



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

ESCUELA DE TECNOLOGIA MÉDICA

**ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLOGICO**

**TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TITULO DE LICENCIADA EN LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLOGICO**

TEMA:

**“UTILIZACION DE LA COLORACION GIEMSA COBALTO EN RASPADO
DE LESIONES COMO AYUDA DE DIAGNOSTICO DE LESHMANIASIS,
DE LOS PACIENTES ATENDIDOS EN EL INSTITUTO IZQUIETA PEREZ
DE ESMERALDAS, EN EL PERIONO COMPRENDIDO OCTUBRE –
DICIEMBRE DEL 2009**

AUTOR: Campo Morales María Elena

TUTOR: Lic. Mercedes Balladares

RIOBAMBA – ECUADOR

2009 – 2010



ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, hago constar que ha leído el proyecto de Grado Presentado por la Sra. María Elena Campo Morales para optar al título de Licenciada en Laboratorio Clínico e Histopatológico, y que acepto asesorar a la estudiante en calidad de tutor, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba _____

.....
Lic. Mercedes Balladares
TUTORA



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA DE TECNOLOGIA MÉDICA
ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLINICO E
HISTOPATOLOGICO**

TEMA: “ Utilización de coloración de Giemsa Cobalto en raspado de lesiones como ayuda de diagnóstico de Leishmaniasis, de los pacientes atendidos en el Instituto Izquieta Pérez de Esmeraldas en el periodo comprendido Octubre – Diciembre del 2009”

Tesis de Grado previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico e Histopatológico.

APROBADO Y CALIFICADO POR LO MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Nota:

Lic. Mercedes Balladares

FIRMA

Lic. Elena Brito

FIRMA

Dr. Mario Reinoso

FIRMA

DERECHO DE AUTORÍA

Yo. Ma Elena Campo Morales soy responsable
De todo el contenido de este trabajo
investigativo, los derechos de autoría pertenecen
a la Universidad Nacional de Chimborazo.

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme vida, salud y sabiduría para seguir alcanzando mis metas más anheladas, a mi Mamá Elena Campo que es mi gran orgullo y ejemplo, a mis Abuelos por siempre estar a mi lado dándome valor y apoyo.

DEDICATORIA

A mis Hijos Ariana Valentina y José Raúl, a mi familia y todas las personas que estuvieron siempre a mi lado brindándome su apoyo incondicional.

RESUMEN

La Leishmaniasis es una enfermedad zoonótica causada por diferentes especies de protozoos del género *Leishmania*. Esta enfermedad es transmitida por la picadura de un insecto díptero del género *Lutzomyia*, *Psychodidae*, causando varias formas de la enfermedad, van desde úlceras cutáneas (*Leishmania Cutánea*), en aéreas superiores se observan típicamente en la nariz (*Leishmania Mucocutanea*), se presenta inflamación severa del hígado y del bazo (*Leishmania Visceral*). El vector es la *Lutzomyia*, este insecto habita en las zonas tropicales, siendo los seres humanos intrusos exponiéndose a sus picaduras. Para obtener una ayuda de diagnóstico de la enfermedad, el Paciente debe ir al laboratorio y descubrir la presencia de amastigote por medio de la coloración Giemsa Cobalto que tiene un rango de 45% de sensibilidad, la cual nos permite observar las características morfológicas y ayuda al paciente a un pre diagnóstico para evitar el avance y complicaciones en la enfermedad, si el paciente no es tratado a tiempo, este parásito hará grandes ulceraciones fatales, ya que no provocan dolor, hay pluri y aparecen las lesiones de 2 a 3 años y por un descuido el paciente puede perder parte su rostro, de su cuerpo y por ende su vida. En esta presente investigación se utilizó el método Inductivo, Analítico, Correlacionar y Explicativo. La aplicación del método inductivo nos permite estudiar al problema de manera particular para posteriormente diseñar conclusiones generales; por su parte el método analítico nos ayuda a revisar y analizar ordenadamente las particularidades del problema al estudiar; y el correlacionar porque estudia la relación existente entre variables; y el explicativo porque explica las causas y consecuencias de fenómeno al investigar. En esta investigación encontramos resultados de gran importancia ya que con ellos se puede ayudar a personas de bajos recursos económicos tanto en la información como en pruebas de diagnóstico, evitando el avance de la enfermedad y por ende mejorar su salud.

SUMMARY

The Leishmaniasis is a zoonotic disease caused by different species of protozoa gender Leishmania. This disease is transmitted by the bite of an insect díptero of gender lutzomya, Psychodidae, causing various forms of the disease, ranging from skin ulcers (Leishmania Skin) , in air higher to observe typically in the nose (Leishmania Mucocutanea), presents severe inflammation of the liver and spleen (Leishmania Visceral). The vector is the Lutzomya, this insect inhabits tropical areas, remain human beings intruders exposing them to their bites. To obtain an aid of diagnosis of the disease, the patient must go to the laboratory and discover the presence of amastigote through the color Stain Cobalt which has a range of 45 per cent of sensitivity, which allows us to observe the morphological characteristics and helps the patient to a pre diagnostics to avoid the progress and complications in the disease, if the patient is not treated in time, the parasite will go to great ulcerations fatale, since it does not cause pain, there are itching and appear the injuries from 2 to 3 years and by a neglect the patient may lose part his face, his body, and therefore his life. In this research will use the inductive method, Analytical, Correlate and Explanatory. The application of inductive method allows us to study the problem of a particular way for subsequently designing general conclusions; for its part the analytical method will help us to review and analyze neatly the peculiarities of the problem to the study; and the correlate because explores the relationship between variables; and the explanatory because it explains the causes and consequences of phenomenon to investigate. In this investigation are results of great importance since it with them can help people with low economic resources both in the information as evidence of diagnosis, avoiding the progression of disease and thus improve their health.

INDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN 1

CAPÍTULO I

1.	Marco referencial.....	2
1.1	Planteamiento del problema.....	2
1.2	Formulación del problema.....	4
1.3	Objetivo.....	4
1.3.1	Objetivo general.....	5
1.3.2	Objetivos específicos.....	6
1.4.	Justificación.....	5

CAPÍTULO II

2.	MARCO TEÓRICO.....	6
2.1	Posicionamiento Personal.....	6
2.2	Fundamentación teórica.....	6
2.2.1.	Protozoarios.....	7
2.2.2.	La Leishmania.....	9
2.2.2.1	Leishmaniasis.....	10
2.2.2.2.	Agente etiológico.....	10
2.2.2.3.	Morfología y Fisiología.....	10
2.2.2.4.	Ciclo biológico de la Leishmania.....	12
2.2.2.5.	Factores de Riesgo para la transmisión de Leishmania.....	15
2.2.3.	El ciclo biológico del vector.....	16
2.2.3.1.	La lutzomya.....	16
2.2.3.2.	Díptero.....	17
2.2.3.3.	Importancia médica de Lutzomya.....	17
2.2.3.4.	Mamíferos reservorios Ecuatorianos.....	18

2.2.4	Tipos de Leishmaniasis.....	18
2.2.4.1	Leishmania cutánea.....	19
2.2.4.2	Leishmania mucocutanea.....	23
2.2.4.3	Leishmania visceral.....	26
2.2.5	Diagnóstico de Leishmaniasis.....	27
2.2.5.1	Antecedentes epidemiológicos.....	28
2.2.5.2	Cuadro clínico.....	28
2.2.5.3	Exámenes de laboratorio.....	28
2.2.6	Signos y síntomas.....	37
2.2.7	Tratamiento.....	38
2.3	Definición de términos básicos.....	41
2.4	Hipótesis y variables.....	44
2.4.1	Hipótesis.....	44
2.4.2	Variables.....	44
2.5	Operacionalización de variables.....	44

CAPITULO III

3.	Marco metodológico.....	45
3.1	Método.....	45
3.2	Población y muestra.....	46
3.3	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	46
3.4	Técnicas para el análisis e interpretación de resultados.....	46
TABLA DE DATOS ESTADÍSTICOS.....		47

CAPITULO IV

4.	Conclusiones y recomendaciones.....	53
4.1	Conclusiones.....	53
4.2	Recomendaciones.....	54

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

INTRODUCCIÓN

La Leishmaníasis es una enfermedad endémica, transmitida por lutzomya, habita en zonas tropicales, subtropicales y es de gran preocupación para los habitantes de esta zona ya que al pasar de los años la población crece y se introduce al habita del vector lutzomya.

Por el cual este tema es de gran importancia, para dar a conocer los factores de riesgo de la y lo necesario que es evitar la propagación de la enfermedad por medio de un pre diagnostico en el laboratorio.

La tesis con el tema la utilización de la coloración de Giemsa Cobalto como ayuda de diagnostico de Leishmaníasis proporciona una información adecuada y es actualizado por el SNEM – Esmeraldas.

El planteamiento del problema descrito de manera detallada, la situación del problema, objeto o fenómeno de estudio, que por medio de la técnica utilizada in vitro, obtener un buen resultado de ayuda de diagnostico.

En el caso de la formulación del problema procedemos la reducción del problema a términos concretos, explícitos, claros y precisos con sus objetivos, con fines o propósitos que se quiere lograr alcanzar durante toda la investigación realizada.

CAPITULO I

1. MARCO REFERENCIAL

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Leishmaníasis es un problema creciente de salud pública en el contexto mundial. el cambio en el patrón epidemiológico dado por la aparición de nuevos focos, por ello es importante localizar el paciente y obtener una buena toma de muestra y aplicar bien las técnicas de tinción (Giemsa Cobalto), para que no existan falsos positivos o falsos negativos, ya que los malos diagnósticos se da por mala calidad de la tinción.

El género inicialmente fue denominado Flebotomus, creado por Camillo Rondani y Berté en 1840. El nombre fue cambiado a Phlebotomus por Hermann Loew en 1845.

"Flebótomo" es una de las exclamaciones del lenguaje usado por el Capitán Haddock, protagonista de las series animadas Tintín.

Los orígenes de la Leishmania no son claras. Una posible teoría propone un origen en África, con migración a las Américas desde el Viejo Mundo unos 15 millones de años a través del estrecho de Bering. Otra teoría propone un origen paleártico.

Dichas migraciones incluirían migraciones de los vectores o adaptaciones sucesivas. Una migración más reciente es la de *L. infantum* desde el Mediterráneo hasta países latinoamericanos, llamados desde entonces *L. chagasi*, desde la colonización europea del Nuevo Mundo, donde los parásitos recogieron su nuevo vector en sus respectivas ecologías.

La primera descripción de leishmaniosis fue hecha por El-Razy de Irak, alrededor del año 1500 d. C. En 1898, Browosky descubrió el agente etiológico, pero su publicación hecha en ruso, pasó prácticamente inadvertida para los científicos occidentales.

La leishmaniasis se convirtió en un serio problema de salud pública en los 90 países donde es una enfermedad endémica; incluida Argentina, Bolivia, Colombia, Venezuela, Ecuador, Brasil, Paraguay y algunos países de Centroamérica. El diagnóstico fue formulado por la Primera Reunión de la Red de Investigación de la Leishmaniasis en Argentina, que estimó que alrededor de 1,5 millones de personas contraen anualmente la leishmaniasis cutánea y 500 000 adquieren leishmaniasis visceral. Unas 350 millones de personas están en situación de riesgo de enfermar.

En las últimas décadas aumentaron la cantidad de casos y también la dispersión geográfica de la enfermedad, reportó un informe preliminar del congreso médico difundido. En Argentina, entre 1984 y 2008, el sistema de salud registró 7.947 casos de la forma cutánea, mientras que el primer paciente de leishmaniasis visceral -la forma más grave- fue detectado en 2006. Alrededor de 70 personas se enfermaron en las provincias de Misiones y Corrientes, ambas ubicadas en la zona de la Triple Frontera.

