

SEROPREVALENCIA DE LEISHMANIASIS VISCERAL CANINA EN EL BARRIO  
EL JORDAN DEL MUNICIPIO DE NEIVA 2010

JOHANNA PAOLA BAHAMON ROJAS  
LUCIO SIGIFREDO GAVIRIA  
DIEGO MAURICIO QUINTERO BONILLA

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA  
FACULTAD DE SALUD  
ESPECIALIZACION EN EPIDEMIOLOGIA  
NEIVA - HUILA  
2012

SEROPREVALENCIA DE LEISHMANIASIS VISCERAL CANINA EN EL BARRIO  
EL JORDAN DEL MUNICIPIO DE NEIVA 2010

JOHANNA PAOLA BAHAMON ROJAS  
LUCIO SIGIFREDO GAVIRIA  
DIEGO MAURICIO QUINTERO BONILLA

Tesis de grado presentado como requisito para optar al título de Especialistas en  
Epidemiología.

Asesor  
JORGE ERNESTO VICTORIA RESTREPO  
Medico Epidemiólogo

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA  
FACULTAD DE SALUD  
ESPECIALIZACION EN EPIDEMIOLOGIA  
NEIVA - HUILA  
2012

Nota de aceptación:

-----  
-----  
-----  
-----  
-----  
-----

-----  
Firma del presidente del jurado

-----  
Firma del jurado

-----  
Firma del jurado

Neiva, Julio del 2012

DEDICATORIA

*Al motor de nuestra vida,  
que hizo posible la realización de este  
proyecto,  
a ti Dios,  
Gracias.*

DIEGO MAURICIO  
JOHANNA PAOLA  
LUCIO SIGIFREDO

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos:

La finalización de este trabajo de grado para la Especialización en Epidemiología, si bien ha requerido esfuerzo y mucha dedicación por parte de los autores y su asesor de investigación, no hubiese sido posible sin la cooperación de la Secretaria de Salud Departamental del Huila, siendo un soporte fuerte en el proceso de recolección de muestras, datos y materiales específicos, los cuales fueron indispensables para la realización de este proyecto.

Primero y antes que nada queremos dar gracias a Dios, por estar con nosotros en cada proceso, por fortalecer nuestros corazones e iluminar nuestras mentes y por tener a aquellas personas que han sido nuestro soporte y compañía durante todo el período de estudio.

De igual manera, damos nuestros sinceros agradecimientos a las personas del barrio el Jordán y propietarios de los caninos que gentilmente permitieron el desarrollo del trabajo, a nuestro asesor, el cual fue guía no sólo académico sino personal, a las personas que directamente e indirectamente hicieron posible su realización: Doctor. Jorge Ernesto Victoria Restrepo, Doctora. María Clemencia Rojas García, Bacterióloga y Epidemióloga de la Secretaria de salud Departamental Huila, Doctor. Carlos Alberto Lozano Polanco, Médico veterinario y coordinador del programa de zoonosis de la Secretaria de salud Departamental del Huila y al Instituto Nacional de salud-grupo de Parasitología en Bogotá.

Y a todas aquellas personas que nos colaboraron en este proceso de desarrollo profesional.

A todos MIL GRACIAS!!!

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	16
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
2. JUSTIFICACION	21
3. OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GENERAL	23
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	23
4. MARCO TEORICO	24
4.1 ANTECEDENTES	24
4.2 AGENTES ETIOLOGICOS	25
4.3 MORFOLOGIA	25
4.3.1 El promastigote	26
4.3.2 El amastigote	26
4.4 CICLO DE VIDA	27
4.5 TIPOS DE LEISHMANIASIS	30
4.5.1 Leishmaniasis Cutánea	30
4.5.2 Leishmaniasis Viscera	31
4.6 ASPECTOS ENTOMOLÓGICOS DE LA LEISHMANIASIS	33
4.6.1 El vector	33
4.6.2 Criterios de incriminación vectorial	34
4.6.3 Ciclo de vida del vector	35
4.6.4 Biología y comportamiento vectorial	35
4.7 TAXONOMIA	37

4.8	RESERVORIOS	37
4.9	DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO PARA LEISHMANIASIS VISCERAL CANINA	38
4.9.1	Diagnostico Clínico	38
4.9.2	Métodos Parasitológicos	39
4.9.3	Métodos Serológicos	40
		Pág.
4.9.3.1	Inmunofluorecencia indirecta (IFI)	40
4.9.3.2	Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA)	41
4.9.3.3	Western Blot (WB)	42
4.9.3.4	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	43
4.10	TRATAMIENTO	43
5.	DISEÑO METODOLOGICO	44
5.1	TIPO DE ESTUDIO	44
5.2	LUGAR DE ESTUDIO	44
5.3	POBLACIÓN Y MUESTRA	46
5.3.1	Población	46
5.4	OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES	47
5.5	ENCUESTA EPIDEMIOLOGICA Y EXAMEN CLINICO	48
5.6	RECOLECCION DE LAS MUESTRAS	48
5.7	TECNICA Y PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCION DE DATOS	49
5.8	INSTRUMENTO PARA LA RECOLECCION DE DATOS	50
5.9	CODIFICACION Y TABULACION	50
5.10	CONSIDERACIONES ETICAS	51
6.	RESULTADOS	52
7.	DISCUSIÓN	56
8.	CONCLUSIONES	59
9.	RECOMENDACIONES	61
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	63

BIBLIOGRAFIA	73
ANEXOS	77

#### LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Operacionalización de las variables	47
Tabla 2 Seroprevalencia de Leishmaniasis visceral canina en el barrio El Jordán, evaluada mediante la prueba IFI, Neiva 2010	53



## LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Morfología del promastigotes de la leishmaniasis	26
Figura 2	Morfología del amastigote dentro de un macrófago	27
Figura 3	Ciclo de vida de la leishmaniasis	28
Figura 4	Lesiones en piel por Leishmaniasis cutánea y difusa	31
Figura 5	Hepatomegalia por leishmaniasis visceral	32
Figura 6	Lutzomyia sp	34
Figura 7	Reservorios de la Leishmaniasis	38
Figura 8	Ubicación del Departamento del Huila y sus límites	45
Figura 9	Ubicación geopolítica del barrio el Jordán de la comuna cinco	46

## LISTA DE ANEXOS

		Pág.
Anexo A	Encuesta epidemiológica para caracterización de focos de leishmaniasis visceral en el Huila	78
Anexo B	Consentimiento informado	81

## ABREVIATURAS

LV:	Leishmaniasis Visceral.
LVC:	Leishmaniasis visceral canina.
LC:	Leishmaniasis cutánea.
LVA:	leishmaniasis Visceral americana.
IFI:	Inmunofluorecencia Indirecta.
IEC:	Estrategias de Información, Educación, Comunicación.
OMS:	Organización Mundial de la Salud.
INS:	Instituto Nacional de Salud.
ETV:	Enfermedades transmitidas por vectores.
ELISA:	Inmunoensayo ligado a enzimas.
WB:	western blot.

## RESUMEN

**Introducción:** La Leishmaniasis visceral canina (LVC), es una enfermedad endémica en Colombia que se constituye como un factor de riesgo para la salud pública, dado el carácter zoonótico de esta. Durante el año epidemiológico del 2009, fueron notificados y confirmados por el laboratorio de salud pública de la Secretaria de Salud Departamental del Huila, dos casos de LV en humanos en el área urbana del municipio de Neiva, zona de influencia del vector *Lutzomyia longipalpis*.

**Objetivo:** Determinar la seroprevalencia de Leishmaniasis visceral en caninos, en el barrio el Jordán, de la comuna cinco (5) de la ciudad de Neiva, capital del departamento de Huila durante el segundo semestre del 2010, con la finalidad de comprobar que el canino es uno de los reservorios responsables de la urbanización de la enfermedad.

**Materiales y métodos:** se realizó una encuesta epidemiológica a 156 viviendas, dependiendo del cerco epidemiológico, tomando como referencia la casa donde se presentó el caso de LV y un previo consentimiento donde se llevó a cabo un examen clínico general y toma de muestra de sangre de cada una de las mascotas de las viviendas. Los sueros fueron enviados y analizados por el Instituto Nacional de Salud (INS) en Bogotá empleando la técnica IFI, la cepa utilizada fue MHOM/CO/1984/CLO44B. Se realizó análisis descriptivo.

**Resultados:** Se tomaron 107 muestras por venopunción de la vena cefálica a caninos de todas las edades residentes en el barrio el Jordán, dando como resultado una seroprevalencia del 0.93% y el 99.07% fueron animales negativos, del total de los caninos el 51.4% fueron machos y el 48.6% fueron hembras; la edad promedio fue de 3.64 años donde la raza más frecuente fue la criolla con el 60.75% sin descartar las demás razas. En el examen clínico, las manifestaciones más frecuentes fueron: alopecia 2.8%, diarrea 0.93% y dermatitis con el 2.8%. Adicionalmente se observó un promedio de dos niños por perro.

Conclusiones: Estos datos demuestran que la presencia de caninos seropositivos con los antecedentes por parte del grupo de ETV-entomología de la Secretaria de Salud Departamental del Huila sobre la presencia del vector, el cual habitan en ambientes urbanos como en la zona de estudio. Esto es un llamado de alerta hacia los entes responsables para que tengan en cuenta la implementación de programas de control y prevención de esta zoonosis en el sistema general de seguridad social en salud, siendo esta una enfermedad de mayor ámbito en zonas rurales que urbanas.

Palabras Claves. Leishmaniasis visceral canina, caninos, técnica de IFI, *Leishmania infantum* o *chagasi*, ETV (enfermedades transmitidas por vectores)

## ABSTRACT

**Introduction:** The leishmaniasis visceral canine (LVC), it is an endemic disease in Colombia which establishes as a risk factor for the public health for its zoonotic feature. During 2009 “epidemiology year” the Public Health’s lab of the Health Secretary of the Departmental Government detected and confirmed two cases of LV in humans in the urban area from Neiva Municipality, Huila Department , risk zone of *Lutzomyia Longipalpis*.

**Objective:** To determine the existence of visceral leishmaniasis in cans in the Jordan neighborhood of the five district of Neiva city, capital of Huila Department during the second semester of the 2010, in order to verify that the can is one of the focus or vector responsables of the such disease in the urban zone.

**Material and Methods:** An epidemiology survey was carried out to 156 housings depending upon epidemiology place, taking like reference the housing where was detected the LV and pets’s general and blood test of the housing. The serums were analyzed using the IFI technique and they were sent by Health National Institute (INS) of Bogotá. The strain used was MHOM/CO/1984/CLO44B. Descriptive analysis were realized too.

**Results:** A total of 107 samples were taken to dogs of all ages from Jordan neighborhood. These samples were taken by venipuncture of the cephalic vein, giving the following results: 99.07 % of the population gave negative and 0.93% was positive (one can) which 51.4% are males and 48.6% are females, the average age was 3.64 years where the most common breed was the Creole (criolla) with 60.75 %. In the clinic test the most common diseases were Alopecia 2.8 %, Diarrhea 0.93 % and Dermatitis 2.8 %. Besides, an average of two children per dog was observed.

**Conclusions:** The ETV – Entomology group of the Health Secretary of the Departmental Government demonstrates that there are positives cans with this disease which live in an urban ambient like in the study zone. This is a call for responsible institutions which must take into account establish control and

prevention programs of this zoonosis into General Health Social Security system, but, it is one of the most scope diseases in rural zones than urban zones.

Key Words. Leishmaniasis visceral canine, cans, IFI technique, Leishmania infantum o Chagasi, ETV (diseases transmitted by vectors).

## INTRODUCCION

La Leishmaniasis Visceral (LV) americana es una enfermedad parasitaria causada por un protozoo denominado *Leishmania infantum* y transmitida por la picadura de insectos flebotomíneos del genero *Lutzomyia* (*Lu.*) *longipalpis* y esporádicamente *Lu. evansi*. La LV en Colombia es una enfermedad de notificación obligatoria, que afecta principalmente a niños menores de cinco años y a pacientes inmunosuprimidos, produciendo una letalidad del 95% cuando no se instaure el tratamiento oportuno. <sup>(1)</sup> En Colombia se distribuye a través del valle del río Magdalena, departamentos de Cundinamarca, Tolima, Huila, Norte de Santander, Antioquia y Caldas, así como en la costa caribe en Córdoba, Sucre, Bolívar y la Guajira. <sup>(2)</sup>

Las diversas formas clínicas de la leishmaniasis constituyen un serio problema de salud pública en el mundo. Según las estadísticas de la organización mundial de la salud (OMS), 350 millones de personas están en riesgo de contraer la infección, existen actualmente cerca de 12 millones de personas infectadas y cada año se presentan aproximadamente 2 millones de casos nuevos de las diferentes formas clínicas de esta parasitosis. <sup>(3)</sup>

En Francia, España e Italia, la leishmaniasis visceral producida por *L. infantum* estaba prácticamente restringida al reservorio canino y el aumento de casos, con características epidémicas, se asoció a coinfección con VIH; la enfermedad presentó manifestaciones clínicas y epidemiológicas nunca antes vistas, con transmisión interhumana, al compartir agujas y jeringas, en adictos a drogas usadas por vía parenteral. <sup>(4)</sup>

Los cambios climáticos a nivel mundial han ampliado el rango de distribución de los vectores; los movimientos poblacionales de zonas de alto riesgo para la infección de la leishmaniasis que migran a las grandes ciudades, se constituyen en factores que favorecen la urbanización de la enfermedad. Recientemente se ha informado la presencia de especies de *Lutzomyia* en áreas urbanas de ciudades como Barrancabermeja, Bucaramanga, Villeta y Bello (Antioquia) entre otras, lo cual lleva a pensar que igual situación puede estar ocurriendo en Neiva. El desplazamiento de poblaciones debido a los problemas de orden social puede favorecer la llegada de pacientes infectados con leishmaniasis cutánea y visceral, lo que podría llevar a la urbanización de esta patología. <sup>(5)</sup>

El propósito de este trabajo fue determinar la prevalencia de parásitos del genero *Leishmania* mediante la prueba de IFI en sueros de perros recolectados en el



barrio el Jordán de la comuna cinco, área urbana de Neiva y el riesgo que esto representa a la comunidad.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La *Leishmania* (kinetoplastida: Trypanosomatidae) son un grupo de enfermedades parasitarias zoonóticas de importancia médica y veterinaria, producida por diferentes especies de protozoarios hemoflagelados del género *Leishmania*. La enfermedad es transmitida por insectos dípteros hematófagos, que corresponden a diferentes especies de *Phlebotomus* y *Lutzomyias*, y el reservorio son los animales vertebrados. Las Leishmaniasis constituyen un grupo de enfermedades con características epidemiológicas y clínicas diversas, desde las úlceras cutáneas a la enfermedad visceral grave, potencialmente fatal. <sup>(6)</sup>

Las diversas formas clínicas de la leishmaniasis constituyen un serio problema de salud pública en el mundo. Según las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), 350 millones de personas están en riesgo de contraer la infección, existe actualmente cerca de 12 millones de personas infectadas y cada año se presentan aproximadamente 2 millones de casos nuevos de las diferentes formas clínicas de esta parasitosis. En la matriz de énfasis estratégico del programa de investigación en enfermedades tropicales (*Tropical Disease Research*) de la OMS, la leishmaniasis está clasificada en la categoría I como una enfermedad emergente y sin control. La leishmaniasis es considerada una de las enfermedades reemergentes desatendidas debido no solo a la proporción de los casos de leishmaniasis en relación con la magnitud de casos de malaria, tuberculosis o VIH/SIDA, sino también por las limitadas fuentes de financiamiento para investigación y los escasos desarrollos tecnológicos de punta en el campo del diagnóstico y tratamientos innovadores. <sup>(7)</sup>

Históricamente se admite que la leishmaniasis es una enfermedad autóctona del continente americano. El entomólogo brasileño Antunes fue el primer investigador que registró especies de *Phlebotomus* en el año de 1934 y 1935 en el municipio de Restrepo, Departamento del Meta. Posteriormente en 1939 Osorno-Mesa realizaron capturas de *Lutzomyias* en el Valle de Capulí, departamento de Nariño, debido a una epidemia que se presentó en la región. El primer caso humano de leishmaniasis visceral en Colombia lo reportó Gast Galvis en el año de 1944 en un estudio epidemiológico en la vivienda donde murió una niña en el municipio de San Vicente de Chucurí, departamento de Santander. <sup>(8)</sup>

En el 2005 se notificó en Colombia 18.097 casos de Leishmaniasis, cifra que incluye los casos de las fuerzas militares y que representa un incremento de 3.794 casos (21,9%) al compararla con el número de casos notificados en el 2004. De ellos, 17.983 casos correspondieron a la forma cutánea (99,4%), 60 (0,3%) a la mucosa y 54 a la visceral (0,3%). La distribución de los casos de Leishmaniasis

cutánea por grupos de edad muestra que 4,4% ocurrieron en menores de 4 años, 8,8% en el grupo de 5 a 14 años, 81,3% en el de 15 a 44 años, y 5,5% en mayores de 45 años. El notorio aumento de la notificación de casos de Leishmaniasis en los dos últimos años refleja un incremento de la transmisión de esta parasitosis, atribuible a diversos factores, entre otros, al aumento de las actividades humanas en ambientes silvestres en donde existe transmisión enzoótica; y a los cambios en los entornos de transmisión, que ahora incluyen el peri domicilio y el domicilio, y zonas periurbanas. <sup>(9)</sup>

