

## ESTUDIO CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICO Y CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA DE LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA EN LA COMUNIDAD INDIGENA WARAMASEN DE SANTA ELENA DE UAIRÉN, MUNICIPIO GRAN SABANA.

Dra. Olga Zerpa.  
 Dra. Alba Gabriela Quiñones F.  
 Dra. María del Rosario Ruiz.  
 Dra. Noris Rodríguez.  
 Dra. Kelly Lorz.  
 Dra. Dennis Mercado.  
 Dr. Antonio Rondón Lugo.  
 Dr. Jacinto Convit.

Olga Zerpa, Alba Gabriela Quiñones F., María del Rosario Ruiz, Noris Rodríguez, Kelly Lorz., Dennis Mercado, Antonio Rondón Lugo, Jacinto Convit. **Estudio epidemiológico y caracterización taxonómica de Leishmaniasis Tegumentaria Americana en la comunidad indígena Waramasen de Santa Elena de Uairén, Municipio Gran Sabana.** Derm Venez 1998; 36: 113-117

### RESUMEN:

La leishmaniasis tegumentaria americana (LTA) es una enfermedad producida por parásitos del género *Leishmania* los cuales son transmitidos a través de la picadura de un insecto, vector del género *Lutzomyia* y *Phlebotomus* en el Nuevo y el Viejo mundo respectivamente. Esta enfermedad afecta la piel y en algunos casos produce compromiso mucoso de las cavidades buco y nasofaríngeas.

Este trabajo describe un estudio prospectivo realizado durante los meses de Junio a Septiembre de 1998 en la comunidad indígena de Waramasen del municipio Gran Sabana, donde se observaron 13 pacientes con clínica sugestiva de LTA, encontrándose 9 (70%) con Leishmaniasis Cutánea Localizada (LCL) y 4 (30%) con Leishmaniasis Cutáneo Intermedia (LCI), entre ellos 2 (15%) con placas verrugosas y 2 (15%) con Leishmaniasis Cutánea Mucosa (LCM). En el frotis por escarificado se observó *Leishmania* en un 92% de los casos. El 23% (3) de los cultivos resultaron positivos y la identificación taxonómica se realizó por PCR específicos que amplifican ADN del parásito y se determinó que corresponden al género *Leishmania*, especie *L. braziliensis* en el 100% de los casos. Este trabajo operacional demostró por primera vez la especie del parásito circulante en esta comunidad indígena, hecho que debe ser tomado en cuenta para establecer medidas de tratamiento y control epidemiológico.

**Palabras Claves:** Leishmaniasis, Epidemiología, Taxonomía

### ABSTRACT

American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) is a disease produced by parasites of the genus *Leishmania* which are transmitted through the biting of an insect, a vector of the genus *Lutzomyia* and *Phlebotomus* in the New and Old World respectively. This disease attacks the skin and in some cases produces mucous tissue involvement of the oro and nasopharyngeal cavities.

This paper describes a prospective study carried out during the months of June to September 1998 in the Waramasen indigenous community of the Gran Sabana Municipality where 13 patients with clinical aspects suggestive of ACL were seen. Nine (70%) of these patients were found to have Localized Cutaneous Leishmaniasis (LCL) and 4 (30%) had Intermediate Cutaneous Leishmaniasis (ICL), 2 (15%) of them with verrucous plaques and 2 (15%) with Mucous Cutaneous Leishmaniasis (MCL). *Leishmania* were seen in smears taken by scarification in all cases, except in the mucous forms. The histopathological description showed a granuloma due to live agent with presence of *Leishmania* in 92% of cases. Twenty three per cent (3) of the cultures were positive and the taxonomic identification done through specific PCR, which amplifies parasite DNA, determined that they corresponded to the genus *Leishmania*, *L. braziliensis* species in 100% of cases. This operational study showed for the first time the parasite species circulating in this indigenous community, fact that should be taken into account when establishing treatment and epidemiological control measures.

