (EI), a diferencia de la serie de Aguado et al. (2013),<sup>95</sup> donde esta localización fue la más frecuente.

#### 4. RESULTADOS



**Figura 31.** Localización de las lesiones en los pacientes de nuestra serie (n = 126). Fuente: elaboración propia. CC, cabeza y cuello; ES, extremidad superior; EI, extremidad inferior; T, tronco.

CC fue el área más afectada, tanto en ambos sexos como en los tres grupos de edad. En esta localización, las lesiones únicas papulares fueron más frecuentes. En general, la mayoría de lesiones eran únicas, sin grandes diferencias en la presencia de pápulas y placas. Sin embargo, en niños no se observaron lesiones en ES y casi todas se ubicaron en CC. la mayoría de ni en la localización, excepto la falta de lesiones en tronco en los pacientes del grupo de mayor edad, no se observaron lesiones en el tronco. El tipo y número de lesiones en cada área según el sexo y la edad de los pacientes se resumen en la **Tabla 13**.

**Tabla 13.** Localización y tipo de lesiones según el sexo y la edad de los pacientes (n = 126)

Localización	Tipo de lesión	Sexo		Total	Edad, años		
		M	H		<18	18-65	>65
CC	Pápula	22	16	38	14	12	12
	Placa	17	14	31	11	9	11
	Úlcera	1	1	2	0	2	0
<b>Total CC</b>		<b>40</b>	<b>31</b>	<b>71</b>	<b>25</b>	<b>23</b>	<b>23</b>
ES	Pápula	7	4	11	0	10	1
	Placa	7	11	18	0	15	3
<b>Total ES</b>		<b>14</b>	<b>15</b>	<b>29</b>	<b>0</b>	<b>25</b>	<b>4</b>
EI	Pápula	3	8	11	2	4	5
	Placa	3	4	7	1	5	1
<b>Total EI</b>		<b>6</b>	<b>12</b>	<b>18</b>	<b>3</b>	<b>9</b>	<b>6</b>
T	Pápula	4	0	4	0	4	0
	Placa	1	3	4	1	3	0
<b>Total T</b>		<b>5</b>	<b>3</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>0</b>
<b>Total CC+ES+EI+T</b>		<b>65</b>	<b>61</b>	<b>126</b>	<b>29</b>	<b>64</b>	<b>33</b>

CC, cabeza y cuello; EI, extremidad inferior; ES, extremidad superior; T, tronco.

Los dos pacientes con afectación mucosa (casos n.º 15 y n.º 118, véase **Tabla A1** del Anexo) mostraban lesiones únicas en una fosa nasal, sin afectación del paladar. Debido a la proximidad de las lesiones al orificio nasal, podría suponerse que estas lesiones comenzaron por una picadura en la zona de contacto entre piel y mucosa. Como se ha comentado en el capítulo 1. *Introducción* (punto 1.4.2), la leishmaniasis de inoculación mucosa debe diferenciarse de otros procesos y de la forma mucocutánea.<sup>47</sup>

En cuanto a los pacientes con lesiones múltiples, las placas fueron más frecuentes que las pápulas en las segundas, terceras y cuartas localizaciones (véase la **Tabla A1** del Anexo). La ubicación principal de las lesiones fue en CC (n = 14 en total), con ES en segundo lugar (n = 9 en total). Esta ubicación coincide con la descrita en las lesiones únicas. En el grupo de pacientes con lesiones múltiples, coexistieron dos o más pápulas o placas, en la misma área o en áreas diferentes, con costra o sin ella (**Figuras 32 y 33**).



**Figura 32.** Ejemplos de pacientes con lesiones múltiples en el mismo estadio evolutivo y con las mismas características. La imagen de la izquierda y la central muestran lesiones con una ulceración central mínima. En la imagen de la derecha, lesiones con costra. Imágenes de archivo propio.



**Figura 33.** Ejemplo de pápulas múltiples en un mismo estadio evolutivo y con las mismas características. Imagen de archivo propio.

En nuestra serie, una posible explicación del mayor número de lesiones en CC y ES podría ser que el cuero cabelludo y la cara no suelen cubrirse, como tampoco los brazos en primavera, verano y otoño.

En zonas de clima mediterráneo como Llevant, la ropa sin mangas y corta es habitual gran parte del año y la cabeza y los brazos son las partes del cuerpo más expuestas a las picaduras del vector.<sup>103</sup> Aunque en nuestra zona las piernas también pueden recibir picaduras, estas son más escasas. La ropa protege de las picaduras del flebótomo, cuya probóscide es demasiado corta y no puede atravesar la tela.<sup>104</sup>

#### 4.3.3. Diagnóstico diferencial clínico

El diagnóstico diferencial de la LC es muy amplio e incluye enfermedades cutáneas y sistémicas muy diferentes entre sí. En áreas como Baleares con leishmaniasis endémica,<sup>49,95,97</sup> ante una lesión cutánea hay que sospechar una LC, incluso aunque clínicamente no lo parezca, porque su expresión clínica es muy proteiforme.

En el artículo de Gurel et al. (2020) sobre la leishmaniasis,<sup>49</sup> se propone una lista de los posibles diagnósticos diferenciales de la LC a partir de datos de trabajos como los de Douba et al. (2012),<sup>105</sup> Handler et al. (2015)<sup>59</sup> y Meireles et al. (2017).<sup>51</sup> Pese a que las especies de *Leishmania* eran diferentes de las de nuestra área, algunos posibles diagnósticos coinciden (**Tabla 14**). Sin embargo, 22 diagnósticos de sospecha en nuestra serie no estaban contemplados en el artículo de Gurel et al. (2020),<sup>49</sup> mientras que otros 13 diagnósticos propuestos en dicho artículo no se plantearon en nuestra serie. Debido a la gran variedad de posibles presentaciones, la LC puede permanecer sin diagnóstico largo tiempo.<sup>106,107</sup>

**Tabla 14.** Diagnóstico diferencial de la leishmaniasis cutánea en nuestra serie en comparación con el propuesto por Gurel et al. (2020)<sup>49</sup>

En nuestra serie	Gurel et al. (2020) <sup>49</sup>
C. basocelular	C. basocelular
C. escamoso	C. escamoso
Cicatriz	---
Forúnculo	Impétigo, ectima, forunculosis, carbunculosis
Eccema	---
Erisipela	---
Enfermedad granulomatosa	---
Foliculitis	---
Foliculitis/cicatriz	---
Forúnculo, Forúnculo/tiña	
Granuloma actínico	
Granuloma piógeno	Granuloma piógeno
Linfoma	Linfoma cutáneo de linfocitos T
Lipoma	---
Liquen plano	---
Mastocitoma	---
Melanoma amelanótico	---
Micobacteria, micobacteria/hongo	Infecciones atípicas por micobacterias
Micosis	---
Nevus/picadura	---
Nevus de Spitz	---
Paniculitis	---
Picadura	---
Pioderma gangrenoso	---
Quiste	---
Rosácea granulomatosa	Rosácea granulomatosa

En nuestra serie	Gurel et al. (2020) <sup>49</sup>
Sarcoidosis	Sarcoidosis
Tiña	---
Úlcera	---
Verruga/Nevus	Verruga vulgar
Xantogranuloma	---
---	Amebiasis
---	Ectima contagioso
---	Esporotricosis
---	Granuloma por cuerpo extraño
---	Querion
---	Sífilis
---	Tuberculosis cutánea
---	Lepra
---	Linfocitoma cutáneo (hiperplasia linfocítica cutánea)
---	Metástasis cutáneas
---	Micosis profunda*
---	Molluscum contagiosum
---	Queratoacantoma

\*Esporotricosis, blastomycosis, micetoma, histoplasmosis.

Los tres patrones clínicos más destacados fueron el psoriasiforme, el granulomatoso lupoides y el erisipeloides. Sin embargo, debido a la gran variedad de patrones con los que puede cursar la LC, se ha considerado interesante introducir una serie de imágenes correspondientes a estos patrones que el dermatólogo se encuentra habitualmente en su consulta, además de una breve explicación de su evolución y de cómo se llegó a confirmar el diagnóstico. En nuestra serie, como en la revisión de Garrido-Jareño et al. (2020)<sup>97</sup> y la serie de Bongiorno et al. (2009),<sup>108</sup> muchos pacientes desarrollaron placas eritematosas con costra central en cara y cuello.

En otras ocasiones, las lesiones en placa tienen un aspecto supurativo y sonrosado que obliga a plantear diagnósticos como un pioderma gangrenoso,<sup>49,109,110</sup> un carcinoma escamoso<sup>49,111</sup> o infecciones profundas (tipo forúnculo profundo o micobacteriosis atípica).<sup>112</sup>

#### Patrón psoriasiforme

La LC puede imitar una psoriasis, especialmente en casos crónicos. Es el llamado patrón psoriasiforme, que suele ser más frecuente en niños. En nuestra serie, tres pacientes presentaron este patrón.

Un ejemplo se muestra en la **Figura 34**. Las lesiones de la paciente semejaban una psoriasis; como la placa psoriasiforme no se había ulcerado, se descartó una leishmaniosis, pero más tarde se confirmó una LC por histología.



**Figura 34.** Patrón psoriasiforme. Imagen de archivo propio.

#### Patrón lupoide

Un patrón también típico de las placas es el **lupoide (Figura 35)**, especialmente en casos crónicos. Suele observarse en la cara de niños y adultos. Empieza con una lesión tipo pápula costrosa que evoluciona a una placa eritematosa y que posteriormente puede presentar una costra, una úlcera o un eritema periférico. En nuestra serie cinco pacientes presentaban este patrón; dos eran menores de 18 años (**Figura 36**), otros dos tenían entre 18 y 65 y un paciente era mayor de 65 años.



**Figura 35.** Placa eritematosa con costras, descamación y coloración amarillo anaranjada. Imagen de archivo propio.



**Figura 36.** Ejemplo de lesión eritematosa en mejilla con costra central adherida que simula un forúnculo infeccioso o una lesión lupoides. El tratamiento consistió en 8 administraciones de antimoniato de meglumina intralesional. Imagen de archivo propio.

#### Patrón erisipeloide

La LC puede imitar una erisipela.<sup>113-117</sup> Es probable que los mecanismos de escape del parásito impidan que el sistema inmune inhiba la replicación; en consecuencia, no se forman granulomas y las leishmanias se diseminan sobre la capa superficial de la dermis papilar. De este modo, se produce este patrón erisipeloide tan típico.<sup>118</sup>

Se encontró un **patrón erisipeloide (Figura 37)** en cara y extremidades en seis pacientes entre los 18 y los 65 años y en cinco pacientes mayores de 65 años. Son placas eritematosas, asimétricas, con bordes mal definidos, en ocasiones con signos flogóticos. Posteriormente las lesiones podían ulcerarse o bien podían aparecer costras bastante mal definidas. Al ser placas mal definidas, dificultan detectar claramente lo que es inflamación, lo que es infección y dónde comienza el tejido sano. En ocasiones, se podría haber diagnosticado una celulitis o una condritis, pero ningún paciente presentó fiebre.



**Figura 37.** Leishmaniasis cutáneas que simulaban una erisipela (patrón erisipeloide). Imágenes de archivo propio.

Otros ejemplos de patrón erisipeloide se muestran en las **Figuras 38 a 41**. En el paciente de la **Figura 38**, la sospecha clínica inicial fue de erisipela. Más tarde, debido a su evolución, se pensó en una rosácea granulomatosa. Por último, al cronificarse, se planteó la posibilidad

#### 4. RESULTADOS

de un lupus. El paciente fue remitido a nuestro servicio, donde se le practicó una biopsia cutánea y la tinción de la muestra con HE confirmó la presencia de amastigotes. En la **Figura 39**, se muestra una lesión con patrón erisipeloide en la mejilla derecha de una paciente anciana.



**Figura 38.** Placa eritematosa en dorso nasal y mejilla de un paciente anciano. Imagen de archivo propio.

**Figura 39.** Lesión erisipeloide avanzada en una paciente anciana. Imagen de archivo propio.



En la **Figura 40** se observa otra lesión de patrón erisipeloide que podría sugerir una fase incipiente con puerta de entrada en mejilla. A su vez, en la **Figura 41** puede apreciarse una lesión que inicialmente era eritematosa erisipeloide y posteriormente evolucionó a una lupoides infiltrada con sospecha de infección. La mala evolución de la lesión podría deberse a que no pudo realizarse un tratamiento inicial correcto con antimoniales porque la paciente estaba embarazada.



**Figura 40.** Lesión de patrón erisipeloides en mejilla derecha. Imagen de archivo propio



**Figura 41.** Lesión evolucionada en mejilla izquierda. Imagen de archivo propio.

#### Otras presentaciones de la leishmaniasis cutánea

En las páginas siguientes se incluyen imágenes propias de lesiones de LC.

Cuando los pacientes acuden a nuestro hospital, las lesiones suelen llevar largo tiempo de evolución y han sido tratadas como picaduras, eccemas o sospecha de procesos infecciosos, tumorales o inflamatorios. Lo habitual es que las lesiones de un paciente sean de un solo tipo y estén en la misma fase evolutiva. Sin embargo, en algunos pacientes podemos encontrarnos pápulas y placas en diferente estado evolutivo (**Figura 42**).



**Figura 42.** Ejemplo de dos tipos de lesiones coincidentes: dos placas y dos pápulas en un paciente con inmunodepresión por un tratamiento con un anti-TNF $\alpha$ . El paciente, que presentó un total de 12 lesiones, fue tratado con anfotericina B liposomal (Caso n.º 113). Imagen de archivo propio.

En muchos pacientes se observaron pápulas carnosas y sonrosadas, que parecían **picaduras** más que lesiones compatibles con LC. Aunque las lesiones de la LC suelen ser únicas, pueden encontrarse tres o cuatro lesiones cercanas de tipo papular en zonas expuestas como piernas, brazos, mejillas, frente, orejas, espalda y nuca.<sup>108</sup>

En las lesiones en placa ubicadas en la cara y el cuello, habitualmente en las mejillas, puede apreciarse un intenso eritema periférico y una costra indurada y bastante adherida al tejido subyacente. Algunas de ellas simulan un patrón lupoide (véase la **Figura 36**).

#### 4. RESULTADOS

Otras lesiones simulaban placas ecematosas: lesiones dispersas casi no palpables sobre un fondo eritematoso, que podría confundirse con un **eccema**<sup>119-123</sup> (**Figuras 43 y 44**).

**Figura 43.** Lesiones maculares con descamación en pierna que parecían un eccema de estasis. El tratamiento a largo plazo con corticoesteroides tópicos había alterado el componente inflamatorio de las lesiones y tuvimos ciertas dudas diagnósticas. Imagen de archivo propio.



**Figura 44.** Duda diagnóstica de lesión en párpado con eccema. Imagen de archivo propio.

Las lesiones de LC pueden parecer un **quiste epidérmico** o un **granuloma aséptico facial**.<sup>124</sup> Un paciente pediátrico presentó una lesión que imitaba un quiste facial, como se ha descrito en otros pacientes.<sup>125</sup> Sin embargo, la sospecha clínica inicial ya fue de LC (**Figura 45**) por varios motivos: la localización de la lesión, la aparición después del verano y la apariencia inicial de una picadura, además de que el paciente vivía en un área donde es frecuente la LC. Se confirmó el diagnóstico y se inició un tratamiento adecuado. En cambio, en otras ocasiones se sospecha LC pero el diagnóstico es otro, como un granuloma aséptico facial (**Figura 46**).

En una paciente, cuyo caso fue publicado, el diagnóstico clínico inicial fue un **nevus** (**Figura 47**). Sin embargo, al estudiar la lesión con dermatoscopia,<sup>68</sup> se sospechó una leishmaniasis. En el estudio histopatológico, se demostró la presencia de amastigotes y se confirmó el diagnóstico.<sup>126</sup>

Otros pacientes presentaron lesiones que imitaban verrugas (**Figura 48**).



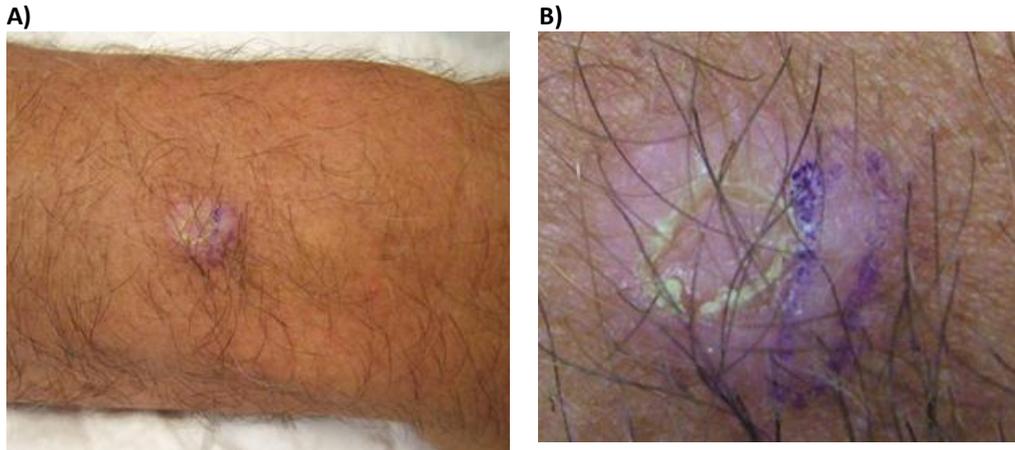
**Figura 45.** Lesión en mejilla izquierda. Hubo certeza diagnóstica inicial con respecto al diagnóstico de LC, sin que surgieran dudas a pesar de que simulaba un quiste facial. Imagen de archivo propio.

**Figura 46.** Lesión en mejilla izquierda. Años atrás, se sospechó que esta lesión era una LC y se realizaron pruebas parasitológicas y de biología molecular (RT-PCR) con resultados negativos. La lesión era un granuloma aséptico facial que se resolvió espontáneamente. Otros autores han encontrado lesiones similares en el párpado.<sup>125</sup> Imagen de archivo propio.



**Figura 47.** Pápula marronosa eritematosa en el centro del tórax. La lesión aumentó de tamaño durante el verano y el médico de primaria nos envió a la paciente con sospecha de nevus. Al realizar el estudio dermatoscópico se apreciaron hallazgos sugestivos de leishmaniasis y el estudio histopatológico confirmó el diagnóstico. Imagen de archivo propio.

#### 4. RESULTADOS



**Figura 48.** Lesión de leishmaniasis cutánea que simulaba una verruga. A) Pápula con collarete costroso central y con apariencia crateriforme. B) Vista ampliada de la lesión. Imágenes de archivo propio.

Las infecciones, ya sea por micobacterias, micosis (tiña) o bacterias (forúnculo),<sup>49,105,112</sup> son un diagnóstico diferencial frecuente, tanto en pacientes con estado inmunitario normal (**Figuras 49 a 51**) como con inmunodepresión (ver más adelante).



**Figura 49.** Placa exudativa con cráter central que parece una celulitis, un forúnculo o un pioderma gangrenoso. Se diagnosticó por RT-PCR en papel del exudado y curó por completo con AM intralesional. Imagen de archivo propio. Caso n.º 10.



**Figura 50.** Lesión en placa simulando un impétigo en la cara de una niña. Debido al origen marroquí de la paciente, se sospechó una LC por *L. tropica*. La tipificación mediante PCR-RFLP confirmó que se trataba de *L. infantum*. Imagen de archivo propio. Caso n.º 11.



**Figura 51.** Patrón forunculoso múltiple. Imagen de archivo propio.

Las placas de LC en los párpados<sup>117,127</sup> pueden confundirse con **celulitis** o **impétigo**. Se observaron casos tanto en niños (**Figura 52**) como en adultos, con buena evolución y respuesta al tratamiento habitual con AM intralesional.

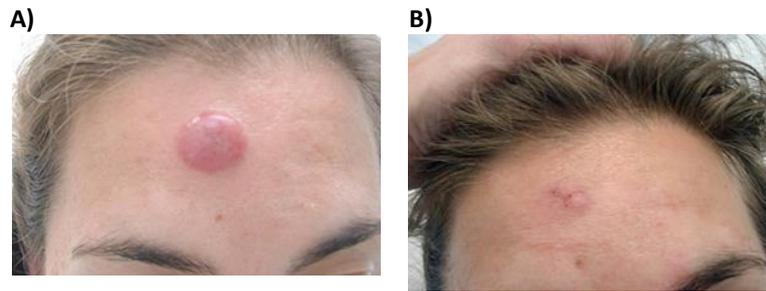


**Figura 52.** Lesiones en mejillas y párpado superior simulando infección impetiginizada por color amarillo. Imagen de archivo propio.

Imitar un cáncer es una de las formas de presentación de la LC.<sup>128</sup> A veces, la leishmaniasis puede parecer un **linfoma cutáneo**,<sup>129</sup> como en la lesión de la **Figura 53**. Debido a la clínica, no se planteó la posibilidad de una LC y no se realizó ninguna prueba parasitaria, sino solo la biopsia cutánea con tinción de HE. Sin embargo, el estudio histopatológico confirmó el diagnóstico de LC.

Otro paciente acudió a la consulta con una lesión que parecía un **carcinoma escamoso tipo queratoacantoma** en el brazo. Sin embargo, se diagnosticó una LC y la lesión curó por completo al tratarla con AM intralesional. La LC puede parecer un **carcinoma in situ** (**Figuras 54 y 55**) o un **carcinoma basocelular** (**Figura 56**). Por otra parte, se han publicado hipótesis respecto al patrón de la inflamación y la cicatrización posterior asociadas a la infección por *Leishmania* y su posible relación con la etiología del carcinoma basocelular.<sup>130-132</sup>

#### 4. RESULTADOS



**Figura 53.** A) La lesión inicial hizo sospechar un linfoma pero sin certeza diagnóstica. Se realizó una biopsia de piel que permitió diagnosticar una LC. El tratamiento consistió en tres inyecciones intralesionales de antimonioato de meglumina. B) Se consiguió una respuesta completa con un eritema residual mínimo que a los 12 meses ya había desaparecido. Imágenes de archivo propio.



**Figura 54.** Placa en sien izquierda tipo carcinoma in situ o queratosis actínica. Imagen de archivo propio.



**Figura 55.** Pápula no costrosa única con eritema, ubicada en mejilla izquierda. La lesión podría ser sospechosa de carcinoma escamoso in situ. Imagen de archivo propio.



**Figura 56.** Pápula brillante sin costra en nuca. Se extirpó la lesión con la sospecha de carcinoma basocelular, pero fue diagnosticada de leishmaniasis en el estudio histopatológico. Imagen de archivo propio.

#### *Lesiones en pacientes con inmunodepresión*

Un paciente tratado con un anti-TNF $\alpha$  por una psoriasis asociada presentó una lesión que simulaba un **tofo gotoso (Figura 57)**. Hay publicados casos similares.<sup>133,134</sup>



**Figura 57.** Placa blanda eritematosa de gran tamaño con pequeña costra central localizada en el codo de un paciente con ácido úrico elevado y psoriasis y en tratamiento con un anti-TNF $\alpha$ . Imágenes de archivo propio.



La **Figura 58** muestra una placa ulcerada con exudado en una pierna de un paciente (caso n.º 62) en tratamiento con un inmunosupresor. En otro paciente también con inmunodepresión, nos planteamos el diagnóstico diferencial con un **pioderma gangrenoso** o un **forúnculo ulcerado** (caso n.º 91).

**Figura 58.** Lesión ulcerada que simulaba una celulitis o una úlcera vascular en un paciente con inmunodepresión por fármacos. También se planteó un posible pioderma gangrenoso porque el paciente sufría una enfermedad de Crohn. Imagen de archivo propio.



#### 4. RESULTADOS

En un paciente con inmunodepresión (caso n.º 113) se diagnosticó una placa eritematosa exudativa en dorso de mano y dedo tipo **dactilitis (Figura 59)**. Era una lesión crónica, multitratada por su médico de cabecera con sospecha de enfermedades infecciosas varias como forúnculo e infección por micobacterias. La lesión se resolvió completamente con AM intralesional. Esta presentación de la LC simulando una dactilis ha sido descrita también por otros autores.<sup>135</sup>

En el paciente de la **Figura 60** se realizaron todos los cultivos posibles, pero solo pudo llegarse al diagnóstico mediante la RT-PCR en fresco y en papel.

Las **Figuras 61 y 62** ilustran lesiones de LC simulando procesos infecciosos o vasculares en pacientes con inmunodepresión.