En Colombia, los estudios realizados en perros incluyen los desarrollados en la Costa del Caribe, en el corregimiento de cerro Vidales y en el Municipio de Montería, Córdoba, donde se informaron mediante exámenes parasitológicos prevalencias de 8.33% y 26.17%, respectivamente; de la misma forma, mediante prueba de Inmunofluorecencia indirecta se identificaron en los municipios de Ovejas (Sucre), San Andrés de Sotavento (Córdoba), y el Carmen de Bolívar (Bolívar), con prevalencias entre 3.84% y 9.6%. <sup>(10)</sup>

Estudios realizados por *Jose fernandes, Felio Bello y col;* en cuatro municipios del Huila y la comuna 8 de Neiva, se observaron que los dos municipios con mayor seropositividad fue en la ciudad de Neiva, con una seroprevalencia del (20.4%) y Villa Vieja con el (20.3%), con respecto a los demás municipios estudiados, esto podría indicar variaciones en la densidad tanto de vectores como de perros, lo cual se podría explicar por el desplazamiento de la población de mascotas a las ciudades, a la presencia de reservorios y vectores a nivel urbano y a la circulación de los perros entre los ambientes silvestres y domésticos. <sup>(11)</sup>

De igual forma, este desplazamiento, podría jugar un papel importante en la transmisión de la enfermedad de áreas endémicas a zonas no endémicas, de las zonas rurales a zonas periurbanas y urbanas de la ciudad de Neiva, lo cual incrementa el riesgo de transmisión y el aumento de la incidencia de esta zoonosis en la población infantil, fenómeno que se viene observando en otros países y ciudades de Colombia. <sup>(12)</sup>

Durante el segundo semestre del año epidemiológico del 2009 se notificó al sistema de vigilancia "SIVIGILA" y al grupo de vigilancia de la Secretaria de Salud Departamental, un caso de Leishmaniasis visceral en el barrio el Jordán de la comuna cinco de Neiva-Huila, el cual fue confirmado por el laboratorio de Salud Publica Departamental; es de tener en cuenta que esta entidad ha encontrado la presencia de vectores mediante capturas con trampas CDC en el área de estudio por el programa de ETV-grupo de entomología. <sup>(13)</sup>

Teniendo en cuenta la asociación entre la enfermedad en humanos y los reservorios (caninos) con la presencia del vector, se realizaron pruebas serológicas para determinar la presencia de la enfermedad en los caninos presentes en el área de estudio para así minimizar el factor de riesgo y de la propagación de la enfermedad en el casco urbano.

## 2. JUSTIFICACION

La vigilancia y control de la leishmaniasis se ve afectada por la falta de información epidemiológica precisa, sensible, específica y oportuna. Adicionalmente, y considerando las barreras que se mencionan para el logro de las metas de Desarrollo del Milenio, la incapacidad de los estados para garantizar una cobertura amplia, con diagnóstico rápido y tratamiento oportuno, como también el desplazamiento forzoso y los conflictos sociopolíticos son elementos que han contribuido a la persistencia y resurgimiento de la enfermedad.<sup>(14)</sup>

Esta enfermedad afecta a la población más pobre e impone una pesada carga económica a los pacientes, sus familias, las comunidades y los países, en particular los del tercer mundo. La desnutrición y la inseguridad alimentaria suelen indicarse como causas importantes de la predisposición a la leishmaniasis visceral y de la gravedad de su cuadro clínico.<sup>(15)</sup>

Según la Secretaría de Salud Departamental del Huila se registraron 1560 casos de leishmaniosis durante el periodo 1993 a 1996, época de la última epidemia, constituyéndose en una patología registrada en una gran proporción de los municipios del departamento (46% de los 37 municipios). Se han informado, la gran mayoría, en las zonas cafeteras de los municipios de Neiva, Tello, Rivera, Baraya y Algeciras.<sup>(16)</sup>

El rango de distribución para los vectores de Leishmaniasis ha sido afectado por los cambios climáticos a nivel mundial; a su vez, los movimientos poblacionales de zonas de alto riesgo para la infección de la leishmaniasis que migran hacia las ciudades se constituyen en los factores que favorecen la urbanización de la enfermedad.<sup>(17)</sup>

Se ha informado recientemente la presencia de especies de *Lutzomyias* en áreas urbanas de ciudades como Barrancabermeja, Bello (Antioquia), Bucaramanga y Villeta entre otras, lo que lleva a pensar que dicho fenómeno esté ocurriendo en Neiva. El impacto del fenómeno de los desplazados debido a problemas de índole político, económico y social podría estar favoreciendo la llegada de personas infectadas con leishmaniosis cutánea o visceral a las áreas urbanas del país, ya que en los años anteriores se consideraba a esta enfermedad como específica de zonas de bosque. En el departamento del Huila en los últimos años se ha encontrado en áreas rurales asociadas principalmente a cultivos de café.<sup>(18)</sup>

Por esta razón, la realización del estudio aportó una gran información con respecto al desplazamiento que han tenido los vectores dentro del casco urbano ya que para el año 2009 solo se reportaron 2 casos en todo el año de leishmaniasis visceral, en el barrio el Jordán de la comuna 5 de la ciudad de Neiva, teniendo como referencia estos nuevos casos por menos significativos que sean son una señal de alerta, que la enfermedad se encuentra dentro del casco urbano, sin descartar que existe la presencia del vector y reservorios en esta zona.

Lo que buscamos es conocer que tanto se ha expandido esta enfermedad en la ciudad de Neiva y si existen reservorios seropositivos a la enfermedad utilizando la prueba de Inmunofluorecencia Indirecta que la realiza el Instituto Nacional de Salud para así, poder hacer las intervenciones pertinentes que han sido descritas en el Instituto Nacional de Salud cuando se presentan casos de Leishmaniasis visceral.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la seroprevalencia de Leishmaniasis visceral en caninos, recolectados en el barrio el Jordán de la comuna cinco (5), de la ciudad de Neiva, durante el segundo semestre del año 2010.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar la prevalencia en caninos con Leishmaniasis visceral que se encuentren en el área de estudio.

Identificar las características sociodemográficas de la población canina existente en el barrio el Jordán de la ciudad de Neiva.

## 4. MARCO TEORICO

La leishmaniasis es un grupo de enfermedades crónicas causadas por parásitos protozoarios del género *Leishmania* y transmitida por mosquitos que en el Nuevo Mundo pertenecen al género *Lutzomyia*, tienen como reservorios a animales domésticos, silvestres y algunas ocasiones, al hombre. La enfermedad existe en forma endémica en 82 países del mundo localizados en las zonas tropicales y subtropicales y afectan alrededor de 12 millones de personas. Ésta enfermedad se presenta en cuatro formas clínicas diferentes: leishmaniasis cutánea, mucocutánea, cutánea difusa y visceral. <sup>(19)</sup>

### 4.1 ANTECEDENTES

Se admite que la leishmaniosis cutánea es una entidad autóctona del continente americano. Algunas artesanías precolombinas de Perú y Ecuador reproducían en sus cerámicas, figuras humanas con numerosos estados patológicos. *Pedro Pizarro* en 1571, relató que algunos indígenas eran atacados por un mal de nariz que ahora sabemos es leishmaniasis mucocutánea. <sup>(20)</sup>

El descubrimiento de los agentes etiológicos de leishmaniasis, solo ocurrió a finales del siglo XIX, cuando *Cunningham* (1885), en India, descubre formas amastigotas en casos de kala-azar. Posteriormente, en 1898, el científico ruso, *Borovisky* demostró que era un protozoario el agente etiológico. <sup>(21)</sup>

Estas formas fueron estudiadas por *Leishman* en 1903, él reconoció la semejanza de este protozoario con las formas redondeadas de *Trypanosoma*. En el mismo año *Donovan* los describió en la enfermedad llamada Dum-Dum o kala-azar. *Laveram* y *Mesnil*, examinando algunas mezclas de *Donovan*, las llamaron el *Pinoplasma donovani*. *Ross* en 1903 demostró, sin embargo, que los organismos evidenciados en la preparación de *Donovan* no eran esporozoarios como él había pensado y estableció un nuevo género, el género *Leishmania*. <sup>(22)</sup>

En el continente americano a varias enfermedades causantes de lesiones en piel, principalmente en cara, se les dio diferentes nombres entre ellos úlcera de Bauru, herida valiente, uta, úlcera del chiclero. La correlación de estas lesiones con un protozoario del género *Leishmania* fue establecido por *Gaspar Vianna* en 1909 en el Instituto Oswaldo Cruz, recibiendo el nombre de *Leishmania braziliensis*. <sup>(23)</sup>



## 4.2 AGENTES ETIOLOGICOS

La *Leishmania* spp. Incluye a una serie de protozoos flagelados pertenecientes al subphylum: *Mastigophora*, orden: *Kinetoplastida*, familia: *Trypanosomatidae*. El género *Leishmania* ha sido dividido en dos subgéneros: *Leishmania* (*Leishmania*) y *Leishmania* (*Viannia*), de acuerdo al sitio de desarrollo de los parásitos en la mosca transmisora y las especies y subespecies se agrupan dentro de complejos: *L. (L.) mexicana*, *L. (V.) braziliensis* y *L.(L.) donovani*.

Los parásitos que producen lesiones viscerales pertenecen al subgénero *L. (Leishmania)*: *L. infantum/L. chagasi* en América y *L. donovani* y *L. infantum* en el Viejo Mundo. La patología cutánea es producida por *L. major/L. tropica* en el Viejo Mundo y *L. mexicana/L.braziliensis* en América.

La enfermedad mucocutánea es causada principalmente por *L. braziliensis*, y también por *L. guyanensis*, *L. peruviana* y *L. panamensis*. Desde luego, este comportamiento no es estricto, ya que existen casos reportados de lesiones cutáneas ocasionadas por *L. infantum* y lesiones viscerales debidas a *L. amazonensis* y *L. tropica*.

Actualmente, se consideran patógenas para el hombre las siguientes especies: *L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*, *L. archibaldi*, *L. major*, *L. tropica*, *L. aethiopica*, *L. mexicana*, *L. pifanoi*, *L. amazonensis*, *L. garnhami*, *L. venezuelensis*, *L.braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. peruviana* y *L. panamensis*.

Las diferentes especies de *Leishmania* no se pueden identificar por su morfología. La clasificación se hace en función de sus características: 1) biológicas – morfología, desarrollo en el flebótomo, crecimiento en medios de cultivo, desarrollo en los hospederos vertebrados; 2) bioquímicas: patrones isoenzimáticos, análisis del DNA nuclear y del citoplasto; 3) inmunológicas: reactividad del parásito con anticuerpos monoclonales. <sup>(24)</sup>

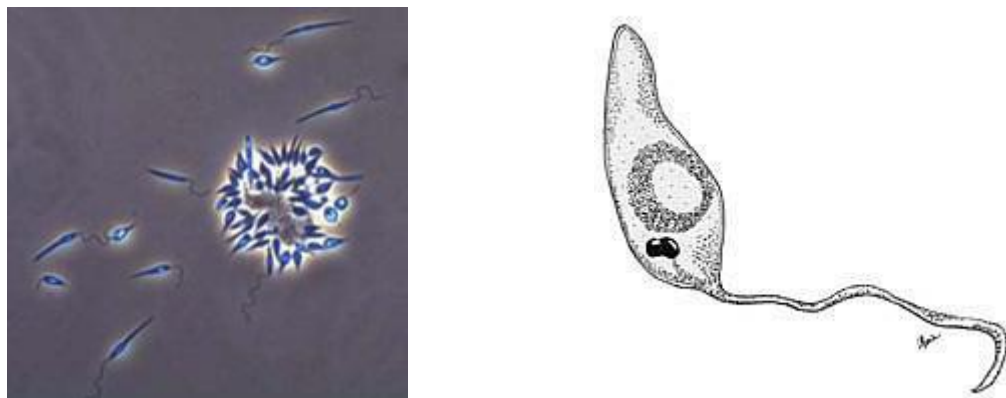
## 4.3 MORFOLOGIA

Las características morfológicas de los protozoos del género *Leishmania* corresponden a dos formas parasitarias que adoptan según su ciclo de vida: amastigotes y promastigotes. La *Leishmania* es un protozoo intracelular obligado

dimórfico; en los hospederos mamíferos se localiza en macrófagos y células dendríticas (células de Langerhans en la piel).<sup>(25)</sup>

4.3.1 El promastigote. La forma infectante, alargada, extracelular, se desarrolla y multiplica en el tracto digestivo de los insectos transmisores, pertenecientes al género *Lutzomyia* en América y *Phlebotomus* en el Viejo Mundo. Mide 10 - 20  $\mu\text{m}$ , sin contar la longitud de un único flagelo, cuyo tamaño oscila entre 15 - 25  $\mu\text{m}$ ; presenta un gran núcleo central, ribosomas, retículo endoplásmico, aparato de Golgi, vesículas y una mitocondria (ver Figura 1). El cinetoplasto aparece como una banda granular electrodensa dentro de la extensión de la mitocondria, localizado a 1 - 2  $\mu\text{m}$  del extremo anterior del parásito, de donde emerge el flagelo. El axonema que se origina en el cuerpo basal está contenido dentro del bolsillo flagelar.<sup>(26)</sup>

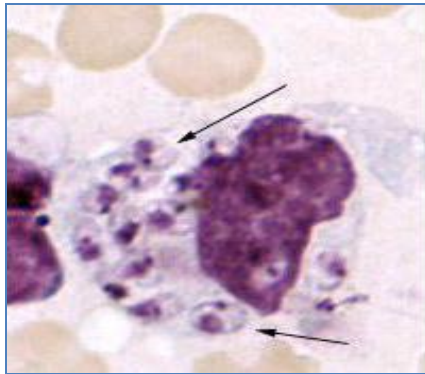
Figura 1. Morfología del promastigotes de la leishmaniasis.



Fuente: Leishmania Infection (leishmaniasis) and animals. National center for infectious diseases

4.3.2 El amastigote. La forma replicativa, redonda u oval, intracelular, reside y se multiplica en fagolisosomas dentro de fagocitos mononucleares de los hospederos, aunque se ha documentado la presencia de amastigotes en neutrófilos y fibroblastos en lesiones de piel. Mide 2 - 4  $\mu\text{m}$ ; con tinción Giemsa se aprecian un gran núcleo y un cinetoplasto pequeño, ambos de color púrpura, y un filamento delgado que une cinetoplasto y cuerpo basal, éste último apenas un punto visible (ver Figura 2). El cinetoplasto es una subestructura de la gran mitocondria, con DNA único y se encuentra asociado estrechamente al bolsillo flagelar y al cuerpo basal del flagelo. La presencia del cinetoplasto da el nombre al grupo de protozoos incluidos en el orden *Kinetoplastida*.<sup>(27)</sup>

Figura 2. Morfología del amastigote dentro de un macrófago.

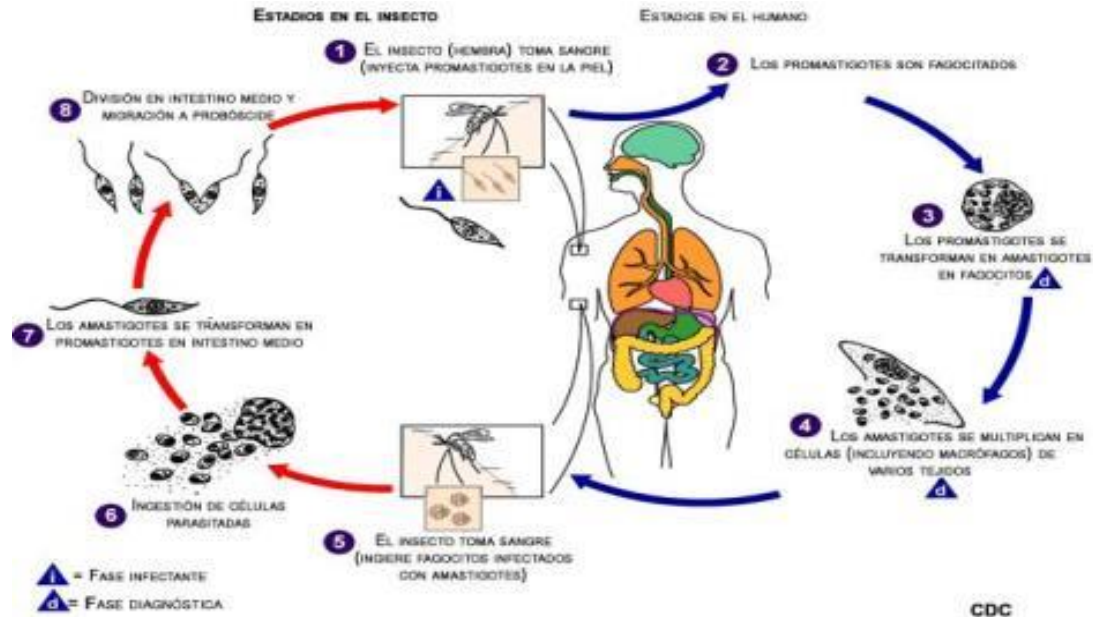


Fuente: Departamento de microbiología y parasitología, facultad de medicina, UNAM.