**Key Words:** Leishmaniasis, Epidemiology, Taxonomy.

### INTRODUCCIÓN:

La Leishmaniasis es una enfermedad parasitaria con diferentes manifestaciones

clínicas y epidemiológicas, presentes tanto en el Viejo como el Nuevo Mundo. Es causada al menos por 20 especies del protozoo *Leishmania*, transmitida por la picadura de mosquitos hembras, vectores de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia* en el Viejo y Nuevo Mundo respectivamente. Se conocen cerca de 30 especies de mosqui-

tos que sirven como vectores de esta enfermedad y entre los reservorios se implica el humano, así como animales domésticos y silvestres<sup>1</sup>. La mayoría de las formas son zoonóticas donde el humano es infectado sólo secundariamente, pero en las formas antroponóticas se cree que el humano es el único reservorio<sup>1</sup>. El modo

Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela.  
 Trabajo financiado por el PCEE y Proyecto GV-  
 BM Ven/96/002/016.

de transmisión se logra por la picadura del mosquito hembra infectado con el parásito al huésped susceptible<sup>2</sup>.

En el hombre la enfermedad ocurre al menos en 4 formas mayores: cutánea, di-fusa, mucocutánea y visceral. En el Viejo Mundo las lesiones cutáneas son producidas mayormente por las especies de *Leishmanias mayor* y *trópica*, mientras que las lesiones mucosas han sido reportadas debido a *L donovani*, *L mayor* y *L infantum* en pacientes inmunosuprimidos.

En el Nuevo Mundo tanto la *L mexicana* como *braziliensis* se consideran causante de la forma cutánea y las *L brasiliensis*, reportadas en la forma mucosa<sup>1,3</sup>

La Leishmaniasis es considerada una enfermedad endémica en 88 países de diversos contextos geográficos, con una prevalencia de 12 a 14 millones de enfermos y una incidencia de unos 2 millones de casos nuevos anuales<sup>4</sup>

En Venezuela el número de casos de LTA denunciados para 1997 fue de 1603 con una tasa de 7.0 por 100 mil habitantes. Los estados que mantienen tasas elevadas por cien mil habitantes son: Trujillo (29.6), Sucre (24.6), Lara (24.5), Mérida (22.5) y Yaracuy (17.8), lo que corresponde a un 66% del total de los casos. Para 1998 entre enero y mayo, Lara y Sucre presentaron el más alto porcentaje<sup>5</sup>.

El estado Bolívar apenas alcanzó un porcentaje del 2.4% en el registro nacional del último quinquenio<sup>2</sup>

De la LTA en nuestro país, la forma clínica más frecuente es la LCL con un 99% del total<sup>5</sup>

El municipio Gran Sabana donde se localiza la comunidad en estudio denominada Waramasen, forma parte del Estado Bolívar. Fue creado como un municipio autónomo en 1993 y está ubicado al sureste de este estado. Tiene una extensión territorial de 34.800 Km<sup>2</sup> y su capital es Santa Elena de Uairén, centro urbano, situado a más de 700 Km de Ciudad Bolívar y de 1000 Kms de Caracas.

La población de este municipio está compuesta, principalmente, por criollos e

indígenas de origen Pemón, además posee una población flotante atraída por la actividad minera.

La comunidad de Waramasen está ubicada en la base de un Tepuy al sur-este de Venezuela, a 35 Km de Santa Elena de Uairén y conformada por áreas de sabanas y bosques, tanto húmedos como tropicales. Sus viviendas son de tipo churuata y maloca propios de esta área rural. Esta comunidad se abastece de agua del río, no tiene sistemas de eliminación de excretas, y los servicios tanto escolares como médicos sanitarios son deficientes. Entre Las enfermedades endémicas que afectan está comunidad se encuentran la LCA, así como Malaria y Tuberculosis<sup>6</sup>.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