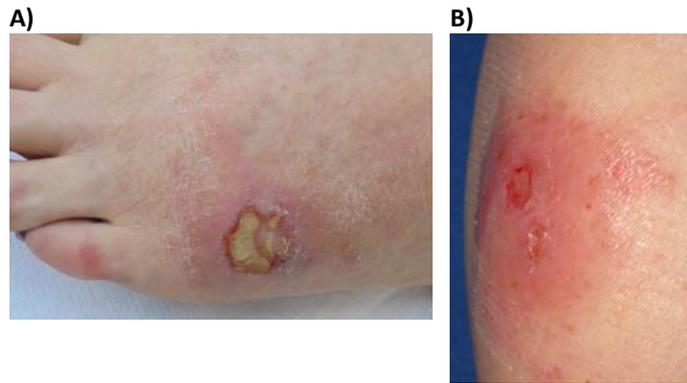


**Figura 59.** Paciente con inmunodepresión que presentó A) una lesión tipo dactilitis con placa ulcerada en dedo índice. B) La lesión mejoró con AM intralesional y C) se resolvió sin tejido cicatricial anómalo. Imágenes de archivo propio.



**Figura 60.** Infección purulenta en mentón tipo placa simulando cualquier tipo de infección profunda en un paciente con inmunodepresión. Imagen de archivo propio.

**Figura 61.** A) Lesión en placa ulcerada y supurativa en el pie izquierdo de paciente en tratamiento con un fármaco inmunosupresor (caso n.º 62). La lesión simulaba una úlcera infecciosa o vascular o un pioderma gangrenoso. B) Placa ulcerada y sin supuración simulando una infección bacteriana en el brazo de un paciente con inmunodepresión. Imágenes de archivo propio.



**Figura 62.** Lesión nodular ulcerada o placa ulcerada incluida en el grupo de placas y que simula una queratosis seborreica o un queratoacantoma. Imagen de archivo propio.

Por último, la lesión de la **Figura 63** podría haberse confundido con una placa tumoral en cuero cabelludo, si no se hubieran visto las otras lesiones del paciente.

**Figura 63.** Placa en cuero cabelludo que simula un carcinoma escamoso en un paciente con inmunodepresión. Imagen de archivo propio.



#### 4.4. Pruebas diagnósticas

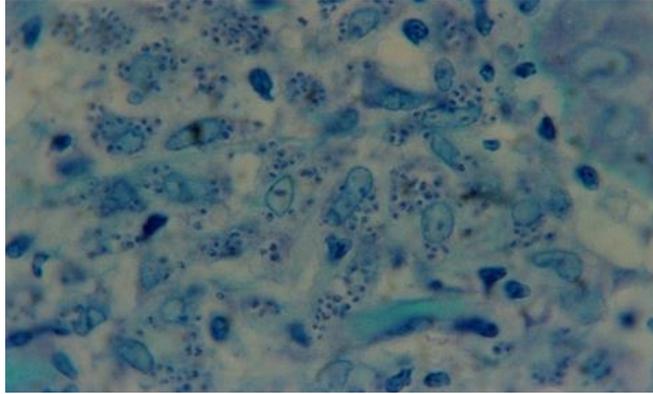
##### 4.4.1. Resultados de las pruebas parasitológicas e histopatológicas

El diagnóstico directo se realizó con la visualización de las formas amastigotas mediante tinción de Giemsa o test de Tzanck a partir de material de biopsia o de exudado de la lesión, o bien mediante el estudio histopatológico rutinario. En 110 lesiones las formas parásitas fueron detectadas al menos por uno de estos métodos.

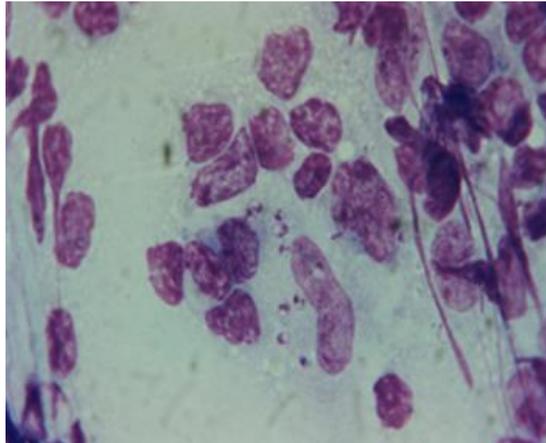
#### 4. RESULTADOS

No en todos los pacientes del estudio se aplicaron las diferentes técnicas sobre una misma lesión. Giemsa (**Figura 64**) y el test de Tzanck fueron las menos utilizadas. De 31 lesiones estudiadas con Giemsa, 24 fueron positivas y 7 negativas. El test de Tzanck solo se realizó en 8 lesiones, de las que 2 fueron positivas.

A)



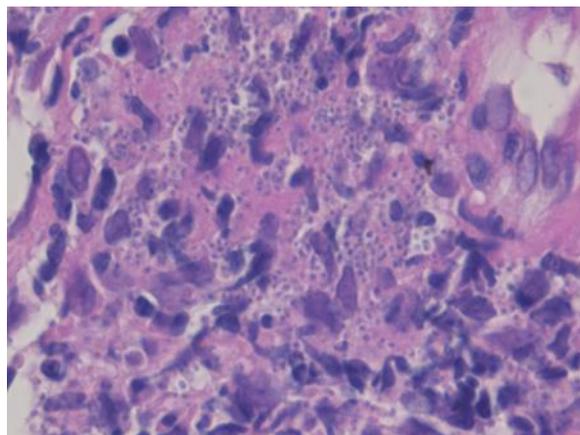
B)



**Figura 64.** Estudio histológico de material de biopsia y exudado mediante Giemsa. A) A partir de un corte histológico, aumento de 630 x. B) A partir de un frotis del exudado de la lesión, aumento de 1000 x. Se observan formas amastigota de *Leishmania*. Imágenes de archivo propio.

El estudio histopatológico mediante HE a partir de material de biopsia (**Figura 65**) fue la técnica empleada con mayor frecuencia para diagnosticar y confirmar una LC y de la que disponemos un mayor número de lesiones estudiadas. De 96 lesiones, 84 fueron positivas, mientras que en otras 12 no se observó el parásito.

**Figura 65.** Estudio histológico a partir de biopsia mediante tinción de HE. Se observan abundantes amastigotes de *Leishmania* visibles 630 x. Imagen de archivo propio.



En la **Tabla 15** se comparan los resultados globales de las lesiones estudiadas por Giemsa del exudado y/o HE de la biopsia. En 6 lesiones se observó el parásito con las dos técnicas, mientras que hubo discordancia solo en 3 casos, donde solo la HE fue positiva.

**Tabla 15.** Diagnóstico mediante Giemsa y HE de las lesiones en los pacientes del estudio

		HE (biopsia)			Total
		Neg	Pos	NR	
Giemsa (exudado)	Neg	1	3	3	7
	Pos	0	6	18	24
	NR	11	75	9	95
	Total	12	84	30	126

HE, hematoxilina-eosina; Neg, negativa; NR, no realizada; Pos, positiva.

En 10 pacientes fue posible disponer de los resultados de Giemsa y HE de una misma lesión (**Tabla 16**). Seis lesiones fueron positivas por ambas técnicas. En otras tres lesiones, Giemsa fue negativo y HE positivo. Solo una lesión fue negativa por ambas técnicas.

**Tabla 16.** Diagnóstico mediante Giemsa y HE en 10 pacientes cuya lesión se estudió con ambas técnicas

		HE (biopsia)		
		Neg	Pos	Total
Giemsa (exudado)	Neg	1	3	4
	Pos	0	6	6
	Total	1	9	10

HE, hematoxilina-eosina; Neg, negativa; Pos, positiva.

#### 4.4.2. Resultados de la RT-PCR del exudado de la lesión en fresco y en papel de filtro

La RT-PCR se realizó a partir del exudado en 52 lesiones, siendo positiva en 46 y negativa en 6. Estos resultados fueron expresados de modo cualitativo como positivo/negativo, siguiendo el sistema utilizado por el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Son Espases (Palma) (**Tabla 17**).

El estudio a partir de las muestras recogidas en papel se hizo en 46 lesiones. En todas ellas se detectó DNA del parásito al ser analizadas en el laboratorio de Parasitología de la Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, tal como se indica en el apartado de Material y método. Los resultados fueron expresados cualitativa y cuantitativamente en forma de Ct, con resultados muy variables que oscilaron entre valores que indicaban una alta parasitación (Ct 16) hasta valores indicadores de bajas tasas de parásitos (Ct 37) (**Tabla 17**).

Resultados globales de HE en comparación con RT-PCR exudado y RT-PCR papel

Al analizar los resultados globales que relacionaban la RT-PCR con los resultados de la HE (**Tabla 17**), se observó que la HE fue positiva en 26 de las 38 muestras que fueron positivas por RT-PCR en papel y en 27 de las 37 muestras positivas a partir de exudado por RT-PCR. Diez lesiones con HE negativa fueron positivas por RT-PCR del exudado y las 12 muestras negativas por HE fueron positivas por RT-PCR papel.

**Tabla 17.** Correlación de los resultados hallados por RT-PCR en exudado y papel con respecto a los resultados de HE\* en las 126 lesiones

		RT-PCR exudado				RT-PCR papel		
		Neg	Pos	NR	Total	Pos	NR	Total
HE	Neg	2	10	0	12	12	0	12
	Pos	3	27	54	84	26	58	84
	NR	2	9	20	30	8	22	30
	<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>46</b>	<b>74</b>	<b>126</b>	<b>46</b>	<b>80</b>	<b>126</b>

\* No se incluyen los resultados con Giemsa por ser muy pocas las muestras estudiadas con este método. HE, hematoxilina-eosina; Neg, negativa; NR, no realizada; Pos, positiva; PRT-PCR exudado, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real en exudado; RT-PCR papel, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real en papel.

Resultados HE comparados con RT-PCR exudado y RT-PCR papel realizados sobre una misma lesión

En 42 lesiones se pudo realizar la HE y la RT-PCR exudado de una misma lesión, observándose que los resultados coincidieron en 29 casos, fueron positivos por ambas técnicas en 27, 3 negativos y fueron discordantes en 13 casos. Con respecto al diagnóstico, en 10 pacientes la LC se confirmó por tener una RT-PCR positiva y otros 3 pacientes por tener solo la HE positiva.

En 38 lesiones se realizó la HE y RT-PCR papel de una misma lesión. La HE fue positiva en 26 lesiones y las RT-PCR sobre papel lo fueron en las 38. En 12 lesiones, los resultados fueron discordantes y la confirmación de LC se realizó sólo mediante RT-PCR papel (**Tabla 18**).

**Tabla 18.** Resultados de la HE y las pruebas RT-PCR en una misma lesión

<i>A) Comparación de la HE y la RT-PCR exudado</i>				
		RT-PCR exudado		
		Neg	Pos	Total
HE	Neg	2	10	12
	Pos	3	27	30
	Total	5	27	42

<i>B) Comparación de la HE y la RT-PCR papel</i>			
		RT-PCR papel	
		Pos	Total
HE	Neg	12	12
	Pos	26	26
	Total	38	38

Neg, negativa; NR, no realizada; Pos, positiva; RT-PCR, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

Resultados globales de RT-PCR exudado comparados con RT-PCR papel

Los resultados globales de la RT-PCR exudado comparados con los de RT-PCR papel se indican en la **Tabla 19**. De las 126 lesiones estudiadas, en 73 y 80 respectivamente la RT-PCR exudado y la RT-PCR papel no se pudo realizar y el diagnóstico de confirmación de LC se obtuvo mediante técnicas de diagnóstico directas. En 36 muestras la RT-PCR en papel y en exudado fueron positivas, mientras que en 7 casos hubo discordancias y el diagnóstico se realizó solo a partir de la RT-PCR papel con valores de Ct muy elevados.

**Tabla 19.** Resultados de la RT-PCR exudado y papel en las 126 lesiones estudiadas

		RT-PCR papel		
		Pos	NR	Total
RT-PCR exudado	Neg	7	0	7
	Pos	36	10	46
	NR	3	70	73
	Total	46	80	126

Neg, negativa; NR, no realizada; Pos, positiva; RT-PCR, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

#### Resultado de la RT-PCR exudado comparado con RT-PCR papel en una misma lesión

En 43 pacientes se pudo realizar el estudio en exudado y papel a partir de una misma lesión. La RT-PCR en papel fue positiva en todas las 43 lesiones, con valores de Ct entre 27-37, mientras que la RT-PCR en exudado fue positiva en 36 lesiones y negativa en 7 (**Tabla 20**).

En cuanto a concordancia entre las dos RT-PCR, en 36 casos los resultados fueron concordantes, siendo todos ellos positivos, y en 7 casos la RT-PCR a partir de exudado fue negativa (**Tabla 20**). Debe destacarse que de los 7 casos discordantes, 3 casos (n.º 79, n.º 107 y n.º 124) positivos por RT-PCR fueron también considerados positivos por HE. De los otros 4 casos, no se disponía de resultados de la HE (casos n.º 14 y n.º 19) o bien fueron HE negativos (casos n.º 12 y n.º 118). Véase más adelante la tabla con el resumen de los resultados de las técnicas diagnósticas en todos los pacientes del estudio.

**Tabla 20.** Resultado de la RT-PCR a partir del exudado y papel en una misma lesión

		RT-PCR papel		
		Pos	Neg	Total
RT-PCR exudado	Neg	7	0	7
	Pos	36	0	36
	Total	43	0	43

Neg, negativa; NR, no realizada; Pos, positiva; RT-PCR, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

#### 4.4.3. Resultados de todas las pruebas diagnósticas utilizadas en el estudio

Aunque no se dispuso de resultados de todas las técnicas sobre una misma lesión, de forma global las sensibilidades de la histología sobre biopsia y las RT-PCR sobre muestra de exudado fresca y sobre papel observadas fueron similares, mientras que la sensibilidad del Giemsa fue algo inferior (**Tabla 21**).

Respecto a la RT-PCR, los resultados indican que ambos métodos de recogida de la muestra y posterior extracción del DNA para la realización de una RT-PCR son adecuados y permiten confirmar el diagnóstico con un porcentaje de positividad elevado y similar al del estudio histopatológico mediante HE (**Tabla 21**). Además, muestran las discrepancias relacionadas con la toma de muestra y su posterior análisis propias de las técnicas de diagnóstico. Estos hallazgos muestran también que recoger la muestra sobre papel y posteriormente realizar la detección de ADN mediante RT-PCR aporta muy buenos resultados.

**Tabla 21.** Relación de las pruebas diagnósticas, sus resultados y su sensibilidad en el conjunto de los pacientes (n = 126).

Resultado	Diagnóstico parasitológico		Diagnóstico molecular		Diagnóstico histopatológico
	Exudado/biopsia		Exudado/biopsia	Papel	HE biopsia
	Giemsa	Tzanck			
Pos	24	2	46	46	84
Neg	6	6	7	0	12
NR	96	118	73	80	30
<i>Sensibilidad</i>	80 %	25 %	86,7 %	100 %	87,5 %
	<i>IC<sub>95%</sub> 62-91 %</i>	<i>IC<sub>95%</sub> 6-60 %</i>	<i>IC<sub>95%</sub> 75-93 %</i>	<i>IC<sub>95%</sub> 91-100 %</i>	<i>IC<sub>95%</sub> 79-93 %</i>

IC, intervalos de confianza; Neg, negativo; NR, no realizado; Pos, positivo; RT-PCR, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

Los resultados de las diferentes técnicas diagnósticas en cada uno de los 126 pacientes se resumen en la **Tabla 22**. Se incluye también la carga parasitaria expresada en Ct en los casos con RT-PCR en papel positiva para *Leishmania*.

**Tabla 22.** Resumen de los resultados de las pruebas diagnósticas en los pacientes del estudio (n = 126)

Caso n.º	Giemsa	Tzank	RT-PCR fresco	RT-PCR papel (Ct)	HE
1	NR	NR	Pos	Pos (34)	Pos
2	NR	NR	Pos	Pos (21)	Pos
3	NR	NR	NR	NR	Pos
4	NR	NR	NR	NR	Pos
5	NR	NR	Pos	NR	NR
6	NR	NR	Pos	Pos (32)	Pos
7	NR	NR	NR	NR	Pos
8	NR	NR	NR	NR	Pos
9	NR	NR	NR	NR	Pos
10	NR	NR	Pos	Pos (27)	Neg
11	NR	NR	NR	NR	Pos
12	Neg	Neg	Neg	Pos (27)	Neg
13	NR	NR	Pos	Pos (22)	Pos
14	NR	NR	Neg	Pos (32)	NR
15	NR	NR	Pos	Pos (16)	Pos
16	NR	NR	Pos	Pos (36)	Neg
17	Pos	Neg	Pos	Pos (16)	Pos
18	NR	NR	Pos	Pos (24)	Neg
19	NR	NR	Neg	Pos (27)	NR
20	NR	NR	NR	NR	Pos

## 4. RESULTADOS

Caso n.º	Giemsa	Tzank	RT-PCR fresco	RT-PCR papel (Ct)	HE
21	NR	NR	Pos	Pos (16)	Pos
22	NR	Pos	NR	NR	Pos
23	NR	Neg	NR	Pos (36)	NR
24	NR	NR	NR	NR	Pos
25	NR	NR	NR	NR	Pos
26	NR	NR	Pos	Pos (37)	Neg
27	NR	NR	Pos	Pos (30)	Pos
28	NR	NR	Pos	Pos (36)	Neg
29	Pos	NR	Pos	Pos (27)	Pos
30	Neg	NR	Pos	Pos (32)	Pos
31	Neg	Neg	Pos	NR	Pos
32	NR	NR	NR	NR	Pos
33	NR	NR	NR	NR	Pos
34	NR	NR	NR	NR	Pos
35	NR	NR	NR	NR	Pos
36	NR	NR	NR	NR	Pos
37	NR	NR	NR	NR	Pos
38	Pos	NR	NR	NR	Pos
39	Neg	NR	Pos	NR	Pos
40	NR	NR	NR	NR	Pos
41	NR	NR	NR	NR	Pos
42	NR	Pos	NR	NR	Pos
43	NR	NR	NR	NR	Pos
44	NR	NR	Pos	Pos (24)	Neg
45	NR	NR	NR	NR	Pos
46	NR	NR	NR	NR	Pos
47	NR	NR	NR	NR	Pos
48	NR	NR	NR	NR	Pos
49	NR	NR	Pos	Pos (28)	Pos
50	NR	NR	NR	NR	Pos
51	NR	NR	NR	NR	Pos
52	NR	NR	NR	NR	Pos
53	NR	NR	NR	NR	Pos
54	NR	NR	NR	NR	Pos
55	NR	NR	NR	Pos (37)	Pos
56	NR	NR	NR	NR	Pos
57	NR	NR	Pos	Pos (36)	Pos
58	NR	NR	NR	NR	Pos
59	NR	NR	Pos	Pos (37)	Pos
60	Pos	NR	NR	NR	Pos
61	NR	NR	NR	NR	Pos
62	NR	NR	Pos	Pos (27)	Pos
63	NR	NR	NR	NR	Pos
64	NR	NR	NR	NR	Pos
65	NR	NR	NR	NR	Pos
66	NR	NR	NR	NR	Pos
67	NR	NR	Pos	Pos (34)	Pos
68	NR	NR	Pos	NR	Pos
69	NR	NR	NR	NR	Pos
70	NR	NR	NR	NR	Pos
71	NR	NR	NR	NR	Pos

Caso n.º	Giemsa	Tzank	RT-PCR fresco	RT-PCR papel (Ct)	HE
72	NR	NR	NR	NR	Pos
73	NR	NR	NR	NR	Pos
74	NR	NR	Pos	Pos (26)	Pos
75	NR	NR	NR	NR	Pos
76	NR	NR	Pos	Pos (19)	Pos
77	NR	NR	NR	NR	Pos
78	NR	NR	NR	NR	Pos
79	NR	NR	Neg	Pos (35)	Pos
80	NR	NR	NR	NR	Pos
81	NR	NR	NR	NR	Pos
82	NR	NR	NR	NR	Pos
83	NR	NR	NR	NR	Pos
84	NR	NR	NR	NR	Pos
85	Pos	NR	NR	NR	NR
86	Pos	NR	NR	NR	NR
87	Pos	NR	NR	NR	NR
88	NR	NR	Pos	Pos (36)	Pos
89	Pos	NR	NR	NR	NR
90	Pos	NR	NR	NR	NR
91	NR	NR	NR	NR	Pos
92	Pos	NR	NR	NR	NR
93	Pos	NR	NR	NR	NR
94	Pos	NR	NR	NR	NR
95	Pos	NR	Pos	NR	Pos
96	Pos	NR	NR	NR	NR
97	Pos	NR	NR	NR	NR
98	Pos	NR	NR	NR	NR
99	Pos	NR	NR	NR	NR
100	Pos	NR	NR	NR	NR
101	Pos	NR	NR	Pos (16)	NR
102	Pos	NR	NR	NR	NR
103	Pos	NR	NR	NR	NR
104	Pos	NR	NR	NR	NR
105	Pos	NR	NR	NR	NR
106	Pos	NR	NR	NR	Pos
107	NR	NR	Neg	Pos (38)	Pos
108	NR	NR	Pos	NR	Pos
109	NR	NR	Pos	NR	NR
110	NR	NR	Pos	NR	NR
111	NR	NR	Pos	NR	NR
112	NR	NR	Pos	Pos (30)	NR
113	NR	NR	Pos	Pos (33)	Pos
114	NR	NR	Pos	NR	NR
115	NR	NR	Pos	Pos (32)	NR
116	NR	NR	Pos	Pos (35)	Neg
117	NR	NR	Pos	Pos (35)	Neg
118	NR	NR	Neg	Pos (37)	Neg
119	NR	NR	Pos	Pos (34)	Pos
120	NR	NR	Pos	Pos (34)	Pos
121	NR	NR	Pos	Pos (37)	Neg
122	NR	NR	Pos	Pos (31)	Neg

#### 4. RESULTADOS

Caso n.º	Giemsa	Tzank	RT-PCR fresco	RT-PCR papel (Ct)	HE
123	NR	NR	Pos	Pos (38)	Pos
124	NR	NR	Neg	Pos (36)	Pos
125	Neg	Neg	Pos	Pos (31)	NR
126	Neg	Neg	Pos	Pos (38)	NR

Ct, ciclo umbral; Neg, negativo; NR, no realizado; Pos, positivo; RT-PCR, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

Cuando el parásito no puede observarse en un frotis y es complicado realizar la biopsia, está indicado usar técnicas moleculares, para confirmar la presencia de *Leishmania* en la lesión.<sup>108</sup> En muchos casos, debido a la gran sensibilidad de la RT-PCR tanto en fresco como en papel, nuestra opinión es que sería aconsejable realizar una PCR sobre exudado antes de practicar una biopsia cutánea, que es un procedimiento más cruento.

Por otra parte, la toma de muestras en papel, además de permitir guardar la muestra durante largo tiempo sin necesidad de condiciones especiales de almacenamiento, es perfectamente utilizable puesto que los resultados de la RT-PCR fueron muy similares a los hallados a partir de muestra fresca. En estudios previos, realizados en 2011 y presentados en el congreso de la Asociación Española de Dermatología y Venereología,<sup>136</sup> ya se señalaba la utilidad de la recogida de muestra en papel. En estudios posteriores realizados en diversos países, se ha corroborado esta utilidad de la recogida en papel.<sup>137-141</sup>

Nuestros resultados con RT-PCR concuerdan con los datos aportados en las series publicadas por Aguado et al. (2013),<sup>95</sup> Garrido-Jareño et al. (2020)<sup>97</sup>, Giavedoni et al. (2015)<sup>142</sup> y Cardozo et al. (2020),<sup>143</sup> donde las pruebas RT-PCR fueron también de gran valor. Al igual que nosotros, estos autores aconsejan realizarlas, porque con ellas pudieron diagnosticar a pacientes con LC con resultados negativos o dudosos en otros tipos de pruebas.

Con respecto a la técnica de RT-PCR utilizada, cabe mencionar que puede realizarse con muy buenos resultados sobre muestras parafinadas,<sup>60,90,144</sup> aunque en este estudio no se aportan datos al respecto.

