

EVALUACION DE LA SENSIBILIDAD DE 5 METODOS DIAGNOSTICOS DE LA LEISHMANIASIS CUTANEA

Armijos, R.X. (*); Racines, J.R. (*); Izurieta, R.O.

RESUMEN

En el presente trabajo se compara cinco diferentes métodos diagnósticos y la efectividad del tratamiento, en un estudio con 49 pacientes, a los que luego del diagnóstico clínico de la (s) lesión (es), se realizó Raspado y/o Frotis, Prueba Cutánea de Montenegro (PCM), Cultivo, Biopsia e Inmunofluorescencia Indirecta (IFA). La sensibilidad de las pruebas, son confrontadas con el diagnóstico clínico y la remisión de las lesiones en un 100 o/o posterior al tratamiento empleado (Glucantim y Pentostan), a dosis convencionales.

Los resultados en cuanto a porcentajes de positividad son para el Raspado y/o Frotis 42,86 o/o, Cultivo 67,35 o/o, Prueba Cutánea de Montenegro 97,96 o/o, Biopsia 55,10 o/o e IFA 67,35 o/o, lo que estadísticamente nos demuestra una alta sensibilidad para la Prueba Cutánea de Montenegro.

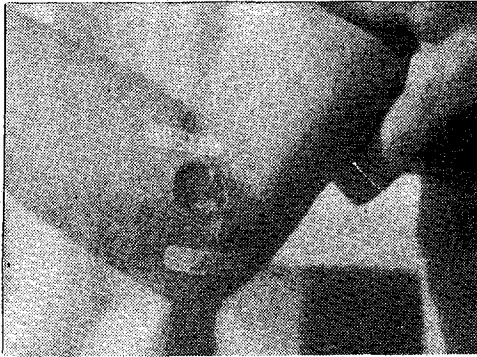
Introducción

La Leishmaniasis cutánea es una enfermedad de amplia distribución mundial en la mayoría de áreas tropicales y subtropicales, con una gran variedad de manifestaciones clínicas, que va desde las formas localizadas que

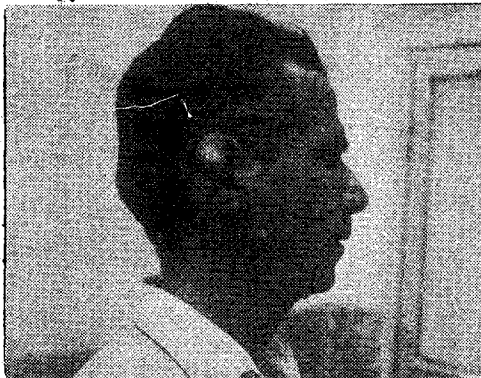
en ocasiones remite espontáneamente, hasta las formas diseminadas incurables, pasando por las formas viscerales y mucocutáneas, lo que se asocia con las diversas especies y subespecies del parásito descritos (1,3). La enfermedad se desencadena por la inoculación de promastigotes de *Leishmania*, luego de la picadura del vector, un flebótomo del género *Lutzomyia* (1, 2, 3). En nuestro país el primer caso de Leishmaniasis cutánea fue descrito en el año de 1920 por Alfredo Valenzuela, desde aquella época hasta el momento ha sido cada vez mayor el número de casos pre-

Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central del Ecuador.

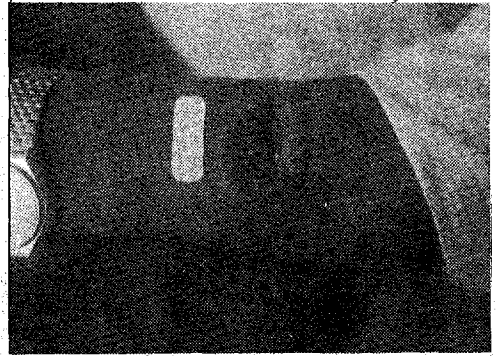
* Postgrado de Ciencias Básicas Biomédicas, de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central del Ecuador.



sentes, fundamentalmente de la forma cutánea localizada y mucocutánea, con una frecuencia de presentación diversa dependiendo del área geográfica; recientemente se ha descrito Leishmaniasis cutánea en dos valles andinos del país (4). Al momento la Leishmaniasis ha tomado gran importancia epidemiológica observándose una mayor incidencia pese a existir un subregistro estadístico; así tenemos que los reportes del Ministerio de Salud Pública para 1980 se registran 104 casos, mientras que para 1990 se reportan 3611 casos.