### • Diagnóstico e Identificación del parásito:

Se realizó un estudio prospectivo en el periodo comprendido entre Mayo-Septiembre de 1998 en la comunidad indígena de Waramasen en el municipio Gran Sabana donde se evaluaron 13 pacientes con clínica sugestiva de LTA. A cada paciente se le realizó una historia clínica detallada, según formato del Instituto de Biomedicina con antecedentes epidemiológicos, examen físico de piel y ORL, pruebas intradérmicas utilizando promastigotes muertos por calor, preparados en este instituto. También, biopsia de piel y mucosa de donde se obtuvo; frotis por aposición y escarificado, ambos coloreados con Giemsa, cultivos sembrados en medio base agar sangre, estudio histopatológico con tinción de hematoxilina-eosina y reacción en cadena de la polimerasa (PCR), donde la biopsia se coloca en un tubo ependorff, el cual contiene 50 ul de buffer TE (10mM tris pH 8,10 mM EDTA) y se calienta a 56° C durante 1 hora en presencia de 5 ug/ul de proteinasa K. Después de calentar, el ADN es obtenido por extracción con una mezcla de fenol/cloroformo. Para la PCR, se utilizan 5 ul del ADN extraído en una mezcla de reacción que contiene 200ng de cada primer; 5 ul 2mM dNTP; 2,5 ul de

buffer 10x (500mM KCL, 100mM Tris-HCL, pH 8, 0,1% gelatina, 2mM MgCl<sub>2</sub>); 2,5 U de Taq polimerasa y 10 ul de agua.

La mezcla de reacción es sometida a 35 ciclos de amplificación en un termociclador (Perkin Elmer). Cada ciclo consiste de 1 minuto a 95°C para denaturar el ADN, 1 minuto a 60°C para alinear los primer y un minuto a 72°C para la extensión del fragmento específico de ADN. El producto obtenido es visualizado en un gel de agarosa al 1% en buffer TBE (90mM Tris, 89mM ácido bórico, 2,5 mM EDTA, pH 8, 3).

### • Identificación de Vectores:

Se colocaron trampas CDC intradomiciliarias para la captura de vectores durante tres noches en el mes de Agosto.

### • Registro epidemiológico:

Se elaboró un formulario con el cual se tomaron en cuenta Las siguientes variables:

Raza, edad, sexo tipo de lesión, localización, número, tamaño.

Se consideró la dinámica ecológica del lugar y se realiza un estudio descriptivo de las variables anteriores.

Todos estos estudios fueron conducidos en el Instituto de Biomedicina de la Universidad Central de Venezuela

## RESULTADOS:

### • Diagnóstico clínico, inmunológico y parasitológico;

Se examinó un total de 13 pacientes con clínica sugestiva de LTA, procedentes de la comunidad de Waramasen, de los cuales presentaban 9 LCL ( 70%), 4 LCI (30%) entre ellos 2 (15%) con placas verrugosas y 2 (15%) con LCM.

La intradermoreacción sólo pudo ser leída en tres pacientes, ya que los otros no acudieron a la lectura en 48 horas, en estos pacientes la leishmanina resultó positiva.

Los frotis por escarificado resultaron

positivos en un 92%, y solo 1 caso resultó negativo, este caso correspondía a LMC.(gráfico 1).

El 77% de los cultivos resultó negativo y tan solo 23% fue positivo. (gráfico 2).

Los resultados de Bx. reportaron granuloma por agente vivo con presencia de *Leishmania* en un 92% de los casos mientras que el PCR fue positivo en un 100% para *L. braziliensis*.

• **Distribución de la enfermedad:**

En relación al sexo se distribuyó en un 69% en el sexo masculino y en un 31 % en el femenino. Con respecto a la edad 6 pacientes (46%) presentaban una edad menor de 15 años y 7 (54%), mayor a los 15 años con un promedio de 19 años.

• **Distribución clínica:**

En relación a las formas clínicas predominó la LCL en 9 pacientes (70%), de estos la mayoría presentó múltiples úlceras 7(54%) y 2 (15%) tenían trayecto linfático (forma esporotricoides). El resto correspondían a las formas clínicas de la LCI. ( gráfico 3 ).