Tanto si se dispone de muestras de tejido fresco como de recogidas sobre papel o muestras parafinadas, las técnicas de biología molecular pueden ayudar a realizar el tipado a nivel de especie sin necesidad de tener un cultivo positivo del parásito, mediante una PCR-RFLP. Esta técnica puede ser interesante tanto epidemiológicamente como para el diagnóstico cuando se sospecha una infección por una especie distinta a *L. infantum*. Se realizó en uno de nuestros pacientes (caso n.º 11), una niña marroquí que viajó a su país de origen y al regresar presentó una LC. Para descartar una infección por *L. major*, se realizó una PCR-RFLP y se confirmó que la lesión era causada por *L. infantum* (ver Figura 49). Sin embargo, en la actualidad no existen procedimientos estandarizados, por lo que sería necesario desarrollarlos en un futuro para que puedan ser incluidos en la rutina en los laboratorios de microbiología y parasitología.<sup>65</sup>

#### 4.4.4. Resumen de los resultados de todas las pruebas diagnósticas

Los resultados de todas las técnicas y el diagnóstico de sospecha clínica inicial en los pacientes del estudio están resumidos en la **Tabla 23**. De los 126 pacientes, 85 tenían un

diagnóstico de sospecha clínica de LC, mientras que los otros 41 recibieron diferentes diagnósticos clínicos iniciales.

**Tabla 23.** Diagnóstico de sospecha clínica y resultados de todas las pruebas realizadas en los 126 pacientes

Diagnóstico de sospecha clínica, nº de casos	Diagnóstico directo		Diagnóstico molecular RT-PCR		Diagnóstico histopatológico
	Giemsa	Tzanck	Exudado/ biopsia	Papel	Biopsia
Leishmaniasis, 85	22/25	2/6	26/30	24/25	55/63(16*)
C. basocelular, 4	NR	NR	0/2 (2 NR)	2/2 (2 NR)	2/3 (1 NR)
C. escamoso, 3	NR	NR	2/2 (1 NR)	2/2 (1 NR)	2/3
Cicatriz, 1	NR	NR	NR	NR	1/1
Eccema, 1	NR	NR	1/1	1/1	1/1
Enf. granulomatosa, 1	NR	NR	1/1	1/1	1/1
Erisipela, 1	NR	NR	1/1	1/1	1/1
Foliculitis/cicatriz, 2	0/1 (1 NR)	0/1 (1 NR)	0/1 (1 NR)	0/1 (1 NR)	1/2
Forúnculo/Tiña, 3	1/1 (2 NR)	NR	2/2 (1 NR)	2/2 (1 NR)	3/3 (1*)
Granuloma actínico, 1	NR	NR	1/1	1/1	1/1
Granuloma piógeno, 1	NR	NR	1/1	1/1	0/1
Infección fúngica, 1	NR	NR	1/1	1/1	1/1 *
Linfoma, 3	NR	NR	1/1 (2 NR)	1/1 (2 NR)	2/3
Lipoma, 1	NR	NR	NR	NR	1/1
Liquen plano, 1	NR	NR	1/1	1/1	0/1
Mastocitoma, 1	1/1	NR	NR	NR	NR
Melanoma amelanótico, 1	NR	NR	NR	NR	1/1
Micobacteria, 2	NR	NR	2/2	2/2	NR
Micobacteria/hongo, 1	NR	NR	NR	NR	1/1
Nevus/picadura, 2	NR	NR	NR	NR	2/2
Paniculitis, 1	NR	NR	NR	NR	1/1
Pioderma gangrenoso, 1	NR	NR	NR	NR	1/1
Quiste, 1	NR	NR	NR	NR	1/1
Rosácea granulomatosa, 1	0/1	0/1	1/1	NR	1/1 *
Sarcoidosis, 1	NR	NR	1/1	1/1	0/1
Spitz, 1	NR	NR	NR	NR	1/1
Tiña, 1	NR	NR	1/1	1/1	0/1
Úlcera, 1	NR	NR	1/1	1/1	1/1
Verrugas/nevus, 1	NR	NR	1/1	1/1	1/1
Xantogranuloma, 1	0/1	NR	1/1	1/1	1/1 *

\*Diagnosticado posteriormente por biopsia. C, carcinoma; NR: no realizado; RT-PCR, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

#### 4.4.5. Resultados de RT-PCR en el grupo de pacientes con lesiones granulomatosas

Las lesiones granulomatosas inespecíficas debidas a una infección por *Leishmania* son frecuentes en la LC. En nuestro estudio, incluimos 12 pacientes con un informe inicial histopatológico no concluyente de lesiones granulomatosas o linfoplasmocitarias que podrían ser compatibles con una infección por *Leishmania*. Con el objetivo de confirmar una leishmaniasis, se estudiaron por RT-PCR muestras del exudado en fresco y recogidas en papel de las lesiones de estos pacientes.

Los resultados de la RT-PCR en papel fueron positivos en las 12 muestras estudiadas, mientras que la RT-PCR en fresco fue positiva en 10 pacientes y negativa en dos (**Tabla 24**).

Al determinar las cargas parasitarias presentes en las muestras expresadas en Cts, estas oscilaron entre 24 y 37. De los 12 pacientes con lesiones granulomatosas, solo en cuatro se sospechaba una posible leishmaniasis. Con respecto a la edad de estos pacientes, todos eran adultos excepto dos pacientes menores de 18 años.

**Tabla 24.** Pruebas RT-PCR para el diagnóstico de lesiones granulomatosas\* en nuestra serie (n = 12).

Caso n.º	Diagnóstico de sospecha	Diagnóstico molecular RT-PCR		Diagnóstico histopatológico		Grupo de edad, años
		Exudado /biopsia	Papel (Ct)	Biopsia	Informe histopatológico	
10	Leishmaniasis	Pos	Pos (27)	Neg	P. granulomatoso	Mayores de 65
12	Foliculitis	Neg	Pos (27)	Neg	P. granulomatoso	Mayores de 65
16	Tiña	Pos	Pos (36)	Neg	P. granulomatoso	Mayores de 65
18	Leishmaniasis	Pos	Pos (24)	Neg	P. granulomatoso	Mayores de 65
26	C. escamoso	Pos	Pos (37)	Neg	P. granulomatoso	Mayores de 65
28	Leishmania	Pos	Pos (36)	Neg	P.linfoplasmocitario	Menores de 18
44	Gr. piógeno	Pos	Pos (24)	Neg	P.linfoplasmocitario	De 18 a 65
116	Leishmaniasis	Pos	Pos (35)	Neg	P.linfoplasmocitario	Menores de 18
117	Liquen plano	Pos	Pos (35)	Neg	P. granulomatoso	De 18 a 65
118	C.basocelular	Neg	Pos (37)	Neg	P. granulomatoso	Mayores de 65
121	Sarcoidosis	Pos	Pos (37)	Neg	P.linfoplasmocitario	Mayores de 65
122	Linfoma	Pos	Pos (31)	Neg	P. granulomatoso	De 18 a 65

\*Lesiones únicas en los 12 pacientes. Neg, negativo; NR, no realizado; P, patrón; Pos, positivo; RT-PCR, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

En dos pacientes (casos n.º 12 y n.º 118), el diagnóstico de confirmación solo se consiguió con la RT-PCR sobre muestra recogida sobre papel, observándose Cts de 27 y 37. Estos resultados corroboran la utilidad de la RT-PCR para confirmar la presencia de *Leishmania* respecto a las técnicas directas en pacientes con diagnóstico de lesión granulomatosa y estarían de acuerdo con los datos aportados por Martín-Ezquerria et al. (2009).<sup>90</sup> En su estudio, a partir de 25 biopsias en parafina con diagnósticos no concluyentes (patrón granulomatoso inespecífico), se detectó DNA de *Leishmania* por RT-PCR en 13 casos. Además, en 7 de 8 PCR positivas la presencia de amastigotes se pudo demostrar por IHQ utilizando un anticuerpo anti-*Leishmania* policlonal de conejo.<sup>90</sup> Los autores demostraron la utilidad y el aumento de la sensibilidad diagnóstica de las pruebas PCR para detectar casos de leishmaniasis que pasan desapercibidos con las técnicas microbiológicas y histopatológicas. En un estudio más reciente, López-Trujillo et al. (2021)<sup>145</sup> confirman el valor que otras técnicas no moleculares, como la IHQ utilizando un anticuerpo anti-*Leishmania* policlonal de conejo o un anti-CD1a monoclonal, pueden tener para el diagnóstico de la LC. En la serie de Aguado et al. (2013),<sup>95</sup> el resultado del estudio histopatológico de las lesiones fue compatible con una dermatitis granulomatosa no necrotizante en cerca de dos terceras partes de los pacientes. Al no ser un resultado concluyente, se realizó una RT-PCR para *Leishmania* con muestras de biopsia.

#### 4.4.6. Lesiones y diagnóstico en los grupos de poblaciones especiales

Se incluyeron tres grupos de pacientes considerados poblaciones especiales: menores de 18 años, mayores de 65 años y pacientes con inmunodepresión. En cada uno de estos grupos, el diagnóstico y las características de las lesiones presentaron una serie de particularidades.

##### Pacientes menores de 18 años

##### Lesiones

En los pacientes menores de 18 años predominaron las lesiones únicas, como en las series de Daudén et al.,<sup>86</sup> Urrutia et al.,<sup>96</sup> Alcalde et al.<sup>98</sup> y Garrido-Jareño et al. (2020)<sup>97</sup> Solo en la serie de Fuenlabrada hubo más lesiones múltiples.<sup>95</sup> Las diferencias en la presentación clínica de la LC entre niños y adultos han sido investigadas por Dunya et al. (2020).<sup>146</sup> En comparación con los adultos (n = 224), los niños (n = 158) presentaron un mayor número de lesiones, ubicadas principalmente en el rostro (como en nuestra serie) y de tamaño mayor que en nuestra serie, donde el tamaño medio fue de 1 cm.

En nuestra serie, CC fue el área con más lesiones (25 de 29, un 86,2 %), seguida por el tronco (**Tabla 25**), lo que coincide con los artículos de Alcalde et al. (1989),<sup>98</sup> Daudén et al. (1990),<sup>99</sup> Urrutia et al. (2000),<sup>96</sup> Aksoy et al. (2016)<sup>147</sup> y Garrido-Jareño et al. (2020).<sup>97</sup> La afectación de CC en nuestros pacientes es normal por ser una zona expuesta a picaduras del flebótomo vector muchos meses al año.

**Tabla 25.** Tipo de afectación y localizaciones en los pacientes menores de 18 años por sexos y en total

Afectación	Localización	Sexo		Total
		H	M	
Múltiple	CC	4	34	7
Total múltiple		4	34	7
Única	CC	11	7	18
	EI	2	1	3
	T	1		1
Total única		14	8	22
Total lesiones		18	11	29

CC, cabeza y cuello; EI, extremidad inferior; ES, extremidad superior; H, hombre; M, mujer.

La **Tabla 26** muestra las lesiones más frecuentes en cada localización. En nuestra serie las lesiones eran pápulas y placas, con o sin costra, pero no observamos grandes úlceras. En el estudio de Aguado et al. (2013)<sup>88</sup> se observaron lesiones papulares y en placas en número similar al nuestro. En la de Garrido-Jareño et al. (2020),<sup>97</sup> se describen placas en pacientes inmunocompetentes. En cambio, en estudios llevados a cabo en Turquía, se hallaron muchas lesiones ulceradas.<sup>147</sup> Estas diferencias vienen dadas por la especie de *Leishmania* causante de la lesión, que en nuestra serie fue *L. infantum* y en la turca fue *L. tropica*.

**Tabla 26. Localizaciones y tipos de lesiones en los pacientes menores de 18 años por sexos y en total**

Localización	Tipo de lesión	Sexo		Total general
		H	M	
CC	Pápula	8	6	14
	Placa	7	4	11
Total CC		15	10	25
EI	Pápula	2	2	2
	Placa		1	1
Total EI		2	1	3
T	Placa	1		1
Total T		1		1

CC, cabeza y cuello; EI, extremidad inferior; ES, extremidad superior; H, hombre; M, mujer; T, tronco.

### Diagnóstico

El diagnóstico de la LC en niños puede ser difícil porque a veces la lesión puede confundirse con procesos tales como impétigo, prurigo, foliculitis, tumores benignos de la infancia y xantogranulomas.<sup>148</sup> Además, en ocasiones no se practican todas las pruebas necesarias para evitar procedimientos cruentos como la biopsia. En consecuencia, aumenta la posibilidad de errores diagnósticos. Garrido-Jareño et al. (2020)<sup>97</sup> solo realizaron tres biopsias en ocho niños y concluyeron que en los pacientes pediátricos primero hay que hacer un frotis con coloración de Giemsa y luego biopsia y técnicas de biología molecular. Sin embargo, y a pesar de las dificultades del diagnóstico de la LC, en nuestra serie e diagnóstico clínico en los menores de 18 años tuvo un alto grado de certeza clínica inicial: en 23 de 29 pacientes (66,7 %) se sospechó una LC como primera opción diagnóstica.

El uso de la RT-PCR en papel y en fresco junto con la coloración de Giemsa ha disminuido el número de biopsias practicadas para diagnosticar la LC en nuestro hospital. De 29 pacientes de 0 a 18 años, solo realizamos 14 biopsias: 10 con fines diagnósticos y otras 4 con fines académicos. Como Garrido-Jareño et al. (2020),<sup>97</sup> hemos usado el frotis en los menores más que en adultos, con la consiguiente disminución del número de biopsias.

Se practicó una biopsia en 10 pacientes y fue positiva en ocho. Asimismo, en cuatro de estos pacientes con biopsia positiva se realizaron pruebas RT-PCR en papel y en tejido fresco, siendo todas ellas positivas. Por lo tanto, la biopsia no era necesaria. Además, en las dos biopsias restantes el diagnóstico histopatológico fue de infiltrado linfoplasmocitario, que no se considera compatible con leishmaniasis pero que en nuestra área sí es sugestivo. En ambos casos, gracias a la RT-PCR en fresco y en el papel (cuyos resultados llegaron después de la biopsia), se diagnosticó la LC (resultados resaltados en amarillo en la **Tabla 27**). Otros autores coinciden con nosotros en preferir evitar la biopsia en los niños.<sup>149</sup> Más adelante se propone un protocolo para el diagnóstico de la LC en nuestra área, usando frotis para Giemsa o papel o estudio de PCR de tejido en fresco.

**Tabla 27.** Diagnóstico en los menores de 18 años sin diagnóstico parasitológico realizado y con biopsia y pruebas de biología molecular (n = 10).

Diagnóstico parasitológico	Frotis piel	Tzank	Giemsa	Diagnóstico histopatol.	PCR en fresco	PCR papel Whatman	Total
NR	NR	NR	NR	Negativo	+	+	2
					Total -		2
				Total histopatol. negativos			2
				+	+	+	4
					Total -		4
					NR	NR	4
					Total NR		4
				Total histopatol. +			8
			Total Giemsa NR				10
		Total Tzank NR					10
	Total frotis NR						10
Total diagnóstico parasitológico NR							10

NR, no realizado.

En los pacientes con diagnóstico parasitológico por visión directa del parásito o detección de material genético, se confirmaron 18 casos por frotis de piel y 1 sin frotis (**Tabla 28**). En este último caso, el material para la RT-PCR se recogió antes de la biopsia y, por lo tanto, el diagnóstico histopatológico fue posterior a la detección del DNA del parásito. De los 18 frotis realizados, 14 fueron positivos con la coloración de Giemsa y cuatro negativos. La RT-PCR en fresco fue positiva en los cuatro casos negativos con Giemsa y en un paciente se realizó RT-PCR en papel que fue positiva. Se hicieron tres test de Tzank y todos fueron negativos.

**Tabla 28.** Diagnóstico en los menores de 18 años con diagnóstico parasitológico y con o sin pruebas de biología molecular (n = 19).

Diagnóstico parasitológico	Frotis piel	Tzank	Giemsa	Diagnóstico histopatol.	PCR en fresco	PCR papel Whatman	Total
S	NR	NR	NR	S	+	+	1
					Total +		1
				Total S*			1
			Total NR				1
		Total Tzank no realizado					1
	Total frotis no realizado						1
	S	-	-	NR	+	+	2
					Total +		2
				Total NR			2
				S*	+	NR	1
					Total +		1
				Total S			1
				Total -			3
		Total Tzank -					3
		NR	-	S	+	+	1
					Total +		1
				Total S*			1
			Total Giemsa -				1
			+	NR	NR	NR	13

#### 4. RESULTADOS

Diagnóstico parasitológico	Frotis piel	Tzank	Giemsa	Diagnóstico histopatol.	PCR en fresco	PCR papel Whatman	Total
					Total NR		13
				Total NR			13
				S*	NR	NR	1
				Total +			1
				Total positivos			1
			Total Giemsa +				14
		Total Tzank NR					15
	Total frotis realizado						18
Total diagnóstico parasitológico realizado							19

Mayores de 65 años

#### Lesiones

Como en el conjunto de la serie, la mayoría de las lesiones fueron únicas y la localización preferente fue en CC. En cuanto al tipo de lesiones, se observaron pápulas y placas sin diferencias notables. En ambos sexos, la afectación más frecuente fue la lesión única localizada en CC. Solo dos pacientes, ambos varones, presentaron afectación múltiple (**Tabla 29**). En cuanto al tipo de lesión, la mayoría de pápulas y placas estaban en CC en ambos sexos (**Tabla 30**).

**Tabla 29. Tipo de afectación y localización según el sexo y totales en pacientes mayores de 65 años (n = 33)**

Afectación	Localización	Sexo		Total
		M	H	
Múltiple	CC	0	2	2
Total múltiple		0	2	2
Única	CC	17	4	21
	EI	3	3	6
	ES	2	2	4
Total única		22	9	31
Total lesiones		22	11	33

CC, cabeza y cuello; EI, extremidad inferior; ES, extremidad superior; H, hombre; M, mujer.

**Tabla 30. Localización y tipo de lesión según el sexo y totales en mayores de 65 años (n = 33)**

Localización	Tipo de lesión	Sexo		Total
		M	H	

CC	Pápula	9	3	12
	Placa	8	3	11
Total CC		17	6	23
EI	Pápula	3	2	5
	Placa	0	1	1
Total EI		3	3	6
ES	Pápula	1	0	1
	Placa	1	2	3
Total ES		2	2	4

CC, cabeza y cuello; EI, extremidad inferior; ES, extremidad superior; H, hombre; M, mujer.

### Diagnóstico

El diagnóstico parasitológico fue positivo en nueve pacientes y no se realizó en 24 pacientes. A su vez, el diagnóstico histopatológico fue positivo en 20 pacientes, negativo en siete pacientes y no se realizó en seis. La RT-PCR en fresco fue positiva en 11 pacientes, negativa en 4 y no se realizó en 18. La RT-PCR en papel Whatman fue positiva en 13 pacientes y no se realizó en 20 pacientes, sin que hubiera ningún negativo (**Tabla 31**).

El hallazgo más destacado corresponde a la paciente n.º 12, una mujer de 72 años inmunocompetente con diagnóstico de sospecha inicial de foliculitis. Dada la historia y la evolución de la paciente, se decidió investigar una posible leishmaniosis. Un frotis con tinción de Giemsa y test de Tzank, una biopsia con estudio histopatológico y una PCR en fresco fueron negativas. Sin embargo, se había solicitado una PCR en papel de filtro Whatman, que fue positiva para *Leishmania*. Este resultado destaca el valor de la PCR en papel en el diagnóstico de la leishmaniosis, porque permite detectar casos que de otro modo quedarían sin diagnóstico ni tratamiento.

En otros tres pacientes, la PCR en fresco fue negativa pero la PCR en papel fue positiva.

**Tabla 31. Resultados de las pruebas diagnósticas en los pacientes mayores de 65 años (n = 33)**

Diagnóstico parasitológico	Diagnóstico histopatológico	RT-PCR en fresco	RT-PCR papel Whatman	Total
NR	N	-	+	1
		Total -		1
		+	+	5
		Total +		5
	Total N			6
	S	-	+	1
		Total -		1
		+	+	2
		Total +		2
		NR	NR	15
		Total NR		15
	Total S			18
Total NR				24
S	N	-	+	1
		Total -		1
	Total N			1
	NR	-	+	1
		Total -		2
		+	+	1

#### 4. RESULTADOS

Diagnóstico parasitológico	Diagnóstico histopatológico	RT-PCR en fresco	RT-PCR papel Whatman	Total
			NR	2
		Total +		3
	Total NR			6
	S	+	+	1
		Total +		1
		NR	NR	1
		Total NR		1
	Total S			2
Total S				33

NR, no realizado; S, sí; N, negativo; +, positivo; -, negativo.

#### Pacientes con inmunodepresión

Los pacientes con inmunodepresión son más propensos a las infecciones oportunistas. Por ejemplo, la leishmaniasis se ha asociado a la inmunodepresión provocada por tratamientos anti-TNF $\alpha$ . En un estudio retrospectivo de Bosch-Nicolau *et al.* (2019),<sup>150</sup> el mayor uso de estos fármacos se acompañó de un aumento de los casos de leishmaniasis, que en un 57 % de pacientes fue una LC. En algunos casos, podría tratarse de una reactivación y no una infección reciente. Los datos aportados por este estudio sugieren que se debe vigilar la aparición de la enfermedad en los pacientes tratados con un anti-TNF $\alpha$  y que residan o provengan de zonas con leishmaniasis endémica.<sup>150</sup>

De los 126 pacientes incluidos en el estudio, nueve presentaban algún tipo de inmunodepresión. Eran tres mujeres y seis hombres, con una media de edad de 56 años y un rango de 48 a 78 años. La causa más frecuente de inmunodepresión fue el tratamiento con inmunodepresores, en especial los fármacos anti-TNF $\alpha$  (**Tabla 32**).

**Tabla 32. Causas de inmunodepresión en pacientes de nuestra serie (n = 9)**

Caso n.º	Causa de la inmunodepresión	Enfermedad o proceso de base
8	Tratamiento con corticoesteroides	Artritis reumatoide
16	Tratamiento con tacrolimus	Trasplante
55	Tratamiento con adalimumab	Psoriasis
62	Tratamiento con adalimumab	Enfermedad de Crohn
81	Tratamiento con adalimumab	Psoriasis
91	Tratamiento con infliximab	Enfermedad de Crohn
95	Tratamiento con infliximab	Enfermedad de Crohn
111	Pancitopenia	Leucemia
113	Tratamiento con certolizumab/metotrexato	Artritis reumatoide

#### Lesiones

Como en el resto de la serie, en los pacientes con inmunodepresión la lesión única fue más frecuente que las lesiones múltiples. De los nueve pacientes, solo dos (casos n.º 95 y n.º 113) presentaron lesiones múltiples. En la Tabla A1.1 del Anexo consta que el paciente del caso n.º 95 presentó lesiones en tres localizaciones y el paciente del caso n.º 113 en cuatro localizaciones. Sin embargo, el caso de este último paciente fue más complejo, ya

que se trataba de una LC difusa con 12 lesiones eritematosas entre 1 cm y 6 cm de diámetro y localizadas en cuero cabelludo, mejilla, región umbilical y ambas EI.

En cuanto al tipo de lesiones, hubo más placas que pápulas, lo que coincide con lo descrito en la literatura.<sup>151,152</sup> Se observaron placas en seis pacientes y pápulas en los otros tres. Esta diferencia en la forma de presentación de la enfermedad también se observó en un estudio retrospectivo de casos y controles realizado en cinco hospitales de la cuenca mediterránea. Mediante una revisión de historias clínicas, se identificaron y compararon pacientes con leishmaniasis e inmunodepresión (n = 43) y pacientes con leishmaniasis e inmunocompetentes (n = 82). En este estudio, las pápulas fueron más frecuentes en los pacientes inmunocompetentes ( $p < 0,001$ ).<sup>155</sup> En lo referente al tamaño, el diámetro de la lesión de mayor tamaño era entre 6 y 10 mm en seis de los nueve pacientes.

La localización más habitual de las lesiones fue en EI (**Tabla 33**), mientras que en la población general del estudio fue en CC. En los dos pacientes con inmunodepresión y lesiones múltiples (casos n.º 95 y n.º 113), estas eran de tipo placa y más ulceradas que en los pacientes con un estado inmunitario normal. Asimismo, en el paciente del caso n.º 113, siete de las 12 lesiones tenían costra y un borde sobreelevado.<sup>156</sup> Estos hallazgos coinciden con las descripciones de otros estudios en pacientes con LC e inmunodepresión debida a un tratamiento con un anti-TNF $\alpha$ .<sup>97,142,151,152</sup> Las lesiones encontradas por Marcoval et al. (2017)<sup>151,152</sup> eran múltiples, de mayor tamaño, con costra y erosionadas. A veces, las lesiones no mejoraron con el tratamiento, como ocurrió en nuestro caso n.º 113.