Solo en una epidemia de leishmaniasis visceral del este de la India se enfermaron en 1996 unas 250 000 personas, mientras que en la que comenzó en 1984 en la provincia del Alto Nilo Occidental, en Sudán, murieron 100 000 de los 300 000 personas en riesgo, detalló el informe. En Kabul, capital de Afganistán, en 2002 enfermaron de leishmaniasis cutánea 270 000 personas, de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS). A partir de este rebrote de la epidemia, la OMS dio prioridad desde 2007 a las acciones de control de la enfermedad.

(http://www.imbiomed.com/1/1/articulos.php?_ejemplar=656
_revista=203)

Leishmaniasis es un importante problema de salud pública en nuestro país Ecuador y después de malaria es la enfermedad parasitaria

La leishmaniasis cutánea constituye un problema de salud pública, debido a su amplia distribución principalmente a nivel rural de las regiones costa, sierra y oriente. Desde el punto de vista regional el mayor número de casos se registra en la sierra. Esta distribución coincide con la presencia de bosque tropical y subtropical en el país. Esta enfermedad puede tener un comportamiento endemo – epidémico.

Los grupos más afectados son las poblaciones del área rural, con problemas económicos y dificultades de acceso a la educación y a los servicios de salud. La atención brindada por los servicios de salud ha mantenido una conducta estrictamente asistencial y curativa, sin aplicación de programas con un enfoque integral.

Las especies de leishmania existentes en nuestro país son: *L. brasiliensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis*, *L. mexicana*, y *L. amazonensis*.

Comúnmente el vector es conocido con el nombre de “manta blanca” o “palomilla”, y las especies de *Lutzomyia*. (Taller de Estandarización de Técnicas en Diagnóstico Microscópico de Leishmaniasis 2009.)

1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA.

¿Cómo mejorar la calidad de tinción Giemsa Cobalto en raspado de lesiones como ayuda de diagnóstico de Leishmaniasis, de los pacientes atendidos en el Instituto Izquieta Pérez de Esmeraldas en el periodo comprendido Octubre – Diciembre del 2009”?

1.3. OBJETIVOS:

1.3.1. GENERAL:

- ✓ Identificar los amastigote de Leishmania con la utilización de la coloración de Giemsa Cobalto.

1.3.2. ESPECÍFICOS:

- ✓ Especificar qué tipo de muestra se debe obtener del raspado de las lesiones causada por leishmaniasis, para una mejor obtención de muestra y resultado.
- ✓ Determinar la importancia del pH del agua tamponada, para la obtención de una buena coloración.
- ✓ Explicar la diferencia del mosquito causante del Paludismo, y del mosquito que causa la Leishmania.
- ✓ Diferenciar los tipos de Leishmaníasis: cutánea, mucocutánea y visceral.
- ✓ Describir las características morfológicas de los amastigotes le Leishmania.

1.4. JUSTIFICACIÓN

La Leishmaníasis es una enfermedad tropical y cada día la población aumenta y posee su habita, lo cual las personas son infectadas por este mosquito hembra (lutzomya), causando ulceraciones en la piel y los pacientes tienen que ser atendidos y realizar un examen en el laboratorio clínico, que en este caso como ayuda de diagnostico es de tal importancia la coloración Giemsa Cobalto, para investigar la presencia de amastigotes de Leishmania.

El tener una buena técnica desde su toma de muestra hasta su coloración

(Giemsa Cobalto), es de gran ayuda de diagnostico, para la observación de los amastigotes de Leishmania y poder ayudar al paciente antes que la enfermedad se complique.

Si el paciente no es atendido a tiempo las ulceraciones se van a distribuir por irrigación por todo el cuerpo llegando a sus viseras es ahí donde conocemos con el nombre de Leishmania visceral, sus ulceraciones van a crecer perdiendo partes de la piel como por ejemplo la nariz tomando el nombre de Leishmania mucocutanea y esto puede ser fatal y llegar a la muerte.

El beneficio del proyecto es aprender la técnica de la tinción Giemsa Cobalto in vitro para identificar los amastigotes de Leishmania y así obtener una ayuda de diagnostico para evitar el crecimiento de las ulceraciones y por ende ayudar a la salud de los pacientes.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL

La técnica de procedimiento y conocimiento de la presente investigación se obtuvo del personal que trabaja en el Instituto Izquieta Pérez de Esmeraldas y se fundamenta en el pragmatismo ya que existe una estrecha vinculación de la teoría con la práctica

2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.2.1. PROTOZOARIOS

Son organismos microscópicos, unicelulares eucarióticos. Así pudiese llamaba protozoos a las formas muy sencillas que se consideraban animales, lo mismo que protófitas a los microorganismos considerados vegetales.

Los protozoos se extienden generalmente desde los 10-50 μm , pero pueden crecer hasta 1 milímetro, y pueden fácilmente ser vistos a través de un microscopio. Se mueven con unas colas en forma de látigo llamadas flagelos. Son de la familia de los protista. Se han encontrado cerca de 30.000 diversos tipos. Los protozoos existen en ambientes acuosos y en el suelo, ocupando una gama de niveles tróficos.

Como depredadores, cazan algas, bacterias, y micro hongos unicelulares o filamentosos. Los protozoos desempeñan un papel como los herbívoros y como consumidores en el acoplamiento del proceso de descomposición de la cadena alimentaria. Los protozoos también desempeñan un papel vital en poblaciones y biomasa de las bacterias que controlan. Pueden absorber el alimento a través de sus membranas celulares. Todos los protozoos digieren su alimento en el estómago, tienen gusto de los compartimientos llamados las vacuolas.

Los protozoos son una fuente importante del alimento para los micro invertebrados. Así, el papel ecológico de protozoos en la transferencia de la producción bacteriana. Los protozoos tales como los parásitos de malaria Plasmodium, tripanosomas y Leishmania son también importantes como parásitos. Algunos protozoos tienen etapas de la vida el alternar entre las etapas proliferativas y los quistes inactivos. Como quistes, los protozoos pueden sobrevivir condiciones ásperas, tales como exposición a las temperaturas extremas y a los productos químicos dañosos, o largos

periodos sin el acceso a los alimentos, al agua, o al oxígeno por un período.

El ser un quiste permite a especie parásita sobrevivir fuera del anfitrión, y permite su transmisión a partir de un anfitrión a otro. Cuando los protozoos están bajo la forma de trophozoites, alimentan y crecen activamente. El proceso por el cual los protozoos toman su forma del quiste se llama encystation, mientras que el proceso de la transformación nuevamente dentro del trophozoite se llama excystation.

Los protozoos pueden reproducirse por la fisión binaria o la fisión múltiple. Algunos protozoos se reproducen sexual, algunos asexual. Un protozoo individual es hermafrodita. Otro nombre para los protozoos es Acríta (R. Owen, 1861). Pueden causar malaria o disentería amébrica.

Clasificación.

- **Rizópodos o sarcodinos (Rhizopoda).**- Estos protozoos, como las amebas, se desplazan por medio de pseudópodos, es decir, formando apéndices temporales desde su superficie y como proyección del citoplasma. Los pseudópodos son deformaciones del citoplasma y de la membrana plasmática que se producen en la dirección el desplazamiento y que arrastran tras de sí al resto de la célula. Los pseudópodos también son utilizados para capturar el alimento, que engloban en el interior, en el proceso llamado fagocitosis.
- **Ciliados (Ciliophora).** Éste es el grupo tradicional que más se identifica como grupo natural en las clasificaciones modernas. Aparecen rodeados de cilios y presentan una estructura interna compleja pero análoga a los flagelos, los cuales también se

relacionan con citoesqueleto y centriolos. Además, los cilios son filamentos cortos y muy numerosos que con su movimiento provocan el desplazamiento de la célula.

- **Flagelados o mastigóforos (Mastigophora).** Se distinguen por la posesión de uno o más flagelos. Los flagelos son filamentos más largos que los cilios cuyo movimiento impulsa a la célula. Suelen presentarse en un número reducido. Las formas unicelulares desnudas (sin pared celular), dotadas de sólo uno o dos flagelos, representan la forma original de la que derivan todos los eucariontes.

Por eso son tantos y tan variados los protistas diferentes que encajan en este concepto. Las plantas por ejemplo derivan ancestralmente de protozoos biflagelados (Plastos).

- **Esporozoos (Sporozoa).** Parásitos con una fase de esporulación (división múltiple) y sin mayor movilidad. Hay varios grupos distintos sin mayor relación y no son todos protistas, sino que también hay animales y hongos. El ejemplo más conocido es el plasmodio (género Plasmodium), causante de la malaria y que pertenece al grupo de los apicomplejos, grupo más conocido que suele reservar para sí el nombre de Sporozoa.

2.2.2. LA LEISHMANIA

Leishmania es un género de protistas responsable de la enfermedad conocida como leishmaniasis. El principal vector de infección son los mosquitos de los géneros Phlebotomus (en el viejo mundo) y Lutzomya (en América). Sus víctimas son vertebrados: la leishmaniosis afecta a marsupiales, cánidos, roedores y Humanos. (BOTERO, David 2003)

2.2.2.1. LEISHMANIASIS

La Leishmaniasis es una zoonosis cuyo agente etiológico es un protozooario del genero Leishmania que se transmite al hombre por la picadura de un insecto hematófago del genero Lutzomya, causante de la hemoparasitosis.

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad, van desde úlceras cutáneas que cicatrizan espontáneamente hasta formas fatales en las cuales se presenta inflamación severa del hígado y del bazo. La enfermedad por su naturaleza zoonótica, afecta tanto a perros como humanos.

a) Hemoparásitos.- Las Hemoparasitosis constituyen enfermedades ampliamente distribuidas en toda América, al igual que sus vectores, causando efectos negativos en la salud, los hemoparásitos son parásitos que se alimentan de sangre y necesitan de ella para su multiplicación, ejemplo en enfermedades como: Paludismo, Leishmaniasis, tripanosoma. (ZELEDRÓN, Barrón, 1996)

2.2.2.2. AGENTE ETIOLÓGICO

Protozooario del orden kinetoplastidae, familia trypanostomatidae, genero Leishmania, presenta dos formas durante su ciclo evolutivo: amastigote que es de vida intracelular, se encuentra en los huéspedes vertebrados y posee un flagelo interiorizado; la otra forma es conocida como promastigote, posee flagelo, se encuentra en el intestino del vector y en los conductos salivales, siendo esta la forma infectante.