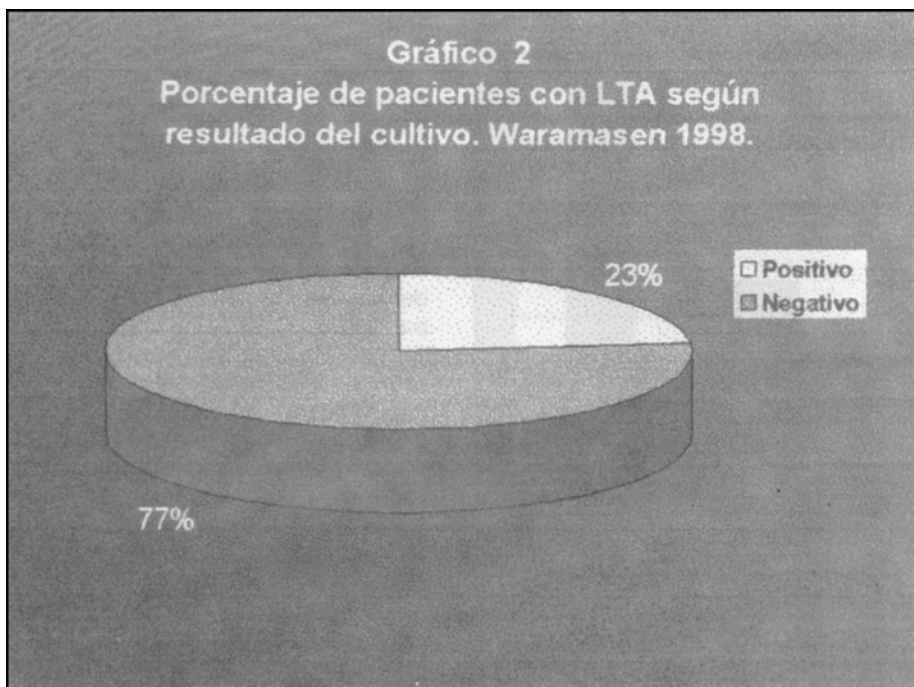
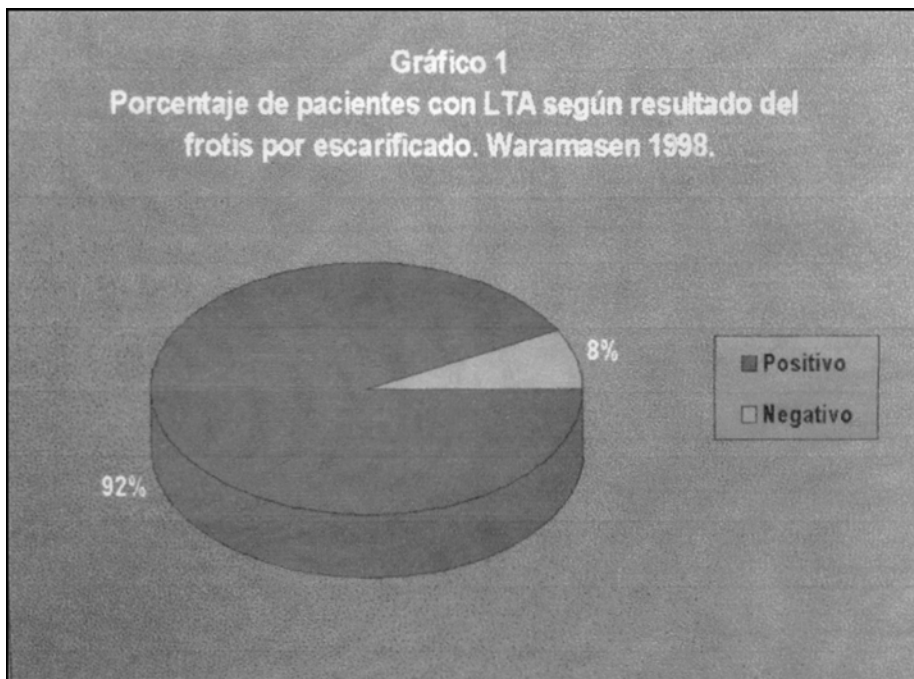
La localización de las lesiones, en orden de frecuencia, fueron la extremidades (61 %), extremidades y tórax (15%), extremidades y mucosa nasal (8%), tórax (8%) y mucosa nasal (8%). ( gráfico 4 ).