**Tabla 33. Afectación y tipo de lesión en los pacientes con inmunodepresión (n = 9)**

Afectación	Localización	Total
Múltiple	Placa	2
Total múltiple		2
Única	Pápula	3
	Placa	4
Total única		7

Ningún paciente desarrolló una LV a pesar de su estado de inmunodepresión. Sin embargo, deberá realizarse un seguimiento estrecho de todos ellos con técnicas serológicas como ELISA o Western blot, tal como hicimos en un paciente con inmunodepresión por un tratamiento con un anti-TNF $\alpha$  que presentó una leishmaniasis grave con múltiples lesiones (caso n.º 113).<sup>156</sup> Se detectó el parásito en sangre periférica, así como un aumento importante de anticuerpos específicos, por lo que había riesgo de que la enfermedad se convirtiera en una LV. No obstante, seis meses después de un tratamiento con anfotericina B liposomal y la retirada del anti-TNF $\alpha$ , todas las lesiones habían curado. A los doce meses, la RT-PCR fue negativa. Los controles periódicos con ELISA mostraron una disminución progresiva de los anticuerpos.<sup>156</sup> En el citado estudio de casos y controles, no se hallaron diferencias entre ambos grupos en cuanto a parámetros clínicos y analíticos relacionados con la LV. Los hallazgos del estudio sugirieron que el riesgo de LV no aumenta en pacientes con LC e inmunodepresión.<sup>157</sup>

### Diagnóstico

En seis pacientes (66,7 %), la primera o segunda opción diagnóstica no fue la leishmaniasis, sino que se sospecharon otras enfermedades cutáneas de causa bacteriana, micótica, tumoral o inflamatoria (**Tabla 34**). Solo tres pacientes tuvieron un diagnóstico clínico de certeza (casos n.º 81, n.º 111 y n.º 113). Por lo tanto, la certeza diagnóstica en los pacientes con inmunodepresión fue del 33,3 %. En cambio, en los 119 pacientes inmunocompetentes, hubo 35 casos (30 %) en los que la opción diagnóstica inicial no era la leishmaniasis, lo que implica que la certeza diagnóstica fue del 70 %. Esta diferencia sugeriría que la presentación atípica de la LC es más frecuente en los pacientes con inmunodepresión. Giavedoni et al. (2015)<sup>142</sup> y Marcoval et al. (2017)<sup>151,152</sup> también comentan la dificultad del diagnóstico clínico de la LC en pacientes con inmunodepresión.

En los pacientes de nuestra serie se realizaron diferentes pruebas diagnósticas con resultados variables (**Tabla 34**). La mayoría de las lesiones se estudiaron por histología y RT-PCR en fresco y en papel y solo se realizó Giemsa en una lesión. En las lesiones de siete pacientes, el estudio histopatológico fue positivo. No obstante, en las lesiones de otros dos pacientes (casos n.º 16 y n.º 113), el diagnóstico solo se obtuvo por RT-PCR. El paciente del caso n.º 16 presentaba lesiones con un patrón granulomatoso inespecífico y también se ha incluido dentro del grupo de pacientes con lesión granulomatosa (ver Tabla 24). En las lesiones de los dos pacientes que solo pudieron ser diagnosticados por RT-PCR en papel y en fresco, la cuantificación de la carga parasitaria fue baja, con unos valores de Ct de las RT-PCR en papel que oscilaron entre 27 y 37. En el caso n.º 16, con un diagnóstico histopatológico de patrón granulomatoso, ambas RT-PCR fueron positivas para *Leishmania* y el paciente pudo ser diagnosticado y tratado correctamente. No obstante, en la consulta dermatológica no siempre se pide una RT-PCR cuando los estudios de observación directa del parásito o histopatológicos son negativos o no concluyentes. Por otra parte, a veces la RT-PCR se solicita para averiguar la especie de *Leishmania*, como en el estudio de Sirekbasan et al. (2019)<sup>153</sup> o con fines de investigación. Por otra parte, a veces la RT-PCR se solicita para averiguar la especie de *Leishmania*, como en el estudio de Sirekbasan et al. (2019)<sup>153</sup> o con fines de investigación.

En otro paciente (caso n.º 111) se realizó RT-PCR de tejido fresco de la lesión, pero no RT-PCR en papel. Tal como se procedió en el citado estudio de Sirekbasan et al. (2019),<sup>153</sup> la muestra se obtuvo frotando un bisturí en la lesión y recogiendo tejido fresco aunque posteriormente se realizó una biopsia para estudio histopatológico que fue positivo. Autores como Merino-Espinosa et al. (2018) aconsejan combinar ambos tipos de pruebas.<sup>154</sup> En un estudio en 77 pacientes se investigaron diversos tipos de pruebas RT-PCR en muestras frescas y de biopsia fresca y parafinada, pero ninguna prueba detectó todos los casos de leishmaniasis. Estos autores recomiendan incluso la combinación de pruebas más adecuada para zonas como la nuestra, donde *L. infantum* es endémica: RT-PCR-ELISA junto con JW13/JW14-RT-PCR.<sup>154</sup>

**Tabla 34.** Resultados de la diferentes técnicas diagnósticas en los pacientes inmunodeprimidos incluidos en el estudio (n = 9)

Caso n.º	Diagnóstico de sospecha	Giemsa	RT-PCR		Diagnóstico histopatológico
			Fresco	Papel (Ct)	

8	Carcinoma basocelular	NR	NR	NR	Pos
16	Tiña	NR	Pos	Pos (36)	Neg
55	Forúnculo/tiña	NR	NR	Pos (37)	Pos
62	Úlcera	NR	Pos	Pos (27)	Pos
81	<i>Leishmaniasis</i>	NR	NR	NR	Pos
91	Pioderma gangrenoso	NR	NR	NR	Pos
95	Forúnculo	Pos	Pos	NR	Pos
111	<i>Leishmaniasis</i>	NR	Pos	NR	Pos
113	<i>Leishmaniasis</i>	NR	Pos	Pos (33)	NR

Neg, negativo; NR, no realizado; Pos, positivo; RT-PCR, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

El diagnóstico fue parasitológico<sup>a</sup> en tres pacientes. En uno de ellos, por frotis (Giemsa) y PCR sobre tejido fresco, aunque las pruebas de biología molecular en este paciente no eran necesarias. En los otros dos pacientes, con coloración de Giemsa no realizada, la RT-PCR en fresco dio el diagnóstico. Hubo además un caso que también se envió para diagnóstico molecular en papel de filtro y fue positivo. También se realizaron dos biopsias cutáneas superfluas. Para evitar pruebas diagnósticas innecesarias, es necesario contar con un protocolo de actuación como el que proponemos más adelante en este documento.

Realizamos siete biopsias como método diagnóstico, con cinco resultados positivos compatibles con leishmaniasis en el estudio histopatológico. En el paciente del caso n.º 16, se observó un patrón granulomatoso sugestivo de leishmaniasis pero no definitivo. En las pruebas de biología molecular, tanto la RT-PCR en papel como en fresco fueron positivas para *Leishmania*, lo que significa que una de las dos técnicas no hubiera sido necesaria. Usar una u otra dependerá de la rapidez y la disponibilidad de cada prueba.

En los pacientes de los casos n.º 55 y n.º 62, las técnicas de biología molecular no eran necesarias, porque habíamos elegido la biopsia como primer método diagnóstico. Sin embargo, según el protocolo que proponemos más adelante, habríamos optado por un frotis con coloración de Giemsa o técnicas de biología molecular (RT-PCR en fresco, en papel o ambas) como primera prueba para el diagnóstico de la LC.

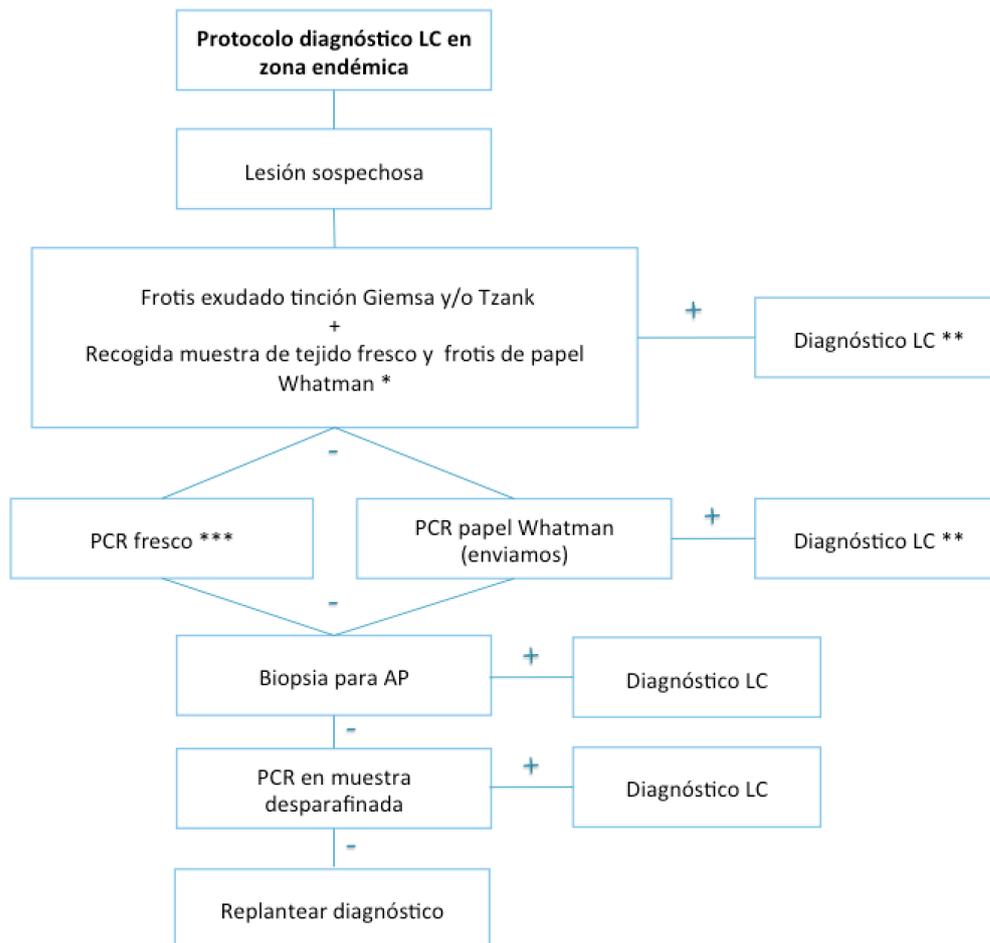
En un noveno paciente (caso #113), no se realizó biopsia porque ya teníamos una RT-PCR en fresco positiva para *Leishmania* (Tabla 34, arriba).

En cambio, en la serie de Marcoval et al. (2017),<sup>151,152</sup> el diagnóstico de todos los pacientes se hizo por biología molecular.

<sup>a</sup> Cuando decimos parasitológico, nos referimos a la visión directa del parásito o a la detección de ADN de *Leishmania*, siempre que no se hubieran hallado amastigotes en el estudio histopatológico de tejido de la biopsia.

4.4.7. *Propuesta de protocolo diagnóstico de la leishmaniasis cutánea en zona endémica*

Dentro del marco de la presente tesis, se ha desarrollado una propuesta de protocolo diagnóstico de la LC en zonas endémicas como las Islas Baleares (**Figura 66**).



\* Recogemos muestra, pero todavía no la enviamos a analizar.

\*\* Si quisiéramos continuar el estudio de la LC con fines académicos, seguiríamos con el protocolo diagnóstico para obtener el resultado de las demás pruebas.

\*\*\* Podemos utilizar la muestra obtenida del exudado o recoger tejido fresco rascando con bisturí.

AP: Servicio de Anatomía Patológica: estudio histopatológico, tinción HE e inmunohistoquímica.

**Figura 66.** Protocolo para el diagnóstico de la LC en zona endémica. Fuente: elaboración propia.

4.5. Tratamiento

Consideraciones generales

El tratamiento de la LC tiene como objetivos acelerar la curación, minimizar la cicatriz residual y frenar el avance de la enfermedad.<sup>158</sup> Sin embargo, debe tenerse en cuenta que

factores como el estado del sistema inmune del paciente o la especie de *Leishmania* pueden influir en el resultado del tratamiento.<sup>95</sup>

En ocasiones, no es posible determinar la especie de *Leishmania*, por lo que es difícil decidir el tratamiento más adecuado. En nuestra serie, que representa a nuestra área, todas las leishmanias se catalogaron como *L. infantum*. En caso de duda, se realizó la diferenciación de la especie mediante el genotipado por PCR-RFLP.

Otro factor a tener en cuenta y que dificulta la elección del tratamiento de la LC es que los resultados obtenidos en un estudio en un país determinado no necesariamente son extrapolables a la práctica clínica en otros países. La causa es que una misma especie de *Leishmania* puede responder de manera distinta a determinado fármaco según la zona del mundo en la que se ha producido el contagio.<sup>159</sup>

En general, por parte del clínico se prefieren los tratamientos locales, que son menos tóxicos. Los tratamientos sistémicos se reservan para casos complejos.<sup>159</sup> Por ejemplo, pacientes con lesiones de gran tamaño o con inmunodepresión, o cuando las lesiones persisten a pesar de haber probado todas las opciones de tratamiento local y métodos físicos.

En los apartados siguientes se describe el tratamiento y la evolución de todos los pacientes de nuestra serie y de distintos subgrupos (menores de 18 años, mayores de 65 años y pacientes con inmunodepresión) de la misma. Además, en la **Tabla 36** se muestra el resumen de características de las lesiones, su tratamiento y el tiempo de evolución hasta la curación en los 126 pacientes. En los casos con afectación múltiple, solo se describe la primera lesión y su tratamiento. Para la descripción y el tratamiento de todas las lesiones múltiples, consulte la Tabla A1 del Anexo.

**Tabla 35. Sexo, edad, características de las lesiones, primer tratamiento y tiempo de evolución en los pacientes de nuestra serie**

Caso n.º	Sexo	Edad	Afectación*	Tipo de lesión	Tamaño (mm)	Localización	Área	Tratamiento	Tiempo de evolución (días)
1	M	52	U	P	5	Mejilla D	CC	AMx5	90
2	H	10	U	PL	13	Mejilla D	CC	AMx8	477
3	H	11	U	P	7	Mejilla I	CC	AMx3	120
4	H	60	ML	PL	13	Codo I	ES	AMx3	131
5	M	68	U	P	6	Mejilla D	CC	AMx3	283
6	H	45	U	PL	10	Mejilla D	CC	AMx3	153
7	H	26	U	PL	15	Antebrazo I	ES	AMx3	42
8	H	54	U	P	5	Muslo I	EI	AMx3	164
9	H	62	U	P	8	Mejilla I	CC	AMx3	85
10	M	66	U	P	7	Piernas	EI	NR	92
11	M	26	U	P	6	Mejilla I	CC	AMx3	105
12	M	72	U	P	7	Mentón	CC	AMx3	92
13	H	79	ML	PL	40	Mejilla I	CC	AMx3	113
14	H	77	U	P	11	Dorso nariz	CC	Crio	92
15	M	63	MC	UL	9	Fosa nasal I	CC	AnfB	175
16	H	66	U	PL	80	Dorso mano I	ES	Punch	61
17	M	53	U	P	6	Nariz	CC	AMx3	78

4. RESULTADOS

Caso n.º	Sexo	Edad	Afectación*	Tipo de lesión	Tamaño (mm)	Localización	Área	Tratamiento	Tiempo de evolución (días)
18	H	75	U	PL	14	Zona parietal I	CC	Qx	0
19	M	64	U	PL	10	Antebrazo I	ES	NR	3
20	M	43	U	PL	17	Mano D	ES	Qx	0
21	H	59	U	PL	12	Cuero cabelludo	CC	AMx1	31
22	H	41	U	P	7	Muslo D	EI	AMx4	111
23	M	23	U	P	5	Mejilla I	CC	NR	90
24	H	62	U	PL	20	Pierna D	EI	AMx4	228
25	M	77	U	P	6	Zona malar I	CC	AMx2	385
26	M	74	U	P	7	Pabellón auricular D	CC	Qx	61
27	M	41	ML	PL	10	Antebrazo D	ES	AMx3	230
28	H	10	U	P	5	Pabellón auricular	CC	AMx2	55
29	M	80	U	P	7	Zona malar D	CC	Qx	231
30	M	9	U	P	3	Mejilla I	CC	AMx3	111
31	H	9	ML	PL	12	Frente	T	AMx3	70
32	M	52	U	P	9	Brazo D	ES	AMx2	92
33	M	52	U	P	5	Surco intermamario	T	AMx3	246
34	M	78	U	P	5	Zona preauricular I	CC	AMx1	62
35	H	78	U	P	9	Muslo D	EI	AMx1	95
36	H	40	U	P	8	Cuero cabelludo	CC	AMx2	88
37	H	42	ML	PL	10	Mano I	ES	AMx3	122
38	M	59	U	PL	20	Codo I	ES	AMx8	269
39	H	37	ML	P	9	Canto interno ojo D	CC	AMx4	149
40	M	69	U	P	6	Mano I	ES	AMx2	258
41	H	11	ML	PL	14	Muslo I	CC	AMx2	227
42	H	22	U	P	6	Antebrazo I	ES	AMx5	105
43	M	69	U	PL	10	Antebrazo D	ES	AMx1	109
44	H	22	U	PL	10	Frente	CC	AMx6	259
45	H	19	U	PL	10	Mano I	ES	NR	90
46	M	45	U	P	4	Brazo I	ES	AMx2	39
47	H	1	ML	PL	15	Frente	CC	AMx7	140
48	H	55	U	PL	15	Zona posterior del cuello	CC	AMx4	94
49	M	57	U	PL	15	Espalda	T	AMx3	90
50	M	71	U	PL	10	Zona parietal I	CC	NR	160
51	H	82	U	PL	20	Zona parietal I	CC	AMx2	212
52	M	79	U	PL	11	Frente	CC	AnfB+I	568
53	M	35	U	PL	30	Mejilla D	CC	AMx4	235

Caso n.º	Sexo	Edad	Afectación*	Tipo de lesión	Tamaño (mm)	Localización	Área	Tratamiento	Tiempo de evolución (días)
54	M	86	U	PL	20	Frente	CC	AMx4	102
55	H	49	U	P	9	Mentón	EI	AMx3	112
56	M	66	U	PL	10	Brazo D	CC	NR	90
57	H	53	U	PL	10	Abdomen	T	AMx4	97
58	H	44	U	P	8	Muslo I	EI	AMx3	122
59	M	5	U	PL	14	Brazo I	CC	I	97
60	M	0	ML	P	3	Frente	CC	AMx2	92
61	H	51	U	PL	10	Brazo D	ES	AMx4	112
62	M	56	U	PL	10	Pie	EI	AMx3	110
63	M	70	U	PL	15	Mejilla I	CC	AMx4	80
64	M	33	ML	P	5	Escápula D	T	AMx2	128
65	H	32	ML	P	3	4º dedo mano I	ES	AMx3	114
66	M	85	U	P	7	Zona laterocervical I	CC	AMx2	92
67	H	51	U	P	7	Extremidad superior I	ES	AMx4	104
68	M	49	U	PL	10	Frente	CC	AMx2	76
69	M	82	U	P	6	Zona pretibial D	EI	AMx4	165
70	M	56	U	PL	10	Cuello I	CC	AMx2	91
71	H	85	ML	P	7	Mejilla I	CC	AMx1	78
72	H	35	ML	P	9	Brazo D	ES	AMx4	55
73	H	42	U	PL	30	Antebrazo D	ES	AMx1	2
74	M	5	ML	PL	10	Cuello	CC	AMx2	192
75	M	14	U	P	5	Mejilla I	CC	AMx2	107
76	M	79	U	P	7	Nariz	CC	AMx2	63
77	M	52	U	P	4	Antebrazo D	ES	AMx2	49
78	M	65	U	P	7	Cuello D	CC	AMx2	132
79	M	47	ML	P	3	Ceja D	CC	Triamcinolona	105
80	M	49	ML	P	5	Mejilla D	CC	AMx4	97
81	M	49	U	PL	10	Mejilla I	CC	AMx2	104
82	H	48	U	P	3	Pabellón auricular D	CC	AMx4	63
83	M	47	U	P	9	Espalda	T	NR	90
84	M	43	U	P	6	Brazo D	ES	NR	90
85	H	1	U	P	8	Pabellón auricular I	CC	I	81
86	H	11	U	P	3	Mejilla I	CC	AMx2	60
87	H	3	U	PL	10	Mejilla I	CC	AMx2	94
88	M	1	U	PL	10	Frente	CC	AMx1	301
89	M	4	ML	P	6	Mejilla	CC	AMx4	516
90	H	2	U	PL	4	Frente	CC	AMx3	105
91	H	57	U	PL	10	Pierna I	EI	AMx3	114
92	M	10	U	P	8	Mejilla	CC	AMx5	124

#### 4. RESULTADOS

Caso n.º	Sexo	Edad	Afectación*	Tipo de lesión	Tamaño (mm)	Localización	Área	Tratamiento	Tiempo de evolución (días)
93	H	74	U	P	5	Pierna D	EI	AMx4	70
94	M	2	U	P	6	Dorso nariz	CC	AMx1	224
95	H	48	ML	PL	11	Tórax	T	AMx3	457
96	M	83	U	PL	15	Mejilla D	CC	AMx3	637
97	M	54	U	PL	11	Mejilla D	CC	AMx2	23
98	H	6	U	P	8	Z. malar I	CC	AMx2	134
99	M	4	U	PL	10	Mejilla I	CC	AMx3	512
100	H	4	U	P	8	Frente	CC	Diprogenta	18
101	M	55	ML	P	7	Mejilla D	CC	AMx3	84
102	H	36	U	P	8	Dorso nariz	CC	AMx1	35
103	H	4	U	P	12	Mejilla D	CC	AMx2	80
104	H	4	U	P	5	Frente	EI	AMx4	56
105	H	4	U	PL	60	Z. mandibular I	CC	AMx3	55
106	M	81	U	PL	12	Nariz	CC	AMx2	52
107	H	49	U	PL	20	Antebrazo I	ES	AMx3	154
108	H	62	MC	UL	8	Fosa nasal D	CC	AnfB	56
109	M	33	U	PL	10	Pierna I	EI	Decloban	292
110	M	59	ML	P	6	Muñeca D	ES	AMx3	307
111	M	78	U	P	6	Pierna	EI	AMX3	61
112	H	50	U	PL	10	Dorso mano D	ES	AMx2	266
113	H	55	ML	PL	10	Muslo I	EI	AnfB	344
114	M	26	U	P	6	Dorso 2º dedo mano D	ES	Clindamicina	89
115	H	70	U	PL	11	Codo I	ES	N/C	90
116	H	12	U	P	8	Tobillo D	CC	AMx2	31
117	M	44	U	P	8	Tórax	T	N/C	92
118	M	81	U	PL	12	Mejilla D	CC	Qx	81
119	H	0	ML	PL	13	Escápula D	CC	AMx3	217
120	H	28	U	PL	13	Mano D	ES	AMx1	30
121	H	70	U	PL	12	Ambos muslos	EI	N/C	90
122	M	59	U	PL	10	Codo D	ES	AMx2	61
123	M	50	U	PL	10	Codo	ES	AMx2	62
124	H	67	U	P	7	Párpado superior	CC	N/C	90
125	H	7	U	P	4	Mejilla I	EI	AMx2	120
126	M	16	U	PL	15	Muslo D	EI	AMx2	56
Pacientes con inmunodepresión									

AnfB, anfotericina B liposomal; AMxn, número de administraciones de antimonio de meglumina intralesional; CC, cabeza y cuello; D, derecho/a; EI, extremidad inferior; ES, extremidad superior; H, hombre; I, izquierdo/a; M, mujer; MC, mucosa; ML, múltiple; P, lesión papulosa; PL, placa; T, tronco; U, única; UL, úlcera; Z, zona.

\*En los pacientes con afectación múltiple, se describe la primera lesión y su tratamiento.

#### 4.5.1. Pacientes sin tratamiento

A pesar de que es adecuado tratar la LC, muchos pacientes no reciben tratamiento farmacológico debido a que, en ocasiones, la enfermedad puede resolverse de manera espontánea y una conducta expectante (*wait and see*)<sup>160</sup> sería suficiente. En una nuestra serie solo hubo 12 pacientes (9,5 %) sin tratamiento. Cuatro de ellos no regresaron a la consulta después de ser diagnosticados, por lo que no dispusimos de información respecto a la curación o una posible recidiva. En otros ocho (cuatro?) pacientes, se decidió mantener una conducta expectante (*wait and see*); el seguimiento clínico mostró que las lesiones curaron espontáneamente y solo uno de ellos sufrió una recidiva.