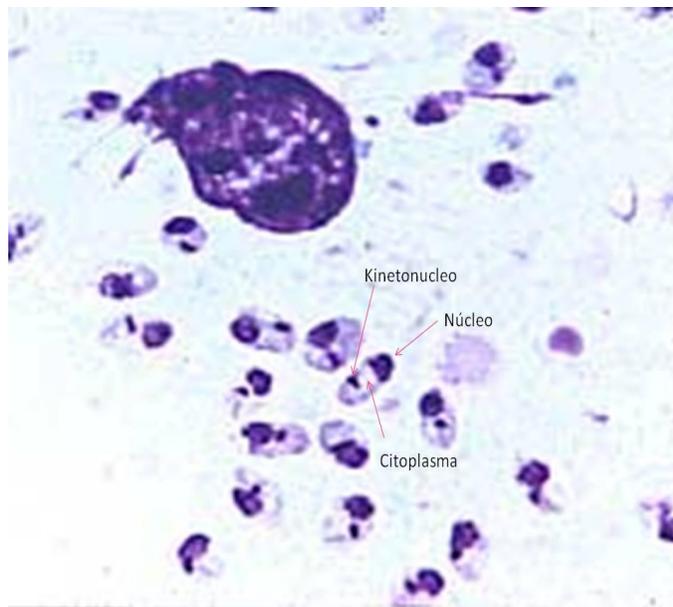
2.2.2.3. MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA

El ciclo biológico de las leishmania comprende esencialmente el paso

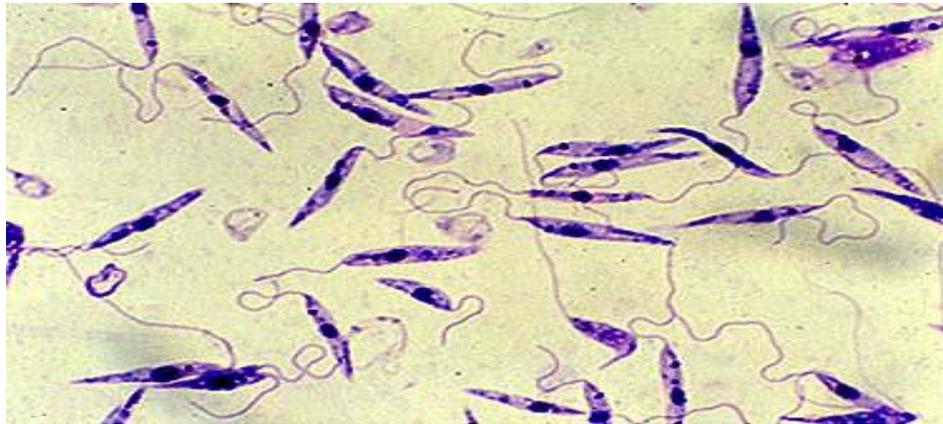
alternativo de un hospedador vertebrado a otro invertebrado, y viceversa, con dos formas morfológicas principales, la intracelular o amastigote en las células del sistema fagocítico mononuclear del hospedador vertebrado y la forma extracelular o promastigote en el tracto intestinal de los flebótomos o *Lutzomya*. (JAZZMIN, Juan, 1999)

- **LOS ESPECÍMENES DE LEISHMANIA MUESTRAN DOS MORFOLOGÍAS DURANTE SU CICLO VITAL:**

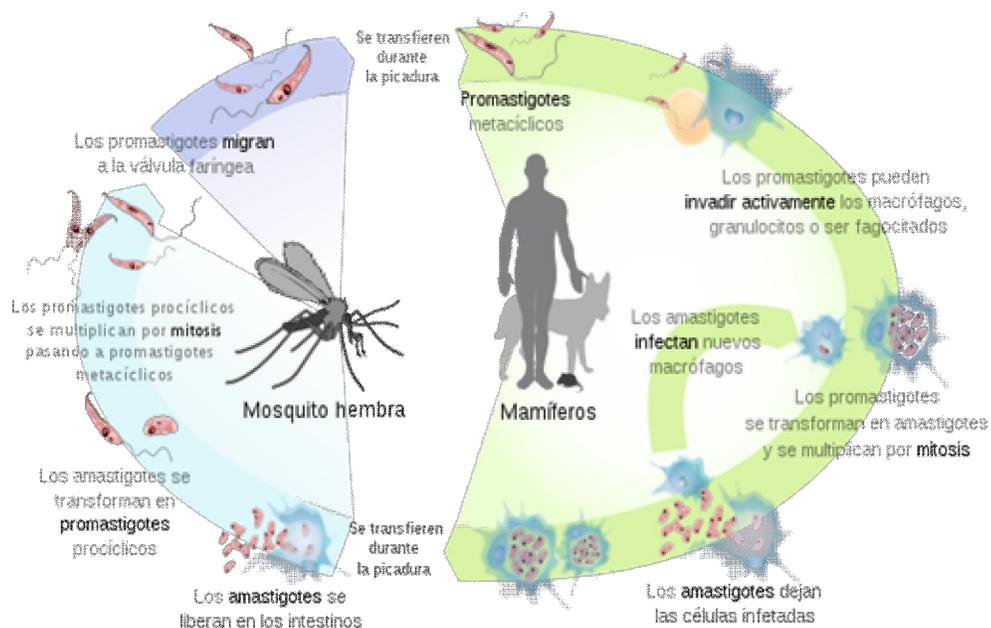
a) **La forma amastigote.** Inmóvil, se presenta al microscopio óptico, y tras tinción con colorantes habituales (Giemsa Cobalto), como un cuerpo oval y de una longitud y anchura que oscilan, respectivamente, entre 3-5 μm y 1,5-2,5 μm . En su citoplasma, teñido de un color azulado, se observa un núcleo voluminoso y esferoidal, generalmente excéntrico, y un kinetonúcleo próximo al núcleo de aspecto bacilar o bastoniforme, adquieren una tonalidad violácea. Las infecciones se producen en la piel (cutáneas), piel y mucosas (mucocutánea) o en los órganos (viscerales).



b) La forma **Promastigote** tiene una forma alargada, es móvil y flagelada, comúnmente encontrada en el vector invertebrado, mide de 10 a 14 por 1,5 a 3,5 μm , núcleo central, se multiplica en el vector y migra a la parte anterior del mosquito y está allí hasta ser inoculada.



2.2.2.4. CICLO BIOLÓGICO DE LA LEISHMANIA.



Todas las leishmania 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 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. Se puede producir un tercer ciclo, en el que el propio enfermo con leishmaniasis se constituye en reservorio.

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 promastigote se multiplican activamente por división binaria longitudinal. Algunos quedan libres desde el inicio en el lumen intestinal; otros se adhieren a la pared. 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 promastigote migran al esófago y la faringe. En el tubo digestivo de la hembra del vector, los promastigote 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 promastigote 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 polimorfos nucleares, unos pocos se transforman en amastigotes en las células del sistema reticuloendotelial, en un periodo de 3 a 4 horas en promedio, permanecen en estado estacionario por 36 horas aproximadamente y, luego, empiezan a reproducirse.

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 extra nuclear, contiene el corpúsculo parabasal y un blefaroplastia puntiforme. El axonema o rizonema es un filamento que parte del cinetoplasto y se dirige a la membrana celular. (JAZZMIN, Juan, 1999)

2.2.2.5. FACTORES DE RIESGO PARA LA TRANSMISION DE LEISHMANIASIS.

- a) **Ocupación** .- La Leishmaniasis cutánea puede considerarse en su mayor parte una enfermedad ocupacional, debido a que está directamente relacionada con actividades en zonas donde esta enfermedad es endémica, sobre todo en bosques y plantaciones de clima tropical y subtropical. Entre las principales actividades ocupacionales que incrementan el riesgo de enfermar se destacan la agricultura (recolección de café y otras cosechas) cacería, campañas militares, pesca, explotación de madera y petróleo.

- b) **Vivienda e Higiene**.- Las viviendas precarias o rústicas y los bajos niveles de higiene aumentan los riesgos de transmisión domiciliaria y peri domiciliaria. Las casas cuyas paredes exteriores o pisos son de madera o caña guadua, donde quedan espacios por donde el vector puede pasar. La ubicación de los servicios higiénicos o letrinas fuera de la casa puede favorecer el criadero de vectores, así como la acumulación de basura, bloques, ladrillos, madera u otro material son criaderos o lugares de reposo de la lutzomya. La vivienda rodeada de vegetación, también está asociada a un mayor riesgo de transmisión de la enfermedad, porque permite que el vector ingrese fácilmente a los hogares.

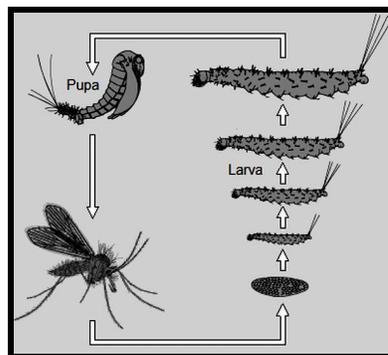
- c) **Edad**.- En ciertas áreas endémicas de Leishmaniasis se encontró que los niños tienen un menor riesgo de presentar esta

enfermedad en relación a los adultos, debido obviamente a las actividades de trabajo que estos últimos desarrollan en las áreas de riesgo. En áreas de alta infestación del vector los niños pueden estar afectados en igual magnitud que los adultos.

d) Cambios Ambientales.- Los cambios ambientales rompen el equilibrio natural de las especies, favoreciendo o perjudicando el normal desarrollo de los ciclos de vida de las mismas, es así que la modificación en territorio por la tala de bosques, colonizaciones, inundaciones, construcción de represas, pueden aumentar el riesgo de contraer la enfermedad, puesto que hay especies de vector que se adaptan a estos cambios del medio ambiente. **(DIVO, Alejandro, editorial internacional)**

2.2.3. EL CICLO BIOLÓGICO DEL VECTOR.

Se realiza sobre la materia orgánica pasando por varios estadios evolutivos que van de huevo, larva, pupa a insecto adulto, cumpliéndose en un tiempo de 20 a 30 días aproximadamente.



2.2.3.1. La Lutzomya.

Es un pequeño díptero similar al mosquito de 1,5 – 2 mm de tamaño que, en algunos zonas de nuestro país se le conoce con el nombre de “manta blanca” o “Palomilla”, “Armadillo chuspi”. Su cuerpo está cubierto de bastantes pelos y tiene las alas erectas en forma de “V” . Tiene una forma de volar muy característica en forma de brincos o saltos y mantiene un vuelo bajo y silencioso. De preferencia aparecen al anochecer, principalmente entre las 18 y 20 horas. Picadura del vector es muy dolorosa, dejando una mancha roja. (SIERRA, Diana, 2007)



2.2.3.2. DIPTEROS

Dípteros que son importantes vectores de enfermedades humanas causadas por protozoarios (Leishmania), bacteria (Bartonella) y numerosos arbovirus.

Las especies de importancia medica se agrupan en dos géneros: Phlebotomus (Viejo Mundo) y lutzomya (Nuevo Mundo).

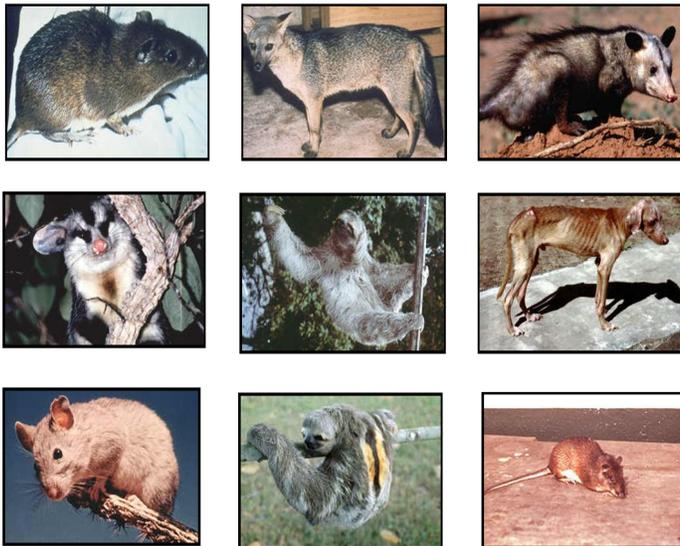
2.2.3.3. IMPORTANCIA MÉDICA DE LUTZOMYA

Sus hábitos de picadura, causan graves molestia como insomnio, prurito,

infecciones por rascado, irritaciones y alergias. Pueden infectar al hombre con protozoarios (varias especies del genero Leishmania), bacterias (Bartonella) y virus (Arbovirus).