En la Leishmaniasis cutánea y mucocutánea, dependiendo de muchos factores como es la subespecie del parásito, tiempo de evolución de la lesión entre otras, la localización del parásito con fines diagnósticos por métodos como el raspado o la biopsia pierden su sensibilidad. Es por ello que el objetivo en el presente trabajo, es la utilización de métodos diagnósticos alternativos y nuevos en el país, que nos proporcionen una mayor sensibili-



dad dentro del diagnóstico de esta patología (cultivo, PCM, IFA), al confrontarlos con los métodos tradicionalmente utilizados en nuestro medio (Raspado, Histopatológico).

Metodología

En el presente estudio se tomaron 49 pacientes de ambos sexos (30 hombres y 19 mujeres), Tabl. No. 1, referidos a partir de diferentes instituciones y centros asistenciales del país, a la Unidad de Inmunología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central del Ecuador; la evolución de la (s) lesión (es) se las agrupó en base al tiempo de apareamiento en tres grupos (ver tabl. No. 2). El criterio de inclusión fue la presencia de una a tres lesiones con una evolución no mayor a 18 meses; a todo el grupo se le realizó Raspado y/o Frotis, Prueba Cutánea de Montenegro, Cultivo, Biopsia e Inmunofluorescencia Indirecta en suero.

TABLA No. 1

EVALUACION DE LA SENSIBILIDAD METODOS DIAGNOSTICOS DE LA LEISHMANIASIS CUTANEA

HOMBRES	30
MUJERES	19
TOTAL PACIENTES	49

TABLA No. 2
EVALUACION DE SENSIBILIDADES METODOS DIAGNOSTICOS DE LA
LEISHMANIASIS CUTANEA

TIEMPO DE EVOLUCION		
EVOLUCION	No. PACIENTES	o/o
MENORES 6 MESES	41	83,68
6 MESES - 1 AÑO	3	6,12
MAS DE UN AÑO	5	10,20

Luego del diagnóstico clínico, se procedió a: Raspado: previa limpieza de la (s) lesión (es), con una hoja del bisturí No. 22 se realiza un raspado del borde de la misma, evitando el sangrado, la muestra obtenida se aplica sobre un portaobjetos, se colorea con Giemsa y se lee al microscopio en busca de amastigotes, con una ampliación de 100x. (1)

Aspirado: Con una jeringuilla de plástico estéril de 10cc con aguja No. 21G 1/2 (Weplast C.A.) conteniendo 3 cc de buffer fosfato salino (PBS) a un pH de 7,2, se procedió al aspirado del borde de la lesión y se cultivó en medio NNN (1, 6, 19), con controles diarios del cultivo durante un mes, en busca de la presencia de promastigotes (12).



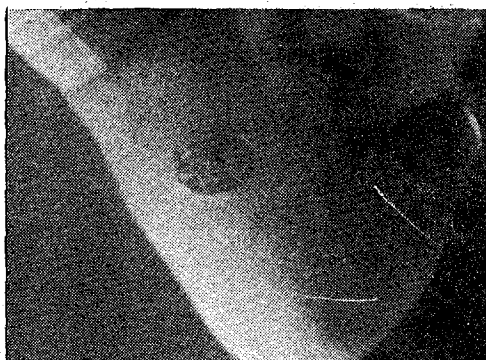
Biopsia: Previa inyección de xilocaína, con un punch de 4 mm se toma tejido del borde de la úlcera, se fijó en formalina al 10 o/o y se trató con parafina, se cortó con microtomo, las secciones fueron teñidas con

Giemsa y examinadas en el microscopio de luz en busca de amastigotes.

Prueba Cutánea de Montenegro: Para la PCM se utilizaron promastigotes de las cepas *L. brasiliensis* WR871 y *L. amazonensis* WR912 (2). Se inoculó por vía intradérmica con una jeringuilla de tuberculina 0,1 ml de una suspensión de 50 millones de promastigotes por ml, fijados en una solución salina-fenol al 0,5 o/o. La lectura de la prueba se realizó a las 48 horas, siendo positiva una reacción mayor a 5 mm de diámetro (5, 7, 8, 9).