No obstante, y aunque no se dispone de demasiados datos sobre la curación espontánea de lesiones por *L. infantum*,<sup>159</sup> hay que suponer que muchas lesiones cutáneas pequeñas, que los pacientes creen que son picaduras de insecto, en realidad son leishmaniasis que se resuelven sin necesidad de tratamiento. En esta curación espontánea puede influir la especie de *Leishmania* infectante, pero sobre todo se debe a la respuesta inmunitaria del huésped, con una potente inmunidad celular que controla la proliferación de leishmanias.<sup>161</sup> En nuestra serie, con *L. infantum* como único agente causal, se observó la desaparición de las lesiones en 6 pacientes (4,7 %) después de la realización de un frotis o una biopsia. Si comparamos nuestros resultados con los de la serie de Fuenlabrada en ese brote epidémico con *L. infantum*, el porcentaje de pacientes sin tratamiento específico fue mayor, un 21 % (32 pacientes de un total de 149). En 15 de estos pacientes la lesión curó espontáneamente y en otros ocho la lesión fue diagnosticada y extirpada con la biopsia cutánea. Los nueve pacientes restantes no acudieron de nuevo a la consulta y no pudo hacerse un seguimiento.<sup>95</sup>

Otros autores han observado que es posible la curación espontánea de las lesiones sin tratamiento, en muchos casos en pocos meses y sobre todo en casos leves y formas zoonóticas causadas por *L. major*.<sup>162,163</sup>

#### 4.5.2. Pacientes con tratamiento

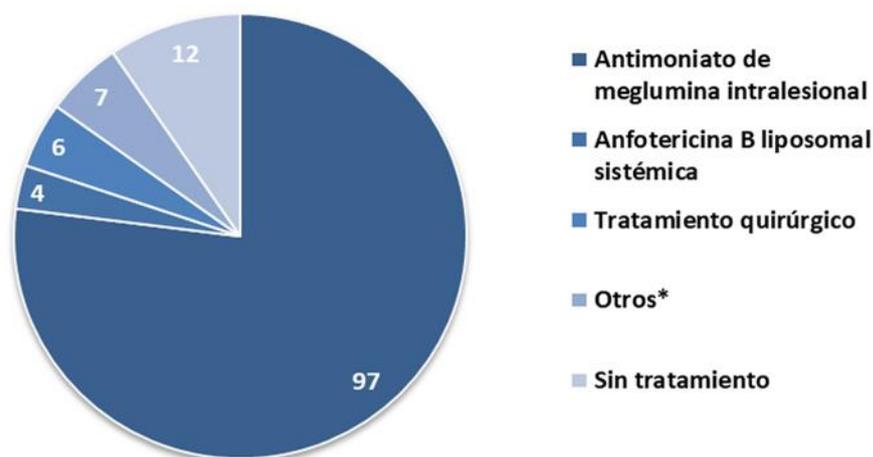
Como se ha comentado en el apartado anterior, a pesar de que la LC puede curar espontáneamente, en general se aconseja iniciar un tratamiento por tres motivos principales relacionados con la afectación de áreas expuestas e importantes desde el punto de vista cosmético, el riesgo de afectación mucosa y el posible riesgo de diseminación.<sup>158,164</sup>

Antes de pautar un tratamiento de la LC, el médico debe informar al paciente de la posibilidad de desaparición espontánea de las lesiones de la LC. Sin embargo, ha de ofrecerle opciones para el tratamiento porque las lesiones pueden persistir largo tiempo y dejar cicatrices muy antiestéticas. Al mismo tiempo, debe explicarle que la eficacia de algunos tratamientos no está del todo demostrada.<sup>162,163</sup>

Las opciones terapéuticas incluyen fármacos tópicos, intralesionales y sistémicos, así como métodos físicos. No obstante, los estudios clínicos de los diferentes tratamientos, solos o asociados, no son del todo concluyentes.<sup>162,163</sup> Por ejemplo, en una revisión Cochrane se incluyeron 89 estudios sobre el tratamiento de la LC, pero en 29 de ellos no se aisló la especie de *Leishmania*.<sup>163</sup> Una evidencia sólida, procedente de estudios clínicos aleatorizados, no es habitual para los tratamientos de la LC. Según nuestro conocimiento, no se ha realizado ningún estudio aleatorizado y controlado con *L. infantum* en el área mediterránea.

#### 4. RESULTADOS

En nuestra serie, 114 de los 126 pacientes (90,4%) recibieron tratamiento farmacológico. Los tratamientos de primera línea fueron, mayoritariamente, AM intralesional (n = 97) y AnfB liposomal sistémico (n = 4). Otros pacientes recibieron tratamiento quirúrgico (n = 6) u otros fármacos como imiquimod (n = 7), mientras que 12 pacientes no fueron tratados como se ha comentado en el apartado anterior (**Figura 67**).



**Figura 67.** Tratamientos de la primera lesión de leishmaniasis cutánea en nuestra serie. \*Imiquimod en monoterapia (n = 2; casos 85 y 89); clindamicina (n = 1); clobetasol (n = 1), triamcinolona (n = 2). Un paciente recibió imiquimod y anfotericina B liposomal sistémica.

#### Pacientes tratados con antimoniato de meglumina intralesional

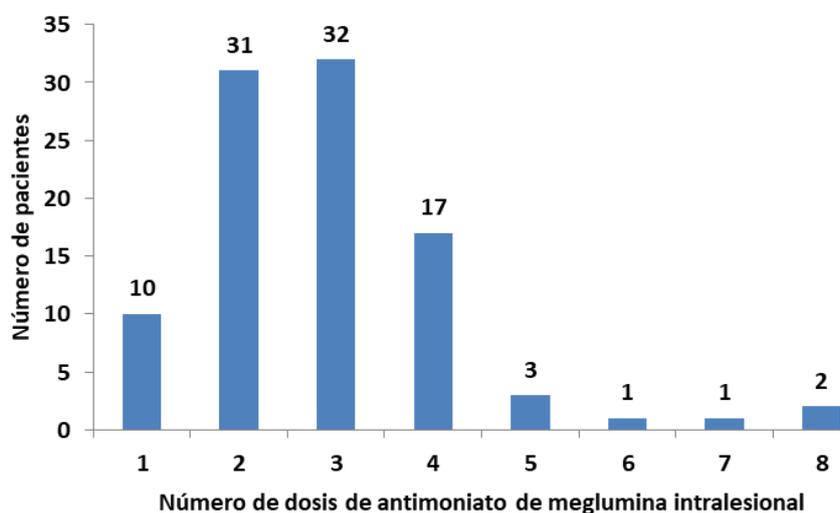
Como tratamiento inicial de la LC, en nuestro hospital se usa el AM intralesional (Glucantime®, Sanofi-Aventis, S.L., España) en todas las lesiones sin importar su tamaño, aunque en un paciente con inmunodepresión que presentaba más de diez lesiones el primer tratamiento fue la AnfB liposomal (Ambisome®, Gilead Sciences S.L., España). En las guías de consenso, se recomienda el AM intralesional para lesiones únicas y de tamaño inferior a 4 cm, aunque se han descrito casos de lesiones múltiples o de mayor tamaño tratadas con éxito con AM intralesional.<sup>96</sup>

El fármaco se inyectó en la zona dermoepidérmica de la periferia de la lesión, con pinchazos en cuatro puntos situados al N, S, E y O de la lesión. La dosis fue de 1-5 ml y el tratamiento se repitió cada 7, 14 y 21 días. Las dosis y las pautas dependieron del criterio del dermatólogo, pero el tratamiento debe mantenerse hasta el completo blanqueo de la lesión.<sup>96</sup> En niños, antes de la infiltración de AM intralesional, se aplicó anestesia tópica tipo crema de lidocaína y prilocaína (EMLA®, AstraZeneca AB, Suecia) para mitigar el dolor del líquido inoculado intralesional (**Figura 68**).

**Figura 68.** Eritema debido a la aplicación de crema de lidocaína y prilocaína antes del tratamiento con antimonio de meglumina intralesional en un niño. Imagen de archivo propio.



En 97 pacientes (85,1 %) de los 114 pacientes tratados con un fármaco, el tratamiento inicial fue AM intralesional, con entre 1 y 8 dosis, generalmente cada 15-20 días. Las pautas más frecuentes fueron las de dos y tres inyecciones, que recibieron un 27,2 % y un 28 % de los pacientes, respectivamente, cada 15 días (**Figura 69**). Después de visitar al paciente, se repetía el tratamiento si era necesario. La AM intralesional se administró hasta conseguir la curación. Como hemos comentado anteriormente, no se realizaba ninguna prueba parasitológica ni de biología molecular para confirmar la curación, sino que la decisión se basaba en criterios clínicos.



**Figura 69.** Tratamiento con antimonio de meglumina intralesional en 97 pacientes.

A algunos pacientes, que no respondían clínicamente al tratamiento con 3 o 4 infiltraciones de AM intralesional, se les propuso un cambio terapéutico. Sin embargo, estos pacientes rechazaron un tratamiento sistémico con AM intramuscular o AnfB liposomal y prefirieron intentar un tratamiento intralesional con 3 o 4 dosis más cada 15 días. Aunque hubiera lesiones de gran tamaño o múltiples, y a pesar de lo recomendado en las guías, se iniciaba tratamiento intralesional. En estos casos, además del AM intralesional, se pautaron azoles orales (8 pacientes) o imiquimod tópico (11 pacientes). Si había más de una lesión o en

#### 4. RESULTADOS

lesiones de gran tamaño, también se asociaron los dos fármacos mencionados anteriormente. En un paciente de nuestra serie y como segundo tratamiento se administró la AnfB junto con imiquimod para conseguir una acción sinérgica. AM intralesional se asoció a azoles o imiquimod para conseguir una acción sinérgica. No había un protocolo de decisión específico acerca de cuándo asociar imiquimod o azoles al AM intralesional, sino que se decidía según el patrón clínico de respuesta observado por el médico.

De los 97 pacientes tratados con AM intralesional, 90 mejoraron después de parar el tratamiento; 6 recidivaron después de parar el tratamiento y se rescataron con AM intralesional y un paciente se trató con AnfB liposomal.

En la serie de Fuenlabrada, recibieron tratamiento específico contra *Leishmania* 103 pacientes (69 %) de un total de 149 pacientes con LC. Como en nuestra serie, la AM intralesional fue el tratamiento de elección para la LC y se administró en 78 (75,7 %) de los 103 pacientes. Se logró la resolución de las lesiones en 62 pacientes (79 % del total de los casos), con resultados estéticos aceptables y escasa toxicidad sistémica. Los 16 pacientes restantes estaban evolucionando favorablemente en el momento de la publicación del artículo de Aguado et al. (2013).<sup>95</sup> En series anteriores, como la de Urrutia et al. (2000),<sup>96</sup> se había utilizado con éxito AM intralesional en la mayoría de los pacientes.

##### Pacientes tratados con anfotericina B liposomal

Cinco pacientes (los números 39, 15, 52, 108 y 113) recibieron AnfB liposomal. En dos de ellos fue el tratamiento inicial por presentar una leishmaniasis mucosa por *L. infantum*. Otro paciente presentaba una lesión en la frente que no mejoró con imiquimod y no toleró AM IM. Un cuarto paciente presentaba lesiones de gran tamaño y estaba recibiendo un tratamiento inmunosupresor. En otro paciente, AnfB liposomal fue el tratamiento de segunda línea tras no mejorar con AM intralesional. Todos respondieron al tratamiento con este fármaco.

##### Pacientes tratados con imiquimod

El inmunomodulador imiquimod se ha usado en monoterapia, pero también asociado a AM intralesional en casos de LC cuyas lesiones, como las de nuestros diez pacientes, no mejoraban solo con AM.<sup>95</sup> Dos pacientes recibieron imiquimod al 5 % por vía tópica como primera línea, aunque en uno de ellos no fue efectivo. En otros diez pacientes, se prescribió imiquimod como tratamiento asociado a AM intralesional y en general se administraban ambos fármacos al mismo tiempo. Diez pacientes curaron.

El imiquimod es un inhibidor de los TLR cuyo mecanismo de acción podría ser la estimulación de la respuesta inmunitaria en la lesión y la inducción de la activación de los macrófagos.<sup>165</sup> La asociación de imiquimod y antimonio de meglumina mejoró las lesiones en un modelo animal de leishmaniasis.<sup>166</sup> Actualmente en nuestro hospital usamos esta asociación en lesiones de tamaño importante o que no responden al tratamiento. Los resultados en la LC humana son variables. El imiquimod también se ha usado con éxito en pacientes que no respondían a AnfB liposomal; un ejemplo es un paciente nuestro de 7 años de edad,<sup>115</sup> que no está incluido en la serie por ser un caso anterior a 2013.

##### Pacientes con otros tratamientos farmacológicos

Tres pacientes de los 126 diagnosticados recibieron corticoesteroides porque no se sabía que era leishmaniasis, ya que simulaban otras lesiones cutáneas como picaduras de insecto. Uno de ellos fue un paciente infantil, cuyo caso se halla descrito en el apartado de tratamiento de poblaciones especiales, que se trató con betametasona/gentamicina, ácido

fólico, cloxacilina y Septomida® (Laboratorios Viñas, España). En otro paciente se administró clobetasol y en un tercer paciente se empleó triamcinolona intralesional. Todos ellos curaron, aunque debido a que no se les administró ningún fármaco anti-*Leishmania* debemos suponer que posiblemente sin ningún tratamiento estos pacientes también hubieran curado. Suponemos que ni el antibiótico ni los corticosteroides son efectivos en el tratamiento de la LC y por lo tanto, la inmunidad del paciente hubiera sido suficiente.

Un paciente fue tratado con clindamicina tópica, pero se desconoce su evolución porque no volvió a la consulta y no presentó ninguna recidiva. En este caso hay la duda de si la clindamicina fue eficaz o bien el paciente hubiera mejorado espontáneamente sin tratamiento, manteniendo una conducta expectante.

Como tratamientos asociados, se prescribieron ciprofloxacino y azoles. Ningún paciente recibió alopurinol asociado a AM, combinación muy utilizada para el tratamiento de perros con leishmaniasis. Tampoco se administró miltefosina en ningún paciente.

#### *Tratamiento tópico*

En un paciente pediátrico que presentaba LC en mejillas, con lesiones de mayor tamaño y con costra, después de la primera dosis de AM intralesional se observó que este tratamiento no era suficiente. Entonces se pautó pomada de paromomicina asociada a gentamicina, siempre junto a AM intralesional. De todos modos, en una revisión Cochrane de tratamientos de la LC, se concluyó que paromomicina no es más eficaz que el placebo pero provoca más efectos adversos.<sup>163</sup>

#### *Tratamiento quirúrgico*

Las lesiones aisladas y de pequeño tamaño pueden tratarse con cirugía.<sup>47,96</sup> En seis de los doce pacientes sin tratamiento médico, la lesión se trató quirúrgicamente. En seis pacientes, se extirpó la lesión durante la realización de la biopsia. Los procedimientos utilizados fueron la exéresis en huso en la mayoría de pacientes y una *punch* biopsia en un paciente con una lesión de pequeño tamaño. La biopsia con extirpación, como se realizó en nuestros pacientes, es una técnica diagnóstica y terapéutica al mismo tiempo.

#### *Otros tratamientos*

##### Crioterapia

La crioterapia podría ser una alternativa porque su tasa de curación como tratamiento único parece ser del 92%.<sup>167</sup> Suele emplearse en niños, ser eficaz y carecer de efectos adversos,<sup>95</sup> excepto una posible pigmentación residual. Se ha recomendado su uso junto con AM intralesional,<sup>168</sup> como hemos pautado en algunos pacientes nuestros posteriores al periodo del estudio. La crioterapia con nitrógeno líquido pero sin AM intralesional asociada se utilizó en un solo paciente, con buen resultado y resolución de la lesión.

##### Termoterapias y terapia fotodinámica

Ningún paciente recibió termoterapia ni terapia fotodinámica. Esta última se usa cada vez más para el tratamiento de la LC con resultados estéticos muy buenos. La pauta todavía no está bien definida, pero podría ser de una sesión por semana durante un mes<sup>158</sup> y se puede combinar con otros tratamientos como AM intralesional.<sup>169</sup> En nuestro hospital se ha usado recientemente, pero no durante el periodo de revisión de la serie.

##### *Tratamiento sistémico*

El tratamiento sistémico con AM intramuscular o AnfB liposomal se debe reservar para casos de LC complicada o grave (**Tabla 37**). Sin embargo, el temor a los efectos adversos de la AM IM y, en menor medida, de la AnfB liposomal, puede frenar la decisión de iniciar un tratamiento sistémico. En nuestro estudio solo se empleó la AnfB liposomal, que se pautó

en cuatro pacientes porque cumplían las indicaciones referidas por autores como Ameen (2010).<sup>158</sup> Ningún paciente fue tratado con miltefosina ni con pentamidina. No tenemos experiencia con miltefosina ni con pentamidina.

**Tabla 36. Indicaciones del tratamiento sistémico en la leishmaniasis cutánea. Basada en Ameen (2010)<sup>158</sup>**

- 
- Lesiones de gran tamaño (más de 4 cm de diámetro) o múltiples (más de cinco).
  - Falta de mejoría con un tratamiento tópico.
  - Diseminación local o regional.
  - Lesiones de localización especial: en cara, orejas, manos, pies y cualquier zona que pueda causar problemas de funcionalidad.
  - Pacientes con inmunodepresión (por un tratamiento con un anti-TNF $\alpha$ , infección por VIH u otra causa).
- 

HIV, virus de la inmunodeficiencia humana.

#### 4.5.3. *Tratamientos en poblaciones especiales*

En este apartado se han incluido tres grupos de pacientes (menores de 18 años, mayores de 65 años y los pacientes con inmunodepresión) con el objetivo de comentar más extensamente las pautas de tratamiento administradas.

##### Tratamiento en pacientes menores de 18 años

El tratamiento en los menores de 18 años fue farmacológico en 29 pacientes y quirúrgico en otros seis pacientes. En este grupo de edad, el tratamiento tuvo algunas particularidades, a pesar de que el tratamiento más utilizado fue el AM intralesional. Se utilizó imiquimod tópico al 5 %<sup>115</sup> en seis pacientes; en dos de ellos como primera línea y en los otros cuatro asociado a AM intralesional. Un niño de 6 años (caso n. ° 100), que presentaba una lesión única, recibió cuatro tratamientos (betametasona/gentamicina, ácido fólico, cloxacilina y Septomida®). Debido a su corta edad, se decidió usar terapias no invasivas, ya que en algunos casos la LC puede curar por sí sola (conducta expectante, también llamada *wait and see*). En otro paciente infantil de corta edad, la lesión se trató con fluconazol en monoterapia, porque hay experiencia con azoles en niños.<sup>79</sup> Este antiparasitario fue eficaz en niños de 3 a 6 años con LC, aunque el agente causal era *L. major* o *L. tropica*.<sup>170</sup>

Es interesante destacar que administramos inyecciones repetidas de AM intralesional a menores de 2 años y en lesiones múltiples, pero no se informó de ningún efecto adverso (véase 1. *Introducción*). La LC se resolvió con AM intralesional en la mayoría de nuestros pacientes: dos dosis en doce pacientes y tres dosis en otros siete pacientes. En un estudio realizado en una región endémica de Turquía con niños con LC, una sola dosis fue suficiente en la mayoría de casos.<sup>147</sup> El tratamiento intralesional con antimoniales pentavalentes es efectivo, seguro y eficaz como se señala en una revisión realizada en Iran donde la LC está causada por *L. major* y *L. tropica*. En 104 pacientes menores de 2 años se administraron varias dosis de Pentostam® intralesional produciéndose un 100% de curación.<sup>171</sup> En el caso

presentado por Noguera-Morel et al. (2016), el paciente mejoró con dos dosis de AM intralesional. El artículo incluye una tabla de posibles tratamientos de la LC en niños.<sup>148</sup>

Burden-Teh et al. (2015)<sup>172</sup> se preguntan si el tratamiento intralesional ambulatorio es suficiente. Sin embargo, como afirman Aksoy et al. (2016),<sup>147</sup> la administración intralesional de un antimonial pentavalente es el método de referencia para el tratamiento de la LC siempre y cuando se aplique de manera correcta y con regularidad. En nuestra serie, el AM intralesional fue eficaz. Asimismo, la seguridad del AM intralesional en menores se ha confirmado en diversos estudios, tal como se halló en una revisión sistemática.<sup>173</sup>

La crioterapia podría ser una alternativa terapéutica en pacientes menores de edad.<sup>174</sup> Se ha administrado sola<sup>175</sup> o asociada a azoles o AM intralesional.<sup>176</sup> Aunque en la revisión de Ameen (2010)<sup>158</sup> se la considera un tratamiento útil de la LC en niños, en la serie de Urrutia et al. (2000)<sup>96</sup> no funcionó.

En nuestra serie, presentaron una recidiva dos pacientes con lesiones múltiples y uno con lesión única, todos tratados previamente con AM intralesional. Hubo 2 placas y una pápula. En dos lesiones, la recidiva se trató con más de tres dosis de AM intralesional (**Tabla 37**).

**Tabla 37.** Tratamientos previos y recidivas en pacientes menores de 18 años por sexo y en total (n = 29).

Recidiva	Tratamiento	Sexo		Total
		M	H	
No	Betametasona/gentamicina, F, cloxacilina, Spt		1	1
	AMx1	1		1
	AMx1 I	1		1
	AMx2	2	7	9
	AMx2 I	2		2
	AMx3	2	3	5
	AMx3			
	Betametasona/gentamicina		1	1
	AMx3 I		1	1
	AMx4	1		1
	AMx4 Azol		1	1
	AMx7 I Azol		1	1
	I	1	1	2
	Total sin recidiva		10	16
Sí	AMx2 I		1	1
	AMx5	1		1
	AMx8		1	1
Total con recidiva		1	2	3

F, ácido fólico; AMxn, número de dosis de antimonio de meglumina; I, imiquimod; N, no; S, sí; Spt, tratamiento local coadyuvante (Septomida®, Laboratorios Viñas, Barcelona).

## Tratamiento en pacientes mayores de 65 años

Los paciente mayores de 65 años recibieron tratamiento con AM intralesional, AnfB liposomal + imiquimod y crioterapia (**Tabla 38**). Las recidivas en estos pacientes fueron poco frecuentes. Hubo solo dos casos, ambos en pacientes inmunocompetentes: en una mujer de 66 años que no recibió tratamiento previo y en un hombre de 85 años tratado con una dosis de AM intralesional (**Tabla 38**).

Las recidivas fueron poco frecuentes. Hubo solo dos casos, ambos en pacientes inmunocompetentes: en una mujer de 66 años que no recibió tratamiento previo y en un hombre de 85 años tratado con una dosis de AM intralesional (**Tabla 38**).

**Tabla 38.** Recidiva y tratamiento previo según el sexo y en total en mayores de 65 años (n = 33)

Recidiva	Tratamiento	Sexo		Total
		M	H	
No	AnfB+I	1		1
	Crio		1	1
	AMx1	2	1	3
	AMx2	6	1	7
	AMx3	3		3
	AMx3 Azol		1	1
	AMx3 Doxiciclina	1		1
	AMx4	3	1	4
	NC		3	3
	NR	2		2
	Punch		1	1
	Qx	3	1	4
	Total sin recidiva		21	10
Sí	AMx1		1	1
	NR	1		1
Total con recidiva		1	1	2

AnfB+I, anfotericina B liposomal + imiquimod; Crio, crioterapia; AMxn, número de dosis de antimonio de meglumina; NR, no realizado; Qx, exéresis quirúrgica.

## Tratamiento en pacientes con inmunodepresión

En cuanto al tratamiento de los pacientes de nuestra serie con inmunodepresión (**Tabla 39**), siete recibieron infiltraciones intralesionales de AM. En seis de ellos que recibieron tres dosis de AM intralesional, se añadió fluconazol y en otro se asoció imiquimod. En el citado estudio retrospectivo de casos y controles, los pacientes con inmunodepresión necesitaron un número de dosis mayor que los pacientes con sistema inmune sano: 62 frente 23, respectivamente ( $p < 0,05$ ).<sup>155</sup> En un paciente de la serie, la lesión se resolvió después de practicarle una biopsia con *punch*. Solo un paciente recibió tratamiento por vía sistémica, el cual consistió en 4 tandas de AnfB liposomal.