2.2.3.4. MAMIFEROS RESERVORIOS ECUATORIANOS

- Perezoso (perico ligero)
- Oso hormiguero (arboric)
- Cuzumbo
- Ardilla gris
- Ardilla roja
- Rata negra
- Perro mestizo



2.2.4. TIPOS DE LEISHMANIA

Existen tres tipos de Leishmania y son L. Cutánea, L. Mucocutanea y L. Visceral. (MC DONALD, George, Atlas de Hematología, 5 edición, editorial Panamericana)

2.2.4.1. LEISHMANIA CUTANEA.



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 lugar a una diminuta excoriación por el rascado, que se transforma en una exulceración y posible punto de partida de un proceso ulcerativo. Pero, algunas veces, la lesión regresa espontánea y origina una fase de silencio sintomático algo prolongado. Un trauma local puede activar una infección latente.

Se ha observado como signo precoz en los casos de leishmaniasis cutánea la aparición de nódulos linfáticos, en la región correspondiente. El inicio de los signos linfáticos puede aparecer antes, al mismo tiempo después de la ulceración, y, en casos muy raros, puede ser el único signo de infección de leishmaniasis. Más raros, son diminutos cordones linfáticos infiltrados, perceptibles a la palpación, entre la lesión primaria y

el ganglio infartado. Esto puede considerarse como un 'complejo primario' que la mayoría de veces pasa desapercibido por su escasa intensidad, o sea una verdadera, pero diminuta, úlcera primaria acompañada por la infiltración linfática regional correspondiente. Algunas veces se ha observado una lesión modular de tipo subdérmico, sin lesión cutánea visible como punto de partida de un infartoganglionar manifiesto. Esto indica que el complejo ganglionar es la regla en la enfermedad, aunque no siempre pueda ser evidenciable.

Después de varios días, la lesión inicial se ulcera espontáneamente y se cubre de un exudado amarillento y adherente, que dará lugar a la costra. Debajo de la costra, la lesión se extiende en superficie y profundidad. Pueden aparecer lesiones satélites que al unirse a la inicial, originan una úlcera grande. La úlcera característica de la leishmaniasis es redondeada, indolora, con bordes bien definidos levantados y cortados en forma de sacabocado e indurada que recuerda la imagen de un cráter. Cuando se desprende la costra se observa un fondo granulo matoso, limpio, con exudado seroso no purulento, sin tendencia al sangrado, de color rojizo, a veces amarillento cuando hay depósito de fibrina. No hay signos inflamatorios, como edema o calor local. Si hay una infección bacteriana sobre agrega dable, la úlcera se torna dolorosa, exudativa y purulenta. La piel alrededor de la lesión presenta aspecto y coloración normales.



Figura 10. Úlcera característica de la leishmaniasis.

La localización de la úlcera es más frecuente en las partes expuestas del cuerpo, especialmente las extremidades y cara. En los primeros meses de evolución, la úlcera tiende a crecer hasta un tamaño máximo que está en función de la respuesta inmune del huésped y de la especie de *Leishmania* infectante. Pasan varios meses antes que la úlcera alcance varios centímetros de diámetro. Con frecuencia son afectados los ganglios linfáticos y se producen linfangitis y linfadenitis regionales. Las lesiones se estabilizan y a medida que empieza a prevalecer la respuesta inmune del huésped, la enfermedad tiende a evolucionar a la curación espontánea, en un periodo de seis meses a tres años. Solo un escaso porcentaje tiene recidivas cutáneas o complicaciones mucosas de aparición más o menos tardía.

Las especies de *leishmania* infectante y la respuesta inmune del huésped determinan las características clínicas y la cronicidad de las lesiones. Las lesiones causadas por *L. (L) mexicana* tienden a ser pequeñas y menos crónicas que las causadas por *L. (V) brasiliensis*. La *L. (V) peruviana* presenta principalmente formas papulofoliculares y nodulares dérmicas; en la leishmaniasis causada por *L. (V) brasiliensis* predomina la forma ulcerosa. La leishmaniasis causada por *L. (V) guyanensis* origina úlceras múltiples, que sin tratamiento pueden extenderse por la cadena linfática de forma similar a la esporotricosis; en un porcentaje bajo muestra tendencia a la forma mucocutánea. La *L. Panamensis* produce lesiones ulcerosas que no tienden a la curación espontánea y afectación linfática en forma de rosario. La leishmaniasis producida por la *L. (L) Amazonensis* rara vez produce enfermedad en el hombre y tiende a producir leishmaniasis cutánea difusa resistente a la curación.

Se ha descrito diversas formas clínicas de lesiones no ulceradas de leishmaniasis, como la papulosa, impetiginosa (Figura 11), verrugosa, nodular (Figura 12), vegetante y mixtas.



Figura 11.
Forma
impetiginoidé
de
leishmania-
sis cutánea



Figura 12. Leishmaniasis cutánea nodular, en dorso de mano.

La Leishmaniasis cutánea andina produce usualmente sólo lesiones cutáneas. Sin embargo, las membranas mucosas pueden estar ocasionalmente comprometidas, directamente relacionadas a la contigüidad de una lesión con la mucosa, en el caso de lesiones producidas en la cara y cuando hay una complicación de la Leishmania Cutánea toma el nombre de Cutánea Difusa.

- LEISHMANIASIS CUTÁNEA DIFUSA.

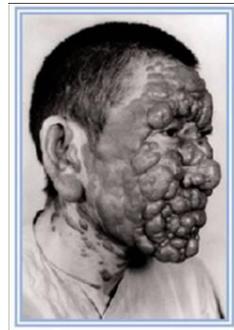


La leishmaniasis cutánea difusa ocurre en un huésped energético con pobre respuesta inmune celular. La enfermedad se inicia bajo la forma de

lesiones localizadas, de aspecto modular o en placa infiltrada, que poco a poco se diseminan a todo el cuerpo. La presencia de nódulos aislados o agrupados, máculas, pápulas, placas infiltradas, úlceras y, algunas veces, lesiones verrugosas de límites imprecisos, que se confunden con la piel normal, dan el aspecto de la lepra lepromatosa. La enfermedad no invade órganos internos. La leishmaniasis cutánea difusa puede ser causada por *L. aethiops*. En América Central y Sudamérica es más comúnmente causada por la *L. mexicana amazonensis*.



Leishmania Mexicana



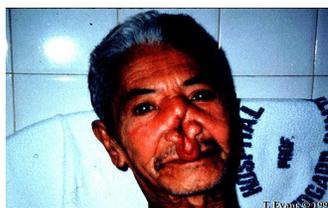
Leishmania Amazonensis

(<http://es.wikipedia.org/wiki/Leishmania>).

El examen histopatológico muestra frecuentemente atrofia de la epidermis y granulosas bien constituidos con predominio de células de citoplasma vacuolado llenas de parásitos, en la dermis.

Las lesiones no curan espontáneamente y tienden a la recaída después del tratamiento.

2.2.4.2. LEISHMANIA MUCOCUTÁNEA.



Las manifestaciones clínicas de la forma mucocutánea se presentan muchos meses o años después haber cicatrizado la forma cutánea; ocasionalmente aparecen cuando todavía existen las manifestaciones en la piel. Frecuentemente el enfermo ya no se encuentra en la zona donde contrajo la enfermedad. (<http://es.wikipedia.org/wiki/Leishmania>)

- COMPLICACIONES DE LEISHMANIA MUCOCUTANEA.

PATOGENESIS

- Comienza en la mucosa nasal profunda.
- Gran infiltración celular alrededor de las venas.
- Proliferación endotelial vascular.
- Edema
- Necrosis progresiva y fibrosis.
- Erosión del tabique nasal.
- Licuefacción del cartílago.
- Diseminación de la inflamación. descamación y ulceración.

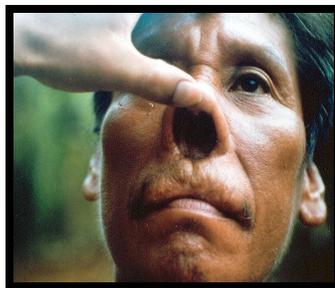


Figura 14. Lesión en mucosa labial

Las lesiones mucosas se inician principalmente a nivel del tabique nasal cartilaginoso (septum cartilaginoso) y, raramente, en el piso de la nariz. Pero, pueden comenzar en otras partes de las vías aéreas superiores. Al inicio solo se aprecia una discreta secreción de moco, como si el enfermo tuviera una rinitis o un resfriado. Luego, se produce la inflamación de la

mucosa, que se vuelve eritematosa, edematosa y dolorosa; la lesión se profundiza y produce una pericondritis. Hay hipertrofia vascular y de los orificios pilosebáceos, que produce abundante seborrea. Cuando las lesiones están avanzadas, se presenta exudación y ulceración de la mucosa. Luego, se compromete el cartílago y se produce la perforación del tabique, que si destruye parcial o totalmente el tabique determinará la caída de la punta de la nariz. El eritema, edema y la infiltración producen aumento del volumen de la punta de la nariz y el ala, que puede sobrepasar el surco nasogeniano. A esta nariz grande de la leishmaniasis se la conoce con el nombre de 'nariz de tapir'. La perforación del tabique nasal y el achatamiento de la nariz sin ulceración son propias de la Leishmaniasis mucocutánea y no son observadas en la leishmaniasis cutánea andina, en la que, de preferencia, las alas de la nariz son carcomidas.

Los pacientes con compromiso nasal presentan, como sintomatología, catarro nasal, ardor, prurito y respiración forzada. Al examen, se aprecia la mucosa nasal congestionada, una costra hemorrágica o una úlcera granulomatosa infiltrada. Si hay infección sobre agregada, la secreción es purulenta. Si la enfermedad progresa y se profundiza, el proceso se extiende del vestíbulo al labio superior, paladar, pilares, úvula y la garganta. El labio superior suele ulcerarse y destruirse poco a poco y compromete parte de la nariz. Las lesiones del paladar son más frecuentemente proliferativas que destructivas; la úvula suele hipertrofiarse, ulcerarse o destruirse; pero, las lesiones linguales son muy raras. Cuando se afecta la garganta, la voz es ronca y hay dificultad para respirar y deglutir los alimentos. Si no hay tratamiento, la enfermedad puede llevar a la muerte.

La leishmaniasis mucocutánea, en los primeros años de su evolución, no afecta el estado general del paciente, el que puede realiza su labor

normalmente.

2.2.3.3. LEISHMANIA VISCERAL.



La leishmaniasis visceral es una enfermedad parasitaria sistémica que compromete la vida, causada por el complejo *L. Donovanii* y transmitida por mosquitos flebótomos. La enfermedad es endémica en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo. El complejo *Leishmania donovani* incluye a la *L. Donovanii* en el subcontinente Indio, Asia y África; a la *L. Infantum*, en el mediterráneo y *L. Chagasi*, en Sudamérica. En el Oriente medio se han encontrado cepas de *L. trópica* que causan enfermedad visceral. La leishmaniasis 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 puerta de entrada, ya que la mayoría de las veces pasa desapercibida y tiene una evolución crónica. La progresión a leishmaniasis visceral típica usualmente ocurre entre los 3 y 8 meses después de la infección; aunque

se han reportado casos tempranos, como de dos semanas. Sin embargo, después de la infección la mayoría de los casos permanece asintomática o está asociada con síntomas leves que, eventualmente, se resuelven en forma espontánea.

Las manifestaciones clínicas de la leishmaniasis visceral típica están asociadas con fiebre, la que casi siempre es 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. La leishmaniasis visceral a menudo es fatal si no se efectúa tratamiento adecuado. La piel se encuentra hiperpigmentada.