Inmunofluorescencia Indirecta: A todos los pacientes en estudio se procedió a realizar una toma de sangre venosa de 5cc, la obtención de suero y almacenamiento en congelación a 20 grados centígrados hasta el momento de la realización de la IFA (test de Bray, 1976 y Hedge et al, 1978) (5, 9, 10, 11, 17, 18); las placas fueron preparadas en el Laboratorio de Inmunología con la cepa *L. amazonensis* WR912 (2).





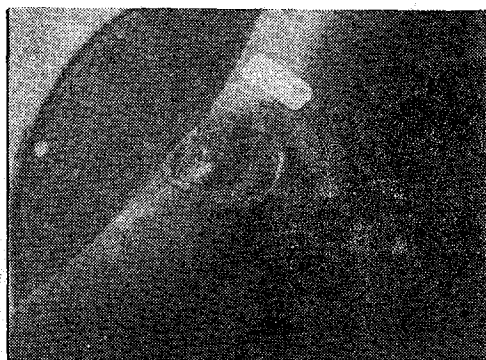
Resultados

Luego de realizadas las pruebas diagnósticas se obtuvieron los siguientes resultados (ver tabl. No. 3).

A todos los pacientes luego del diagnóstico clínico de la (s) lesión (es), se le administró antimoniales pentavalentes (Glucantim y Pentostan) a dosis de 20 mg/kg de peso/día por 20 días remitiendo la (s) lesión (es) hasta luego de un mes del tratamiento en todos los casos.

De los métodos de visualización del parásito, el cultivo es el método más sensible, de 49 pacientes positivos al diagnóstico clínico y terapéutico, 33 fueron positivos (sensibilidad de 67,35 o/o). Si se toma como criterio de positividad el cultivo y/o el raspado, la sensibilidad se incrementa al 75 o/o.

La intradermoreacción P.C.M. fue positiva en 48 pacientes (con una sensibilidad del



97,96 o/o frente a los 49 casos positivos por diagnóstico clínico y terapéutico. De igual forma de 48 pacientes positivos a la PCM, en 37 pacientes se identificó al parásito por frotis y/o cultivo (77 o/o); en un paciente con PCM negativa, se aisló el parásito por cultivo. Un cultivo presentó contaminación bacteriana.

La IFA es positiva en el suero de 33 pacientes (sensibilidad del 67,35 o/o). Ver tabl. No. 3.



TABLA No. 3
EVALUACION DE SENSIBILIDADES METODOS DIAGNOSTICOS DE LA LEISHMANIASIS CUTANEA

	PRUEBAS	o/o	PRUEBAS — o/o
RASPADO	21	(42,86)	28 (57,14)
CULTIVO	33	(67,35)	15 (30,61) — 1 Contaminado
MONTENEGRO	48	(97,96)	1 (2,04)
BIOPSIA	27	(55,10)	22 (44,90)
IFA	33	(67,35)	16 (32,65)



Discusión

La limitada sensibilidad que ha presentado en forma individual el Raspado (42,86 o/o) y el examen Histopatológico (55,10 o/o), pruebas que tradicionalmente se han utilizado para el diagnóstico de la Leishmaniasis, se ven superadas por el cultivo (67,35 o/o). Si a este último se combina con el raspado, la sensibilidad se incrementa al 75 o/o. Se debe recordar que estos dos últimos métodos son menos cruentos, de más fácil ejecución, con menor infraestructura y de menor costo, en comparación a lo que implica la realización del examen histopatológico.*

La PCM es la que presenta una alta sensibilidad (97,96 o/o), aunque estudios epidemiológicos y clínicos, han demostrado su positividad en pacientes que han presentado la enfermedad o en sujetos residentes en áreas

endémicas de leishmania que nunca han presentado formas clínicas de leishmaniasis, de todas maneras no deja de ser una prueba útil para el diagnóstico de esta enfermedad por su fácil ejecución e interpretación, que incluso puede ser realizada en áreas rurales y por personal paramédico.