#### 4.4 CICLO DE VIDA

Todas las leishmanias presentan un ciclo de vida similar y es importante conocer cada una de las etapas para poder entender y aplicar ciertas medidas de control. La leishmania es heterogénea y completa su ciclo biológico usando dos huéspedes. Se pueden producir diferentes ciclos (ver Figura 3). Uno, principalmente silvestre, en el que la leishmania circula entre los reservorios naturales, y mantiene el ciclo con la participación de los vectores propios de la zona endémica. En un segundo ciclo, los vectores infectados pueden atacar al hombre y a los animales domésticos o peridomésticos. Se puede producir un tercer ciclo, en el que el propio enfermo con leishmaniasis se constituye en reservorio. <sup>(28)</sup>

Figura 3. Ciclo de vida de la leishmaniasis.



Fuente: Departamento de microbiología y parasitología, facultad de medicina UNAM.

El ciclo empieza cuando el vector toma sangre de un vertebrado infectado, para alimentarse, e ingiere macrófagos infectados con amastigotes presentes dentro de la piel. La transformación del amastigote a promastigote ocurre dentro de las siguientes 24 a 48 horas.

Los promastigotes se multiplican activamente por división binaria longitudinal. Algunos quedan libres desde el inicio en el lumen intestinal; otros se adhieren a la pared por hemidesmosomas. La localización del parásito en el intestino varía de acuerdo a cada especie de vector y de leishmania. Después de la replicación en el intestino, los promastigotes migran al esófago y la faringe. En el tubo digestivo de la hembra del vector, los promastigotes son estructuras piriformes o fusiformes que presenta la extremidad posterior más delgada que la anterior, su cuerpo es flexible y se mueve por la acción de un flagelo libre situado en la parte posterior que es casi de igual tamaño que el cuerpo; el núcleo se localiza en el centro de la célula y el cinetoplasto entre el núcleo y la extremidad anterior somática; el rizonema parte del cinetoplasto y se continúa con el flagelo libre.

Cuando el vector infectado pica a un huésped le inocula entre 10 y 100 promastigotes presentes en la proboscis y que penetran en la dermis. La saliva del mosquito tiene un rol en el establecimiento de la infección, debido a que reduce la producción del óxido nítrico por los macrófagos activados. En los vectores excesivamente infectados, la proboscis está congestionada, lo que hace difícil alimentarse, por lo que el mosquito realiza múltiples picaduras e inoculaciones. Los promastigotes no migran activamente hacia los macrófagos, permanecen en el espacio intercelular y activan el complemento por una vía alternativa, que inicia la acumulación de neutrófilos y macrófagos. Aunque muchos promastigotes son destruidos por los leucocitos polimorfonucleares, unos pocos se transforman en amastigotes en las células del sistema reticuloendotelial, en un periodo de 3 a 4 horas en promedio, permanecen en estadio estacionario por 36 horas aproximadamente y, luego, empiezan a reproducirse. <sup>(29)</sup>

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

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

Los amastigotes se multiplican por fisión binaria dentro de vacuolas parasitóforas de los macrófagos. Primero, inician la división del cinetoplasto, uno de los fragmentos conserva el rizonema, mientras que el otro forma su propia estructura flagelar. Luego, sigue la división del núcleo por mitosis y concluye con la del citoplasma, en sentido anteroposterior. La cantidad de amastigotes puede llegar hasta 200, lo que ocasiona la distensión y ruptura del macrófago. Los amastigotes

libres entran en nuevas células del sistema fagocitario mononuclear, donde se multiplican de nuevo. El ciclo se reanuda cuando el flebótomo pica a un huésped para alimentarse de sangre. <sup>(30)</sup>

#### 4.5 TIPOS DE LEISHMANIASIS

4.5.1 Leishmaniasis Cutánea. La aparición de las lesiones cutáneas algunas veces se encuentra asociada con la picadura del insecto vector en sujetos que viven en áreas endémicas, penetran y permanecen en el nicho ecológico por breves días y luego presentan la enfermedad. En promedio se puede hablar de un periodo de incubación entre 2 y 3 semanas (de 2 semanas a 2 meses o más). Después aparece una pequeña lesión inicial frecuentemente visible, pero no siempre, que tiene asiento en las partes descubiertas, principalmente en la cara y en las piernas. El aspecto típico de la lesión inicial es un leve enrojecimiento circunscrito, frecuentemente pruriginoso, seguido a los pocos días, por una leve infiltración papulosa de unos 3 mm de diámetro y con mucha frecuencia con una o dos diminutas vesículas; puede dar a una diminuta excoriación por el rascado, que se transforma en una exulceración y posible punto de partida de un proceso ulcerativo. (Ver figura 4) Pero algunas veces, la lesión regresiona espontáneamente y origina una fase de silencio sintomático algo prolongado. <sup>(31)</sup>

En Colombia la leishmaniosis es una enfermedad endémica, siendo la forma cutánea la dominante (95% de casos registrados). El número promedio anual de nuevos casos, con base en los registros del periodo 1990 – 1997, es de aproximadamente 5866 casos; sin embargo se cree que este valor es más alto debido a que hay un subregistro en ciertas zonas. Hasta el momento se han identificado cuatro especies de flebótomos vectoras: *Lutzomyia trapidoi*, (vector de *Leishmania panamensis*); *Lutzomyia umbratilis* (vector de *Leishmania guyanensis*); *Lutzomyia spinicrassa* (vector de *Leishmania braziliensis*) y *Lutzomyia hartmani* (vector de *Leishmania colombiensis*). <sup>(32)</sup>

En el Departamento del Huila la LC es una patología importante; aunque se ha informado en el 46% de los municipios del departamento, la enfermedad se concentra sobre el extremo nor-oriental de la zona media de la cordillera oriental, que incluye los municipios de Neiva, Tello, Baraya, Rivera y Algeciras. Neiva ha sido el municipio más afectado por la LC con más de 400 casos de los 1200 registrados entre 1981 y 1995. <sup>(33)</sup>

Figura 4. Lesiones en piel por Leishmaniasis cutánea y difusa.



Fuente: Departamento de microbiología y parasitología, facultad de medicina UNAM.

4.5.2 Leishmaniasis Viscera. El agente causal de la leishmaniosis visceral americana (LVA) es *Leishmania infantum*, anteriormente clasificada como *Leishmania chagasi*. El reservorio doméstico es el perro y los silvestres son canidos salvajes como el zorro y el chacal <sup>(34)</sup>. *Lutzomyia longipalpis* es el vector de la LVA y ha sido encontrada naturalmente infectada en el Valle del Río Magdalena; sin embargo, en la costa caribe colombiana la transmisión se debe a la *Lutzomyia evansi*. <sup>(35)</sup>

En Colombia la LVA se conoce desde 1994, cuando Gast-Galvis describió el primer caso humano en el departamento de Santander; posteriormente se han informado nuevos focos desde el centro de la región del Valle del Río Magdalena hacia el sur hasta el departamento del Huila y hacia el norte hasta la Costa Caribe. <sup>(36)</sup> La distribución actual de la LVA en el país corresponde a un gran foco situado en la costa caribe en los departamentos de Córdoba, Sucre y Bolívar, y cuatro focos localizados en el Valle del Río Magdalena ubicados en los departamentos de Santander, Cundinamarca, Tolima y Huila. <sup>(37)</sup>

La leishmaniosis visceral ocurre esporádicamente en áreas endémicas rurales, pero epidemias en gran escala se han asociado al hambre, migraciones en masa y alteraciones ecológicas, las que han propiciado interacciones entre los reservorios, mosquitos y seres humanos. Después de la picadura del vector, existe un periodo de incubación que varía de 4 a 10 meses. En muy pocos casos se encuentran lesiones en la puesta de entrada, ya que la mayoría de las veces pasa desapercibida y tiene una evolución crónica. La progresión a leishmaniosis

visceral típica usualmente ocurre entre los 3 y 8 meses después de la infección; aunque se han reportado casos tempranos.

Las manifestaciones clínicas de la leishmaniasis visceral típica esta asociado con fiebre progresiva y elevada, remitente o intermitente, que dura semanas y se alterna con periodos febriles, que también duran semanas. Posteriormente , la fiebre se torna persistente y ondulante, existe progresivo deterioro del huésped, palidez y hepatoesplenomegalia. En la fase crónica, la esplenomegalia es muy marcada y puede llegar hasta la fosa iliaca derecha, con abultamiento considerable del abdomen (ver figura 5). Existe una linfadenopatía generalizada, en especial de los ganglios mesentéricos, epistaxis, hemorragia gingival, edema y ascitis. La leishmaniasis visceral a menudo es fatal si no se efectua tratamiento adecuado. La piel se encuentra hiperpigmentada. <sup>(38)</sup>

En Francia, España e Italia la leishmaniosis visceral producida por *Lutzomyia infamatum* estaba prácticamente restringida al reservorio canino y el aumento de casos, con características epidémicas, se asocio con coinfección de VIH; la enfermedad presentó manifestaciones clínicas y epidemiológicas nunca antes vistas, con trasmisión interhumana al compartir agujas y jeringas en adictos a drogas usadas por vía parenteral. <sup>(39)</sup>

Figura 5. Hepatomegalia por leishmaniasis visceral.



Fuente: Departamento de microbiología y parasitología, facultad de medicina UNAM



#### 4.6 ASPECTOS ENTOMOLÓGICOS DE LA LEISHMANIASIS

La importancia médica de los insectos dípteros de la familia Psychodidae, subfamilia Phlebotominae, radica principalmente en el papel que estos hematófagos desempeñan en la transmisión de parásitos del género *Leishmania*, agentes etiológicos de las diferentes formas clínicas de la leishmaniasis. <sup>(40)</sup>

Se han descrito más de 700 especies en la subfamilia *Phlebotominae*, ampliamente distribuidas en el mundo entre los 30° de latitud S y los 50° de latitud N. Las especies descritas están incluidas en seis géneros, tres en el Viejo Mundo (*Sergentomya*, *Phlebotomus* y *Chinus*) y tres en el Nuevo Mundo (*Brumptomyia*, *Warileya*, *Lutzomyia*), siendo vectores de *Leishmania* algunas especies de los géneros *Lutzomyia*, y *Phlebotomus*. <sup>(41)</sup>

En Colombia los primeros registros de especies del género *Lutzomyia* datan desde 1934, cuando se realizó una encuesta epidemiológica de fiebre amarilla en los Llanos Orientales; posteriormente, se informaron cinco especies en Nariño y hasta ahora se han notificado 129 especies, dispersas en todos los departamentos incluyendo el archipiélago de San Andrés y Providencia. <sup>(42)</sup>

La infección por leishmaniasis se encuentra en la naturaleza en focos naturales donde se presentan simultáneamente vectores y reservorios infectados; el elemento clave que limita el foco natural de infección es el vector, el cual debe estar presente con una densidad relativa adecuada para que suceda la transmisión. Factores de tipo ecológico, principalmente climáticos, determinan la presencia o ausencia de los vectores en un lugar determinado.

El reconocimiento de la fauna *flebotomínea* dentro de los focos de infección es parte indispensable de los estudios epidemiológicos de la leishmaniasis, ya que precisa las especies implicadas en la transmisión y, junto con otros parámetros, contribuyen a la determinación de los sitios y las épocas de riesgo de infección. <sup>(43)</sup>

4.6.1 El vector. La leishmaniasis es transmitida por la picadura de flebotomos, pequeñas moscas que abundan todo el año en las zonas tropicales y en el verano, en las zonas templadas. Se reconocen cinco géneros de flebotomos principales: *Phlebotomus*, *Sergentomya*, *Lutzomyia*, *Warileya* y *Brumptomyia*. Pero, se reconocen como vectores de la leishmania solo a dos: en Europa, Asia y África, el género *Phlebotomus*, y en América el género *Lutzomyia*. <sup>(44)</sup>

En el Perú, a la *Lutzomyia* se la conoce con el nombre de 'manta blanca' o 'titira'. Puede habitar en áreas desérticas, en la floresta y en áreas peridomesticas. Sin embargo, prefiere los lugares húmedos oscuros, en los que existe abundante vegetación. Descansa de día en los rincones, muros o troncos de los árboles, y vuelve al atardecer. Las hembras son las únicas hematófagas y más activas a la caída del día. La *Lutzomyia* es un mosquito pequeño de 1,5 a 3 mm de tamaño, su cuerpo está cubierto de pelos y tiene las alas erectas en forma de 'V' (ver figura 6). Su forma de vuelo es muy particular a manera de brincos o saltos y mantiene un vuelo bajo y silencioso. (Ver figura 6) El área de su vuelo puede abarcar hasta 200 m de donde se cria; sin embargo, puede ser transportado por el viento a distancias mayores. Son por lo general, de aparición vespertina entre los 18 y 20 horas y desaparecen progresivamente hacia la noche. <sup>(45)</sup>

Figura 6. *Lutzomyia* sp.



Fuente: Imágenes del vector de la leishmaniasis.

4.6.2 Criterios de incriminación vectorial. Los criterios más importantes, definidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS), para incriminar una especie como vector son:

- Ser altamente antropofílica, además de picar al hospedador reservorio.
- Estar presente en la localidad o foco de transmisión de la enfermedad.
- Aislar al parásito de insecto, hombre y reservorio en repetidas oportunidades.
- Capacidad de soportar el desarrollo del parásito y transmitirlo por picadura. <sup>(46)</sup>

4.6.3 Ciclo de vida del vector. Los huevos son de forma elíptica, color negro, presentan la superficie cubierta por surcos de forma pentagonal – hexagonal y otras ornamentaciones que pueden variar entre especies.

Las larvas emergen del huevo por una apertura en forma de J, presentan una coloración blanca, cuerpo elongado, con un par de setas en el primer estadio, y después del segundo hasta el cuarto estadio presenta dos pares.

Las pupas son de color dorado, permanecen ancladas al sustrato por medio del último segmento del cuarto estadio larval y antes de emerger el adulto, presentan una coloración oscura en los ojos y en las alas.

El adulto de *Lutzomyia* es un pequeño insecto de aproximadamente 2-4 mm de longitud, cuerpo jiboso densamente cubierto de pelos, alas lanceoladas, patas largas, cabeza ovalada y achatada dorso - ventralmente, cuando está en reposo o alimentándose mantiene las alas levantadas. La hembra es la única hematófaga y se alimenta de una gran variedad de vertebrados dentro de los cuales están osos perezosos, chuchas, perros, cerdos. La hembra presenta su terminación abdominal roma, mientras que el macho termina en forma de gancho. <sup>(47)</sup>

4.6.4 Biología y comportamiento vectorial. El ciclo de vida de *Lutzomyia* es terrestre; en el día se encuentran en lugares de reposo con abundante vegetación, en los cuales existen gran variedad de abrigos como madrigueras, cavernas huecos de tronco, raíces de árboles, hojarasca, grietas en rocas y otros sitios donde se acumule materia orgánica en descomposición. <sup>(48)</sup>

Las hembras inician su actividad en horas crepusculares y nocturnas en busca de hospederos para alimentarse de sangre e iniciar el proceso de maduración de los huevos; algunas son antropofílicas y otras zoofílicas. El hombre es picado en las partes más expuestas del cuerpo, tales como miembros inferiores y superiores y cara, cuando sale a realizar sus actividades agrícolas, mineras, a talar árboles, aunque en algunas ocasiones son picados en el domicilio.

Después de que hace la ingesta sanguínea la hembra busca lugares de reposo con buena humedad (80%) y materia orgánica, donde oviposita alrededor de 40 a 70 huevos, los cuales son incapaces de sobrevivir en condiciones de desecación. El desarrollo embrionario puede durar de 4 a 20 días <sup>(49)</sup>; de estos huevos sale la larva, cuyo desarrollo tiene lugar en 30 a 60 días, dependiendo de la especie y de las condiciones de humedad, temperatura y disposición de alimento. Días antes de

la pupación, las larvas dejan de alimentarse, se anclan al sustrato y permanecen como pupa durante aproximadamente una semana, para luego emerger el adulto. Primero emergen los machos, ya que estos tienen que girar su terminalia masculina 180 grados, tanto machos como hembras buscan su primera ingesta de sustancias azucaradas para poder volar e iniciar su actividad. <sup>(50)</sup>

La alimentación de sangre es imprescindible para el desarrollo y la maduración de los huevos; esto va a determinar el ciclo gonotrófico, que es el tiempo transcurrido entre una ingesta sanguínea y la oviposición, además de ser importante para determinar la edad fisiológica de una población y, por ende, la determinación de mayor riesgo epidemiológico, ya que al aumentar la edad de la población la posibilidad de infección es más alta, debido a que es posible que un mayor número de hembras se haya alimentado sobre animales parasitados. La tríada vector – parásito – reservorio es elemento fundamental en los focos de transmisión de leishmaniasis.