Los hallazgos de laboratorio incluyen anemia normocítica, normocrómica, neutropenia, trombocitopenia, hipoalbuminemia y elevación de las transaminasas. (**PARASITOLOGÍA MÉDICA, Jorge, México 1995**)

2.2.5. DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIASIS

La aproximación diagnóstica más exacta considera tres criterios que deberán abordarse en el siguiente orden. (**ROMERO, Raúl, Editorial Panamericano 2005**)

- Antecedentes epidemiológicos,
- Cuadro clínico sugestivo de leishmaniasis, y
- Exámenes de laboratorio (Diagnostico).

2.2.5.1. ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS.

Es importante conocer el lugar de procedencia del paciente, las residencias anteriores, la permanencia o la visita a áreas endémicas de leishmaniasis, los antecedentes ocupacionales relacionados, como trabajo en los lavaderos de oro, la recolección de café o de cacao en la selva. Además, es importante indagar sobre la presencia de lesiones cutáneas anteriores que puedan haber sido catalogadas como leishmaniasis o no, y que, con el antecedente de haber permanecido en un área endémica, demoraron en la cicatrización.

2.2.5.2. CUADRO CLÍNICO.

Las manifestaciones clínicas son variables y están relacionadas en parte a la especie de *Leishmania*, al medio ambiente y a la respuesta inmune del hospedero. Las formas clínicas ya descritas corresponden a: Leishmaniasis cutánea, mucocutánea, cutánea difusa y visceral. La última aún no ha sido reportada en el Perú. La localización y el diagnóstico clínico precoz previenen la aparición de complicaciones y secuelas destructivas.

Definición de casos de leishmaniasis.

Caso probable. Caso de leishmaniasis diagnosticado bajo criterio clínico-epidemiológico, sin confirmación por exámenes de laboratorio.

Caso confirmado. Caso probable que sometido a exámenes parasitológico, inmunológico e histopatológico o cultivo demuestra positividad a la infección por leishmania.

2.2.5.3. EXAMENES DE LABORATORIO

Existen dos métodos de diagnóstico de laboratorio, que son el método directo y método indirecto. **(Taller de Estandarización de Técnicas en Diagnostico Microscópico de Leishmaniasis 2009)**

a) MÉTODO DIRECTO: (Procedimiento, toma de muestra, tinción, etc.)

- Microscopia (reconocimiento del parásito) Red de laboratorios del SNEM.
- Cultivo en medio NNN (Novy Nicolle Mcneal) Instituto de Higiene Leopoldo Inquieta Pérez de Esmeraldas

PROCEDIMIENTO

- Toma de la muestra



- Se obtiene directamente raspando con bisturí (No.20, 21, 22) el borde la lesión que puede ser una ulcera o una protuberancia, en varios sitios
- Tomar muestra de raspado y colocar en el portaobjetos
- Una vez que el raspado provoca sangrado limpiar toda la ulcera, luego de 15 minutos tomar fluido transparente que salen por los bordes raspados de la ulcera, colocar en el mismo porta objetos la muestra
- Hacer el extendido de la muestra

- Dejar de secar bien antes de proceder a la tinción.

- **Tinción Giemsa Cobalto:**

La tinción de Giemsa Cobalto un método habitual para el examen de frotis sanguíneos, cortes histológicos y otro tipo de muestras biológicas. La coloración de Giemsa se emplea también para teñir frotis de sangre en el examen para protozoos.

Fundamento.

Estos organismos adquieren una coloración diferencial y se ven dentro del citoplasma de la célula huésped. La técnica de Giemsa está formada por varios colorantes: los tintes neutros utilizados combinan el azul de metileno como tinte básico y la eosina como tinte ácido, lo que da una amplia gama de colores. El azul de metileno es un colorante metacromático, de ahí que muchas estructuras se tiñan de púrpura y no de azul.

Definición. Es un pre colorante de muestra q se utiliza en frotis, su objetivo es que permite observar las características morfológicas de la célula hospedera, del parasito y los elementos figurados de la sangre.



- Dejar secar bien el frotis
- Fijar con un 1 (ml) de metanol concentrado por 3 minutos
- Dejar secar bien la muestra
- Teñir con Giemsa durante 25 minutos, agregar 1 (ml).
- Lavar con agua tamponada (6/5)
- Dejar secar bien al ambiente y observar



Agua tamponada (6/5):

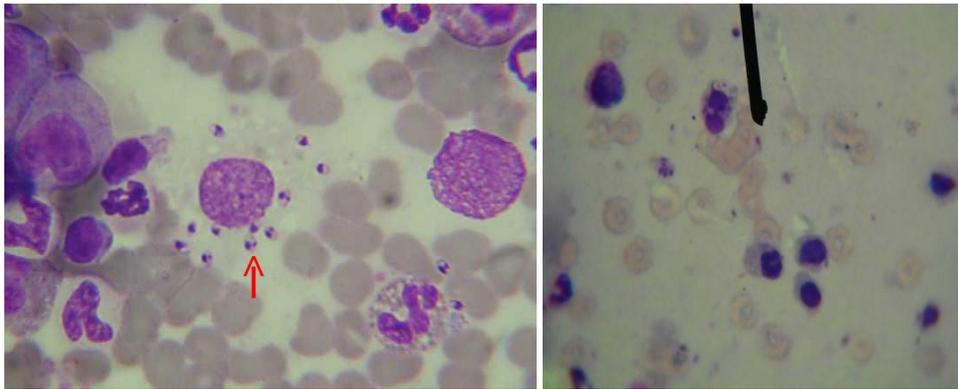
- Ortofosfato disodico anhidro (Na_2HPO_4) 6g
- Ortofosfato monopotásico (KH_2PO_4) 5g
- Agua destilada con PH 7,2 (4 litros)

Preparación de Giemsa:

- Colorante Giemsa en polvo, certificado 0,75 gr
- Alcohol metílico puro (sin acetona) 65,00 ml
- Glicerina pura 35,00 ml
- Mesclar en un balón perla de vidrio, agitando en círculo fuertemente, hasta conseguir una disolución homogénea
- Papel filtro N° 4
- Almacenar en fresco de vidrio ámbar u oscuro.

Nota: en todas las fases debe dejarse secar bien las muestras, con la finalidad de mantener la muestra y tener buena tinción que garantiza visualizar el parásito y a la vez el diagnóstico

- **Diagnostico microscópico.**
(Morfología del amastigotes)



- Cuerpo oval
- Longitud entre 3 – 5 um y anchura de 1,5 – 2,5 um
- Citoplasma de color azulado
- Núcleo voluminoso y esferoidal, excéntrico
- Kinetonucleo próximo al núcleo y de aspecto bacilar o bastoniforme
- Núcleo y Kinetonucleo adquieren una tonalidad violácea

Nota: puede haber presencia de los glóbulos blancos, glóbulos rojos, bacterias, restos celulares, filamentos fibrinógeno, precipitados de la tinción, que podrían confundir y dar diagnósticos erróneos

- **Reporte de resultado**

Si se observa uno o muchos parásitos (amastigotes) de Leishmaníasis y está seguro de reconocer su morfología se reporta:

Amastigotes de Leishmania positivo.

- **Materiales y métodos**

La propuesta se presenta como una intervención – acción que busca delinear las bases para establecer sistema de vigilancia, control y tratamiento de Leishmaníasis en la provincia de Esmeraldas, en vista de tratarse de una enfermedad parasitaria de gran importancia en salud pública, que aqueja a los grupos más vulnerables de nuestras poblaciones, y así definir acciones tendientes a su control.

- **Líneas de acción**

Diagnostico microscópico (raspado úlcera)

Para el diagnostico de Leishmaniasis existen varios métodos, siendo el raspado un método directo por microscopia se observa los amastigotes de Leishmania, es el más sencillo, de bajo costo, realización rápida, pero con sensibilidad baja 45%, la misma que dependerá de la experiencia en la toma de la muestra y destreza del microscopista. Este se ve potenciado por otro método directo que es el cultivo de amastigotes que se obtienen por aspirado con solución salina o biopsia de la lesión en medio de cultivo **NNN, Agar sangre**, la sensibilidad es del 65%.

La toma de muestra de la lesión debe realizarse a nivel del borde de la úlcera, por medio de raspado suave que permita fluir liquido linfático, que es donde se encuentra los amastigotes, es importante recalcar que debe tenerse buena práctica para la toma de muestra, porque de ello depende la calidad del resultado, además de otros aspectos con relación a la tinción y lectura

- **Manejo de toma de muestra**

La muestra a ser evaluada debe ser tomada por quien realizara el diagnostico microscópico, con buena técnica y del sitio ideal de la lesión (borde de la lesión pequeño raspado, no debe contener sangre, debe ser liquido linfático) dos muestras por cada paciente dependiendo del número de lesiones, en los lugares que no exista diagnostico se tomara igual número de muestras dejar secar, rotular, embalar y enviar con la ficha al sitio donde se hará el diagnostico antes de 72 horas (Integrante del Equipo de Salud unidad respectiva).

Se debe llenar ficha clínica epidemiológica con respectiva copia, una vez realizado el examen microscópico se entregara copias del resultado y una ficha clínica epidemiológica al director de la unidad operativa, quien la enviara a la jefatura del área y registra el caso de Leishmania como confirmado. El microcopista debe embalar y enviar al SNEM provincial todos los exámenes realizados tanto los positivos como los negativos, dejando constancia del examen realizado en los formularios diseñados para tal efecto, adjuntando mas una ficha clínica epidemiológica

- **Emisión de resultados**

Los resultados se entregaran en los sitios de diagnóstico en un formulario de reporte diseñado para tal efecto

- **Aprovisionamiento de insumos y materiales**

Los insumos, reactivos y materiales serán provistos por el Ministerio de Salud Pública (Dirección Provincial de Salud, Servicio Nacional de Control de Enfermedades transmitidas por vectores, Instituto de Higiene y Medicina Tropical Leopoldo Izquieta Pérez, Proyecto Integral de Salud en

Esmeraldas), el cálculo de necesidades se realizará en base al método de Morbilidad Consumo Ajustado y se distribuirá a las áreas de salud y a los laboratorios.

- **Garantía de Calidad de Diagnóstico**

Se utilizarán tres métodos:

1. Evaluación Externa del Desempeño (EED), conformación de paneles por INH. Leopoldo Izquieta Pérez evaluándose a los microcopista 3 veces al año según el resultado basal de estratificación de concordancia.
2. Evaluación Indirecta a cada uno de los microcopista, consiste en llevar a una o dos lecturas confirmatorias basándose en el concepto de Repetitividad de Pruebas Diagnosticas
3. Supervisión de todos los factores involucrados con calidad (toma de muestra, tinción, lectura, capacidad del microcopista, equipos, espacio físico etc....)

Los responsables de garantizar la calidad diagnostican SNEM- INH. Leopoldo Izquieta Pérez, quienes a la vez serán sometidos a control de calidad interna y externa

- **Registro e información**

Se elabora ficha clínica epidemiológica para recopilar información necesaria del paciente que oriente a determinar si se trata de lesión, causada por Leishmania o por otro agente patógeno y definir las pautas a seguir para definir diagnóstico y tratamiento

La ficha de registro será entregada a cada jefatura de área para que reproduzca y distribuya a todos los (UOS) hay que registrar los datos por triplicado, enviar una copia al SNEM provincial y la otra se utilizará para alimentar los datos en cada área de salud se debe entregar al usuario resultado en un formulario expreso para reportar la enfermedad,

Toda la información registrada en la ficha alimentará la base de datos diseñada en Epifo 6.04 que facilitará el análisis de datos para determinar el impacto de la enfermedad incidencia y prevalencia en cada cantón y/o área de influencia (UOS).