La IFA que tradicionalmente se le ha considerado una prueba de poca utilidad en la Leishmaniasis cutánea, nosotros hemos logrado obtener títulos significativamente altos en pacientes con leishmaniasis cutánea frente a testigos negativos, aunque creemos que no sería una prueba confirmativa, es un importante auxiliar para el diagnóstico de la Leishmaniasis fundamentalmente en aquellas ocasiones en que no se puede visualizar el parásito por el raspado, cultivo o histopatológico y que junto con criterios clínicos y la PCM nos ayuda a definir como un cuadro de leishmaniasis cutánea.

ABSTRACT

We have compared five different diagnostic methods and the efficacy of treatment in a group of 49 patients. After the clinical diagnosis of the lesion/s, we performed direct smears, Montenegro's skin test, culture, biopsy and indirect immunofluorescence. The sensitivity of the diagnostic test were compared to the clinical diagnosis and the effect of treatment (total remission) using Glucantim and Pentostan at usual doses.

The percentage positivity are as follows: 42 for direct smear, 67 for culture, 97 for Montenegro's skin test, 55 for biopsy and 67 for IFA. We conclude that the Montenegro's skin test have a statistically significant high sensitivity.

Bibliografía

1. OMS, Lucha contra la Leishmaniasis, Ginebra 1990: 15-75.
2. Armijos, R., et al. Human cutaneous leishmaniasis in Ecuador: identification of parasites by enzyme electrophoresis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 42 (5), 1990, pp 424-428 (89-119).
3. León, L. Formas clínicas de la Leishmaniasis tegumentaria americana. *Pren, Med. Arg.* 1975, 62:73.
4. Hashiguchi, Y., et al. Andean leishmaniasis in Ecuador caused by infection with *Leishmania mexicana* and *L. mayor*-like parasites. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 44(2), 1991, pp 205-217 (90-165).
5. Kristen, W., et al. Diagnosis of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in Colombia: a comparison of seven methods. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 36 (3), 1987, pp 489-496.
6. Mayses, S., and Brodskyn, C. A new liquid medium without blood and serum for culture of hemoflagellates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 35 (5), 1986, pp 942-944.
7. Restrepo, M. La reacción de Montenegro en la epidemiología de la Leishmaniasis sudamericana. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 1980, 89 (2).
8. Melo, M., et al. Padronizacao do antígeno de montenegro. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 1977, maio-junho, 19 (3): 161-164.
9. Bray, R. Leishmaniasis. Immunological investigation of tropical parasitic diseases. Ed. Churchill Livingstone, 1980, pp 65-74.
10. Badaró, R., et al. Immunofluorescent antibody test in american visceral leishmaniasis: sensitivity and specificity of different morphological forms of two leishmania species. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 32 (3), 1983, pp 480-484.
11. Latif, B., Al-shenawi, Al-alousi, T. The indirect fluorescent antibody test for diagnosis of kala-azar infection in Iraq. *Annals of tropical Medicine and Parasitology*, 1979, Vol. 73, No. 1.
12. Anthony, R., et al. Rapid detection of leishmania amastigotes in fluid aspirates and biopsies of human tissues. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 37 (2), 1987, pp 271-276.
13. Pappas, G., et al. Evaluation of promastigotes and amastigotes antigens in the indirect fluorescent antibody test for American cutaneous leishmaniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1983, 32:1260-1267.
14. Walton, B.C., Brooks, W.H., and Aronja, I., Serodiagnosis of American cutaneous leishmaniasis antibody test. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1972, 21:296-299.
15. Biagi, F., Tay, J., and Murray, R. La reacción de inmunofluorescencia en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.*, 1964, 57:234-240.
16. Camargo, M.E., Fluorescent antibody test for serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 1966, 8:227-234.
17. Behrofoz, N., Rezai, H., and Geltner, S. Application of immunofluorescence to detection of antibody in *Leishmania* infection. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1976, 70:293-301.
18. Shaw, J. and Laison, R., A simply prepared amastigotes *Leishmania* antigen for use in the indirect fluorescent antibody test for Leishmaniasis. *J. Parasitol.*, 1977, 63:384-385.
19. Marin, F., De Lomas, J., and García-Penarubia, P. Mass cultivation of leishmania. *Ann. Soc. Bel. Med. Trop.*, 1982, 62:169-171. 385.