Las lesiones respondieron al tratamiento. Un paciente presentó una recidiva, pero la lesión mejoró con dos administraciones de AM intralesional y el cuadro clínico se resolvió satisfactoriamente.

**Tabla 39. Tratamientos en los pacientes con inmunodepresión (n = 9)**

Caso n. °	Ttos (n)	1 <sup>er</sup> tto	2 <sup>o</sup> tto
8	1	AMx3	
16	1	Punch	
55	1	AMx3	Fluconazol
62	1	AMx3	Fluconazol
81	1	AMx2	
91	1	AMx3	I
95	3	AMx3	
111	1	AMX3	
113	4	AB	

AnfB, anfotericina B; AMxn, antimoniato de meglumina y número de dosis; I, imiquimod; tto, tratamiento.

Uno de los principales problemas de la LC en estos pacientes es que se puede producir una diseminación del parásito y acabar desarrollándose una LV. En nuestro estudio, ningún paciente desarrolló una LV a pesar de su estado de inmunodepresión. Sin embargo, debería realizarse un seguimiento estrecho de estos pacientes con técnicas serológicas, de diagnóstico directo y moleculares. Así se hizo en un paciente con inmunodepresión por un tratamiento con un anti-TNF $\alpha$  que presentó una leishmaniasis grave con lesiones múltiples.<sup>156</sup> Se detectó el parásito en sangre periférica, así como un aumento importante de anticuerpos específicos, por lo que había riesgo de que la enfermedad se convirtiera en una LV. No obstante, seis meses después de un tratamiento con AnfB liposomal y la retirada del anti-TNF $\alpha$ , todas las lesiones habían curado. A los doce meses, la RT-PCR fue negativa. Los controles periódicos con ELISA mostraron una disminución progresiva de los anticuerpos.<sup>156</sup> En el citado estudio de casos y controles, no se hallaron diferencias entre ambos grupos en cuanto a parámetros clínicos y analíticos relacionados con la LV. Los hallazgos del estudio sugirieron que el riesgo de LV no aumenta en pacientes con LC e inmunodepresión.<sup>157</sup> De todos modos, se ha comunicado algún caso, como el de un paciente en tratamiento con adalimumab por una artritis reumatoide que desarrolló una LC y posteriormente presentó una forma visceral.<sup>177</sup>

#### 4.5.4. Resumen de los tratamientos en nuestra serie y evolución de diferentes pacientes con el tratamiento

La **Tabla 40** muestra los diferentes tratamientos farmacológicos administrados en los pacientes de nuestra serie. Para conocer la correspondencia entre las características de las lesiones y el tratamiento en cada paciente, consúltese la Tabla I del Anexo I.

**Tabla 40. Diferentes tratamientos farmacológicos de la leishmaniasis cutánea en nuestra serie (n = 126).**

Fármaco	Pacientes (n)
AB	3
AB+I	1
Clindamicina	1
Crioterapia	1
Clobetasol	1
B/G F Cloxacilina Septomida®	1*
AMx1	9
AMx1 I	1
AMx2	28
AMx2 I	3
AMx3	24
AMx3 Azol	4
AMx3 B/G	1
AMx3 Doxiciclina	1
AMx3 I	2
AMx4	13
AMx4 AB	1
AMx4 Azol	1
AMx4 I	2
AMx5	2
AMx5 Ciprofloxacino Azol	1
AMx6 Azol I	1
AMx7 I Azol	1
AMx8	1
AMx8 I	1
I	2
Punch	1
Qx	5
Triamcinolona	1
NR	12
TOTAL	126

AB, anfotericina B liposomal; B/G, betametasona/gentamicina; F, ácido fólico; AMxn, antimoniato de meglumina y número de dosis; I, imiquimod; NR, no realizado; Qx, exéresis quirúrgica.

Como se puede observar en la tabla 40, AM intralesional fue el tratamiento más frecuente en nuestra serie. En ningún paciente se observaron efectos adversos sistémicos de este tratamiento. La proporción de pacientes tratados con AM intralesional en nuestra serie fue incluso superior a la de otros estudios españoles, como el 50 % en la serie de Garrido-Jareño et al. (2020)<sup>97</sup> —debido a que eran pacientes en tratamiento inmunosupresor anti-TNF $\alpha$ — o el 75,7 % de Aguado et al. (2013).<sup>95</sup>

Existe una gran variedad de fármacos para la LC porque no existen unas pautas terapéuticas claras. Por lo tanto, es importante que se establezca un estándar de tratamiento. De este

modo, se conseguiría un uso racional de los fármacos, máxime teniendo en cuenta que ya han aparecido resistencias.

Con respecto a AM intralesional y según nuestra experiencia, si después de 3 o 4 dosis de tratamiento intralesional una lesión no mejora o aumenta de tamaño, deberíamos plantearnos asociar imiquimod para inducir una respuesta Th1 de la lesión o añadir fluconazol o itraconazol por vía oral. Así se hizo en 9 pacientes, consiguiendo buenos resultados. No obstante, deberían realizarse más estudios al respecto para poder afirmar que podría ser una buena alternativa terapéutica.

Ante lesiones que precisaron tratamiento sistémico, es preferible tratar con AnfB liposomal antes que con AM IM para evitar los efectos adversos de este último.

*Evolución de las lesiones durante y después del tratamiento. Descripción de algunos casos*

La decisión de si un paciente estaba curado se basaba en criterios clínicos, según la remisión de la lesión y la apariencia de la piel después del tratamiento. En ningún caso se realizó ninguna prueba para confirmar la curación mediante técnicas como la PCR que confirmaría la ausencia del parásito a partir de un raspado de la piel. Solo en algún caso, la lesión empeoró y mostró eritema y signos inflamatorios (**Figuras 68 y 69**). Al final del proceso terapéutico, si la evolución ha sido correcta, el área cicatricial será mínima.

*Descripción de cuatro casos con diferentes reacciones postratamiento*

#### Caso I. Paciente con reacción postratamiento con ulceración

Ante úlceras, cicatrices, postratamiento u otras alteraciones cutáneas relacionadas con la leishmaniasis el aspecto de la piel suele normalizarse al acabar el proceso aunque puede tardar un tiempo. Es el caso de este paciente (**Figura 70**), que fue tratado con AM intralesional y al cabo de dos años recuperó completamente el aspecto normal.



**Figura 70.** A y B) Lesión inicial con ulceración cicatricial. C) Aspecto al cabo de dos años. Imágenes de archivo propio.

Caso II. Paciente con lesión en placa desarrollada durante el tratamiento y que simulaba un carcinoma escamoso

Paciente anciano cuya lesión comenzó con una costra en la oreja derecha. La lesión se resolvió con infiltración de AM IL (caso n.º 26) (**Figura 71**). Es una localización poco frecuente,<sup>178</sup> pero hemos visto varios casos en nuestra serie.



**Figura 71.** Lesión en placa desarrollada durante el tratamiento que simulaba un carcinoma escamoso. Imágenes de archivo propio.

Caso III. Paciente pediátrico con una lesión eritematosa en la mejilla izquierda derecha

En las lesiones en placa ubicadas en la cara y el cuello, habitualmente en las mejillas, podemos apreciar un intenso eritema periférico y una costra indurada y bastante adherida al tejido subyacente. Algunas de ellas simulan un patrón lupoides.<sup>108</sup> En nuestra serie, como en la revisión de Garrido-Jareño et al. (2020)<sup>97</sup> y la serie de Bongiorno et al. (2009),<sup>108</sup> muchos pacientes desarrollaron placas eritematosas con costra central en cara y cuello.

El caso III es un paciente de 7 años de edad con una lesión eritematosa en la mejilla izquierda derecha con costra central adherida, que simulaba un forúnculo infeccioso o una lesión lupoides y que precisó ocho dosis de AM intralesional (**Figura 72**).



**Figura 72.** Lesión eritematosa en mejilla derecha en un paciente pediátrico. Imagen de archivo propio.

Aunque a veces se observó eritema y empeoramiento local de las lesiones tratadas, no hubo ningún episodio de adenitis reactiva durante y después del tratamiento. En cambio, en la serie de Fuenlabrada tuvieron tres casos.<sup>95</sup>

#### Caso IV. Paciente pediátrico politratado

Durante el proceso terapéutico pueden aparecer placas más grandes que la inicial, en algunos casos con ulceración, costra o eritema importante. En nuestra experiencia, este tipo de evolución sucede en pacientes que no responden adecuadamente al tratamiento y en los que nos cuesta controlar la enfermedad local. En estos pacientes, una vez terminado el tratamiento y resuelta la enfermedad, la cicatrización será correcta y no suelen encontrarse posteriormente lesiones deformantes ni queloides.

El caso IV fue un paciente pediátrico politratado y con mala respuesta inmunitaria que presentó una placa única en la mejilla izquierda, con empeoramiento y eritema al principio después de tratamiento sistémico con AnfB. La lesión se acabó de resolver después de un tratamiento tópico con imiquimod, con un mínimo eritema residual y sin cicatriz atrófica ni queloidea<sup>115</sup> (**Figura 73**).



**Figura 73.** Placa única con mala respuesta inmunitaria en un niño multitratado. En las imágenes se muestra la evolución en tiempo así como los distintos tratamientos administrados. Imágenes de archivo propio.

## 4.6. Recidivas

## 4.6.1. Lesiones

Se observó una recidiva en nueve pacientes (7,14 %), todos ellos tratados con diferentes dosis de AM intralesional según el criterio del dermatólogo y en base a la remisión de las lesiones, nueve sufrieron una recidiva.

Eran cinco mujeres y cuatro hombres de distintos grupos de edad: tres pacientes tenían menos de 18 años, otros cuatro estaban entre los 18 y los 65 años y dos pertenecían al grupo de mayores de 65 años. Como lesión inicial, cuatro pacientes habían presentado una placa única y dos pacientes una pápula única. Otros dos pacientes habían presentado lesiones múltiples y solo un paciente tuvo una lesión mucosa (**Tabla 42**). No se registró el tipo de lesión en las recidivas, pero sí la localización, de manera que seis de las nueve recidivas se localizaron en cabeza y cuello (**Tabla 43**).

**Tabla 41. Recidivas según las características clínicas de la lesión o lesiones iniciales**

Características clínicas		Recidiva (n)		Total
Afectación	Tipo de lesión	N	S	
Única	Pápula	51	2	53
	Placa	45	4	49
Total única		96	6	102
Múltiple	Pápula	10	1	11
	Placa	10	1	11
Total múltiple		20	2	22
Mucosa	Úlcera	1	1	2
Total mucosa		1	1	2
Total general		117 (92,86)	9 (7,14)	126

M, múltiple; MU, mucosa; N, no; P, pápula, PL, placa; S, sí; UL, úlcera.

**Tabla 42. Localización de las lesiones por grupos de edad de los pacientes que presentaron una recidiva**

Grupo de edad, años	Localización	Pacientes (n)	Total
Menores de 18	Mejilla*	1	3
	Mejilla derecha	1	
	Muslo izquierdo	1	
De 18 a 65	Dorso de la nariz	1	4
	Fosa nasal derecha	1	
	Mejilla*	1	
	Codo	1	
Mayores de 65	Mejilla izquierda	1	2
	Brazo derecho	1	
Total general			9

\*No se especificó el lado del cuerpo.

Las nueve recidivas que observamos en toda la serie se ubicaron en el mismo lugar de la lesión primaria y por lo tanto se descartó una nueva infección. Se supuso que era similar a la lesión inicial ya que se producía en el mismo lugar. Por lo tanto, no se describió el tipo de lesión (pápula o placa) ni su diámetro.

#### 4.6.2. Tratamiento de las recidivas

En cuanto al tratamiento, la mayoría de las recidivas se volvieron a tratar con dos o tres administraciones de AM intralesional (**Tabla 44**). Esta tabla muestra también los tratamientos previos. Un paciente no había recibido ningún tratamiento para la primera lesión, pero respondió bien a tres dosis de AM intralesional. Es de destacar que, en los doce pacientes sin tratamiento en nuestra serie, solo se detectó una recidiva.

Un caso especial es el de una paciente de 49 años (caso n.º 81) con inmunodepresión provocada por el anti-TNF $\alpha$  adalimumab para el tratamiento de una psoriasis. Había recibido dos dosis de AM intralesional para la primera lesión y la recidiva se resolvió con la repetición del tratamiento.

**Tabla 43.** Tratamientos previos y su correspondencia con los tratamientos de las recidivas (n = 9)

Caso n.º	Tratamiento previo	Tratamiento de la recidiva
2	AMx8	AMx2
17	AMx3	AMx2
41	AMx2	AMx2
56	NR	AMx3
71	AMx1	AMx3
81*	AMx2	AMx2
92	AMx5	AMx1 + I 3%
108	AB	Itraconazol + AM <sup>‡</sup> y pentoxifilina
123	AMx2	AMx1

AB, anfotericina B liposomal; AMxn, antimonio de meglumina intralesional y nº de dosis; I, imiquimod; NR, no recibió ningún tratamiento previo.

\*Paciente con inmunodepresión. ‡Dosis y número de inyecciones de antimonio de meglumina sin registrar.

La AM intralesional fue el tratamiento más frecuente de las recidivas, en ocho de los nueve pacientes, incluyendo los tres pacientes pediátricos. Dos de ellos, un niño de 10 años (caso # 2) y otro niño de 11 años (caso n.º 41), recibieron solo AM intralesional. No obstante, en una niña de 10 años (caso n.º 92), fue necesario asociar imiquimod tópico al 3% (**Tabla 45**).

**Tabla 44.** Tratamientos de las recidivas por grupos de edad y sexo de los pacientes (n = 9)

Grupos de edad, años	Tratamiento recidiva	Sexo		Total
		M	H	
Menores de 18	AMx1 + I 3%	1	0	1
	AMx2	0	2	2
	Total	1	2	3
De 18 a 65	AMx1	1	0	1
	AMx2	2	0	2
	Itraconazol + AM y pentoxifilina	0	1	1
	Total	3	1	4
Mayores de 65	AMx3	1	1	2
	Total	1	1	2
Total		5	4	9

AM, antimoniato de meglumina intralesional; AMxn, antimoniato de meglumina intralesional y número de dosis; H, hombres; I, imiquimod; M, mujeres.

Las recidivas no fueron graves y las lesiones tuvieron las mismas características que la lesión primaria correspondiente. Además, no se observó ningún patrón esporotricóide.<sup>179</sup> En nuestra opinión, las recidivas se debieron a un tratamiento insuficiente. Como ya se ha comentado, se decidía si una lesión estaba curada solo por su aspecto. No se realizaban pruebas diagnósticas como repetir la biopsia para evitar procedimientos cruentos o recoger muestras de tejido fresco o en papel para realizar una RT-PCR. Otros autores como Garrido-Jareño et al. (2020),<sup>97</sup> Giavedoni et al. (2015)<sup>142</sup> y Aguado et al. (2013)<sup>95</sup> no registraron ninguna recidiva, pero en los artículos publicados no se especifica si se administró alguna dosis adicional de tratamiento al cabo de unos meses.

En algunos artículos se comenta que las recidivas pueden cursar con adenopatías acompañantes y mostrar un patrón esporotricóide<sup>180,181</sup> o afectación de mucosas, como un paciente nuestro con recidiva en mucosa.

## 5. CONCLUSIONES

La revisión de nuestra serie de casos nos ha hecho llegar a una serie de conclusiones que exponemos a continuación.

- 1) La LC, que es una enfermedad de declaración obligatoria, no suele notificarse. Como reflejo de esta subnotificación, encontramos que el número de casos de LC diagnosticados en nuestro hospital entre 2013 y 2017 fue superior a todos los casos de LC declarados cada año en las Islas Baleares. Por este motivo, hemos propuesto un algoritmo para fomentar y facilitar la declaración de la LC.
- 2) A pesar del carácter proteiforme de la expresión clínica de esta enfermedad, la certeza diagnóstica clínica de LC en nuestra serie fue elevada (67,5%) probablemente debido al papel activo del dermatólogo ante la importante endemidad de la enfermedad en la isla.
- 3) No se observa ningún patrón clínico característico predominante de presentación clínica en nuestra área, sin hallar diferencias entre la presentación de pápulas y placas. Las lesiones fueron generalmente únicas y en mayor proporción en la población mayor de 65 años. El tamaño más frecuente de la lesión elemental fue menor de 1 cm. Ello nos lleva a concluir que ante pápulas o placas en zonas expuestas a picaduras, debemos siempre plantearnos la LC como diagnóstico diferencial.
- 4) En los pacientes con inmunodepresión de nuestra serie, las lesiones eran más numerosas y más difíciles de tratar que las presentadas por los pacientes inmunocompetentes, por lo que consideramos que se les debe prestar especial atención realizando un seguimiento clínico y parasitológico postratamiento. Ninguno de nuestros pacientes desarrolló una LV.
- 5) En cuanto a las técnicas de diagnóstico directo a partir del exudado o la biopsia de la lesión, mediante coloración de Giemsa se diagnosticaron el 80 % de los casos sospechosos y por estudio histopatológico, el 87,5 %. Sin embargo, para realizar esta última técnica se requiere obtener una biopsia, que en muchas ocasiones y especialmente en niños, es un procedimiento cruento.
- 6) Las técnicas de biología molecular han sido muy valiosas para el diagnóstico de la LC. Las RT-PCR sobre frotis, tejido en fresco y en papel tienen una sensibilidad mayor que la coloración directa (Giemsa) y una especificidad del 100%. Además, nos permitieron diagnosticar lesiones donde Giemsa y el estudio histopatológico eran negativos o no concluyentes.
- 7) La recogida de la muestra en papel de filtro Whatman fue un procedimiento válido para realizar una RT-PCR y diagnosticar una LC de manera incruenta. Es un método fácil, que sería de gran ayuda en atención primaria puesto que la muestra puede guardarse a temperatura ambiente y ser remitida por mensajería al laboratorio donde se realiza la prueba. No precisa material especial ni una gran experiencia, pero nos daría información real de LC que pueden estar infradiagnosticadas y que no llegan al hospital por haber curado espontáneamente.
- 8) El AM intralesional sigue siendo el tratamiento de referencia de la LC. La mayoría de pacientes fueron tratados con entre 1 y 8 dosis de AM intralesional. Se obtuvieron resultados excelentes y sin cicatrices antiestéticas en la mayoría de los casos. En nueve pacientes, la lesión recidivó pero curó después de 1 o 2 dosis más

de AM intralesional. En los casos donde este tratamiento no fue efectivo la AMB liposomal resolvió la lesión. Además, podemos apoyarnos en otros fármacos (imiquimod) para potenciar la respuesta terapéutica del AM intralesional.

- 9) Podemos concluir que después de un examen directo negativo, deberíamos realizar una RT-PCR del exudado, siempre y cuando tuviéramos el resultado en poco tiempo. Si las pruebas RT-PCR del exudado fueran negativas, entonces recomendaríamos la biopsia para estudio histopatológico y RT-PCR.
- 10) Para facilitar el diagnóstico de la LC de acuerdo con este concepto de que la RT-PCR preceda a la biopsia, hemos desarrollado un algoritmo que incorpora técnicas diagnósticas de biología molecular y que hemos incluido en este documento. El proceso se inicia con métodos poco invasivos como la recogida de la muestra en frotis, papel o tejido fresco para pasar luego a otros más cruentos como la biopsia.
- 11) Ante una lesión cutánea de diagnóstico clínico o histopatológico incierto, siempre hemos de pensar en una LC. La leishmaniasis es un diagnóstico posible en zonas donde es endémica, especialmente si tenemos en cuenta que puede simular muchas enfermedades dermatológicas. Hemos de usar todas las técnicas diagnósticas a nuestro alcance, incluyendo la RT-PCR, para detectar o descartar una LC en nuestros pacientes.
- 12) Por último, podemos concluir que la implantación en nuestra comunidad autónoma de este algoritmo permitiría que nuestros médicos siguieran un mismo protocolo de actuación ante cualquier lesión sospechosa de LC. De este modo, se podría valorar la verdadera incidencia de la enfermedad y se contribuiría a minimizar el problema de la subdeclaración.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Esteva L, Vargas C, Vargas de León C. The role of asymptomatics and dogs on leishmaniasis propagation. *Math Biosci.* 2017 Nov 1;293:46-55.
2. Ruggiero MA, Gordon DP, Orrell TM, Bailly N, Bourgoin T, Brusca RC, et al. A higher level classification of all living organisms. *PLoS One.* 2015 Apr 29;10(4):e0119248.
3. Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, et al. A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of leishmania parasites and sandflies. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016 Mar 3;10(3):e0004349.
4. Mauricio IL. The Leishmaniasis: Old Neglected Tropical Diseases. Bruschi F, Gradoni L, editors. *The leishmaniasis: old neglected tropical diseases.* Cham: Springer International Publishing; 2018. 15-30 p.
5. Akhoundi M, Downing T, Votýpka J, Kuhls K, Lukeš J, Cannet A, et al. Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. *Mol Aspects Med.* 2017 Oct 1;57:1-29.
6. Bañuls AL, Hide M, Tibayrenc M. Molecular epidemiology and evolutionary genetics of Leishmania parasites. *Int J Parasitol.* 1999 Aug;29(8):1137-47.
7. Sunter J, Gull K. Shape, form, function and Leishmania pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. *Open Biol.* 2017 Sep 1;7(9):170165.
8. Chang P. The ultrastructure of Leishmania donovani. *J Parasitol.* 1956;42(2):126-136.
9. Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet.* 1999 Oct 2;354(9185):1191-9.
10. Dedet JP, Pratlong F, Lanotte G, Ravel C. The parasite. *Clin Dermatol.* 1999 May 1;17(3):261-8.
11. Image #3400, CDC/Alexander J. da Silva, 2002. Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library (PHIL) [Internet]. [cited 2020 Oct 13]. Available from: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=3400>
12. Gállego M. Zoonosis emergentes por patógenos parásitos: las leishmaniosis. *Rev Científica y Técnica OIE.* 2004;23(2):661-76.
13. Killick-Kendrick R. The life-cycle of leishmania in the sandfly with special reference to the form infective to the vertebrate host. *Ann Parasitol Hum Comp.* 1990;65(Suppl. 1):37-42.
14. Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis.* 2007 Sep;7(9):581-96.
15. Grill F, Zurmendi M. Leishmaniasis visceral en Uruguay. *Arch Pediatr Urug.* 2017;88(1):32-8.
16. Centers for Disease Control. DPDx - Leishmaniasis [Internet]. [cited 2020 Oct 19]. Available from: <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>
17. Alvarez F, Robello C, Vignali M. Evolution of codon usage and base contents in kinetoplastid protozoans. *Mol Biol Evol.* 1994 Sep;11(5):790-802.