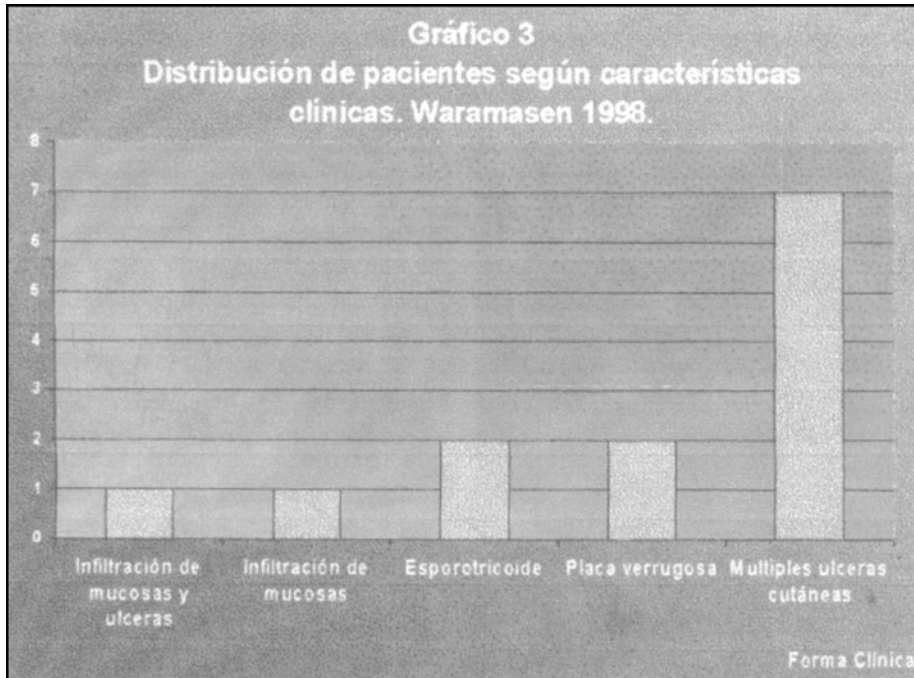
Durante los tres días que se colocaron las trampas CDC no hubo captura de vectores.

**DISCUSIÓN**

La LTA es una enfermedad endémica que se encuentra circunscrita a áreas rurales: zonas boscosas, selváticas y áreas de actividad agrícola. Esto representa una dinámica ecológica y económica que permite la persistencia de los agentes etiológicos; características que se observan en la comunidad de Waramasen, principalmente en nuestro estudio, donde los pacientes se dedican a labores agrícolas, independientemente del sexo y la edad.

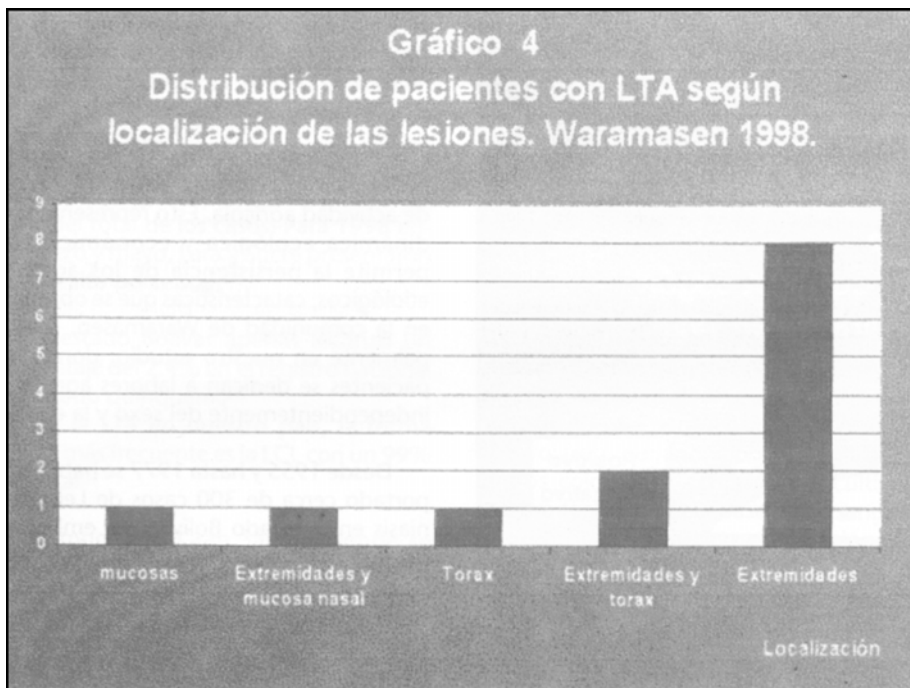
Desde 1955 y hasta 1977 se habían reportado cerca de 300 casos de Leishmaniasis en el estado Bolívar; sin embargo, no se conocía el vector ni la identidad de la *Leishmania*. Feliciangeli y col.<sup>7</sup> por medio de la captura de vectores en trampas de Shanon, demuestran, por primera vez, la presencia de la *Lutzomyia umbratilis* en Venezuela. Wijers y Linger<sup>8</sup> en 1966 observaron promastigotes en "*L. anduzi*" = *L. umbratilis* en Surinam y 10 años después Lainson y col.<sup>9</sup> lo reportan en el norte de Brasil. Estos hallazgos permitieron comprobar el papel de la *L. umbratilis* como vector principal de la *L.*