Cuando el vector pica a un reservorio infectado, ingiere amastigotes, los cuales en el intestino del insecto se transforman en promastigotes, se dividen por fisión binaria, migran a las glándulas salivales y luego van a la proboscis, para ser inoculados nuevamente cuando el vector realiza una nueva ingesta sanguínea. En los vertebrados estos promastigotes invaden macrófagos, se transforman en amastigotes, se dividen por fisión binaria, lisan el macrófago e invaden macrófagos adyacentes y se diseminan por las vías linfáticas y sanguíneas, pudiendo llegar a la mucosa u órganos del sistema mononuclear fagocítico.

Algunos factores como clima, humedad y temperatura, ejercen una influencia sobre la rapidez con que el ciclo del parásito se desarrolla en el vector. La humedad debe ser alta para que la vida del vector se prolongue y, por lo tanto, el ciclo del parásito se complete para ser transmitido. Luego de la ingesta sanguínea, se hace necesaria la ingesta azucarada para que la hembra infectada adquiera la capacidad de transmitir el parásito.

La *Lutzomyia* es reconocida por su limitada capacidad de vuelo, aunque se ha demostrado que los flebotomos del Viejo Mundo recorren mayores distancias, como es el caso de hembras no alimentadas de *Phlebotomus ariasi* que alcanzan un vuelo de 2 Km, mientras que en estudios realizados sobre dispersión de *Lutzomyia* se ha demostrado que las mayores distancias recorridas por estos son de 163 m; aunque *Lutzomyia longipalpis*, vector de LVA en Colombia, ha sido informada con distancias de hasta 960 m. Al parecer, la capacidad de vuelo puede estar relacionada con condiciones ecológicas lo que influiría en la densidad de hospederos y recurso energético. <sup>(51)</sup>

#### 4.7 TAXONOMIA

Los insectos vectores de enfermedades tropicales como leishmaniasis son un elemento clave en el ciclo de transmisión como focalizadores de la enfermedad, constituyéndose en un punto vulnerable para interrumpir la transmisión, razón por la cual ha sido objeto de estudios, entre los cuales la identificación taxonómica es base fundamental para su conocimiento.

La taxonomía de flebotomíneos se realiza con base en características como el esculpido coriónico y el tamaño de los huevos y caracteres morfológicos presentado tanto en machos como en hembras, lo que permite diferenciar especies; esta metodología se basa principalmente en la forma, tamaño, presencia o ausencia de estructuras tanto en machos como en hembras. En la hembra son de importancia la forma de la espermateca, el número de dientes en el cibarium; en el macho son de interés el número de espinas en la terminalia. Otras estructuras importantes en taxonomía son la venación alar y en la cabeza los ascoides antenales, palpos maxilares, y flagelómeros. <sup>(52)</sup>

#### 4.8 RESERVORIOS

Existe una gran variedad de animales silvestres y domésticos que han sido implicados como reservorios de las especies de *Leishmania* en América. Es evidente la relación ecológica estrecha que existe entre los vectores de un parásito y su animal reservorio. <sup>(53)</sup>

Los reservorios responsables del ciclo silvestre son los zorros, la chuchas o zarigüeyas, el oso hormiguero y los del ciclo doméstico son los perros, los cuales no siempre manifiestan enfermedad. (Ver figura 7) Cuando ésta se presenta, produce intenso enflaquecimiento, apatía y lesiones eritematosas o ulcerativas en la piel. Para comprobar la infección se detectan los ganglios poplíteos que están crecidos. En Colombia se conocen focos endémicos localizados en las zonas maláricas de Santander, Tolima, Cundinamarca, Huila, Sucre, Córdoba y otros departamentos. <sup>(54)</sup>

Figura 7. Reservorios de la Leishmaniasis.



Fuente: Imágenes de reservorios de la Leishmaniasis.

#### 4.9 DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO PARA LEISHMANIASIS VISCERAL CANINA

Debido a la variedad de signos clínicos presentes en la Leishmaniasis Visceral Canina el diagnóstico es muy difícil, motivo por el cual se han desarrollado variados procedimientos para facilitar esta tarea. Sin embargo, es esencial el conocimiento de las bases de cada prueba, sus limitaciones y su interpretación clínica, así mismo, se recomienda el uso de más de una prueba diagnóstica.

El diagnóstico definitivo algunas veces depende del aislamiento del parásito en medios de cultivo o por la detección del DNA parasitario por la técnica PCR a partir de biopsias de médula ósea o nódulos linfáticos. Sin embargo estas técnicas son invasivas, costosas y requieren mucho tiempo para su desarrollo. A continuación se describen las técnicas más viables para ser usadas en nuestro medio. <sup>(55)</sup>

4.9.1 Diagnóstico Clínico. La Leishmaniasis Visceral Canina presenta un extraordinario pleomorfismo de signos clínicos, que se caracteriza por formas latentes asintomáticos hasta formas patentes agudas, subagudas o crónicas regresivas, cuyas manifestaciones dependen de la fase de infección, del estado inmunológico del hospedero y de si se instauró o no un tratamiento específico previo. Las formas latentes son las más comunes y se asocian con una adecuada respuesta inmunológica de tipo celular por parte del canino infectado, lo contrario sucede en las formas agudas o crónicas donde se ha deteriorado la respuesta

celular frente al parásito a pesar de existir una marcada respuesta inmune de tipo humoral.

El periodo de incubación es variable, oscila entre 30 días hasta varios años, aún en los casos experimentales. Después del periodo de incubación, la infección se disemina e involucra progresivamente los tejidos subcutáneo, linfático, médula ósea y finalmente órganos internos como el hígado y el bazo. En los casos agudos se presenta únicamente fiebre (temperaturas mayores a 40°C) y linfadenomegalia. Los signos clínicos encontrados más frecuentes son linfadenomegalia, pérdida de peso, cambios dermatológicos y onicogriposis. Sin embargo, es posible encontrar lesiones oculares que involucran principalmente la cámara anterior del ojo. En estados terminales, los caninos manifiestan deterioro marcado del estado general, emaciación y finalmente caquexia.

De acuerdo con los signos clínicos los caninos infectados con *L. infantum* se han clasificado como: sintomáticos, aquellos que presentan más de tres signos clínicos; oligosintomáticos, con uno hasta tres signos clínicos; y caninos asintomáticos, sin sintomatología. <sup>(56)</sup>

Debido al cuadro clínico variado e inespecífico, es necesario hacer diagnóstico diferencial con otras enfermedades infecciosas y desórdenes inmunomediados además, se ha demostrado que no existe asociación entre los signos clínicos y los resultados serológicos, por tanto se recomienda que el examen médico de los animales sospechosos de sufrir LVC, no puede ser tenido en cuenta como criterio único para la definición de caso sospechoso o definitivo, siendo necesario para tal fin, emplear pruebas diagnósticas complementarias. <sup>(57)</sup>

4.9.2 Métodos Parasitológicos. Son los métodos más antiguos usados en la detección de amastigotes en frotis teñidos de aspirados de médula espinal, bazo, hígado o nódulos linfáticos, implementados para el diagnóstico humano y canino a partir de los años 30. Las impresiones citológicas se pueden realizar también con lesiones mucosas o dermales. Las técnicas inmunoquímicas para detectar *Leishmania* en tejidos seccionados (normalmente biopsias de piel) también son usadas. La limitación de este método de diagnóstico, es que es invasivo y poco exitoso para detectar parásitos en caninos asintomáticos. En estudios realizados en Colombia por *Fernández et al., 2002* y en otros países usando el examen parasitológico directo, han demostrado que presenta una alta especificidad, pero una sensibilidad inferior al 26%, siendo necesario incluirlo como examen complementario al examen físico del animal y a otras técnicas diagnósticas. <sup>(58)</sup>

4.9.3 Métodos Serológicos. Teniendo en cuenta que el espectro clínico y la respuesta celular en LVC son muy variables y que las pruebas parasitológicas directas son muy poco sensibles, las pruebas serológicas se constituyen en una herramienta esencial para detectar portadores asintomáticos y monitorear el esquema de control. Los métodos serológicos sugieren la presencia de parásitos a partir de la detección de los anticuerpos circulantes en el suero de los caninos sospechosos, los cuales pueden persistir durante años en los caninos que no manifiesten la enfermedad clínica y son fundamentales en el diagnóstico de LVC en los casos de infecciones tempranas y en evaluaciones epidemiológicas dirigidas a controlar individuos infectados en áreas endémicas, así como para establecer la seroprevalencia, debido al largo periodo de incubación y a las características de cronicidad de la enfermedad. Este grupo incluye la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI), Aglutinación directa, Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), ELISA competitiva, Dot-ELISA, Inmunodifusión y Western Blot (WB). Sin embargo, describiremos las técnicas más usadas en Colombia: IFI, ELISA y WB. <sup>(59)</sup>

4.9.3.1 Inmunofluorescencia indirecta (IFI). La prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), empezó a ser utilizada en el diagnóstico de la LVC a partir de la década de los 60s y desde entonces, ha sido reconocida universalmente como la “prueba de oro”, así mismo, es la técnica recomendada en el Manual de Pruebas Diagnósticas para Epizootias de la Oficina Internacional de Sanidad Animal OIE. Presenta buenos valores de sensibilidad (varía entre el 90 y el 100%) y especificidad (80%). Sin embargo, en estudios realizados en Colombia, usando antígenos totales de la cepa colombiana de *Leishmania infantum* MHOM/CO/CL044B en animales experimentalmente infectados, se establecieron valores de sensibilidad y especificidad más bajos, del 69,7% y 67,5%, respectivamente. La baja especificidad de IFI es debida a la presencia de reacciones cruzadas con enfermedades causadas por otros tripanosomátidos como la enfermedad de Chagas y la Leishmaniasis tegumentaria. <sup>(60)</sup>

Se ha propuesto el uso de formas amastigotas de *Leishmania donovani*, como antígeno, aumentando significativamente la sensibilidad, sin perder la especificidad de la prueba, aspectos que han permitido sugerirla para el diagnóstico precoz de animales asintomáticos y oligosintomáticos y para realizar el monitoreo de la evaluación clínica de animales tratados.

Se han descrito como ventajas de IFI, su facilidad de ejecución, rapidez en la emisión de los resultados y bajo costo. Sin embargo, los inconvenientes que presenta, están relacionados con su precisión. Los valores predictivos son indicadores utilizados para la interpretación de resultados de las pruebas de diagnóstico, siendo influenciados por los valores de sensibilidad y especificidad de



éstas. Teniendo en cuenta los valores de sensibilidad y especificidad de la prueba de IFI, los autores afirman que existe una elevada confianza en un resultado negativo de un animal, porque el valor predictivo negativo de la prueba es alto; a diferencia de lo que se puede afirmar, cuando un canino presenta un resultado positivo para LVC, porque la técnica permite identificar un alto número de animales falsos positivos, debido a su baja especificidad.<sup>(61)</sup>

Otro aspecto importante que debe ser tenido en cuenta para evaluar una técnica diagnóstica, es el límite de reactividad o el punto de corte, que se entiende como la región de corte de los resultados de una prueba serológica, es decir el valor a partir del cual se considera un resultado positivo. Se ha sugerido que no hay consenso sobre las diluciones a las cuales un suero puede ser considerado positivo usando la prueba de IFI. Los reportes presentan títulos que varían entre 1/20 hasta 1/160, sugiriendo la existencia de una zona gris, es decir, cerca al punto de corte; indicando que estos bajos títulos pueden ocurrir debido a reacciones cruzadas, formas resolutivas o latentes de la infección o baja respuesta humoral en el animal o contacto con diferentes parásitos hospederos (infecciones mixtas) (*Aisa et al., 1998; Cabrera et al., 2003*).<sup>(62)</sup> En el caso que se den estas situaciones, es necesario confirmar el resultado con otra prueba convencional para asegurar el verdadero diagnóstico del paciente.

Así mismo, en la prueba IFI se utilizan preparaciones de antígenos crudos, que no pueden ser correlacionados con el nivel de parasitismo, ni con el estatus de la infección de los caninos de las zonas endémicas. Otras de las desventajas descritas para esta técnica, son: que no tiene ningún valor la titulación obtenida sobre la progresión de la enfermedad, no revela la intensidad de transmisión por parte de los reservorios caninos y no discrimina los caninos susceptibles de aquellos resistentes.<sup>(63)</sup>

4.9.3.2 Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA). La prueba de ELISA se empezó a utilizar en el diagnóstico de la LVC en la década de los 70, teniendo variaciones de Dot-ELISA, Ligandos de Fucosa Manosa-ELISA FML-ELISA, mucina submaxiliar bovina-ELISA (BSM-ELISA), Fast ELISA, micro ELISA, entre otras. Esta prueba ha presentado valores de sensibilidad que oscilan entre el 85 y el 96% y de especificidad del 86% al 98%, valores muy similares a los presentados por la prueba de IFI. La utilización de antígenos recombinantes o purificados como las glicoproteínas de membrana (gp63, gp72 o rK39) específicas del género *Leishmania*, ha mejorado la sensibilidad y especificidad de la técnica.<sup>(64)</sup>

Las variaciones en la sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA se deben a modificaciones introducidas en la preparación de los antígenos completos o a el

empleo de antígenos purificados y/o recombinantes. Las preparaciones de antígenos crudos elaboradas con promastigotes completos o sus extractos solubles limitan la estandarización de las pruebas y la reproducibilidad de los resultados. Los antígenos crudos son derivados de promastigotes cultivados in vitro y consisten en una amplia variedad de antígenos somáticos y componentes de superficie. Se ha reportado además, que la prueba de ELISA permite la reacción antigénica cruzada entre *Leishmania sp.* y *Trypanosoma cruzi*, aportando información epidemiológica confusa que interfiere en el diagnóstico específico y el tratamiento.<sup>(65)</sup>

4.9.3.3 Western Blot (WB). La prueba de inmunoblot ha sido propuesta para el estudio de LVC en trabajos experimentales y de campo, porque las fracciones antigénicas obtenidas con esta prueba, permitirían detectar animales infectados y discriminar las fases iniciales de la infección. A pesar de que con esta técnica se han desarrollado numerosos estudios con animales experimentalmente infectados, son escasos los realizados en zonas endémicas de América con *L. infantum* y aún no existe consenso en cuanto al patrón de reconocimiento antigénico requerido para obtener valores altos de sensibilidad y especificidad.

Se han descrito como desventajas del WB: que es una técnica que requiere de experiencia para su desarrollo y que está limitada a investigaciones de laboratorio, no siendo aplicable como rutina de diagnóstico. Se han sugerido patrones de reconocimiento antigénico obtenidos por WB, relacionados con antígenos de bajo peso molecular, descritos como muy sensibles en el diagnóstico de los casos asintomáticos de LVC, reportando que aparecen mucho antes que los títulos de seropositividad establecidos por las pruebas de IFI y ELISA. Posiblemente estas mismas bandas, permitirían evaluar la evolución del tratamiento de la enfermedad, porque desaparecen cuando el tratamiento es efectivo o cuando se presenta mejora del estado clínico del canino.<sup>(66)</sup>

Usando animales provenientes de zonas endémicas de LVC en España, se estableció que los caninos con la infección natural, presentan anticuerpos que revelan entre 3 y 33 fragmentos de polipéptidos del antígeno de *Leishmania* con una masa molecular que se encuentra en el rango entre 12 y 85 kDa. Las bandas de mayor sensibilidad fueron la 70, 65, 46, 30, 28, 14 y 12 kDa. Los autores consideran que en la prueba de WB, un resultado se toma como positivo, cuando una de las bandas de 46, 30, 28, 14 y 12 kDa está presente. La identificación de las bandas de fracciones antigénicas de 12 y 14 kDa en caninos, pueden ser usadas para detectar fases tempranas de la enfermedad, permitiendo realizar el seguimiento y la evaluación de la resolución de la enfermedad (*Aisa et al., 1998*).<sup>(67)</sup>

Similares resultados se han observado en Colombia, donde recientemente fue estandarizada (Vargas, 2005), sugiriéndose que proteínas con pesos moleculares de 14 y 29 kDa podrían ser potencialmente diagnósticas y permitirían desarrollar un antígeno recombinante con una alta especificidad, para discriminar caninos infectados y no infectados localizados en las zonas endémicas. <sup>(68)</sup>

4.9.3.4 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Es un método que se está usando rutinariamente para confirmar el diagnóstico de leishmaniasis. La identificación puede ser hecha de una biopsia sin requerir necesariamente un cultivo. Los resultados comparativos entre la PCR y los métodos de detección parasitológicos muestran una mejor sensibilidad del primero para fines de diagnóstico. <sup>(69)</sup>

#### 4.10 TRATAMIENTO

Gaspar Vianna, en 1909, inicia el tratamiento específico de la leishmaniasis utilizando tártaro emético y obtiene la cura de pacientes con leishmaniasis cutánea y/o mucosa. Este medicamento ocasionaba severos efectos colaterales. Bramachari, en 1920, sintetiza el primer antimonial pentavalente, pero los antimoniales trivalentes fueron las drogas utilizadas, con efectos colaterales menos intensos que el tártaro emético, presentando toxicidad cardiaca, hepática y del sistema nervioso central. En la década de los 40 entra en el mercado farmacéutico los antimoniales pentavalentes, el estibogluconato de sodio (Repodral®/Pentostan®) y N-metilglucamina (Glucantime®). <sup>(5)</sup> Los esquemas de tratamiento se aplican de acuerdo a la forma clínica de leishmaniasis. <sup>(70)</sup>

## 5. DISEÑO METODOLOGICO

### 5.1 TIPO DE ESTUDIO

Por sus características epidemiológicas y estadísticas, es un estudio descriptivo prospectivo, cuantitativo transversal.