18. Lachaud L, Bourgeois N, Kuk N, Morelle C, Crobu L, Merlin G, et al. Constitutive mosaic aneuploidy is a unique genetic feature widespread in the *Leishmania* genus. *Microbes Infect.* 2014 Jan;16(1):61-6.
19. Iovannisci DM, Beverley SM. Structural alterations of chromosome 2 in *Leishmania major* as evidence for diploidy, including spontaneous amplification of the mini-exon array. *Mol Biochem Parasitol.* 1989 May 1;34(2):177-88.
20. Kazemi B. Genomic organization of *Leishmania* species. *Iran J Parasitol.* 2011;6(3):1-18.
21. World Health Organization. Health topics. Leishmaniasis [Internet]. [cited 2020 Oct 27]. Available from: [https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1)
22. World Health Organization. Leishmaniasis. Status of endemicity of cutaneous leishmaniasis - Data by country [Internet]. [cited 2020 Oct 22]. Available from: <https://apps.who.int/gho/data/node.main.NTDLEISHCEND?lang=en>
23. World Health Organization. Leishmaniasis. Fact sheets [Internet]. 2020 [cited 2020 Nov 25]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
24. Gathany J. Image # 10277. CDC - Frank Collins, 2006. Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library (PHIL) [Internet]. [cited 2020 Oct 13]. Available from: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=10277>
25. Fernández Martínez B, Gómez Barroso D, Cano Portero R. La leishmaniasis en España: Evolución de los casos notificados a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica desde 2005 a 2017 y resultados de la vigilancia de 2014 a 2017. *Boletín Epidemiológico Sem.* 2019 Oct 15;27(2):15-27.
26. Xarxa de Vigilància Epidemiològica de les Illes Balears. 2014. Informes corresponents a l'any 2013. Leishmaniosi a les Illes Balears, any 2013. Dades definitives. Resum de dades. (Núm 37).
27. Xarxa de Vigilància Epidemiològica de les Illes Balears. 2015. Informes corresponents a l'any 2014. Leishmaniosi a les Illes Balears, any 2014. Dades definitives. Resum de dades. (Núm 37).
28. Xarxa de Vigilància Epidemiològica de les Illes Balears. 2016. Informes corresponents a l'any 2015. Leishmaniosi a les Illes Balears, any 2015. Dades definitives. Resum de dades. (Núm 28).
29. Xarxa de Vigilància Epidemiològica de les Illes Balears. 2017. Informes corresponents a l'any 2016. Leishmaniosi a les Illes Balears, any 2016. Dades definitives. Resum de dades. (Núm 37).
30. Xarxa de Vigilància Epidemiològica de les Illes Balears. 2018. Informes corresponents a l'any 2017. Leishmaniosi a les Illes Balears, any 2017. Dades definitives. Resum de dades. (Núm 50).
31. Xarxa de Vigilància Epidemiològica de les Illes Balears. 2019. Informes corresponents a l'any 2018. Leishmaniosi a les Illes Balears, any 2018. Dades definitives. Resum de dades. (Núm 33).
32. WinEpi: Working IN EPIdemiology. Medición de enfermedad: Cálculo del Índice Epidémico (1) [Internet]. [cited 2020 Oct 8]. Available from: <http://www.winepi.net/sp/disease/cinep1.asp>

33. Lauthier JJ, Karanaga M. Immunological and immunopathological aspects. In: Bruschi F, Gradoni L, editors. *The Leishmaniasis: Old Neglected Tropical Diseases*. Cham, Switzerland: Springer Nature; 2018. p. 107-26.
34. Peters NC, Egen JG, Secundino N, Debrabant A, Kimblin N, Kamhawi S, et al. In vivo imaging reveals an essential role for neutrophils in leishmaniasis transmitted by sand flies. *Science* (80- ). 2008 Aug 15;321(5891):970-4.
35. Liu D, Uzonna JE. The early interaction of *Leishmania* with macrophages and dendritic cells and its influence on the host immune response. *Front Cell Infect Microbiol*. 2012;2:83.
36. Hsieh CS, Macatonia SE, Tripp CS, Wolf SF, O'Garra A, Murphy KM. Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. *Science* (80- ). 1993;260(5107):547-9.
37. McMahon-Pratt D, Alexander J. Does the *Leishmania* major paradigm of pathogenesis and protection hold for New World cutaneous leishmaniasis or the visceral disease? *Immunol Rev*. 2004 Oct;201:206-24.
38. Roberts MTM. Current understandings on the immunology of leishmaniasis and recent developments in prevention and treatment. *Br Med Bull*. 2005;75-76(1):115-30.
39. Novais FO, Scott P. CD8+ T cells in cutaneous leishmaniasis: the good, the bad, and the ugly. *Semin Immunopathol*. 2015 May 26;37(3):251-9.
40. Alexander J, Bryson K. T helper (h)1/Th2 and *Leishmania*: Paradox rather than paradigm. *Immunol Lett*. 2005 Jun 15;99(1):17-23.
41. Gannavaram S, Bhattacharya P, Ismail N, Kaul A, Singh R, Nakhasi HL. Modulation of innate immune mechanisms to enhance *Leishmania* vaccine-induced immunity: Role of coinhibitory molecules. *Front Immunol*. 2016;7:187.
42. Lo SK, Bovis L, Matura R, Zhu B, He S, Lum H, et al. *Leishmania* lipophosphoglycan reduces monocyte transendothelial migration: modulation of cell adhesion molecules, intercellular junctional proteins, and chemoattractants. *J Immunol*. 1998;160(4):1857-65.
43. Calonje JE, Brenn T, Lazar A, Billings S. *McKee's Pathology of the Skin - 5th Edition*. Edinburgh: Elsevier; 2019.
44. Machado-Pinto J, Azulay R. Leishmaniasis. In: Tyring S, Lupi O, Hengge U, editors. *Tropical Dermatology*. 1st ed. New York: Elsevier Inc.; 2006. p. 41-8.
45. Akilov OE, Khachemoune A, Hasan T. Clinical manifestations and classification of Old World cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol*. 2007 Feb;46(2):132-42.
46. Sangüeza OP, Lu D, Sangüeza M, Paniago Pereira C. Chapter 83. Protozoa and Worms. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Schaffer J V, editors. *Dermatology*. 3rd ed. London: Elsevier; 2012. p. 1295-320.
47. García-Almagro D. Leishmaniasis cutánea. *Actas Dermosifiliogr*. 2005;96(1):1-24.
48. Ruiz-Villaverde R, Blasco Melguizo J, Linares Solano J, Burkhardt Pérez MP, Naranjo Sintés R. Leishmaniasis cutánea crónica: Respuesta a n-metil glucamina intralesional tras fracaso con paramomicina tópica. *Actas Dermosifiliogr*. 2002 Jan 1;93(4):263-6.

49. Gurel MS, Tekin B, Uzun S. Cutaneous leishmaniasis: A great imitator. *Clin Dermatol*. 2020 Mar 1;38(2):140-51.
50. Saab J, Fedda F, Khattab R, Yahya L, Loya A, Satti M, et al. Cutaneous leishmaniasis mimicking inflammatory and neoplastic processes: A clinical, histopathological and molecular study of 57 cases. *J Cutan Pathol*. 2012 Feb;39(2):251-62.
51. Meireles CB, Maia LC, Soares GC, Teodoro IPP, Gadelha M do SV, da Silva CGL, et al. Atypical presentations of cutaneous leishmaniasis: A systematic review. *Acta Trop*. 2017 Aug 1;172:240-54.
52. Akuffo H, Costa C, van Griensven J, Burza S, Moreno J, Herrero M. New insights into leishmaniasis in the immunosuppressed. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2018 May 10;12(5):e0006375.
53. Berman JD. Human leishmaniasis: Clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clin Infect Dis*. 1997;24(4):684-703.
54. Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Cañavate C, Dedet JP, et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: The second 10 years. *Clin Microbiol Rev*. 2008 Apr;21(2):334-59.
55. Goto H, Lindoso JAL. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;8(4):419-33.
56. de Vries HJC, Reedijk SH, Schallig HDFH. Cutaneous Leishmaniasis: Recent Developments in Diagnosis and Management. *Am J Clin Dermatol*. 2015 Mar 18;16(2):99-109.
57. Hosseinzadeh M, Omidifar N, Lohrasb MH. Use of fine needle aspiration cytology in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis: A comparison with the conventional scraping method. *Trop Doct*. 2012;42(2):112-3.
58. Moreno-Camacho A, López-Vélez R, Muñoz Sanz A, Labarga-Echevarría P. Infecciones parasitarias intestinales y leishmaniosis en pacientes con infección por el VIH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1998;16(SUPPL. 1):52-60.
59. Handler MZ, Patel PA, Kapila R, Al-Qubati Y, Schwartz RA. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: Differential diagnosis, diagnosis, histopathology, and management. *J Am Acad Dermatol*. 2015 Dec 1;73(6):911-26.
60. Pujol A, Fisa R, Riera C, Rocamora V, Boteller D. Diagnóstico de la leishmaniosis cutánea. Valor de una técnica de reacción en cadena de la polimerasa para la detección de *Leishmania infantum* en muestras recogidas sobre papel de filtro versus la histología convencional y la inmunohistoquímica. *Piel*. 2012 Nov 1;27(9):527-31.
61. Reithinger R, Dujardin JC. Molecular diagnosis of leishmaniasis: Current status and future applications. *J Clin Microbiol*. 2007 Jan;45(1):21-5.
62. Cruz I, Millet A, Carrillo E, Chenik M, Salotra P, Verma S, et al. An approach for interlaboratory comparison of conventional and real-time PCR assays for diagnosis of human leishmaniasis. *Exp Parasitol*. 2013 Jul;134(3):281-9.
63. Weigle KA, Labrada LA, Lozano C, Santrich C, Barker DC. PCR-based diagnosis of acute and chronic cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia)*. *J Clin Microbiol*. 2002;40(2):601-6.

64. Molina I, Fisa R, Riera C, Falco V, Elizalde A, Salvador F, et al. Ultrasensitive real-time pcr for the clinical management of visceral leishmaniasis in HIV-infected patients. *Am J Trop Med Hyg.* 2013 Jul;89(1):105-10.
65. Galluzzi L, Ceccarelli M, Diotallevi A, Menotta M, Magnani M. Real-time PCR applications for diagnosis of leishmaniasis. *Parasites and Vectors.* 2018 May 2;11(1).
66. van Eys G, Schoone GJ, Kroon NCM, Ebeling SB. Sequence analysis of small subunit ribosomal RNA genes and its use for detection and identification of *Leishmania* parasites. *Mol Biochem Parasitol.* 1992;51(1):133-42.
67. Van der Auwera G, Bart A, Chicharro C, Cortes S, Davidsson L, Di Muccio T, et al. Comparison of *Leishmania* typing results obtained from 16 European clinical laboratories in 2014. *Eurosurveillance.* 2016 Dec 8;21(49).
68. Llambrich A, Zaballos P, Terrasa F, Torne I, Puig S, Malvehy J. Dermoscopy of cutaneous leishmaniasis. *Br J Dermatol.* 2009 Apr;160(4):756-61.
69. Ayhan E, Ucmak D, Baykara SN, Akkurt ZM, Arica M. Clinical and dermoscopic evaluation of cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol.* 2015 Feb 1;54(2):193-201.
70. Antonio L de F, Fagundes A, Oliveira RVC, Pinto PG, Bedoya-Pacheco SJ, Vasconcellos É de CF e., et al. Montenegro skin test and age of skin lesion as predictors of treatment failure in cutaneous leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2014;56(5):375-80.
71. Weigle KA, Valderrama L, Arias AL, Santrich C, Saravia NG. Leishmanin skin test standardization and evaluation of safety, dose, storage, longevity of reaction and sensitization. *Am J Trop Med Hyg.* 1991;44(3):260-71.
72. Vexenat ADC, Santana JM, Teixeira ARL. Cross-reactivity of antibodies in human infections by the kinetoplastid protozoa *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania chagasi* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1996;38(3):177-85.
73. Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. *Lancet.* 2018 Sep 15;392(10151):951-70.
74. Aronson N, Herwaldt BL, Libman M, Pearson R, Lopez-Velez R, Weina P, et al. Diagnosis and treatment of leishmaniasis: Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of tropical medicine and hygiene (ASTMH). *Am J Trop Med Hyg.* 2017 Jan 1;96(1):24-45.
75. WHO Expert Committee on the Control of the Leishmaniases & World Health Organization. Control of the leishmaniases: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22-26 March 2010.
76. Mokni M. Leishmaniosis cutánea- ClinicalKey. *Dermatología.* 2016;50(3):1-12.
77. Imiquimod [Internet]. [cited 2021 Jan 23]. Available from: <https://www.vademecum.es/principios-activos-imiquimod-d06bb10>
78. Prospecto Ambisome liposomal 50 mg polvo para dispersión para perfusión [Internet]. [cited 2021 Jan 23]. Available from: [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/p/61117/Prospecto\\_61117.html](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/p/61117/Prospecto_61117.html)
79. Galvão EL, Rabello A, Cota GF. Efficacy of azole therapy for tegumentary leishmaniasis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2017 Oct 1;12(10).

80. Safi N, Davis GD, Nadir M, Hamid H, Robert LL, Case AJ. Evaluation of thermotherapy for the treatment of cutaneous leishmaniasis in Kabul, Afghanistan: A randomized controlled trial. *Mil Med.* 2012;177(3):345-51.
81. Sundar S, Chakravarty J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis. *Expert Opin Pharmacother.* 2015 Feb 1;16(2):237-52.
82. Carta de compromissos - Hospital de Manacor [Internet]. [cited 2021 Feb 3]. Available from: <http://extranet.hmanacor.org/benvinguda/carta-de-compromissos/>
83. Sector Sanitario de Llevant - IB-SALUT. Servei de Salut de les Illes Balears [Internet]. [cited 2021 Jan 11]. Available from: <https://www.ibsalut.es/es/servicio-de-salud/organizacion/ordenacion-sanitaria-territorial/sectores-sanitarios/sector-sanitario-de-llevant>
84. SITIBSA - 401 006: Entorno físico - Datos geográficos [Internet]. [cited 2021 Feb 3]. Available from: [https://www.caib.es/sites/sitibsa/es/n/401\\_006\\_entorno\\_fisico\\_-\\_datos\\_geograficos-86279/](https://www.caib.es/sites/sitibsa/es/n/401_006_entorno_fisico_-_datos_geograficos-86279/)
85. Sectores sanitarios - IB-SALUT | Servicio de Salud de las Islas Baleares [Internet]. [cited 2021 Feb 3]. Available from: <https://www.ibsalut.es/es/servicio-de-salud/organizacion/ordenacion-sanitaria-territorial/sectores-sanitarios>
86. Memoria del Servei de Salut de les Illes Balears 2018. Resumen general.
87. Cañavate C, Cuadros J, Martínez Ruiz R, Martín-Rabadán P. 35. El laboratorio de microbiología ante las enfermedades parasitarias importadas. 2009. En: *Procedimientos en microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Cercenado, E. y Cantón, R. E.
88. Hospital de Manacor, Govern de les Illes Balears. Manual de procedimientos. Tincions. Tinció de Giemsa. 2014.
89. Panwar H, Joshi D, Goel G, Asati D, Majumdar K, Kapoor N. Diagnostic utility and pitfalls of Tzanck smear cytology in diagnosis of various cutaneous lesions. *J Cytol.* 2017 Oct 1;34(4):179-82.
90. Martín-Ezquerria G, Fisa R, Riera C, Rocamora V, Fernández-Casado A, Barranco C, et al. Role of *Leishmania* spp. infestation in nondiagnostic cutaneous granulomatous lesions: Report of a series of patients from a Western Mediterranean area. *Br J Dermatol.* 2009;161(2):320-5.
91. Mary C, Faraut F, Lascombe L, Dumon H. Quantification of *Leishmania infantum* DNA by a real-time PCR assay with high sensitivity. *J Clin Microbiol.* 2004 Nov;42(11):5249-55.
92. Tomás-Pérez M, Fisa R, Riera C. The use of fluorescent fragment length analysis (PCR-FFL) in the direct diagnosis and identification of cutaneous *Leishmania* species. *Am J Trop Med Hyg.* 2013 Mar;88(3):586-91.
93. Schönian G, Nasereddin A, Dinse N, Schweynoch C, Schallig HDFH, Presber W, et al. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003 Sep 1;47(1):349-58.
94. Alonso Mestre F. La leishmaniosi cutània autòctona per *Leishmania infantum* a les Illes Balears (trabajo de fin de grado). *Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona*; 2012.

95. Aguado M, Espinosa P, Romero-Maté A, Tardío JC, Córdoba S, Borbujo J. Outbreak of cutaneous leishmaniasis in Fuenlabrada, Madrid. *Actas Dermosifiliogr.* 2013;104(4):334-42.
96. Urrutia S, García C, Schoendorff C, Sáez A, Olivares M, García Almagro D. Leishmaniasis cutánea en la provincia de Toledo. Estudio de 43 pacientes. *Actas Dermosifiliogr.* 2000;91:1-8.
97. Garrido-Jareño M, Sahuquillo-Torralba A, Chouman-Arcas R, Castro-Hernández I, Molina-Moreno JM, Llavador-Ros M, et al. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: Experience of a Mediterranean hospital. *Parasites and Vectors.* 2020 Jan 13;13(1):24.
98. Alcalde Alonso M, Delgado Florencio V, Naranjo Sintés R. Leishmaniasis cutáneas en Granada: características clínicas. *Actas Dermosifiliogr.* 1989;80:267-72.
99. Daudén E, García C, Zarco C, López S, Iglesias L. Leishmaniasis cutánea en el foco endémico de Madrid. Estudio de 31 casos. *Actas Dermosifiliográficasigr.* 1990;81:395-404.
100. Albero Blanes F, Martínez Sánchez C, Román Macía P. Leishmaniasis cutánea. Alcoy: zona endémica. *Actas Dermosifiliogr.* 1979 Jul;70(7-8):475-84.
101. Maniscalco M, Noto G, Zichichi L, Veraldi S. Multifocal cutaneous leishmaniasis: A new clinical presentation of the disease [8]. *Acta Derm Venereol.* 2007;87(3):275-6.
102. Del Giudice P. Multifocal cutaneous leishmaniasis. *J Infect.* 2007 Feb;54(2):207.
103. Suárez, Sanz S. Repelentes de insectos. Prevención de picaduras. *Farm Prof.* 2002;16(7):54-8.
104. Desta A, Shiferaw S, Kassa A, Shimelis T, Dires S. Leishmaniasis. In collaboration with the Ethiopia Public Health Training Initiative, The Carter Center, the Ethiopia Ministry of Health, and the Ethiopia Ministry of Education. 2005.
105. Douba MD, Abbas O, Wali A, Nassany J, Aouf A, Tibbi MS, et al. Chronic cutaneous leishmaniasis, a great mimicker with various clinical presentations: 12 years experience from Aleppo. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2012 Oct;26(10):1224-9.
106. Moravvej H, Barzegar M, Nasiri S, Abolhasani E, Mohebbali M. Cutaneous leishmaniasis with unusual clinical and histological presentation: report of four cases - PubMed. *Acta Med Iran.* 2013;51(4):274-8.
107. Gehlhausen J, Sibindi C, Ko CJ, Grant M, Zubek A. A rare case of lupoid leishmaniasis defying diagnosis for a decade. *J Cutan Pathol.* 2020 Nov 1;47(11):1054-7.
108. Bongiorno MR, Pistone G, Aricò M. Unusual clinical variants of cutaneous leishmaniasis in Sicily. *Int J Dermatol.* 2009;48(3):286-9.
109. Di Altobrando A, Misciali C, Raone B, Attard L, Gaspari V. Case Report: Cutaneous Leishmaniasis Misdiagnosed as Pyoderma Gangrenosum. *Am J Trop Med Hyg.* 2020 Dec 14;104(2):640-642.
110. Al-Dwibe H, Amro A, Gashout A, El-Zurghany A, El-Zubi S, El-Hashme M, et al. A pyoderma gangrenous-like cutaneous leishmaniasis in a Libyan woman with rheumatoid arthritis: A case report. *BMC Res Notes.* 2018 Mar 1;11(1):158.
111. Oetken T, Hiscox B, Orengo I, Rosen T. Cutaneous leishmaniasis mimicking squamous cell carcinoma - PubMed. *Dermatology Online.* 2017;23(1):13030/qt8f36814f.

112. Fernandez-Flores A, Valerio L, Carrato C, Hernández-Gallego A, Fernández-Figueras MT. An epidemic outbreak of cutaneous leishmaniasis presenting as suppurative folliculitis: A study of 6 cases. *Am J Dermatopathol*. 2017 May 1;39(5):363-6.
113. Karıncaoğlu Y, Esrefoglu M, Özcan H. Atypical clinical form of cutaneous leishmaniasis: Erysipeloid form. *Int J Dermatol*. 2004 Nov;43(11):827-9.
114. Mnejja M, Hammami B, Chakroun A, Achour I, Charfeddine I, Chakroun A, et al. Unusual form of cutaneous leishmaniasis: Erysipeloid form. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2011;128(2):95-7.
115. Hervás JA, Martín-Santiago A, Hervás D, Rojo E, Mena A, Rocamora V, et al. Old world leishmania infantum cutaneous leishmaniasis unresponsive to liposomal amphotericin B treated with topical imiquimod. *Pediatr Infect Dis J*. 2012 Jan;31(1):97-100.
116. Wei Siah T, Lavender T, Charlton F, Wahie S, Schwab U. An unusual erysipelas-like presentation - PubMed. *Dermatology Online*. 2014;20(1):21255.
117. Mohammadpour I, Motazedian MH, Handjani F, Hatam GR. Cutaneous leishmaniasis of the eyelids: A case series with molecular identification and literature review. *Korean J Parasitol*. 2016 Dec 1;54(6):787-92.
118. Bogdan C, Röllinghoff M. The immune response to Leishmania: Mechanisms of parasite control and evasion. *Int J Parasitol*. 1998 Jan;28(1):121-34.
119. Uzun S, Acar MA, Uslular C, Kavukçua H, Aksungur VL, Ulha G, et al. Uncommon presentation of cutaneous leishmaniasis as eczema-like eruption. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 1999 May;12(3):266-8.
120. Manzur A, Butt U. Atypical cutaneous leishmaniasis resembling eczema on the foot - PubMed. *Dermatology Online*. 2006;12(3):18.
121. Nasiri S, Robati RM, Marefat A, Saeedi M, Sarrafi-Rad N. Bilateral cutaneous leishmaniasis presenting as eczema-like eruptions on the hands. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2010 May 1;76(3):307.
122. Zampetti A, Decinti M, Gnarra M, Massi G, Feliciani C, Linder D. "Eczema-like" leishmaniasis in an HIV patient. *Eur J Dermatology*. 2013 Jul;23(4):542-4.
123. Ayatollahi J, Bafghi AF, Shahcheraghi SH. Rare variants of cutaneous leishmaniasis presenting as eczematous lesions - PubMed. *Med J Islam Repub Iran*. 2014;28:71.
124. Hasbún Z C, Ogueta C I, Dossi C T, Wortsman X. Idiopathic Facial Aseptic Granuloma: Updated Review of Diagnostic and Therapeutic Difficulties. *Actas Dermosifiliogr*. 2019 Oct 1;110(8):637-41.
125. Veraldi S, Bottini S, Currò N, Gianotti R. Leishmaniasis of the eyelid mimicking an infundibular cyst and review of the literature on ocular leishmaniasis. *Int J Infect Dis*. 2010 Sep 1;14(SUPPL. 3):e230-2.
126. Garcias-Ladaria J, López-Brito K, Pascual-López M, Rocamora V. An itching plaque. *Dermatol Pract Concept*. 2015 Jan 30;5(1):51-3.
127. Yaghoobi R, Maraghi S, Bagherani N, Rafiei A. Cutaneous leishmaniasis of the lid: a report of nine cases. *Korean J Ophthalmol*. 2010;24(1):40-3.

128. Schwing A, Pomares C, Majoor A, Boyer L, Marty P, Michel G. Leishmania infection: Misdiagnosis as cancer and tumor-promoting potential. *Acta Trop.* 2019 Sep 1;197:104855.
129. Pires CAA, Pereira NG, Moreira AG, Sena JMC, Costa CCC, Bastos T dos S, et al. Cutaneous leishmaniasis mimicking cutaneous lymphoma. *IDCases.* 2019 Jan 1;17.
130. Asilian A, Momeni I, Khosravani P. Basal cell carcinoma superimposed on a cutaneous leishmaniasis lesion in an immunocompromised patient. *J Res Med Sci.* 2012;17(1):108-10.
131. Chisti M, Almasri R, Hamadah I. Is cutaneous leishmaniasis a risk factor for basal cell carcinoma?. *Gulf J Oncol.* 2016;1(21):64-6.
132. Ben Abda I, Ben-Abdallah R, Hammami H, Ben Abid M, Mdimagh-Kchir H, Bahri K, et al. Unexpected diagnosis of basal cell carcinoma in a patient presenting with a secondary location of Leishmania parasites in the skin. *Pan Afr Med J.* 2019;34.
133. Hu SCS, Lin CL, Tu HP. Association between psoriasis, psoriatic arthritis and gout: a nationwide population-based study. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2019 Mar 1;33(3):560-7.
134. García-Río I, Daudén E, Ballester-Díez M, Fraga J, García-Díez A. Leishmaniasis y nodulosis reumatoide en paciente con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Actas Dermosifiliogr.* 2010 Mar;101(2):164-7.
135. Herrerias-Moreno J, Expósito-Serrano V, Agut-Busquet E, Corbacho M, Sáez E, Luelmo J. Cutaneous leishmaniasis mimicking dactylitis in a patient with rheumatoid arthritis treated with certolizumab. *Clin Exp Dermatol.* 2018 Apr 1;43(3):348-50.
136. Rocamora Durán V, Pujol A, Riera MC, Fisa R, Serra T, Matanza I. Diagnóstico de leishmaniosis cutánea mediante test de PCR-RT en papel de filtro a partir de muestras de exudado y/o sangre obtenida de pacientes con sospecha de esta patología. XXXIX Congreso de la AEDV. Santiago de Compostela, junio de 2011. In.
137. Romero GAS, Noronha EF, Pirmez C, Pires F do ESS, Fernandes O, Nehme NS, et al. Sensitivity and reproducibility of a PCR assay for Leishmania detection using skin biopsy imprints on filter paper. *Acta Trop.* 2009 Jan;109(1):74-7.
138. Boggild AK, Valencia BM, Espinosa D, Veland N, Ramos AP, Arevalo J, et al. Detection and species identification of Leishmania DNA from filter paper lesion impressions for patients with american cutaneous leishmaniasis. *Clin Infect Dis.* 2010 Jan;50(1).
139. Morais RCS de, Melo MGN de, Goes TC de, Pessoa e Silva R, Morais RF de, Guerra JA de O, et al. Duplex qPCR for Leishmania species identification using lesion imprint on filter paper. *Exp Parasitol.* 2020 Dec 1;219.
140. Apaza-Castillo YG, Aguilar-Ancori EG, Quispe-Florez MM, Ramirez-Soto MC, Pacheco-Venero RL. PCR performance for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania viannia complex using biopsy samples, compared with exudate samples from skin lesions on filter paper. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2020 Oct 1;114(10):721-4.
141. Mota CA, Venazzi EAS, Zanzarini PD, Aristides SMA, Lonardon MVC, Silveira TGV. Filter paper performance in pcr for cutaneous leishmaniasis diagnosis. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2021;54:1-5.
142. Giavedoni P, Iranzo P, Fuertes I, Estrach T, Alsina Gibert M. Leishmaniasis cutánea.