enfermedad. En un polo la LCL que representa el 90-99% de los pacientes, siendo ésta relativamente benigna con lesiones generalmente localizadas tipo úlcera o placas únicas o múltiples, que en ocasiones pueden presentar lesiones satélites o adenopatías, producida por *Leishmania* de los sub-géneros *Leishmania* y *Viannia*<sup>4</sup>. En el otro polo la Leishmaniasis cutánea difusa (LCD) con una frecuencia menor del 1% y considerada como una seria y progresiva forma de la enfermedad, caracterizada por lesiones generalmente múltiples, nodulares o tipo placas infiltradas, sin manifestaciones de inmunidad protectora y causada por *L. mexicana*; forma clínica que no se evidenció en nuestro estudio.<sup>2,10</sup>

Observamos que dentro de la LCL, la mayoría de los pacientes presentaron lesiones múltiples tipo úlcera y 2 pacientes la forma esporotricoides caracterizada por seguir un trayecto linfático lineal. Dato que es importante, ya que algunos autores señalan a *L. braziliensis* como agente involucrado en la invasión temprana del sistema linfático.<sup>11,12</sup>



La forma intermedia (LCI) del espectro está representada por las formas mucocutáneas (1-2%) y verrugosa. La LCI se manifiesta con placas o lesiones proliferativas de apariencia verrugosa o vegetante, que tienden a recidivar y a cronificarse con frecuencia. La LMC son lesiones en la mucosa del tracto respiratorio superior que se presentan meses o años después de lesiones de LCL que han respondido bien al tratamiento o se han curado espontáneamente, causadas por *L. braziliensis*. La LCI se presentó en un 30% de nuestros casos, 15% correspondían a pacientes que presentaban placas verrugosas múltiples y otro 15% a LCM; proporción elevada en relación a los reportes de la literatura<sup>10,13</sup>

*braziliensis guyenensis* y sugerir entonces que dicha zoonosis se extendía a las zonas antes mencionada. La ausencia de vectores en la fecha de nuestro estudio probablemente se deba a la baja densidad poblacional en esta época del año.

Nuestros resultados evidencian que la forma clínica mas frecuente es la LCL (70%) como ha sido descrito por Convit y col<sup>10</sup> al definir el espectro clínico e inmunológico de la LTA en dos formas polares de la

Tanto la respuesta inmune del huésped como las diferentes especies de *Leishmania* juegan un papel importante en la aparición de las diferentes manifestaciones clínicas<sup>13,14</sup> considerándose en forma global a los sub-géneros *Leishmania* y *Viannia* como productoras de LTA<sup>(^)</sup>.

En cuanto a la distribución etaria de la

enfermedad, encontramos que se distribuyó en toda las edades comprendida entre 8 y 40 años con predominio en el sexo masculino, y esto se correlaciona con estudios anteriores<sup>2,13</sup>.

El PCR es un método eficaz, con un alto grado de sensibilidad y especificidad, para establecer el diagnóstico de LTA, que comparado con los métodos convencionales de diagnóstico, detecta la presencia de *Leishmania* en el 98% de los casos, siendo principalmente útil en aquellos casos con escasos parásitos. Además no requiere esterilidad de la muestra y permite detectar no sólo la presencia del parásito sino también la especie o subespecie del mismo.