Descriptivo por que se utilizó la recolección de datos para probar la existencia de la enfermedad dentro del área de estudio; prospectivo debido a que se realizó en el segundo semestre del 2010. Cuantitativo transversal porque se midió en un tiempo determinado, a partir de la prevalencia de Leishmaniasis visceral en el municipio de Neiva.

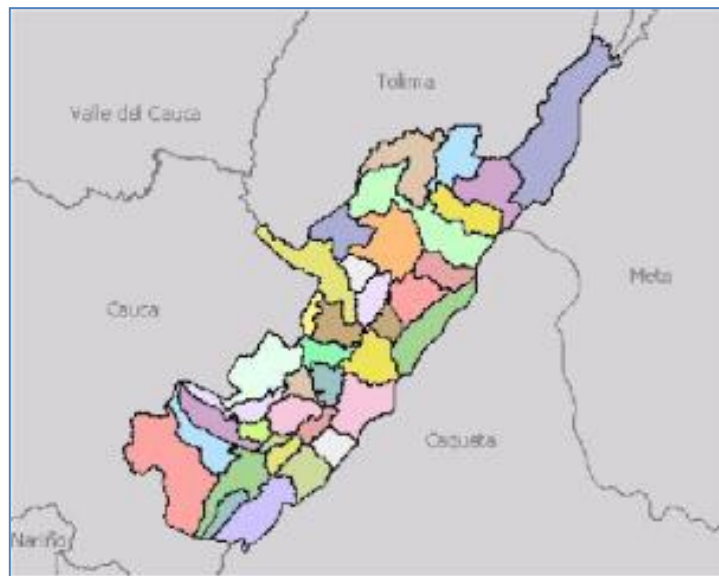
### 5.2 LUGAR DE ESTUDIO

Huila es uno de los 32 departamentos de Colombia, está localizado al suroccidente del país entre el nacimiento del Río Riachón, municipio de Colombia y el pico de la Fragua, municipio de Colombia, y entre el Alto de Las Oseras, municipio de Colombia y el páramo de Las Papas, municipio de San Agustín. Su capital Neiva, es una de las más importantes del sur de Colombia.

Fue creado por la ley 46 del 29 de abril de 1905, constituido por la provincia de Neiva y la del Sur, pertenecientes al antiguo estado del Tolima. El 15 de junio del mismo año, inicio su vida independiente bajo la administración del doctor Rafael Puyo Perdomo.

La superficie del Departamento es de 19.900 Km<sup>2</sup> que representa tan solo un 1.8% de la superficie total del país. Al norte limita con los departamentos de Cundinamarca y el Tolima, al sur con los de Cauca y Caquetá, al oriente con los departamentos de Meta y Caquetá, y hacia el Occidente con los de Cauca y Tolima, como se encuentra ilustrado en la figura 8; además está dividido en 37 municipios, 4 corregimientos oficiales, 120 inspecciones de policía, así como, numerosos caseríos y sitios poblados. <sup>(71)</sup>

Figura 8. Ubicación del Departamento del Huila y sus límites.



Fuente: Instituto Geográfico Agustín Codazzi.

Neiva es una de las ciudades más importantes del sur colombiano, y cuenta con una población de 315.332 habitantes. <sup>(72)</sup>

Debido a la proximidad de la ciudad con la línea del ecuador, no existen estaciones climáticas, igual que en todo el país, por lo cual el clima depende en su totalidad de la altura a la que esté la ciudad. Neiva es una de las ciudades más calientes del país, aunque sea bordeada por el río más importante, es una ciudad muy seca y en horas de la tarde puede llegar hasta los 38° centígrados. No podemos olvidar que a una hora de la ciudad se encuentra el desierto de la Tatacoa, por lo cual los climas son muy similares. La temperatura en la noche puede descender hasta unos 20° centígrados. <sup>(73)</sup>

Se tomaron sueros de perros del barrio El Jordán de la comuna 5, área urbana de la ciudad de Neiva, capital del Departamento del Huila, donde se efectuó una encuesta para conocer la población canina, siendo este el lugar de foco del caso que se presentó en el año 2009. No se evidenciaron animales positivos a esta enfermedad desde la presencia del caso, por lo tanto, fue necesario conocer la existencia de animales seropositivos a la Leishmaniasis, siendo estos los principales reservorios de la enfermedad teniendo en cuenta que estos (caninos) pueden ser asintomáticos y vivir con el parásito por mucho tiempo, por esto, es

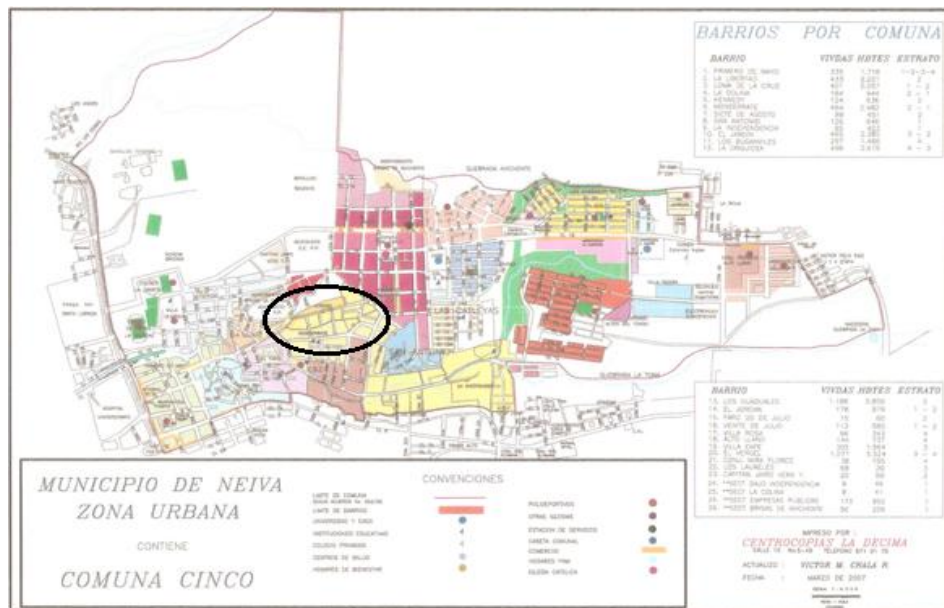
importante el estudio para evitar la existencia de animales seropositivos evitando la movilización y realizar las medidas pertinentes.

### 5.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

5.3.1 Población. Se estudiaron la totalidad de los caninos existentes en el barrio el Jordán (107 caninos), dato que arrojó las encuestas realizadas; tomando como punto de referencia el cerco epidemiológico teniendo en cuenta que este abarco todo el barrio de estudio.

El estudio se desarrollo en el barrio el Jordán de la comuna 5 del municipio de Neiva (ver figura 9). Se tomaron muestras de sangre a toda la población canina de casa en casa, ubicada dentro del cerco epidemiológico, donde se realizó pruebas serológicas utilizando la técnica de Inmunofluorecencia Indirecta ( IFI), teniendo como referencia la vivienda donde se reporto al SIVIGILA el caso positivo de Leishmaniasis visceral en humanos. Este estudio contó con la ayuda del laboratorio de la Secretaria de Salud Departamental y el Instituto Nacional de Salud, sitio en donde se procesaron las muestras sanguíneas.

Figura 9. Ubicación geopolítica del barrio el Jordán de la comuna cinco.



Fuente: Oficina de planeación municipal de Neiva.

## 5.4 OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Tabla 1. Operacionalización de las variables

Variable	Definición	Indicadores	Nivel de medición	Índice
Animales domésticos	Aquellos animales domésticos y silvestres mantenidos en cautiverio en las viviendas encuestadas	Canino Zarigüeya zorros oso hormiguero	Nominal	Porcentaje
Número de caninos	Cantidad de caninos que se encuentran en la vivienda	0 1 2 3 4 +5	Numérico	Porcentaje
Sexo	De los caninos	Hembra Macho	Nominal	Porcentaje
Edad	De los caninos	Entre 0-9 meses Entre 1 a 5 años Entre 6-10 años Más de 10 años	Razón	Porcentaje
Condición corporal	De los caninos	Delgado Bajo de peso Ideal Sobrepeso	Nominal	Porcentaje
Alimentación	De los caninos	Concentrado Comida de sal mixta	Nominal	Porcentaje
Raza	De los caninos	Criolla - labrador Pastor Alemán FrenshPoodle Otras	Nominal	Porcentaje

Continuación tabla 1

Vacunación	De los caninos	SI NO	Nominal	Porcentaje
sintomatología	De los caninos	Sintomático Asintomático	Nominal	Porcentaje
Personas que habitan en la vivienda	Núcleo familiar que se encuentra dentro de la vivienda	1- 2 3- 4 4- 6 +6	Razón	Porcentaje
Edad niños	Niños que habitan en la vivienda	Entre 0-11 meses Entre 1- 5 años Entre 6-10 años Entre 11-15 años	Razón	Porcentaje

Fuente: Elaboración propia de los autores.

## 5.5 ENCUESTA EPIDEMIOLOGICA Y EXAMEN CLINICO

Al realizar la visita de las viviendas, se desarrollo una encuesta epidemiológica (ver Anexo A) a los propietarios de las mascotas objeto de estudio acompañado de un consentimiento informado (ver anexo B) con el animo de obtener los siguientes datos: nombre del propietario, barrio, comuna, nombre del perro, edad, sexo, raza, historia de vacunación, alimentación, condición corporal (delgado=1, bajo de peso=2, ideal=3, sobrepeso=4), numero de niños menores de 15 años que conviven con los perros. En el examen clínico se evaluó la apariencia general del animal y la presencia de lesiones como: pelaje opaco, dermatitis exfoliativa, alopecia, pérdida de pelo alrededor de los ojos, úlceras, Conjuntivitis, onicogriphosis o hipertrofia de las uñas, fiebre, sangrado de narinas.

## 5.6 RECOLECCION DE LAS MUESTRAS

Para la obtención de suero se recolectaron 10 ml de sangre completa por venopunción de la vena cefálica en tubo de ensayo tapa roja sin coagulante donde se centrifugo para obtener el suero, y se almacenaron a una temperatura de -20°C, hasta completar todas las muestras para ser enviadas al laboratorio del Instituto Nacional de Salud donde se procesaron.



Los animales muestreados fueron identificados por medio de un collar para reconocer las mascotas seropositivas en el momento en que se tengan los resultados y así poder tomar las medidas pertinentes.

## 5.7 TECNICA Y PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCION DE DATOS

La técnica que se utilizó para la recolección de datos fue la encuesta epidemiológica siendo un conjunto de preguntas que determinan las preferencias de los habitantes de una ciudad por determinados programas. Las encuestas las define el investigador de acuerdo al comportamiento de ciertas variables demográficas en la población. Lo fundamental es agotar todas las posibilidades inherentes a un lenguaje de variables, procurando construir y manejar datos cuantitativos.<sup>(74)</sup>

El procedimiento que se utilizó fue la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) realizada por el laboratorio de parasitología del Instituto Nacional de Salud (INS) en Bogotá, donde la cepa utilizada fue MHOM/CO/1984/CLO44B, (Cepa de Leishmania chagasi colombiana, aislada y caracterizada por el mismo grupo de parasitología del INS a través de isoenzimas y anticuerpos monoclonales obtenidas de un hospedero humano), donde fue citada en el capítulo 4.9 de “diagnóstico de laboratorio para leishmaniasis visceral canina”.

El procedimiento para la recolección de la información se llevo a cabo de la siguiente manera:

- 1 Solicitud al comité de ética de la facultad de ciencias de la salud de la universidad Surcolombiana para la aprobación de la viabilidad del proyecto.
- 2 Solicitud de apoyo a la Secretaria de Salud Departamental del Huila, programa de zoonosis, para la realización del estudio denominado “SEROPREVALENCIA DE LEISHMANIASIS VISCERAL CANINA EN EL BARRIO EL JORDAN DEL MUNICIPIO DE NEIVA. 2010”.
- 3 Validación del instrumento de la recolección de datos “Encuesta”, para el estudio de investigación.

4 La aplicación de la encuesta fue realizada por los investigadores del proyecto, durante este proceso se hizo la respectiva toma de la muestra serológica en los caninos para ser remitidas y analizadas por el laboratorio de salud pública del Departamento del Huila e Instituto Nacional de Salud.

5 Recolección de la firma del documento informando por parte de los propietarios.

6 La toma de muestra y la aplicación de la encuesta se realizó en el segundo semestre del 2010.

## 5.8 INSTRUMENTO PARA LA RECOLECCION DE DATOS

El instrumento utilizado para la recolección de datos del propietario y de los animales fue la encuesta con su respectiva autorización, realizada por los mismo autores del trabajo y fue validada por un funcionario de la Secretaria de Salud Departamental del Huila. (Anexo A)

## 5.9 CODIFICACION Y TABULACION

Con la información obtenida se construyo una base de datos en hoja electrónica Excel, se determino la frecuencia que se presenta en la tabla 3. La seroprevalencia se ajusto mediante la formula  $PA = \frac{(p+E-1)}{(S+E-1)}$ , donde PA= prevalencia ajustada, p= prevalencia observada, S= sensibilidad, E= especificidad.

La prevalencia de la Leishmaniasis visceral canina se calculó mediante la siguiente fórmula estadística:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Número total de casos existentes al momento } t * 100}{\text{Total de la población en el momento } t}$$

$$P = \frac{1}{107} * 100 = 0.934 \%$$

## 5.10 CONSIDERACIONES ETICAS

El muestreo se llevo a cabo con el consentimiento previo de los propietarios, que incluyo el derecho a no participar, siguiendo las normas éticas para el manejo de animales establecidas en el instituto nacional de protección para los animales dando cumplimiento de la ley 526 de 2000. “Código de ética para el ejercicio profesional de la Medicina Veterinaria, la medicina veterinaria y zootecnia y la zootecnia” Titulo III capitulo 5 y 6. Ley 84 de 1989 “por la cual se adopta el estatuto nacional de protección de los animales y crean unas contravenciones y se regula lo referente a su procedimiento y competencia”, capítulo VI, artículos 23, 24, 25, y 26 “del uso de animales vivos en experimentos e investigaciones”,<sup>(75)</sup> Y la resolución 008430 de 1993 del título I, capítulo II, “de la investigación en comunidades”, y el título V “la investigación biomédica con animales”, articulo 87 al 94.<sup>(76)</sup>

La información que se recolecto en la investigación se obtuvo con previo permiso para poder realizar las encuestas con un consentimiento informado hacia los propietarios de los animales y posteriormente la toma de muestras a los caninos que habitan en las viviendas (Anexo 2). Anterior a esto se llevo a cabo una pequeña charla a los habitantes del barrio el Jordán para que conocieran sobre la forma de transmisión de la enfermedad, el vector y los reservorios de esta.

Al finalizar el estudio y teniendo los resultados de la seroprevalencia se les dio a conocer la información a los habitantes y a la Secretaría de salud municipal para que llevaran a cabo las medidas de prevención y control; Por ser confidenciales los datos, no se divulgo el nombre de las personas incluidas en esta investigación ni ningún otro dato que pueda afectar su integridad. En ningún momento se causara algún tipo de daño ambiental o biológico. Además se tomaron las medidas de seguridad necesarias para no atentar con la salud de los participantes ni de los investigadores. Los datos obtenidos se ajustan a la realidad.

## 6. RESULTADOS

Para el respectivo análisis de los resultados obtenidos a través de la prueba diagnóstica empleada, se establecieron dos categorías de muestras, positivas y negativas, donde se determinó la presencia o ausencia de la *Leishmania chagasi* o *infantum*; mediante la técnica de IFI realizada por el laboratorio de parasitología del Instituto Nacional de Salud (INS) en Bogotá, donde la cepa utilizada fue MHOM/CO/1984/CLO44B, (Cepa de *Leishmania chagasi* colombiana, aislada y caracterizada por el mismo grupo de parasitología del INS a través de isoenzimas y anticuerpos monoclonales obtenidas de un hospedero humano) y se obtuvieron los siguientes resultados:

POSITIVOS, se observan formas amastigotas de *Leishmania chagasi* donde los resultados mayores o iguales a 1/32 se consideran reactivos; NEGATIVOS, no se observaron formas amastigotas de *Leishmania chagasi* en la muestra examinada.