- Experiencia de 20 años en un hospital español de tercer nivel. *Actas Dermosifiliogr.* 2015 May 1;106(4):310-6.
143. Cardozo RS, García-Montero PP, Chicharro C, Tardío JC. Cutaneous leishmaniasis: A pathological study of 360 cases with special emphasis on the contribution of immunohistochemistry and polymerase chain reaction to diagnosis. *J Cutan Pathol.* 2020 Nov 1;47(11):1018-25.
144. Merino-Espinosa G, Corpas-López V, Díaz-Sáez V, Morillas-Márquez F, Tercedor-Sánchez J, Azaña-Defez JM, et al. Cutaneous leishmaniasis by *Leishmania infantum*: behind granulomatous lesions of unknown aetiology. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2018 Jan 1;32(1):117-24.
145. López-Trujillo E, González-Farré M, Fisa R, Riera C, Alcover M, Bellosillo B, et al. Diagnostic usefulness of immunohistochemical evaluation of CD1a antigen and polyclonal anti-*Leishmania* antibodies in cutaneous leishmaniasis. *Histol Histopathol.* 2021;18324.:onlineaheadofprint.
146. Dunya G, Loya A, Taraif S, Adib Houreih M, Khalifeh I. Clinical, microscopic and molecular presentation in pediatric versus adult old world cutaneous Leishmaniasis. *Pediatr Dermatol.* 2020 Jul 18;37(4):656-60.
147. Aksoy M, Doni N, Ozkul HU, Yesilova Y, Ardic N, Yesilova A, et al. Pediatric Cutaneous Leishmaniasis in an Endemic Region in Turkey: A Retrospective Analysis of 8786 Cases during 1998-2014. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016 Jul 14;10(7):e0004835.
148. Noguera-Morel L, Azorin D, Xirotagaros G. Two small yellowish papules in a 1 year-old boy: cutaneous leishmaniasis - PubMed. *Dermatology Online.* 2016;22(3):13030/qt6357d3zm.
149. Saab M, El Hage H, Charafeddine K, Habib RH, Khalifeh I. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis: Why punch when you can scrape? *Am J Trop Med Hyg.* 2015 Mar 1;92(3):518-22.
150. Bosch-Nicolau P, Ubals M, Salvador F, Sánchez-Montalvá A, Aparicio G, Erra A, et al. Leishmaniasis and tumor necrosis factor alpha antagonists in the Mediterranean basin. A switch in clinical expression. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019;13(8).
151. Marcoval J, Penín RM. Evolution of cutaneous leishmaniasis in the last 30 years in a tertiary hospital of the European Mediterranean coast. *Int J Dermatol.* 2017 Jul 1;56(7):750-3.
152. Marcoval J, Penín RM, Sabé N, Valentí-Medina F, Bonfill-Ortí M, Martínez-Molina L. Cutaneous leishmaniasis associated with anti-tumour necrosis factor- $\alpha$  drugs: an emerging disease. *Clin Exp Dermatol.* 2017 Apr 1;42(3):331-4.
153. Sirekbasan S, Polat E, Kutlubay Z, Engin B. A Case of Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*. *Turkiye parazitolojii Derg.* 2019 Mar 28;43(1):41-3.
154. Merino-Espinosa G, Rodríguez-Granger J, Morillas-Márquez F, Tercedor J, Corpas-López V, Chiheb S, et al. Comparison of PCR-based methods for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis in two different epidemiological scenarios: Spain and Morocco. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2018 Nov 1;32(11):1999-2003.
155. Rocamora Durán V, Sahuquillo Torralba A, Mateu Puchades A, Valenzuela Oñate C, Vila Payeras A, Garcías Ladaria J, et al. 922 - 221. Leishmaniasis en pacientes en tratamiento biológico e inmunosupresor. Estudio multicéntrico de casos y controles. In: 47 Congreso

- Nacional de Dermatología y Venereología AEDV 2019 Barcelona, 5-8 de junio de 2019.
156. Alcover MM, Rocamora V, Guillén MC, Berenguer D, Cuadrado M, Riera C, et al. Case report: Diffuse cutaneous leishmaniasis by leishmania infantum in a patient undergoing immunosuppressive therapy: Risk status in an endemic mediterranean area. *Am J Trop Med Hyg.* 2018;98(5):1313-6.
  157. Sahuquillo-Torralla A, de Unamuno B, Quintero-Duarte A, Puchades AM, Martínez-Domenech A, Vila A, et al. 16811 Leishmaniasis in patients undergoing biologic and immunosuppressive treatment: Case-control multicenter study. *J Am Acad Dermatol.* 2020 Dec 1;83(6):AB185.
  158. Ameen M. Cutaneous leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutics. *Clin Exp Dermatol.* 2010 Oct;35(7):699-705.
  159. Monge-Maillo B, López-Vélez R. Therapeutic options for old world cutaneous leishmaniasis and new world cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Drugs.* 2013 Nov;73(17):1889-920.
  160. Hodiamont CJ, Kager PA, Bart A, de Vries HJC, van Thiel PPAM, Leenstra T, et al. Species-Directed Therapy for Leishmaniasis in Returning Travellers: A Comprehensive Guide. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(5).
  161. Meira C dos S, Gedamu L. Protective or detrimental? Understanding the role of host immunity in leishmaniasis. Vol. 7, *Microorganisms.* 2019. p. 695.
  162. González U, Pinart M, Reveiz L, Alvar J. Interventions for Old World cutaneous leishmaniasis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(4).
  163. Heras-Mosteiro J, Monge-Maillo B, Pinart M, Lopez Pereira P, Reveiz L, Garcia-Carrasco E, et al. Interventions for Old World cutaneous leishmaniasis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 Dec 1;12(12).
  164. Koff AB, Rosen T. Treatment of cutaneous leishmaniasis. *J Am Acad Dermatol.* 1994;31(5):693-708.
  165. Arevalo I, Tulliano G, Quispe A, Spaeth G, Matlashewski G, Llanos-Cuentas A, et al. Role of Imiquimod and Parenteral Meglumine Antimoniate in the Initial Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. *Clin Infect Dis.* 2007;44(12):1549-54.
  166. Khalili G, Dobakhti F, Mahmoudzadeh-Niknam H, Khaze V, Partovi F. Immunotherapy with Imiquimod increases the efficacy of Glucantime therapy of Leishmania major infection - PubMed. *Iran J Immunol.* 2011;8(1):45-51.
  167. Kunzler B. Cutaneous leishmaniasis: the efficacy of nonantimony treatment in the austere environment. Using cryotherapy, thermotherapy, and photodynamic therapy as an alternative method of treatment. *J Spec Oper Med.* 2013 Dec 1;13(4):40-5.
  168. Asilian A, Sadeghinia A, Faghihi G, Momeni A. Comparative study of the efficacy of combined cryotherapy and intralesional meglumine antimoniate (Glucantime®) vs. cryotherapy and intralesional meglumine antimoniate (Glucantime®) alone for the treatment of cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol.* 2004 Apr;43(4):281-3.
  169. Costin A, Bonito F, Alves J, Barreiros H. Treatment of Localized Cutaneous Leishmaniasis With Intralesional Meglumine Antimoniate and Photodynamic Therapy. *Actas Dermosifiliogr.* 2020

- Dec 1;111(10):897-9.
170. Michelerio A, Barruscotti S, Bossi G, Brazzelli V. Pediatric Old World cutaneous leishmaniasis treated with oral fluconazole: A case series. *Pediatr Dermatol*. 2018 May 1;35(3):384-7.
  171. Hussein NR, Naqid IA, Salih HM. The efficacy and safety of intralesional sodium stibogluconate for the treatment of cutaneous leishmaniasis in children under the age of two years. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2020;12(1):e2020027.
  172. Burden-Teh E, Wootton CI, Williams HC. Can a simple outpatient-based treatment be used to treat cutaneous leishmaniasis in young children? A Critically Appraised Topic. *Br J Dermatol*. 2015 Apr 1;172(4):861-6.
  173. Brito NC, Rabello A, Cota GF. Efficacy of pentavalent antimoniate intralesional infiltration therapy for cutaneous leishmaniasis: A systematic review. *PLoS One*. 2017 Sep 1;12(9):e0184777.
  174. Minodier P, Noël G, Blanc P, Uters M, Retornaz K, Garnier JM. Traitement des leishmanioses cutanées de l'adulte et de l'enfant [Management of cutaneous leishmaniasis in adults and children]. *Médecine Trop*. 2005;65(5):487-95.
  175. Mosleh IM, Geith E, Natsheh L, Schönian G, Abotteen N, Kharabsheh S. Efficacy of a weekly cryotherapy regimen to treat *Leishmania major* cutaneous leishmaniasis. *J Am Acad Dermatol*. 2008 Apr;58(4):617-24.
  176. Firooz A, Mortazavi H, Khamesipour A, Ghiasi M, Abedini R, Balighi K, et al. Old world cutaneous leishmaniasis in Iran: clinical variants and treatments. *Journal of Dermatological Treatment*. 2020; 1-11.
  177. Català A, Roé E, Dalmau J, Pomar V, Muñoz C, Yelamos O, et al. Anti-tumour necrosis factor-induced visceral and cutaneous leishmaniasis: Case report and review of the literature. *Dermatology*. 2015 Mar 19;230(3):204-7.
  178. Blasco Morente G, Rodríguez-Granger J, Tercedor Sánchez J, Latorre Fuentes JM. Infección del lóbulo auricular por *Leishmania* en el Viejo Mundo: una localización excepcional. *Actas Dermosifiliogr*. 2014 Jul 1;105(6):628-30.
  179. López-Escobar M, Drake-Monfort M, Salesa-Gutiérrez de Rozas R, Hermana-Ramírez S. Leishmaniasis cutánea esporotricóide. *Actas Dermosifiliogr* 2007 Jul-Aug;98(6):444-5. 2007;98(6):444-5.
  180. Vardy DA, Cohen A, Kachko L, Zvulunov A, Frankenburg S. Relapse of cutaneous leishmaniasis in a patient with an infected subcutaneous rheumatoid nodule. *Br J Dermatol*. 1999;141(5):914-7.
  181. Nabli N, Bossofara L, Rina G. Sporotrichoid Abscesses: A Rare Form of Recurrent Cutaneous Leishmaniasis in an Infant's Face. *Skinmed*. 2020;18(3):172-3.

## ANEXO

## A1. Tablas de recogida de datos

Tabla A1.1. Sexo, edad, características de las lesiones, tratamiento y tiempo de evolución en los pacientes de nuestra serie con lesiones múltiples

Caso n.º	Sexo	Edad	Tipo 1	Loc 1	CL 1	Tm 1	Tto 1	T Ev	Tipo 2	Tm 2	Loc 2	CL 2	Tto 2	Tipo 3	Loc 3	CL 3	Tm 3	Tto 3	Tipo 4	Loc 4	CL 4	Tm 4	Tto 4	
113*	H	55	PL	Muslo I	EI	10	Anf B	344	PL	10	Cuero cabelludo	CC	AnfB	PL	Abdomen	T	11	AnfB	PL	Muslo D	EI	10	No	
47	H	1	PL	Frente	CC	15	AM x7	140	PL	10	Mejilla D	CC	I	P	Brazo D	ES	5	Azol	PL	Retroauricular D	CC	11	No	
39	H	37	P	Canto interno ojo D	CC	9	AM x4	149	P	9	Frente	CC	AnfB	P	Oreja y nariz	CC	5							
60	M	0	P	Frente	CC	3	AM x2	92	P	8	Submentoniana I	CC	I	P	Escápula I	T	5							
110	M	59	P	Muñeca D	ES	6	AM x3	307	P	5	Muslo D	EI		P	Muslo I	ES	5							
74	M	5	PL	Cuello	CC	10	AM x2	192	PL	10	Cuello	CC	I	P	Cintura escapular I	T	6							
64	M	33	P	Escápula D	T	5	AM x2	128	P	6	Escápula I	T		P	Zona central alta de la espalda	T								
27	M	41	PL	Antebrazo D	ES	10	AM x3	230	PL	10	Brazo I	ES		PL	Brazo I	ES								
31	H	9	PL	Frente	T	12	AM x3	70	PL	11	Escápula I	T	Diprogenta	PL	Zona lumbar	T								
37	H	42	PL	Mano I	ES	10	AM x3	122	PL	10	Antebrazo D	ES		PL	Muñeca I	ES								
95*	H	48	PL	Tórax	T	11	AM x3	457	PL	11	Rodillas	EI		PL	Abdomen	T								
4	H	60	PL	Codo I	ES	13	AM x3	131	PL	11	Codo I	ES												
13	H	79	PL	Mejilla I	CC	40	AM x3	113	PL	20	Pabellón auricular D	CC	azol											
41	H	11	PL	Muslo I	CC	14	AM	227	P	7	Ante-	ES	I											

Caso n.º	Sexo	Edad	Tipo 1	Loc 1	CL 1	Tm 1	Tto 1	T Ev	Tipo 2	Tm 2	Loc 2	CL 2	Tto 2	Tipo 3	Loc 3	CL 3	Tm 3	Tto 3	Tipo 4	Loc 4	CL 4	Tm 4	Tto 4
							x2				brazo I												
65	H	32	P	4º dedo mano I	ES	3	AMx3	114	P	4	Codo I	ES											
71	H	85	P	Mejilla I	CC	7	AMx1	78	P	5	Nariz	CC											
72	H	35	P	Brazo D	ES	9	AMx4	55	P	6	Muslo D	EI											
79	M	47	P	Ceja D	CC	3	Trigo n	105	P	4	Zona preauricular I	CC											
80	M	49	P	Mejilla D	CC	5	AMx4	97	P	8	Zona parietal D	CC											
89	M	4	P	Mejilla	CC	6	AMx4	516	P	9	Submentoniana I	CC											
101	M	55	P	Mejilla D	CC	7	AMx3	84	P	6	Zona parietal D	CC											
119	H	0	PL	Escápula D	CC	13	AMx3	217	PL	10	Zona preauricular D	CC											

AnfB, anfotericina B; AMxn, n.º administraciones de antimoniato de meglumina intralesional; CC, cabeza y cuello; CL, código de localización; D, derecho/a; EI, extremidad inferior; ES, extremidad superior; H, hombre; I, izquierdo/a; Loc, localización de la lesión; M, mujer; MC, mucosa; ML, múltiple; N/C, no consta; NR, no registrado; P, lesión papulosa; PL, placa; T, tronco; T Ev, tiempo de evolución en días; Tipo, tipo de lesión; Tm, tamaño de la lesión en mm; Tto, tratamiento.

\*: paciente con inmunodepresión.

## A2. Formularios de consentimiento informado en el Servicio de Dermatología del Hospital de Manacor (Mallorca)

### A2.1. Formulario de consentimiento informado en catalán

 <p><b>Govern de les Illes Balears</b> Hospital de Manacor</p>	NHC: _____ Nom: _____ Línies: _____ _____	
<b>Consentiment Informat Dermatologia</b>		
<p style="text-align: center;"><b>Consentiment per a intervenció quirúrgica o altres procediments diagnòstics/terapèutics o presa d'imatges fotogràfiques per a seguiment de la patologia</b></p> <p><b>AUTORITZACIÓ:</b></p> <p>El sotassinat afirma que ha rebut informació clara i suficient sobre els motius, la conveniència, els avantatges i els riscos de la intervenció quirúrgica o procediment diagnòstic (biòpsia, cultiu, extracció de sang o mostres) i/o terapèutic (crioteràpia, electrocoagulació, raspat de lesions, curetatge) que li proposa el servei mèdic així com de les alternatives terapèutiques que existeixen. També afirma que ha tingut l'oportunitat de demanar i aclarir tots els dubtes que tenia i dona el seu consentiment perquè el metge actuï en conseqüència per tal d'obtenir el millor resultat segons el desenvolupament de la intervenció, el tractament mèdic pautat o els procediments alternatius realitzats, utilitzant tots els mitjans que li calguin.</p> <p>També afirma que ha entès, que qualsevol intervenció quirúrgica o procediment especial diagnòstic/terapèutic té uns riscos generals. El més greu és que es produeixi una aturada cardiorespiratòria produïda pel mateix procediment o per l'anestèsia, malgrat que habitualment l'anestèsia és local. Posteriorment a la intervenció poden aparèixer cicatrius antiestètiques.</p> <p>El pacient autoritza la realització de fotografies de seguiment de la seva patologia o amb finalitat científica.</p> <p>També autoritza, si cal, a realitzar mapeig digital de les lesions pigmentades per seguiment.</p>		
<b>DIAGNÒSTIC I PROPOSTA DE PROCEDIMENT:</b>		
Signatura del pacient o responsable	Signatura del testimoni	Signatura del metge
Data _____ Codi _____		

## A2.2. Formulario de consentimiento informado en castellano

 <p><b>Govern de les Illes Balears</b> Hospital de Manacor</p>	N.H.C.: _____ Nombre: _____ Apellidos: _____ _____	
<b>Consentimiento Informado Dermatología</b>		
<p style="text-align: center;"><b>Consentimiento informado para intervención quirúrgica u otros procedimientos diagnósticos/terapéuticos o toma de imágenes fotográficas para seguimiento de la patología</b></p> <p><b>AUTORIZACIÓN:</b>  El abajo firmante manifiesta que ha recibido información clara y suficiente sobre los motivos, la conveniencia, las ventajas y los riesgos de la intervención quirúrgica o procedimiento diagnóstico (biopsia, cultivo, extracción de sangre o muestras) y/o terapéutico (crioterapia, electrocoagulación, raspado de lesiones, curetaje) que le propone el servicio médico así como de las alternativas terapéuticas que existen. También afirma que ha tenido la oportunidad de pedir y aclarar todas las dudas que tenía y da su consentimiento para que el médico actúe en consecuencia para obtener el mejor resultado según se desarrolle la intervención, el tratamiento médico pautado o los procedimientos alternativos realizados, utilizando todos los medios necesarios.</p> <p>También manifiesta que ha comprendido, que cualquier intervención quirúrgica o procedimiento especial diagnóstico/ terapéutico tiene unos riesgos generales. El más grave es que se produzca una parada cardio-respiratoria producido por el mismo procedimiento o por la anestesia, a pesar de ser habitualmente anestesia local. Posteriormente a la intervención pueden aparecer cicatrices antiestéticas.</p> <p>El paciente autoriza la realización de fotografías de seguimiento de su patología o con finalidad científica.</p> <p>También autoriza, si hace falta, a realizar mapeo digital de las lesiones pigmentadas por seguimiento.</p>		
<b>DIAGNÓSTICO Y PROPUESTA DE PROCEDIMIENTO:</b>		
Firma del paciente o responsable	Firma del testigo	Firma del médico
Fecha _____ Código _____		

## A3. Formulario para el estudio de la leishmaniasis cutánea

**ESTUDI DE LA LEISHMANIOSI CUTÀNIA**Dades del centre:

Centre de procedència:	Servei:
Metge responsable:	Telèfon de contacte:
e-mail:	

Dades del pacient:

Cognoms:

NHC:

Nom:

Data de naixement:

Edad:

País de procedència:

Sexe:

 Home

 Dona

Malalties concomitants:

Tractaments:



Antecedents de leishmaniosis:

Tractaments de la leishmaniosis



---

Factors de risc :

Dades clíniques:		Altres dades:	
 HIV- Positiu	<input type="checkbox"/>		
 HIV- Negatiu	<input type="checkbox"/>		
Tipus de lesió:	LC <input type="checkbox"/>	LM <input type="checkbox"/>	LPKA <input type="checkbox"/>
			Temps d'evolució:
Localització de la lesió:	Lesió senzilla <input type="checkbox"/>	Múltiple <input type="checkbox"/>	Quantes?
Data recollida mostra:	Data enviament:		
Tractament:	No <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/>	Quin?

A4. Formulario del Servei d'Epidemiologia del CAIB para la declaraci3n obligatoria de la leishmaniasis

PROTOCOL DE NOTIFICACI3N DE "LEISHMANIOSI" (adaptat a RENAVE)			
<i>(NR=no realitzat; pt=pendent; desc=desconegut; pos=positiva; neg=negativa; CNM: Centre Nacional de Microbiologia; CA: Comunitat Aut3noma)</i>			
No emplenar: Data recepci3n	Set	Cas subnotificat?	no <input type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> →Font
No emplenar: Tipus de cas:	Probable <input type="checkbox"/>	Confirmat <input type="checkbox"/>	Pendent <input type="checkbox"/>

**DADES DEL DECLARANT**  
 Metge que declara el cas   
 Lloc de feina (detallar centre, servei, unitat)  Data de declaraci3n

**DADES DEL MALALT**  
 Nom  Llinatge 1  CIP  NHClínica   
 Data naixement  Edat  anys  mesos (< de 2 anys) Home  Dona

Domicili  Telèfon   
 Localitat i municipi  Professi3n   
 Lloc de feina/escola/curs/aula  Telèfon

Estranger Si  No  Desc  Turista Si  No  Desc  Nacionalitat/país procedència   
 Data arribada a Balears  Dades allotjament (hotel, zona,...)

**DADES CLÍNQUES** Data d'inici símptomes  És una data estimada? Si  No

Forma clínica visceral  cutània  mucocutània

Símptomes Febre: Si  No  Desc  Esplenomegàlia: Si  No  Desc   
 Pèrdua de pes: Si  No  Desc  Adenopatia: Si  No  Desc  Hepatomegàlia: Si  No  Desc

Ingress hospitalari: No  Si  → Data, hospital i servei   
 Data alta hospitalària →

Evoluci3n: Pendent  Curaci3n  Desc  Defunci3n  →Data

**LABORATORI** Visualitzaci3n (frotis, bi3psia, cultiu...) → NR  Pt  neg  pos  →data   
 Proves serol3giques → NR  Pt  neg  pos  →data   
 PCR → NR  Pt  neg  pos  →data

Especi identificada: spp  Infantum  Altres (especificar) →

**DADES EPIDEMIOL3GQUES** Tipus de cas: Aut3cton  ↓Importat o Extracomunitari ↓  →CA o País adquisici3n

Perfil: Immigrant estranger  Immigrant espanyol  Turista resident a →Balears  →a altres CA  →a altres països   
 Treballador temporal  Cooperant  Visita familiar/amics(VFR,s)  Altres

Tipus de cas: cas aïllat  associat a brot  →num.

**Factors de risc:**

Immunodepresi3n: No  Desc  Si   
 Transfusi3n: No  Desc  Si  → data  →Lloc   
 Trasplantament No  Desc  Si  → data  →Lloc   
 Drogues: No  udvp  Ex-udvp  Desc  VIH: pos  neg  desc

Factors ambientals a l'entorn del cas → Cans: Si  No  Desc   
 Moscards Si  No  Desc   
 Granges / ramaderia Si  No  Desc   
 Abocadors Si  No  Desc

Direcci3n o zona geogràfica amb més probabilitat de ser el lloc d'exposici3n →   
 No identificable

**OBSERVACIONS**