Cuando las lesiones son cutáneas de larga evolución o mucocutáneas, es difícil establecer el diagnóstico, ya que en ésta última, el área dificulta la realización de la biopsia y generalmente contiene pocos parásitos, por lo que el PCR en estos casos es de gran utilidad tanto para el diagnóstico como para determinar la especie del parásito<sup>15</sup>, lo que pudimos corroborar en nuestro trabajo donde los frotis por escarificado mostraron positividad en un 92%, en la lesión de mucosa nasal, los cultivos fueron positivos en apenas un 23% y en la Bx. de mucosa nasal no se observaron *Leishmania*. Nuestros datos dan soporte y credibilidad al estudio de PCR porque permitió confirmar la sospecha de LTA, en especial los casos de LCI como la LCM, y sobretodo, permitió determinar en

nuestro estudio, la especie *L. braziliensis* como agente causal de la LTA.

Los pacientes recibieron tratamiento combinado de Inmunoterapia (BCG+ Promastigotes) y Antimonio de Meglumine ( Glucantime®).

Estos resultados permiten alertar y establecer medidas epidemiológicas de control y tratamiento en esta comunidad indígena e igualmente, continuar las investigaciones para determinar si la causa de las graves presentaciones de LTA en esta zona, se deba a un factor intrínseco de la etnia o al propio parásito<sup>16</sup>.

#### BIBLIOGRAFIA.

1. Desjeux P. Leishmaniasis Public health aspects and control. Clinics in Dermatology. 1996; 14 (5): 417-423.
2. D'Suze C, Garcia C, Epidemiología de la Leishmaniasis. Derm Venez.1993; 31:4-11.
3. Weigle K, Gore N. Natural history, clinical evolution and the host- parasite interaction in new world cutaneous leishmaniasis. Clinics in dermatology, 1996;14:425-431 .
4. Alvar Esquerria JP. Impacto Epidemiológico en Las Leishmaniasis: De La Biología al Control. Prevención y control de las zoonosis. Junta de C:astilla y León.1997:1 3-31 .
5. Memoria y cuenta sobre la situación de la Leishmaniasis Cutánea en Venezuela 1997-1998. Presentado del Instituto de Biomedicina al Banco Mundial.
6. Proyecto para el control de las enfermedades endémicas en la población "Pemón" y del

municipio Gran Sabana. Archivo del proyecto de control de enfermedades endémicas. Instituto de Biomedicina. 1998.

7. Feliciangeli D, Ramirez PT, Ramirez A. First Venezuelan record of *Lutzomyia umbratilis* Ward & Fraiha (Diptera: Psychodidae), a proven vector of *Leishmania brasiliensis guyanensis*. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 1985;79 :878.
8. Wijers DJB, Linger R. Man-biting sandflies in Surinam (Dutch Guiana): *Phlebotomus anduzei* as a possible vector of *Leishmania braziliensis*. Ann Trop Med Parasitol.1966; 60:501-508.
9. Lainson R, Ward RD, Shaw JJ. Cutaneous Leishmaniasis in North Brazil. *Lutzomyia anduzei* as a major vector. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 1976;70: 171-172.
10. Convit J, Leishmaniasis: Immunological and clinical aspects and vaccines in Venezuela. Clinics in dermatology. 1996; 14:479-488.
11. Barral A, Barral Netto M, Almelda R et al. Lymphadenopathy associated with *Leishmania braziliensis* cutaneous infection. Am J Trop Med Hyg. 1992; 47: 587-592.
12. Rojas MT, Quiñones AG, Rondón Lugo AJ y col. Leishmaniasis Tegumentaria Americana en niños. Dermatol Venez. 1997;35:142-145.
13. Rondón Lugo AJ, Reyes O, Ulrich M y col. Leishmaniasis Cutanea Mucosa. Dermatol Venez.1995;23:11-24
14. Rondón Lugo AI. Leishmaniasis Tegumentaria Americana. Dermatol Venez.1993; 31:12-1 7.
15. Rodríguez N, Guzman B, Rodas A et al. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis and species discrimination of parasites by PCR and Hybridization. J Clin Microbiol 1994; 32: 2246-225.
16. Jones TC, Johnson WD, Barretto AC et al. Epidemiology of American Cutaneous Leishmaniasis Due to *Leishmania braziliensis braziliensis*. J Infect Dis. 1987; 156:73-83.