En la zona de estudio las muestras procesadas mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), 9 muestras de sueros de caninos dieron como resultado títulos de 1/8 a 1/16 que aunque no son reactivos para leishmaniasis visceral, los convierten en posibles reservorios de alguna de las diferentes formas de la leishmaniasis ya sea cutánea o mucocutánea.

Se muestrearon 107 caninos que equivalen al total de la población del barrio el Jordán donde fueron analizados e identificando un perro seropositivo de raza criolla de 1 año de edad, macho, en estado de peso ideal, alimentado con comida de sal, sin carné de vacunación y sin presentar ningún síntoma, arrojando que efectivamente el canino es el principal reservorio de la leishmaniasis, por consiguiente puede vivir con el parásito por mucho tiempo hasta desarrollar alguna sintomatología de la enfermedad.

Dentro de la población canina muestreada, el 51.4% eran machos y 48.6% hembras, de los cuales, la edad promedio fue de 3.64 años; la raza más frecuente correspondió a la criolla con 60.75% a diferencia de las otras razas; con respecto al manejo sanitario y nutricional de los animales se encontró que de los 107 animales el 68.22% contaban con antecedentes de inmunización (carnet de vacunación) y el 31.78% no registro historia alguna de vacunación; en cuanto a la forma de alimentación el 40.34% consumían alimento mixto (comida de sal y concentrado).

Tabla 2. Seroprevalencia de Leishmaniasis visceral canina en el barrio El Jordán, evaluada mediante la prueba IFI, Neiva 2010.

VARIABLE	BARRIO EL JORDAN	
	No.	%
Total de perros estudiados	107	100
Positivos a IFI	1	0.934
Seroprevalencia ajustada		0.502
IC95%		0.0015 - 0.0504
Raza		
Criolla	65	60,75
French Poodle	17	15,89
Pincher	5	4,67
Labrador	3	2,8
Pitbull	3	2,8
Chow-chow	4	3.73
Cocker	2	1.86
Dalmata	2	1.86
Fox terrier	1	0.93
Golden retriever	1	0.93
Grandanes	1	0.93
Znawzer	2	1.86
Terrier	1	0.93
Sexo del Animal		
Machos	55	51,4
Hembra	52	48,6
Relación macho/hembra	1:1	
Edad del Animal		
Promedio (años)	3,64	
Mediana (años)	3	
Moda (Edad más frecuente)	3	
Promedio (meses)	8,36	
Mediana (meses)	3	
Moda (Meses)	3	
Sintomatología Animal		
Asintomáticos	100	93,45
Sintomáticos	7	6,54
Vacunación Animal		
Si	73	68,22
No	34	31,78

Continuación tabla 2

---

Alimentación		
Concentrado	23	21,49
Mixta	43	40,18
Comida de sal	41	38,32
Condición corporal		
Delgado (condición 1)	7	6,54
Bajo de peso (condición 2)	9	8,41
Ideal (condición 3)	82	76,63
Sobrepeso (condición 4)	9	8,41
Niños convivientes		
Total niños	210	100
Entre 0 a 11 meses	11	5,24
Entre 1 a 5 años	60	28,6
Entre 6 a 10 años	69	32,8
Entre 11 a 15 años	70	33,3

Fuente: Elaboración propia de los autores.

La condición corporal de los animales fue ideal (condición 3) con un 76.63%, bajo de peso (condición 2) 8.41%, delgado (condición 1) 6.54% y animales con sobrepeso (condición 4) 8.41%. Teniendo en cuenta la sintomatología de la enfermedad de Leishmaniasis visceral canina encontramos que el 2.80% presentaban alopecia, el 2.80% dermatitis y el 0.93% diarrea, encontrando que el animal seropositivo a la prueba no presentaba ninguna sintomatología.

De acuerdo a los resultados obtenidos de la encuesta epidemiológica a la población objeto, se encontraron 210 niños menores de 15 años, donde el 5.24% son niños menores de un año, 28.6% en edades de 1 a 5 años, 32.8% entre los 6 a 10 años y 33.3% entre los 11 a 15 años lo cual representa una proporción de dos niños convivientes por un perro.

Como se describe en la tabla 2, en la población con anticuerpos contra *L. chagasi*, el promedio de edad fue de 3.64 años y 60.75% correspondió a perros criollos o mestizos. En el examen clínico, el 93.45% de los animales muestreados fueron asintomáticos incluyendo el canino seropositivo, y las manifestaciones clínicas más frecuentes en la población de sintomáticos fueron: alopecia 2.80%, dermatitis 2.80% y diarrea 0.93%.

Según datos y registros suministrados del programa de enfermedades transmitidas por vectores (ETV)-grupo de entomología de la Secretaría de Salud Departamental, en la zona urbana del municipio de Neiva en especial las comunas cinco y ocho se han recolectado especies de *Lutzomya sp* mediante la instalación

de trampas CDC desde el año 2006 al 2011, indicando que si existe la presencia del vector en la zona de estudio, por consiguiente se deben tomar medidas de prevención y control.

## 7. DISCUSIÓN



El área de estudio se encuentra ubicado por debajo de los 1750 msnm y tienen las condiciones geo-ecológicas para la transmisión y la proliferación de leishmaniasis visceral, hecho que se correlaciona con lo reportado por *velez et al*, quienes incluyeron al departamento del Huila como uno de los focos en Colombia de leishmaniasis visceral. <sup>(77)</sup>

El cambio climático, el desplazamiento forzado, y adicionando la desigualdad social dados a nivel mundial, latinoamericano y nacional hacen que se urbanicen y desarrollen enfermedades del tipo tropical dada la ubicación geográfica de nuestro país y departamento, además de la confirmación de la presencia del vector transmisor, mas la presencia de uno de los reservorios ideales (caninos) cobran importancia para poder cumplir con el ciclo reproductivo y desarrollo de la LV.

Los caninos han sido descritos como importantes reservorios de *L. infantum* en América Latina y juegan un papel esencial en la transmisión de LV, teniendo en cuenta que la presencia de un perro seropositivo es considerando como un posible factor de riesgo para la infección por *L. infantum* en el hombre. Consecuentemente, el diagnostico de la LVC, es utilizado como medida de control para reducir la transmisión de la infección de los reservorios al hombre. <sup>(78)</sup>

Los resultados del estudio comparados con otros reportes de trabajos realizados en Colombia, mostraron una prevalencia baja en comparación a la registrada en San Andres de sotavento, córdoba 16% por la prueba IFI. <sup>(79)</sup> la seroprevalencia en el estudio fue de 0,934%. El promedio de edad encontrado en los caninos es de 3,64 años, caracteriza una población relativamente joven, muy probable con infección reciente, ya que el animal positivo tenia un año.

El 0.934% del animal positivo por IFI, no presentó lesiones al examen clínico, estas infecciones inaparentes, similar a lo descrito por *velez* <sup>(80)</sup> dificultan el diagnostico de la enfermedad en los caninos y facilitan su transmisión entre la población canina y humana.

La variable sexo no se constituyo como un determinante, puesto que la proporción de hembras (48.6%) y machos (51.4%) fue similar, aunque el animal seropositivo fue un macho no nos arroja que la enfermedad sea mayor en machos que en hembras, puede presentarse en cualquiera de estos dos sexos o probablemente por la preferencia de los propietarios a la tendencia de machos. La edad es un indicador del grado de transmisión de la infección; *Moreno y Alvar* <sup>(81)</sup> reportaron que en los casos de leishmaniasis visceral canina las prevalencias son mayores en animales de hasta tres años de edad.

En Colombia, en el 2003 se registraron 121 casos en humanos que disminuyeron a 96 en el 2004; sin embargo en la zona de estudio el número de casos paso de dos en el 2003 a cinco en el 2004. <sup>(82)</sup> Es posible que exista una asociación entre leishmaniasis visceral humana y canina, ya que las mascotas se convierten en reservorios de la entidad en los ambientes domesticos en donde normalmete habitan generando un factor de riesgo para las personas que conviven con ellas siempre y cuando exista la presencia del vector, el cual ha sido descrito en otros estudios. <sup>(83)</sup>

Teniendo en cuenta el análisis de algunos de los resultados, algunas de las variables son posiblemente asociadas con la Leishmaniasis visceral canina (LVC) en zonas endémicas, dentro de las cuales podemos encontrar: la raza de los caninos (trabajo, compañía, deportivos etc.), sexo, edad, estado de salud, en donde nos pueden ayudar a determinar o distinguir la procedencia o tendencia del mismo, pero que al momento del análisis no tuvieron mayor relevancia. De acuerdo a lo anterior encontramos que la raza predominante es la Criolla con un 60.75% (a la cual pertenece nuestro caso seropositivo), seguido de la raza Friends Poodle con un 15.89 %, Pincher 4,67% entre otros.

Síntomas como la inflamación del ganglio poplíteo (linfadenitis) y la hipertrofia de las uñas (ornicogrifosis), los cuales son correlacionados con esta patología, no se evidencio en el momento de la realización del examen clínico de los animales, hay que tener en cuenta que estos síntomas pueden estar relacionados con otras patologías, por esta razón se deben realizar técnicas más precisas para la identificación de esta enfermedad.

En Colombia se tienen registros de que la mortalidad de caninos en zonas endémicas alcanzaron un 25% <sup>(84)</sup>, en comparación con el estudio realizado no se obtuvieron registros de mortalidad en caninos en el área de estudio. De acuerdo a esta patología clínicamente es muy difícil desarrollar una atención oportuna al paciente pues desde la picadura por parte del vector e inicio de los primeros síntomas, progreso de la misma y realización de exámenes clínicos específicos, el tiempo juega un papel fundamental a la hora de suministrar un tratamiento específico oportuno, donde su letalidad a nivel mundial y nacional es muy alto, esta patología afecta principalmente a los menores de quince años (<15) asociado a su entorno social y ambiental lo que los hace mucho más vulnerable.

En la zona de estudio de las 107 muestras de ejemplares caninos procesadas mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), 9 muestras de sueros de caninos dieron como resultado títulos de 1/8 que aunque no son reactivos (NEGATIVO)

para leishmaniasis visceral, los convierten en posibles reservorios de alguna de las diferentes formas de la enfermedad. Por esta razón se deben realizar pruebas serológicas con diferentes tipos de *leishmania* que atacan al individuo ya que los títulos son diferentes para cada una de las diferentes patologías de la leishmaniasis.

En Colombia la mayor frecuencia de casos provienen del tipo *L.braziliensis*, la cual produce el cuadro clínico conocido como leishmaniasis mucocutánea. En segundo lugar se presenta la leishmaniasis visceral (*L.donovani*) la cual está circunscrita a un área específica en Colombia. El tercer tipo de *leishmania* es la *L.trópica*, la cual produce la leishmaniasis cutánea; en este tipo hay divergencias en cuanto a su presentación en Colombia. Recientemente se han realizado clasificaciones de los diferentes tipos de leishmaniasis las cuales incluyen varios subtipos, que presentan una patología especial en un área determinada. <sup>(85)</sup>

En general, los títulos con extractos de *L. longipalpis* aglutinan en una o dos diluciones más que los extractos de *L. evansi* ( $P < 0.05$ ). Títulos estos que superan a los reportados por (Svobodova), pero en poblaciones de *L. longipalpis* de Brasil y Colombia y con aislados de *L. donovani* y *L. infantum*. Estas variaciones pueden explicarse por las diferencias de comportamiento existentes entre especies geográficamente separadas y sobre la base de que *L. longipalpis* es considerado un complejo de especies. <sup>(86)</sup>

Con los resultados obtenidos de prevalencia en un canino se corrobora la presencia de un brote epidémico, siendo necesario fortalecer la vigilancia epidemiológica y la búsqueda activa de casos humanos y caninos. En la actualidad, se discute como la leishmaniasis visceral se encuentra en un nítido proceso de transición epidemiológica, identificado por una incidencia creciente en áreas endémicas y su expansión geográfica a zonas no endémicas, incluso a zonas urbanas.

En Colombia, ya se reportaron casos de leishmaniasis visceral en niños sin nexos epidemiológicos con zonas endémicas rurales en Sincelejo y de la misma forma en Neiva, donde se desarrollo el estudio. <sup>(87)</sup>

## 8. CONCLUSIONES

La Leishmaniasis visceral es una enfermedad ligada a las condiciones de pobreza y las medidas de intervención en las poblaciones de riesgo son poco sostenibles, porque integran un componente social y económico difícil de impactar. El conocimiento de la comunidad sobre la enfermedad y su percepción frente a ella, puede ser una medida valiosa para establecer las medidas de control individual, específicas y colectivas, así como para favorecer su implementación, siendo necesario por lo tanto orientar la educación a profesores de las escuelas, a los niños y a las mujeres responsables del núcleo familiar, como medida de fortalecimiento de factores protectores en las comunidades localizadas en riesgos endémicos para LV, constituyéndose esta medida como una estrategia de control sostenible.

De acuerdo a los hallazgos, la caracterización parasitológica y la presencia del vector en el barrio el Jordán de la ciudad de Neiva, se deben detectar y tratar oportunamente todos los casos de Leishmaniasis Visceral para evitar la morbilidad y mortalidad de personas.

Es necesario tener en cuenta que las poblaciones en riesgo de contraer la infección en áreas donde confluyen tanto reservorios como vectores, son principalmente niños y adultos inmunocomprometidos. En este estudio, aunque no se tuvo en cuenta el estado inmunológico de los niños, se observó una proporción de dos niños por un perro, teniendo en cuenta que este grupo de edad es donde reportan la mayoría de los casos de Leishmaniasis visceral, sin descartar la población adulta.

En Latinoamérica la urbanización de las leishmaniasis es un fenómeno creciente y el riesgo de contraer la infección puede incrementarse si no se controla el contacto de los vectores y la población humana con reservorios infectados como los perros.

El tratamiento masivo de perros es logística y económicamente imposible para los sistemas de salud. Además, no se ha demostrado que los perros realmente se curen y lo más frecuente es que tan solo se observe una mejoría pasajera en los ejemplares tratados con antimoniales. El sacrificio de caninos es éticamente inaceptable y crea descontento social en los pobladores de las áreas endémicas. Si bien en algunos focos se han observado disminuciones en la incidencia de casos humanos de LV después de sacrificios masivos de caninos, en otras áreas esta estrategia no ha dado resultados positivos. Además la fuente silvestre de *L. chagasi* tiene la capacidad de infectar a los animales nuevos, traídos en remplazo de los eliminados, perpetuando así el ciclo de transmisión doméstica.

Aunque se considera que los perros de las áreas rurales son los más afectados, la infección ha llegado a zonas urbanas y periurbanas como lo demuestra el presente estudio, siendo el caso de un solo canino seropositivo el cual es un foco de infección para esta patología.

Todos estos factores hacen sospechar que los perros pueden tener un papel preponderante dentro de la nueva eco epidemiología de la leishmaniasis visceral en zonas urbanas, y específicamente en el departamento del Huila, si se tiene en cuenta que se observaron parásitos del genero *leishmania* en el canino positivo considerándose el reservorio mas importante, con capacidad de establecer patrones enzoóticos silenciosos debido a su mayor probabilidad de contacto con los vectores y reservorios silvestres en su hábitat natural.

## 9. RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta la baja demanda de los servicios médicos especializados por parte de las familias encuestadas, se hace fundamental garantizar una mayor participación de los servicios locales de salud en la búsqueda activa de casos e incrementar el entrenamiento del personal médico en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.

De esta forma, el presente trabajo confirma un brote epidémico de la infección en los caninos del barrio el Jordán, zona de estudio, y alerta sobre la presencia de otros caninos seropositivos en zonas urbanas y la movilización del vector. Siendo necesario fortalecer la vigilancia epidemiológica y la búsqueda activa de casos nuevos en humanos y caninos.

Es necesario estudiar otros reservorios silvestres y de igual forma la captura de vectores. En el plan de atención básica, las alcaldías municipales deben asignar recursos para fortalecer las estrategias de educación sanitaria y los programas de control.

Por lo anteriormente descrito se recomienda a los entes responsables de la salud implementar una vigilancia activa estricta a la zona en especial y a todo el municipio de Neiva, con el fin de realizar acciones tendientes a minimizar los factores de riesgo de contraer la enfermedad para así poder detectar a tiempo la misma por parte del personal en salud de la red hospitalaria del municipio.

Se recomienda implementar estrategias de información, educación, comunicación (ICE) y estrategias de gestión integral (EGI) que involucren a todos los miembros de la comunidad, haciendo énfasis en amas de casa (en su mayoría encargadas de la salud familiar) y estudiantes. Los planes de educación pueden incluir charlas, reuniones y distribución de material educativo impreso (cartillas, folletos, calendarios, etc.).