En cada jefatura de área los coordinadores y epidemiológicos serán los responsables de la información, que deberán analizar para toma de acciones y decisiones, manteniendo estrecha relación con INH Leopoldo Izquieta Pérez y el SNEM

Con la información recolectada y análisis respectivos se podrá realizar estratificación de localidades y áreas de riesgo (datos entomológicos y epidemiológicos, que ayudará a dirigir las actividades de control y prevención)

b) MÉTODOS INDIRECTOS: (la prueba de Reacción en cadena de Polimerasa)

La Pruebas de Reacción en cadena de Polimerasa (**PCR**), es un método indirecto por si solos no llegan a niveles de Sensibilidad y Especificidad óptimos.

La reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction), es una técnica de biología molecular desarrollada en 1986 por Kary Mullis,¹ cuyo objetivo es obtener

un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo; en teoría basta partir de una única copia de ese fragmento original, o molde. Esta técnica sirve para amplificar un fragmento de ADN; su utilidad es que tras la amplificación resulta mucho más fácil identificar con una muy alta probabilidad virus o bacterias causantes de una enfermedad. (RYAN, Sherris, Editorial Panamericana).

2.2.6 SIGNOS Y SÍNTOMAS.

Los signos y síntomas de los tipos de Leishmania son, son los siguientes.(BIAGI, México 2004).

a) La Leishmaniasis cutánea:

- afecta la piel y algunas veces las membranas mucosas.
- Úlceras en la piel.
- Llagas en la piel que pueden volverse úlceras que sanan muy lentamente.
- Brotes en la piel en forma de nódulos.
- Todas estas lesiones causan prurito y son reversible, por largos periodos.

b) Leishmania Mucocutánea.

- Úlceras y desgaste (erosión) en la boca, la lengua, las encías, los labios, la nariz y el tabique nasal.
- Obstrucción nasal, rinorrea y hemorragia nasal.
- Dificultad para respirar.
- Dificultad para deglutir.

c) Leishmania Visceral.

En los niños, la infección visceral y sistémica empieza generalmente de una manera súbita con vómitos, diarrea, fiebre y tos. Los adultos por lo general presentan una fiebre que dura de 2 semanas a 2 meses, acompañada de síntomas como fatiga, debilidad . La debilidad aumenta a medida que la enfermedad empeora.

Otros síntomas de la leishmaniasis visceral y sistémica pueden ser:

- Molestia en el área ventral (abdominal).
- Tos (en niños).
- Diarrea (en niños).
- Fiebre que dura semanas y que puede aparecer y desaparecer en ciclos.
- Sudores fríos.
- Piel escamosa, grisácea, oscura y pálida.
- Adelgazamiento del cabello.
- Malestar abdominal vago.
- Vómitos (en niños).
- Pérdida de peso.
- Esplenomegalia (abdomen distendido)
- Hepatoesplenomegalia.

2.2.7 TRATAMIENTO

LEISHMANIA CUTÁNEA LC. LEISHMANIA MUCOCUTANEA LMC

Primera línea.

Sales Antimoniales: Estibogluconato de Sodio Pentostam a dosis 20

mg/kg de peso I.M. por un periodo no menor a 20 días y eventualmente 28 días según recomendaciones OMS. (**Taller de Estandarización de Técnicas en Diagnostico Microscópico de Leishmaniasis 2009.**)

Segunda línea.

Pentamidina 3 mg/kg por vía I.M. en días alternos, con un total de 4 dosis.

Anfotericina B es una droga de elevada toxicidad y solo debe usarlo personal entrenado con experiencia de trabajo.

Tratamiento Alternativo

PMCB-R Paramomicina, Cloruro de Benzalconio, Vaselina alba formulados en crema, se usara solo en lesiones cutáneas que no se encuentran en áreas de riesgo

Los medicamentos serán dotados por el MSP cuyos requerimientos se determinaran por el método de Morbilidad de Consumo Ajustado y distribuidos a las jefaturas de aérea de salud.

Se prescribirá los medicamentos basados en los criterios clínico epidemiológicos teniendo en cuenta los diagnósticos diferenciales de ulcera tropical. Cada jefatura de área debe determinar sistema de flujo para aprovisionamiento de medicamentos en base al gasto realizado justificación de consumo, concordante con los pacientes examinados, exámenes realizados y número de casos tratados, evitando pérdidas y uso innecesario.

Mensualmente se entregara al SNEM provincial reporte de gasto por utilización de medicina en casos tratados, que servirá para justificar a nivel central y mantener flujo constante de abastecimiento.

TRATAMIENTO DE LEISHMANIA VISCERAL.

Las personas con Leishmaniasis visceral pueden morir si no se tratan adecuadamente. El tratamiento incluye antimonio pentavalente y la formulación liposómica de anfotericina B. La miltefosina en dosis de 100 a 150 mg/día ha estado asociada a un elevado índice de curaciones. Este fármaco está aprobado en la India para el tratamiento de la Leishmaniasis visceral.

(http://es.wikipedia.org/wiki/Leishmaniasis#Leishmaniasis_visceral_o_kala_azar).

a) Entrega de Medicamentos

La entrega se hará desde la farmacia del área y/o (USO), se entregara según prescripción del médico respaldado por su firma y sello el dependiente de la farmacia recibirá recetario de prescripción codificado donde consta el nombre del paciente, lugar de procedencia y residencia, medicamento seleccionado, dosis por Kg, número de días de tratamiento, número de ampollas y deberá hacer firmar del paciente orden de salida del medicamento donde asigne firma, nombre y número de cedula. En los lugares que no hubiera farmacia se entregará por el departamento de enfermería o de la persona responsable, teniendo que seguir los pasos antes enunciados, establecer este sistema podría garantizar el buen uso del producto minimizando pérdidas y robos.

b) Responsabilidades.

Cada área de salud tiene como responsabilidad monitorear y supervisar el cumplimiento de las directrices enunciadas, actualizar conocimientos impartidos y capacitar a los profesionales de la salud que ingresan a trabajar en cada área, con respecto a la enfermedad y su rol en el control y prevención

c) Información Educación y Comunicación (IEC)

Reactivar las unidades de información educación y comunicación (UCIE) en cada área de salud, para impartir conocimientos a los habitantes de las comunidades en riesgo sobre medidas de auto cuida, prevención y control de la enfermedad.

Teniendo en cuenta realizar pequeños ensayos cuanili-cuantitativos para determinar la apreciación de los pobladores con respecto a esta enfermedad (encuestas CAP), las capacitaciones deben ser permanentes dirigidas a los grupos vulnerables por niveles, iniciando desde la etapa preescolar que es el mejor momento para el aprendizaje que origina los verdaderos cambios conductuales formación de valores hasta los adultos quienes son los que toman la decisiones.

2.3 DEFINICION DE TÉRMINOS BÁSICOS:

Amastigote: morfología del ciclo vital de la Leishmaniasis, (amastigote intracelulares).

Bastonifor: forma de bastón.

Biología Molecular.- estudio de los procesos que se desarrollan en los seres vivos desde un punto de vista molecular.

Cinetoplasto: protistologia.organela citoplasmática estructuralmente y funcionalmente similares a las mitocondrias

Citoquina: polipéptido responsable del crecimiento y la diferenciación de distintos tipos de células.

Cultivo NNN: Novy Nicolle McNeal.

Endémico: especies de animales o vegetales que son propias de una determinada zona.

Esporotricosis: porcentaje bajo, nuestra tendencia la forma mucocutanea.

Esplenomegalia: o también conocida como lienomegalia es un agrandamiento patológico del bazo o estructura esplénica más allá de sus dimensiones normales.

Hepatomegalia: es un aumento patológico del tamaño del hígado.

Kinetonúcleo: es una masa de ADN circular dentro de una gran mitocondria que contiene numerosas copias del genoma mitocondrial.

Linfadenopatía: es el término que se usa en medicina para referirse a un trastorno inespecífico de los ganglios linfáticos.

Lutzomya: es un género de mosquitos transmisor de la Leishmaniasis.

Macrófagos: son unas células del sistema inmunitario, que se localizan en los tejidos procedentes de la emigración desde la sangre a partir de un tipo de leucocito llamado monocito.

Marsupiales: orden de mamíferos cuyas hembras están provistas de una bolsa abdominal denominada marsupio.

Metacromático: dicese de la coloración de un elemento figurado basófilo.

Pericondrio: capa de tejido conjuntivo fibroso denso que recubre el cartílago.

Phlebotomus: género de mosquitos Lutzomya causante de la Leishmaniasis.

Promastigote: morfología del ciclo vital de la Leishmaniasis, (promastigote extracelulares).

Populosa: o impetiginoide es una forma clínica de Leishmaniasis cutánea.

Proboscis: (probóscide) trompa del mosquito.

Protozoos: también llamados protozoarios, son organismos microscópicos, unicelulares eucarióticos.

SNEM: Sistema Nacional Erradicación de la Malaria.

Zoonosis: es cualquier enfermedad que puede transmitirse de animales a seres humanos. La palabra se deriva del griego zoon (animal) y nosis (enfermedad).

2.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.4.1. HIPÓTESIS.

La coloración Giemsa Cobalto, es una ayuda de diagnóstico para la observación de amastigote de Leishmaniasis.

2.4.2. VARIABLES

Independiente: La coloración Giemsa Cobalto

Dependiente: Ayuda de diagnóstico de Leishmaniasis

2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICION	DIMENSIONES	INDICADORES	ITEMS
INDICADOR DE TENDENCIA	La coloración Giemsa Cobalto permite observar de las características morfológicas de los amastigote de Leishmaniasis	Tinción	Amastigotes	Observación Guía de observación en historias clínicas

D E P E N D I E N T E	La Leishmania es una enfermedad endémica causada por el mosquito lutzomya y se diagnostica por medio de la coloración Giemsa Cobalto para la identificación de amastigote de Leishmania.	Pre- diagnóstico	<ul style="list-style-type: none"> • Positivo • Negativo 	Observación Guía de observación en historias clínicas
--	--	---------------------	--	--

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLOGICO.

3.1 MÉTODO.

Se utiliza el método deductivo – inductivo con un procedimiento analítico – sintético

- **Tipo de Investigación:** Descriptiva - explicativa
- **Diseño de la Investigación:** De campo - no experimental
- **Tipo de Estudio:** Longitudinal

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

La población de la presente investigación está constituida por 17 pacientes de la Ciudad de Esmeraldas atendidos en el Instituto Izquieta Pérez de Esmeraldas.

Por ser el universo de estudio relativamente pequeño, no se procedió a extraer muestra y se trabajó con toda la población

3.3 TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

- Los resultados se analizan mediante los casos positivos de Leishmaníasis a través de la presencia de amastigote observados en el laboratorio por medio de la coloración Giemsa Cobalto.