Dada la situación epidemiológica actual de esta enfermedad en nuestro municipio es importante que los entes político-administrativos encargados de la inspección, vigilancia y control en salud pública de la población realicen acciones o actividades que ayuden a evaluar el comportamiento epidemiológico en los reservorios ideales distintos al doméstico (canino) los cuales han sido establecidos o descritos en la literatura pues estos pueden estar cobrando relevancia en el modo de transmisibilidad de la enfermedad en los distintos actores del ciclo de vida de la misma.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ROMERO P. MARLYN H; SANCHEZ V. JORGE A.; Evaluación de factores de riesgo de la Leishmaniasis visceral en seis municipios endémicos colombianos. Promoción de la salud. Vol. 14, No. 2, Julio – Diciembre 2009. Pag. 66 – 74.
2. JOSÉ FERNÁNDEZ M., TULIO A. CHARRY C., FELIO J. BELLO G., JESÚS E. ESCOVAR, CARLOS A. LOZANO, MARTHA S. AYALA S., RUBÉN S. NICHOLLS, y col; Seroprevalencia de Leishmaniasis Visceral Canina en la comuna 8 de Neiva y cuatro Municipios del Huila – Colombia; Rev. Biomédica. Instituto Nacional de Salud; vol. 16. Suplemento 1, Bogotá octubre 2006, pp. 121-130.
3. MARTHA S, AYALA; OLGA L.C; RUBEN S.N; ERIKA, S; y col. Guía técnica para los estudios de foco de leishmaniasis. Instituto Nacional de Salud; Ministerio de protección social. Bogotá D.C., Marzo de 2008.
4. MEDRANO FJ, HERNÁNDEZ-QUERO J, JIMÉNEZ E, PINEDA JA, RIVERO A, SÁNCHEZ-QUIJANO A, VELEZ ID, VICIANA P, CASTILLO R, REYES MJ;. Visceral leishmaniasis in HIV individuals: a common opportunistic infection in Spain? Aids 1992; 6 (12): 1499-1503
5. World Health Organization. Leishmania/HIV co-infection. South Western Europe 1990-1998. Retrospective analysis of 965 cases. WHO/Leish/2000.42, Geneva, 2000.
6. MARTHA S, AYALA; OLGA L.C; RUBEN S.N; ERIKA, S; y col. Guía técnica para los estudios de foco de leishmaniasis. Instituto Nacional de Salud; Ministerio de protección social. Bogotá D.C., Marzo de 2008.
7. MARTHA S, AYALA; OLGA L.C; RUBEN S.N; ERIKA, S; y col. Guía técnica para los estudios de foco de leishmaniasis. Instituto Nacional de Salud; Ministerio de protección social. Bogotá D.C., Marzo de 2008.
8. FERRO C, MORALES A. Flebotomos de Colombia. Estudios realizados en el Laboratorio De Entomología INS, 1965-1997. Instituto Nacional De Salud 1917-1997: una historia, un compromiso. Bogotá: Instituto Nacional De Salud, 1998. p 219 – 232.
9. Revista Biomédica del Instituto Nacional de Salud. Vol. 26., Suplemento No. 1, Leishmaniasis: un reto para la salud pública que exige concentración de voluntades y esfuerzos. Octubre 2006. Bogotá D.C., Colombia, S.A.



10. MARLYN H. ROMERO, MYRIAM C. LÓPEZ, MARÍA C. ECHEVERRY Y FAVIO A. RIVAS; Leishmaniasis Visceral Canina: Pruebas Diagnósticas no identifican Estados Reales de la Infección. Rev. Salud pública. 10 (2):290-298, 2008.
11. JOSÉ FERNÁNDEZ M., TULIO A. CHARRY C., FELIO J. BELLO G., JESÚS E. ESCOVAR, CARLOS A. LOZANO, MARTHA S. AYALA S., RUBÉN S. NICHOLLS, y col; Seroprevalencia de Leishmaniasis Visceral Canina en la comuna 8 de Neiva y cuatro Municipios del Huila – Colombia; Rev. Biomédica. Instituto Nacional de Salud; vol. 16. Suplemento 1, Bogotá octubre 2006, pp. 121-130.
12. Subdirección de vigilancia y control en salud pública. Informe de vigilancia y control, Colombia, 2004. Bogotá: Instituto Nacional de Salud, 2005. Pag.7-8.
13. Subdirección de vigilancia y control en salud pública. Informe de vigilancia y control, Colombia, 2004. Bogotá: Instituto Nacional de Salud, 2005. Pag. 7-8.
14. MARTHA S, AYALA; OLGA L.C; RUBEN S.N; ERIKA, S; y col. Guía técnica para los estudios de foco de leishmaniasis. Instituto Nacional de Salud; Ministerio de protección social. Bogotá D.C., Marzo de 2008.
15. MARTHA S, AYALA; OLGA L.C; RUBEN S.N; ERIKA, S; y col. Guía técnica para los estudios de foco de leishmaniasis. Instituto Nacional de Salud; Ministerio de protección social. Bogotá D.C., Marzo de 2008.
16. Ministerio de Salud. Reporte de nuevos casos de leishmaniasis, periodo 1990-1997. Unidad Administrativa Especial de Campañas Directas (UAECD), Bogotá; 1998.
17. FERRO C, MORALES A. Flebótomos de Colombia. Estudios realizados en el Laboratorio De Entomología INS, 1965-1997. Instituto Nacional De Salud 1917-1997: una historia, un compromiso. Bogotá: Instituto Nacional De Salud, 1998. p 219 – 232
18. Revista Biomédica del Instituto Nacional de Salud. Vol. 26., Suplemento No. 1, Leishmaniasis: un reto para la salud pública que exige concentración de voluntades y esfuerzos. Octubre 2006. Bogotá D.C., Colombia, S.A.

19. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web:  
[www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)

20. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web:  
[www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)

21. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web:  
[www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)

22. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web:  
[www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)

23. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web:  
[www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)

24. BERRUETA U. T.; Departamento de microbiología y parasitología. Facultad de medicina, UNAM. Disponible en la página web:  
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/protozoos/leishmaniosis.php>

25. BERRUETA U. T.; Departamento de microbiología y parasitología. Facultad de medicina, UNAM. Disponible en la página web:  
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/protozoos/leishmaniosis.php>

26. BERRUETA U. T.; Departamento de microbiología y parasitología. Facultad de medicina, UNAM. Disponible en la página web:  
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/protozoos/leishmaniosis.php>

27. BERRUETA U. T.; Departamento de microbiología y parasitología. Facultad de medicina, UNAM. Disponible en la página web:  
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/protozoos/leishmaniosis.php>

28. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web:  
[www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)
29. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web:  
[www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)
30. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web:  
[www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)
31. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web:  
[www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)
32. SANDOVAL C, ANGULO V. Especies de *Lutzomya* (Diptera: Psychodidae) posibles vectores de leishmaniasis en la ciudad de Bucaramanga, Santander, Colombia. *Biomédica* 1998; 18 (2):161-168.
33. LOZANO AG. Situación de la leishmaniasis departamento del Huila,. Informe interno. Servicio Seccional del Huila. Ministerio de Salud 1993; 26p.
34. VELEZ ID, TRAVI B, GALLEGU J, PALMA G, MONTOYA J, JARAMILLO C, LLANO R. Evaluación eco-epidemiológica de la leishmaniasis visceral en la comunidad indígena Zenú de San Andrés de Sotavento, Córdoba: primer paso para su control. *Revista Colombiana de Entomología*. 1995. 21 (3): 111-122.
35. VELEZ ID, TRAVI B, GALLEGU J, PALMA G, MONTOYA J, JARAMILLO C, LLANO R. Evaluación eco-epidemiológica de la leishmaniasis visceral en la comunidad indígena Zenú de San Andrés de Sotavento, Córdoba: primer paso para su control. *Revista Colombiana de Entomología*. 1995. 21 (3): 111-122.
36. CORREDOR A, GALLEGU JF, TESH RB, MORALES A, DE CARRASQUILLA CF, YOUNG DG, KREUTZER RD, BOSHELL J, PALAU MT, CACERES. 1989. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. *AM.J:Trop.Med:Hyg*. 40 (5): 480-485.

37. CAMACHO M, CARABALLO L, BARRIOS H, CORREA Y, FIGUEROS N. 1977. Kala-azar un foco en el Departamento de Sucre. *Tribuna Medica* 56 (7): 33-34.
38. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web: [www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)
39. MEDRANO FJ, HERNÁNDEZ-QUERO J, JIMÉNEZ E, PINEDA JA, RIVERO A, SÁNCHEZ-QUIJANO A, VELEZ ID, VICIANA P, CASTILLO R, REYES MJ;. Visceral leishmaniasis in HIV individuals: a common opportunistic infection in Spain? *Aids* 1992; 6 (12): 1499-1503
40. CORREDOR A, GALLEGO JF, TESH RB, MORALES A, DE CARRASQUILLA CF, YOUNG DG, KREUTZER RD, BOSHELL J, PALAU MT, CACERES. 1989. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. *AM.J:Trop.Med:Hyg.* 40 (5): 480-485.
41. Leishmaniasis. El vector. WHO, disponible en la página web: [www.who.int/leishmaniasis/es/tropics](http://www.who.int/leishmaniasis/es/tropics).
42. Leishmaniasis. El vector. WHO, disponible en la página web: [www.who.int/leishmaniasis/es/tropics](http://www.who.int/leishmaniasis/es/tropics).
43. TRAVI B.L, MONTOYA J, GALLEGO J. Bionomics of *Lutzomyia evansi* (Diptera Psychodidae) vector of visceral leishmaniasis in Northern Colombia. *Journal Medical Entomology.* 1996; 33 (3):278-285.
44. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web: [www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)
45. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web: [www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)
46. MARTHA S, AYALA; OLGA L.C; RUBEN S.N; ERIKA, S; y col. Guía técnica para los estudios de foco de leishmaniasis. Instituto Nacional de Salud; Ministerio de protección social. Bogotá D.C., Marzo de 2008.

47. Leishmaniasis. El vector. WHO, disponible en la página web: [www.who.int/leishmaniasis/es/tropics](http://www.who.int/leishmaniasis/es/tropics).

48. Leishmaniasis. El vector. WHO, disponible en la página web: [www.who.int/leishmaniasis/es/tropics](http://www.who.int/leishmaniasis/es/tropics).

49. KILLICK-KENDRICK R.; Investigation of phlebotomine sandflies vector of leishmaniasis. Proceedings of the Indo-UK Workshop on leishmaniasis; 1983. Pag 72.

50. TRAVI B, MONTOYA J,. Fundación Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Medicas fundación CIDEIM. Manual de entomología medica para investigadores de América Latina. Cali, Colombia, 1994.280p.

51. ALEXANDER JB. Dispersal of phlebotomine sand fly in a Colombian coffee plantations. Journal of Medecine Entomology. 1987; 24: 552-558.

52. Leishmaniasis. El vector. WHO, disponible en la página web: [www.who.int/leishmaniasis/es/tropics](http://www.who.int/leishmaniasis/es/tropics).

53. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web: [www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)

54. CORREDOR A, GALLEGO JF, TESH RB, MORALES A, DE CARRASQUILLA CF, YOUNG DG, KREUTZER RD, BOSHELL J, PALAU MT, CACERES. 1989. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. AM.J:Trop.Med:Hyg. 40 (5): 480-485.

55. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (leishmania infantum). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.

56. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (leishmania infantum). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.

57. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (*leishmania infantum*). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.
58. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (*leishmania infantum*). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.
59. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (*leishmania infantum*). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.
60. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (*leishmania infantum*). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.
61. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (*leishmania infantum*). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.
62. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (*leishmania infantum*). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.
63. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (*leishmania infantum*). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.
64. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (*leishmania infantum*). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.
65. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (*leishmania infantum*). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.

66. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (leishmania infantum). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.

67. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (leishmania infantum). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007

68. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (leishmania infantum). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.

69. ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (leishmania infantum). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.

70. Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web: [www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)

71. Biblioteca Luis Ángel Arango. Huila – ayuda de tareas sobre geografía. Biblioteca virtual del Banco de la Republica. Edición original 2005. Disponible en la página web: [www.banrepcultural.org/blaavirtual/ayudadetareas/geografia/geo77.htm](http://www.banrepcultural.org/blaavirtual/ayudadetareas/geografia/geo77.htm)

72. DANE. Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas, censo general 2005. Disponible en la página web: [www.dane.gov.co/censo/files/librocenso2005nacional.pdf](http://www.dane.gov.co/censo/files/librocenso2005nacional.pdf)

73. BIBLIOTECA LUIS ANGEL ARANGO. Huila – ayuda de tareas sobre geografía. Biblioteca virtual del Banco de la Republica. Edición original 2005. Disponible en la página web: [www.banrepcultural.org/blaavirtual/ayudadetareas/geografia/geo77.htm](http://www.banrepcultural.org/blaavirtual/ayudadetareas/geografia/geo77.htm)

74. Articulo encuesta, disponible en la pagina web: <http://es.wikipedia.org/wiki/Encuesta>

75. COLOMBIA. Congreso de la Republica. Ley 084 de 1989. Estatuto Nacional de protección de los animales. Diario oficial. No. 39120.27; 1989. Pag. 1-14
76. MINISTERIO DE SALUD. Republica de Colombia. Resolución No. 008430 de 1993. Investigación en salud; 1993. Pag. 1-20.
77. VELEZ ID, TRAVI B, GALLEGO J, PALMA G, MONTOYA J, JARAMILLO C, LLANO R. Evaluación eco-epidemiológica de la leishmaniasis visceral en la comunidad indígena Zenú de San Andrés de Sotavento, Córdoba: primer paso para su control. Revista Colombiana de Entomología. 1995. 21 (3): 111-122.
78. MARLYN H. ROMERO, MYRIAM C. LÓPEZ, MARÍA C. ECHEVERRY Y FAVIO A. RIVAS; Leishmaniasis Visceral Canina: Pruebas Diagnósticas no identifican Estados Reales de la Infección. Rev. Salud pública. 10 (2):290-298, 2008.
79. VELEZ ID, TRAVI B, GALLEGO J, PALMA G, MONTOYA J, JARAMILLO C, LLANO R. Evaluación eco-epidemiológica de la leishmaniasis visceral en la comunidad indígena Zenú de San Andrés de Sotavento, Córdoba: primer paso para su control. Revista Colombiana de Entomología. 1995. 21 (3): 111-122.
80. VELEZ ID, TRAVI B, GALLEGO J, PALMA G, MONTOYA J, JARAMILLO C, LLANO R. Evaluación eco-epidemiológica de la leishmaniasis visceral en la comunidad indígena Zenú de San Andrés de Sotavento, Córdoba: primer paso para su control. Revista Colombiana de Entomología. 1995. 21 (3): 111-122.
81. MORENO J; ALVAR J; canine leishmaniasis epidemiological risk and the experimental model. Trends parasitol 2002; 18: 399-405.
82. Subdirección de vigilancia y control en salud publica. Informe de vigilancia y control, Colombia, 2004. Bogotá: Instituto Nacional de Salud, 2005. Pag. 7-8.
83. ROMERO P. MARLYN H; SANCHEZ V. JORGE A.; Evaluacion de factores de riesgo de la Leishmaniasis visceral en seis municipios endémicos colombianos. Promoción de la salud. Vol. 14, No. 2, Julio – Diciembre 2009. Pag. 66 – 74.



84. VELEZ ID, TRAVI B, GALLEGO J, PALMA G, MONTOYA J, JARAMILLO C, LLANO R. Evaluación eco-epidemiológica de la leishmaniasis visceral en la comunidad indígena Zenú de San Andrés de Sotavento, Córdoba: primer paso para su control. Revista Colombiana de Entomología. 1995. 21 (3): 111-122

85. Artículo de Leishmaniasis, disponible en la página web: [http://telesalud.ucaldas.edu.co/rmc/articulos/articulo.asp?archivo=v1e1a5.htm&vol=1&ed=1&id\\_articulo=5](http://telesalud.ucaldas.edu.co/rmc/articulos/articulo.asp?archivo=v1e1a5.htm&vol=1&ed=1&id_articulo=5)

86. OVIEDO M, BASTIDAS G, SANDOVAL C, VIVENES A, BENDEZU H. Aglutinación diferencial de promastigotes de una cepa venezolana de *Leishmania infantum* con lisados de intestino medio de *Lutzomyia evansi* y *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae). Rev Biomed 2011; 22:85-93. <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2011/bio113c.pdf>

87. CAMPOS M, LIMPIAS L, ARANGO F, CHARRY F. 1982. Leishmaniasis visceral en el Huila, Acta Medica Colombiana. 7 (4): 161-170.

88. ROMERO P. MARLYN H; SANCHEZ V. JORGE A.; Evaluacion de factores de riesgo de la Leishmaniasis visceral en seis municipios endémicos colombianos. Promoción de la salud. Vol. 14, No. 2, Julio – Diciembre 2009. Pag. 66 – 74.

## BIBLIOGRAFIA

ALEXANDER JB. Dispersal of phlebotomine sand fly in a Colombian coffee plantations. Journal of Medecine Entomology. 1987; 24: 552-558.