3.4 TÉCNICAS PARA EL ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

Estos datos serán demostrados mediante tabulaciones en cuadros y gráficos

TABLA DE DATOS ESTADISTICOS

CANTONES DE ESMERALDAS	OCTUBRE 2009		NOVIEMBRE 2009		DICIEMBRE 2009		TOTAL DE PACIENTES
	POSI	NEG	POSI	NEGA	POSI	NEGA	
MUISNE	1	0	1	0	2	0	4
ATACAMES	1	0	0	0	1	0	2
ESMERALDAS	3	1	3	2	7	1	17
RIO VERDE	1	1	0	0	2	2	6
ELOY ALFARO	5	1	7	2	10	0	25
SAN LORENZO	6	1	4	2	8	0	21
QUININDE	2	1	1	1	3	2	10
LA CONCORDIA	1	1	1	0	2	1	6
TOTAL	20	6	17	7	35	6	91

TABLA No 1

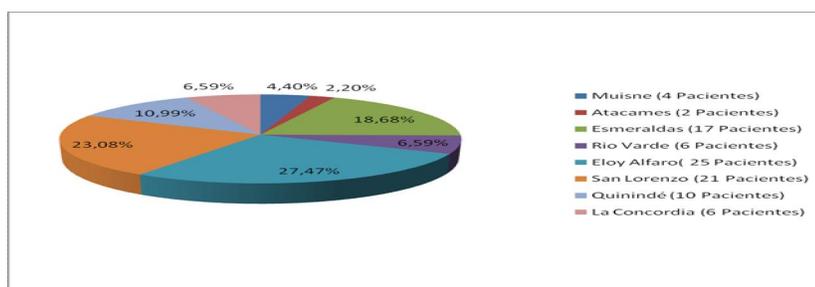
NUMERO DE PACIENTES ATENDIDOS EN ESMERALDAS POR CANTONES (OCTUBRE – DICIEMBRE DEL 2009)

CANTONES DE ESMERALDAS	NÚMERO DE PACIENTES	DE PORCENTAJE (%)
Muisne	4	4.40
Atacames	2	2.20
Esmeraldas	17	18.68
Rio Verde	6	6.59
Eloy Alfaro	25	27.47
San Lorenzo	21	23.08
Quinindé	10	10.99
La Concordia	6	6.59
TOTAL	91	100

FUENTE: Instituto Izquieta Pérez de Esmeraldas.

INVESTIGADOR: T.M.D. María Elena Campo Morales

GRAFICO No 1



ANALISIS:

Del 100% de pacientes que pertenecen a todos los cantones, el 18,68% pertenecen a Esmeraldas con una población y muestra de 17 pacientes.

TABLA No 2.

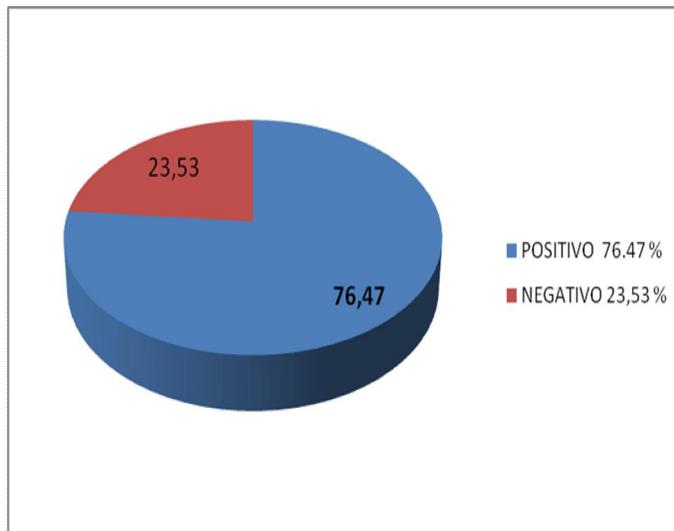
RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE LEISHMANIASIS POSITIVAS Y NEGATIVAS CON LA UTILIZACIÓN DE LA COLORACIÓN DE GIEMSA COBALTO (OCTUBRE – DICIEMBRE DEL 2009).

	NÚMERO	PORCENTAJE (%)
Pruebas Positivas	13	76,47
Pruebas Negativas	4	23.53
Total de pruebas	17	100

FUENTE: Instituto Izquieta Pérez de Esmeraldas.

INVESTIGADOR: T.M.D. María Elena Campo Morales.

GRAFICO No 2.



ANÁLISIS:

Del 100% de pacientes, que se realizaron la prueba de raspado, el 76% resultaron con Leishmaniasis positivo y el 23% fueron negativos.

TABLA N o 3.

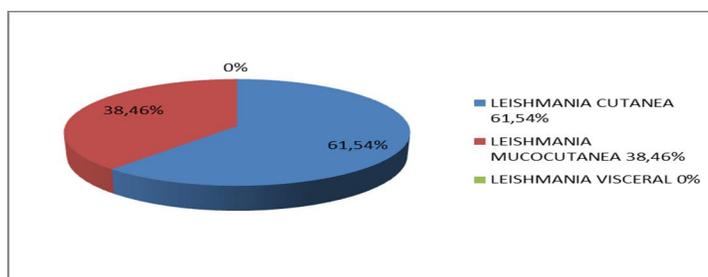
TIPOS DE LEISHMANIASIS, CON LA UTILIZACION DE LA COLORACION GIEMSA COBALTO (OCTUBRE – DICIEMBRE DEL 2009)

TIPOS DE LEISHMANIASIS	NUMERO DE PACIENTES	PORCENTAJE (%)
LEISHMANIA CUTANEA	8	61,54
LEISHMANIA MUCOCUTANEA	5	38,46
LEISHMANIA VICERAL	0	0
TOTAL	13	100

FUENTE: Instituto Izquieta Pérez de Esmeraldas.

INVESTIGADOR: T.M.D. María Elena Campo Morales.

GRAFICO No 3



ANALISIS:

Del 100% de pacientes el 61,54% dio como resultado Leishmania Cutánea, un 38,46% Leishmania Mucocutanea y un 0% de Leishmania Visceral.

TABLA No 4.

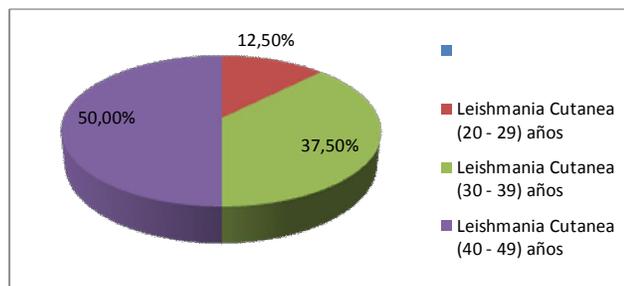
PACIENTES CON LEISHMANIASIS CUTANEA POR EDADES

EDAD DE PACIENTES LEISMANIA CUTANEA	DE CON	NUMERO DE PACIENTES	PORCENTAJE (%)
(20 – 29) años		1	12,50
(30 – 39) años		3	37.50
(40 – 49) años		4	50.00
TOTAL		8	100

FUENTE: Instituto Izquieta Pérez de Esmeraldas.

INVESTIGADOR: T.M.D. María Elena Campo Morales.

GRAFICO No 4



ANALISIS:

Del 100% de pacientes con Leishmaniasis Cutánea, el 50% corresponden a la edad entre 40 a 49 años de edad.

TABLA No 5

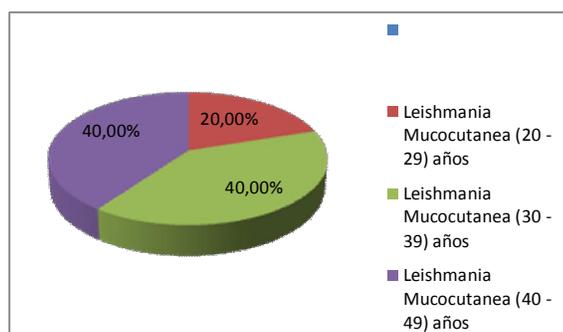
PACIENTES CON LEISHMANIASIS MUCOCUTANEA POR EDADES

EDAD DE PACIENTES CON LEISMANIA MUCOCUTANEA	NUMERO DE PACIENTES	PORCENTAJE (%)
(20 – 29) años	1	20
(30 – 39) años	2	40
(40 – 49) años	2	40
TOTAL	5	100

FUENTE: Instituto Izquieta Pérez de Esmeraldas.

INVESTIGADOR: T.M.D. María Elena Campo Morales.

GRAFICO No 5



ANALISIS:

Del 100% de pacientes con Leishmaniasis Mucocutanea, el 40% corresponden a la edad entre 30 a 39 años de edad.

CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- El tipo de muestra que se debe extraer es el líquido linfático, este es un líquido transparente acuoso, que se lo obtiene después de hacer un raspado con el bisturí en el borde de la lesión, esta linfa aparece después de un pequeño sangrado provocado por la manipulación del raspado, las razones por la que se debe obtener este líquido, es porque ahí se encuentran los amastigotes de Leishmania.
- El pH del agua tamponada es de suma importancia ya que un pH 7,2 ayuda a la nitidez de su coloración para la observación de las características morfológicas de los amastigotes dando como resultado un fácil reconocimiento para determinado estudio
- Existe una gran diferencia entre el mosquito causante del paludismo y el que causa la Leishmania, ya que el vector llamado plasmodium es el causante del paludismo de tipo vivax y falciparum, este se encuentra en zonas tropicales y se extiende hasta nuestros hogares especialmente en la costa y sus picaduras no causas lesiones fatales en la piel causan fiebre, cefalea, escalofrió, etc... y si no es tratado a tiempo, causa la muerte en corto plazo en especial el falciparum. Se diferencia del vector lutzomya causante de las Leishmaníasis, ya que su picadura causan úlceras que aparecen dentro de 2 a 3 años y si no es tratado a tiempo las úlceras serán fatales.

- La Leishmania cutánea son lesiones en forma de úlceras que se observa en la piel, en especial las extremidades, ya que son expuestas a la picadura del mosquito llamado lutzomya. Se diferencia de la Leishmania Mucocutánea, por su ubicación, estas lesiones aparecen en las mucosas ejemplo la nariz y por último la Leishmania Visceral que afecta a las vísceras como el bazo y el hígado y da una apariencia de abdomen distendido.
- Los amastigotes de Leishmania tienen una forma oval, su citoplasma es de color azulado, con un núcleo excéntrico, un Kinetonucleo próximo al núcleo en forma de bastón de color violácea, estos amastigotes son parásitos que miden 3,5 um.

4.2 RECOMENDACIONES.

- Tomar bien todos los datos del Paciente, tanto personales como ubicación, tiempo de lesión, etc.
- En el raspado de la lesión, extraer la linfa para el estudio de los amastigotes de Leishmania.
- En la técnica de tensión no olvidar usar el agua taponada con un pH 7.2.
- Evitar el uso del colorante Giemsa Cobalto precipitado, usar el papel filtro No 4.
- En casos de signos y síntomas, ir de inmediato al centro de salud más cercano.
- Identificar clara y correctamente las características morfológicas de Amastigote de Leishmania, que le permita reconocer con facilidad el parásito y así obtener un resultado de calidad.
- Se debe realizarse un control de calidad interno y externo para

evitar malos resultados y perjudicar la salud del paciente y así poder dar un pre diagnóstico y ayudar a tiempo a todos los pacientes atendidos en dicha institución.

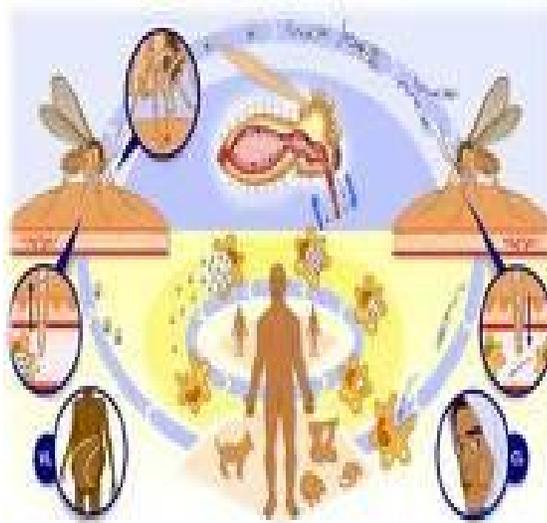
- Tener en cuenta todos los factores de riesgos y cómo prevenir la leishmaniasis mediante campañas, para dar a conocer las causas y consecuencia de la leishmaniasis.