Artículo de Leishmaniasis, disponible en la página web:  
[http://telesalud.ucaldas.edu.co/rmc/articulos/articulo.asp?archivo=v1e1a5.htm&vol=1&ed=1&id\\_articulo=5](http://telesalud.ucaldas.edu.co/rmc/articulos/articulo.asp?archivo=v1e1a5.htm&vol=1&ed=1&id_articulo=5)

BERRUETA U. T.; Departamento de microbiología y parasitología. Facultad de medicina, UNAM. Disponible en la página web:  
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/protozoos/leishmaniosis.php>

BIBLIOTECA LUIS ANGEL ARANGO. Huila – ayuda de tareas sobre geografía. Biblioteca virtual del Banco de la Republica. Edición original 2005. Disponible en la página web:  
[www.banrepcultural.org/blaavirtual/ayudadetareas/geografia/geo77.htm](http://www.banrepcultural.org/blaavirtual/ayudadetareas/geografia/geo77.htm)

CAMACHO M,; CARABALLO L, y colaboradores. 1977. Kala-azar un foco en el Departamento de Sucre. Tribuna Medica 56 (7): 33-34.

CAMPOS M, LIMPIAS L, ARANGO F, CHARRY F. 1982. Leishmaniasis visceral en el Huila, Acta Medica Colombiana. 7 (4): 161-170.

COLOMBIA. Congreso de la Republica. Ley 084 de 1989. Estatuto Nacional de protección de los animales. Diario oficial. No. 39120.27; 1989. Pag. 1-14

CORREDOR A,; GALLEGO y colaboradores 1989. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. AM.J:Trop.Med:Hyg. 40 (5): 480-485.

DANE. Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas, censo general 2005. Disponible en la página web:  
[www.dane.gov.co/censo/files/librocenso2005nacional.pdf](http://www.dane.gov.co/censo/files/librocenso2005nacional.pdf)

Enfermedad de leishmaniasis. Publicado en la página web:  
[www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis](http://www.monografias.com/trabajos62/leishmaniasis)

FERRO C, MORALES A. Flebótomos de Colombia. Estudios realizados en el Laboratorio De Entomología INS, 1965-1997. Instituto Nacional De Salud 1917-

1997: una historia, un compromiso. Bogotá: Instituto Nacional De Salud, 1998. p 219 – 232.

FERNÁNDEZ M., Jose y colaboradores. Seroprevalencia de Leishmaniasis Visceral Canina en la comuna 8 de Neiva y cuatro Municipios del Huila – Colombia; Rev. Biomédica. Instituto Nacional de Salud; vol. 16. Suplemento 1, Bogotá octubre 2006, pp. 121-130.

KILLICK-KENDRICK R.; Investigation of phlebotomine sandflies vector of leishmaniasis. Proceedings of the Indo-UK Workshop on leishmaniasis; 1983. Pag 72.

Leishmaniasis. El vector. WHO, disponible en la página web: [www.who.int/leishmaniasis/es/tropics](http://www.who.int/leishmaniasis/es/tropics).

LOZANO AG. Situación de la leishmaniasis departamento del Huila,. Informe interno. Servicio Seccional del Huila. Ministerio de Salud 1993; 26p.

MARLYN H. ; ROMERO, Myriam y colaboradores.. Leishmaniasis Visceral Canina: Pruebas Diagnósticas no identifican Estados Reales de la Infección. Rev. Salud pública. 10 (2):290-298, 2008.

MARTHA S, AYALA; OLGA L.C; RUBEN S.N; ERIKA, S; y col. Guía técnica para los estudios de foco de leishmaniasis. Instituto Nacional de Salud; Ministerio de protección social. Bogotá D.C., Marzo de 2008.

MEDRANO FJ, HERNÁNDEZ-QUERO J, y colaboradores. Visceral leishmaniasis in HIV individuals: a common opportunistic infection in Spain? Aids 1992; 6 (12): 1499-1503

MINISTERIO DE SALUD. Reporte de nuevos casos de leishmaniasis, periodo 1990-1997. Unidad Administrativa Especial de Campañas Directas (UAECD), Bogotá; 1998.

MINISTERIO DE SALUD. Republica de Colombia. Resolución No. 008430 de 1993. Investigación en salud; 1993. Pag. 1-20.

MORENO J; ALVAR J; canine leishmaniasis epidemiological risk and the experimental model. Trends parasitol 2002; 18 : 399-405.

World Health Organization. Leishmania/VIH co-infection. South Western Europe 1990-1998. Restrospective analysis of 965 cases. WHO/Leish/2000.42, Geneva, 2000.

OVIEDO M, ; BASTIDAS G, ; SANDOVAL C,; VIVENES A, y BENDEZU H. Aglutinación diferencial de promastigotes de una cepa venezolana de *Leishmania infantum* con lisados de intestino medio de *Lutzomyia evansi* y *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae). Rev Biomed 2011; 22:85-93.  
<http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2011/bio113c.pdf>

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Revista Biomédica del. Vol. 26., Suplemento No. 1, Leishmaniasis: un reto para la salud pública que exige concentración de voluntades y esfuerzos. Octubre 2006. Bogotá D.C., Colombia, S.A.

ROMERO H. M; SANCHEZ J, A; El diagnostico de la Leishmaniasis Visceral Canina (*leishmania infantum*). Departamento de salud animal, universidad de caldas, Manizales, Colombia. Vet. Zoote. 1(1): 51-59, Abril 2007.

ROMERO P. ; MARLYN H; SANCHEZ V. y JORGE A . Evaluación de factores de riesgo de la Leishmaniasis visceral en seis municipios endémicos colombianos. Promoción de la salud. Vol. 14, No. 2, Julio – Diciembre 2009. Pag. 66 – 74.

SANDOVAL C, ; ANGULO V. Especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) posibles vectores de leishmaniasis en la ciudad de Bucaramanga, Santander, Colombia. Biomédica 1998; 18 (2):161-168.

Subdirección de vigilancia y control en salud pública. Informe de vigilancia y control, Colombia, 2004. Bogotá: Instituto Nacional de Salud, 2005. Pag. 7-8.

TRAVI B, MONTOYA J,. Fundación Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Medicas fundación CIDEIM. Manual de entomología medica para investigadores de América Latina. Cali, Colombia, 1994.280p.

TRAVI B.L, MONTOYA J, GALLEGO J. Bionomics of *Lutzomyia evansi* (Diptera Psychodidae) vector of visceral leishmaniasis in Northern Colombia. Journal Medical Entomology. 1996; 33 (3):278-285.

VELEZ ID, TRAVI B, GALLEGO J, PALMA G, MONTOYA J, JARAMILLO C, LLANO R. Evaluación eco-epidemiológica de la leishmaniasis visceral en la comunidad indígena Zenú de San Andrés de Sotavento, Córdoba: primer paso para su control. Revista Colombiana de Entomología. 1995. 21 (3): 111-122.

# ANEXOS

---

Anexo A. Encuesta epidemiológica para caracterización de focos de leishmaniasis visceral en el Huila.



ENCUESTA EPIDEMIOLOGICA PARA CARACTERIZACIÓN DE FOCOS DE LEISHMANIASIS VISCERAL EN EL HUILA

Escenario ecoepidemiológico: transmisión peri o intradomiciliar de Leishmaniasis Visceral (Cercos epidemiológicos) en el barrio el Jordan, de la comuna 5 del área urbana del municipio de Neiva (Huila)

Encuesta #

1. Fecha    /    /

2. Código casa

Mun.  Casa #

3. Barrio:

4. Comuna No.

5. Dirección

6. Teléfono  7. Nombre del propietario

**I. Datos familiares**

8. ¿Hay niños menores de 15 años?  SI  NO

9. Cuantos niños viven en la vivienda entre la edad de 0 a 15 años?

10. Nombre de los niños habitantes en la vivienda entre 0-15 años	Edad	Sexo	N° Tipo de identificación (TI) (RC)
1. _____	_____	_____	_____
2. _____	_____	_____	_____
3. _____	_____	_____	_____
4. _____	_____	_____	_____
5. _____	_____	_____	_____
6. _____	_____	_____	_____

11. ¿En que regimen de salud estan los niños?

1. Contributivo  2. Subsidiado  3. No tiene

Cual?

12. Nombre de los padres	Edad	Sexo	N° Tipo de identificación
1. _____	_____	_____	_____
2. _____	_____	_____	_____

**II. Condiciones que favorecen la presencia de los insectos/posibles reservorios**

13. tiene perros en la vivienda? SI ( ) NO ( )

14. cuantos perros tienen dentro de la vivienda?

1

2

3

4

Otros, cuantos?

(SI TIENE ANIMALES CONTESTAR LAS VARIABLES QUE ESTAN A CONTINUACION)

	CANINO 1	CANINO 2	CANINO 3	CANINO 4	CANINO 5
<b>NOMBRE DEL ANIMAL</b>					
<b>EDAD</b>					
<b>SEXO</b>					
<b>RAZA</b>					
<b>CONDICION CORPORAL</b>					

(Para la variable de condicion corporal marcar de la siguiente manera: delgado (1), bajo de peso (2), ideal (3) y sobrepeso (4))

15. Tienen historia de vacunacion? SI ( ) NO ( )

Cuales? \_\_\_\_\_

16. Que tipo de comida le suministran a el animal?

1. Concentrado  2. Comida de sal

otros: \_\_\_\_\_

16. Ha visto animales silvestres alrededor de la vivienda (a una distancia de 300 m a la redonda) en el ultimo año?

**Nombre común**

1 ( ) Ratas o ratones \_\_\_\_\_

2 ( ) Zarigüeya, chucha \_\_\_\_\_

3 ( ) Ninguno \_\_\_\_\_

4 ( ) Otro. Cuál? \_\_\_\_\_



17. marque con una x la condicion del animal de acuerdo a la sintomatologia que presenta.									
<b>(ESTO SE HARA EN EL MOMENTO DE LA REALIZACION DEL EXAMEN CLINICO POR PARTE DEL ENTREVISTADOR)</b>									
1.	<input type="checkbox"/>	Pelaje opaco							
2.	<input type="checkbox"/>	Dermatitis exfoliativa generalizada							
3.	<input type="checkbox"/>	Alopecia							
4.	<input type="checkbox"/>	Pérdida de pelo alrededor de los ojos							
5.	<input type="checkbox"/>	Ulceras dérmicas							
6.	<input type="checkbox"/>	Onicogriposis							
7.	<input type="checkbox"/>	Conjuntivitis							
8.	<input type="checkbox"/>	Sangrado espontáneo por las narinas							
9.	<input type="checkbox"/>	Ulceras cutáneas o el ano							
10.	<input type="checkbox"/>	Fiebre							
11.	<input type="checkbox"/>	Diarrea							
12.	<input type="checkbox"/>	Ninguno de los anteriores							
13.	<input type="checkbox"/>	otros, cuales?	_____						
<b>Observaciones</b>									
Formulario diligenciado por: _____									
<b>Nota Importante: Las secciones (II - III) de esta encuesta, fueron adaptados a partir de formatos previamente diseñados por Pardo R &amp; Ferro C, para otros estudios entomológicos de foco de leishmaniasis (proyectos INS-Colciencias-Secretarias de Salud de Boyacá, Huila y Tolima).</b>									
ENCUESTA ELABORADA POR: JOHANNA PAOLA BAHAMON ROJAS DIEGO MAURICIO QUINTERO BONILLA LUCIO SIGIFREDO GAVIRIA									

Anexo B. Consentimiento informado.

**INFORMACION DEL PROPIETARIO DEL CANINO PARTICIPANTE Y EL FORMATO DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Nombre del propietario del Canino: \_\_\_\_\_

Cedula de Ciudadanía: \_\_\_\_\_

Dirección de la residencia: \_\_\_\_\_

Nombre del Canino: \_\_\_\_\_

Edad:

\_\_\_\_\_.

Color:

\_\_\_\_\_.

Raza:

Para el año epidemiológico 2009 se notificaron al Sistema de vigilancia SIVIGILA y se confirmaron por patología un total de dos (2) casos de Leishmaniasis de la forma visceral (2 autóctonos) en la capital del Departamento del Huila siendo esta la forma más letal que afecta principalmente a niños y de la cual no se había tenido registro en los últimos años; pero que gracias a DIOS y aun acertado y oportuno diagnóstico clínico no cobro víctimas. La tasa de incidencia para este evento fue del 0,5 x 100.000 habitantes, lo que equivale una población a riesgo de (421.482) dentro de los Municipios catalogados endémicos (Colombia, Tello, Baraya, Neiva Rivera Campoalegre y Algeciras);

La Leishmaniasis es una zoonosis distribuida en todo el mundo presentándose en distintas formas: cutánea, mucocutánea y visceral. Observando a través del tiempo la urbanización del evento en nuestra región (brotes), además encontrando que un animal doméstico como el canino es un reservorio ideal para el parásito es de tener en cuenta que la gran mayoría de la población canina sujeto del estudio pertenecen o son propietarios habitantes de los estratos 1 y 2 sumándole la presencia del vector transmisor se crea un ambiente favorable para adquirir y desarrollar las distintas formas de Leishmaniasis. La vigilancia proporciona la base para desarrollar estrategias adecuadas para la intervención en la salud pública y lo cual aplica para este estudio. Por tal motivo se le está invitando voluntariamente a participar como propietario del canino en el estudio de investigación para poder conocer si o no es reservorio de la enfermedad.

### ***Procedimientos del estudio.***

Si usted acepta participar, antes de obtener los resultados se deberá tomar una muestra serológica por venopunción de la vena cefálica, se tomara con una aguja fina similar a los utilizados en cualquiera de los laboratorios clínicos. La toma de muestra será en la pierna delantera con un máximo de muestra de (3 – 4 ml) las cuales serán llevadas al Laboratorio de Salud Pública de la Secretaría de Salud Departamental para su análisis correspondiente y así realizar un diagnóstico acertado.

### ***Beneficios***

Si usted acepta participar no recibirá un beneficio directo de los resultados de este estudio. La información obtenida en este estudio nos podrá ayudar realizar acciones de control, prevenir la enfermedad y así minimizar los factores de riesgo y mejorar la calidad de vida de la población.

### ***Riesgos***

La toma de las muestras de sangre se realizara bajo condiciones de estricta limpieza para minimizar el riesgo de una infección posterior. En los procedimientos puede producirse un poco de dolor pero no tiene reacciones adversas y secundarias si se presentara se resolverá con tratamiento en las próximas dos semanas. La cantidad total de sangre necesitada es similar a la necesitada en las pruebas de laboratorio en sangre usuales y no representa un riesgo importante para la vida y el estado de salud del animal.

### ***Responsabilidades del paciente***

Usted permite la extracción o tomas de las muestras. Usted ayudará mucho si le dice al grupo investigador sobre cualquier molestia que presente el canino durante los procedimientos.

### ***Alternativas***

No existe un método alternativo más seguro que permita obtener la información que estamos solicitando. Si usted escoge que su canino no participara en el estudio, socialmente usted tendría responsabilidad social y de salud pública para con su comunidad.

### ***Confidencialidad***

Sólo el grupo de investigadores sus colaboradores sabrán que usted y su canino está participando en el estudio. Los registros que se hagan se harán identificándolo sólo con un código y no con el nombre; sin embargo,

representantes autorizados de los Centros para el Control de Enfermedades y Prevención de Estados Unidos (CDC) y/o las autoridades Nacionales, Departamentales y Municipales que tengan competencia sobre la Salud Pública podrán revisar sus registros como parte de su actividad de supervisión del estudio. Si los resultados de este estudio son publicados, usted y su canino no será identificado por el nombre.

### ***Compensación***

Los materiales, implementos y exámenes diagnósticos realizados a los caninos relacionados con el estudio son completamente gratuitos. Usted no tendrá que incurrir en ningún gasto por participar en este estudio.

### ***Personas a contactar***

Si tiene cualquier duda acerca de este estudio o acerca de lo que debe hacer en caso de que sienta alguna inquietud con respecto al estudio, puede comunicarse con la Dra. Johanna Paola Bahamon Rojas, el Dr. Diego Mauricio Quintero y el Dr. Lucio Sigifredo Gaviria al teléfono 8701980 extensión 106.

Si tiene dudas con respecto a los derechos y deberes que tiene por su participación en este estudio, puede comunicarse con la Dra. Dolly Castro Betancourt, Coordinadora Especialización de Epidemiología de la facultad de ciencias de la Universidad Surcolombiana al teléfono 8748498.

### ***Terminación del estudio***

Usted entiende que la participación de su canino en el estudio es **VOLUNTARIA**. En cualquier momento usted puede retirar su consentimiento a participar en el estudio, sin que su tratamiento medico posterior se vea afectado. Su médico también podrá detener el estudio por razones médicas u otras razones.

### ***Autorización para uso de las muestras y datos obtenidos en este estudio***

Se le solicita la autorización del propietario del canino participante para que se tomen las muestras necesarias y que los datos o resultados obtenidos en este estudio, puedan ser utilizados en otros estudios y laboratorios, previa Aprobación del Comité de Ética de investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Surcolombiana, para realizar estos estudios.

### ***Aceptación***

Su firma (o huella digital) indica que usted ha decidido participar voluntariamente en este estudio habiendo leído (o escuchado) la información anterior.

	<b>Nombre (letra de imprenta)</b>	<b>Lugar y Fecha (dd/mm/aa)</b>	<b>Firma o huella</b>	<b>Nombre del canino participante</b>
<b>Nombre del propietario o del canino participante C.C</b>				
<b>Testigo 1 C.C.</b>				
<b>Testigo 2 C.C</b>				
<b>Nombre de uno de los investigadores o su delegado</b>				