BIBLIOGRAFIA

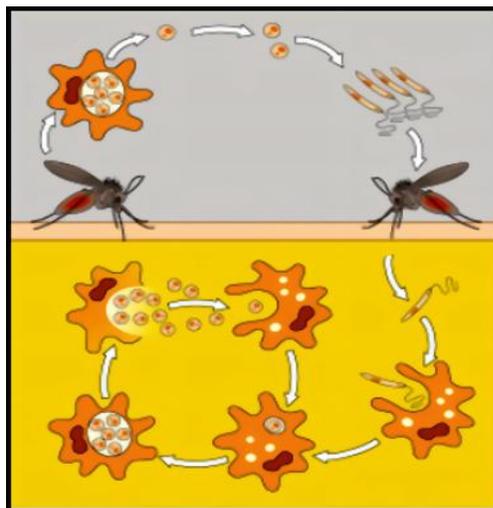
- 1- BOTERO, David, Parasitosis humana, 4 edición, Medellín, Colombia 2003.
- 2- DIVO, Alejandro, Micro Biología Médica, 4 edición, editorial interamericana
- 3- GARCIA, Jorge, Parasitología Médica, 5 edición, México 1995.
- 4- JAZZMIN, Juan, Morfología y Quetotaxia, 13 edición, Venezuela 1999.
- 5- MC DONALD, George, Atlas de Hematología, 5 edición, editorial Panamericana
- 6- ROMERO, Raúl, Microbiología y Parasitología Humana, 3 edición, editorial panamericano 2007.
- 7- RYAN RAY, Sherris, Medical Microbiology, 4 edición, editorial Panamericano.
- 8- SIERRA, Diana, Lutzomya, volumen 48, Venezuela 2007.
- 9- ZELEDÓN, Barrón, Medical Microbiology, 4 edición, Texas 1996.
- 10-Taller de Estandarización de Técnicas en Diagnostico Microscópico de Leishmaniasis 2009.
- 11-<http://www.imt.edu.py/admin/uploads/Documento/leishmaniosis.pdf>
- 12-<http://es.wikipedia.org/wiki/Leishmania>
- 13-http://www.seimc.org/control/revi_para/leish.htm
- 14-http://www.seimc.org/control/revi_para/leish.htm
- 15-.(http://www.imbiomed.com/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=65333&id_seccion=3430&id_ejemplar=6562&id_revista=203).
- 16-http://es.wikipedia.org/wiki/Leishmaniasis#Leishmaniasis_visceral_o_kala_azar.

ANEXOS

CICLO DE VIDA DE LA LEISHMANIASIS.



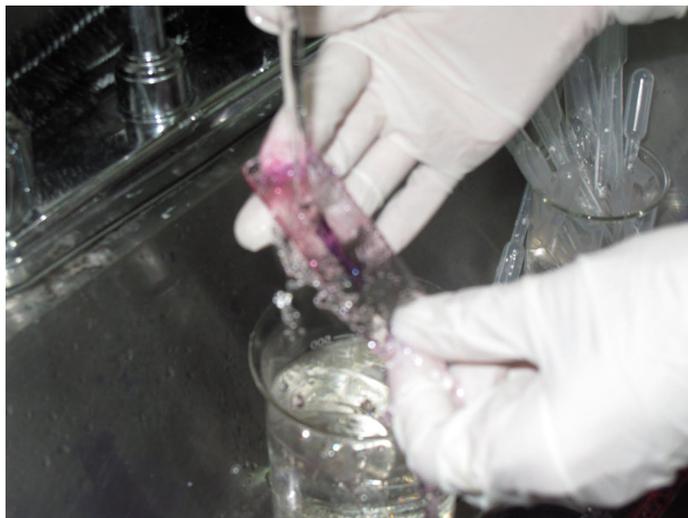
CICLO DE VIDA DE LA LUTZOMYA.



TOMA DE MUESTRA



TINCION DE LA MUESTRA (COLORACION GIEMSA COBALTO).

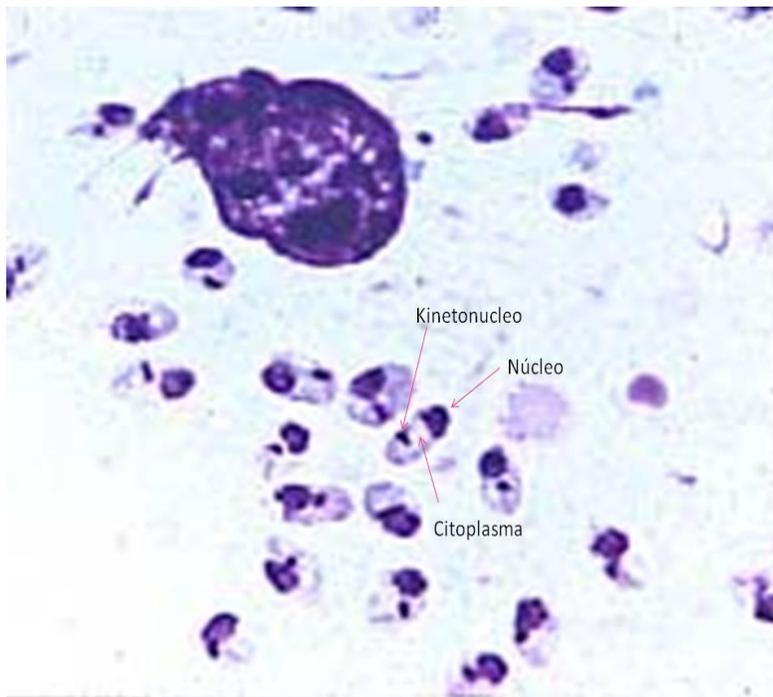


OBSERVACION DE LA PLACA (100X).



OBSERVACION DE LA MORFOLOGIA

AMASTIGOTES DE LEISHMANIASIS.



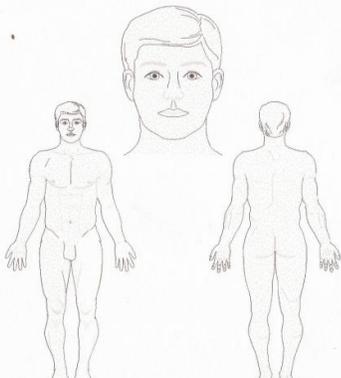
DATOS DEL PACIENTE Y REPORTE.

MSP / DPS / SNEM Ficha de Vigilancia Epidemiológica de la Leishmaniasis											
# Código Unidad de Salud:		# Código Laboratorio SNEM:		Lugar y fecha de la toma de muestra:				Ficha #			
Nombres y apellidos: _____ Sexo: M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> Edad: _____ Ocupación: _____ Analfabeto: <input type="checkbox"/>											
Nivel de instrucción:		Primaria:		Secundaria:		Superior:					
Lugar de Residencia:		Cantón:		Parroquia:		Localidad (Dir. Domiciliaria):					
Lugar(es) donde vivió y/o visitó en los últimos 6 meses:		Año: _____		Mes: _____		Día: _____		Ha tenido lesiones iguales antes:		Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
Fecha cuando apareció la lesión											
CARACTERÍSTICAS DE LA LESIÓN											
Tipo de lesión		Tegumentaria (Piel)		Mucosa		Cutáneo Mucosa		Visceral			
Formas de presentación Clínica		Úlcera Clásica (Fondo)		Granulomatoso limpio		Impetiginizada		Impetiginizada		Epidemiológica	
		Verrucosa		Lipoidal		Esporotricoides		Ectimatoidea		Epidemiológica	
		Papular		Nodular		Oreja de chichlero		Lesión severa (Ver criterios) SI		No	
Linfadenopatía		Localizada				Generalizada				Dolorosa	
TRATAMIENTOS RECIBIDOS											
Medicamentos:		Duración Tratamiento		Cuándo		Respuesta al tratamiento					
Glucantime () Pentostam () # Anquilias						Se curó		No curó			
Antibióticos (Cremas, capsulas, tabletas)						Se curó		No curó			
Otros (Remedios caseros o recomendados)						Se curó		No curó			
Examen Realizado: Raspado de la lesión:		Biopsia		Cultivo		Reacción de Montenegro		PCR		Mircroscopia	
¿Cuál de los siguientes animales habitan en el sector donde vive, trabaja o en su domicilio (SI o NO)											
Perros		Rata		Buzo		Ardilla		Perezoso		Cuzumbo	
Oso hormiguero		Zorro		Otros:							
Conoce la Mantita blanca:		Sí () No ()		Ha sido picado: SI () No ()		Hay otras personas con lesiones similares en su casa o localidad:		Sí () No ()			
Resultado del examen: Raspado de la Lesión		Negativo		Lugar y Fecha del examen		Lugar:		Fecha:		Código #	
		Positivo		Nombre, firma y Código del responsable							

MSP / DPS / SNEM Ficha de Vigilancia Epidemiológica de la Leishmaniasis											
# Código Unidad de Salud:		# Código Laboratorio SNEM:		Lugar y fecha de la toma de muestra:				Ficha #			
Nombres y apellidos: _____ Sexo: M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> Edad: _____ Ocupación: _____ Analfabeto: <input type="checkbox"/>											
Nivel de instrucción:		Primaria:		Secundaria:		Superior:					
Lugar de Residencia:		Cantón:		Parroquia:		Localidad (Dir. Domiciliaria):					
Lugar(es) donde vivió y/o visitó en los últimos 6 meses:		Año: _____		Mes: _____		Día: _____		Ha tenido lesiones iguales antes:		Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
Fecha cuando apareció la lesión											
CARACTERÍSTICAS DE LA LESIÓN											
Tipo de lesión		Tegumentaria		Mucosa		Cutáneo Mucosa		Visceral			
Formas de presentación Clínica		Úlcera Clásica (Fondo)		Granulomatoso limpio		Impetiginizada		Impetiginizada		Epidemiológica	
		Verrucosa		Lipoidal		Esporotricoides		Ectimatoidea		Epidemiológica	
		Papular		Nodular		Oreja de chichlero		Lesión severa (Ver criterios) SI		No	
Linfadenopatía		Localizada				Generalizada				Dolorosa	
TRATAMIENTOS RECIBIDOS											
Medicamento		Dosis		Duración Tratamiento		Cuándo		Respuesta al tratamiento			
Glucantime								Se curó		No curó	
Pentostam								Se curó		No curó	
Otros								Se curó		No curó	
Posee animales domesticos y/o salvajes en la casa (SI o NO)											
Perros		Oso hormiguero		Ardilla		Rata		Buzo		Cuzumbo	
Perezoso		Tatara		Otros:							
Conoce la Mantita blanca:		Sí () No ()		Ha sido picado: SI () No ()		Hay otras personas con lesiones similares en su casa o localidad:		Sí () No ()			
Resultado del examen:		Negativo		Lugar del examen		Lugar:		Fecha:		Código #	
		Positivo		Nombre y del firma responsable							

DATOS Y REPORTE DE LA UBICACIÓN DE LAS LESIONES.

Indique el tamaño y ubicación de las lesiones, numerándolas, en el dibujo siguiente:



#	cm - mm.
1.-	
2.-	
3.-	
4.-	
5.-	
6.-	
7.-	
8.-	
9.-	
10.-	
11.-	
12.-	
13.-	
14.-	
15.-	

Cuando se considera una lesión severa	
-	Cualquier lesión, de cualquier tamaño, en cualquier parte del cuerpo, causada por <i>L. braziliensis</i> .
-	Cualquier lesión de cualquier tamaño causada por cualquier especie de leishmania, que esté localizada en la cara o sobre alguna de las articulaciones del cuerpo del paciente.
-	Cualquier lesión de cualquier tamaño causada por cualquier especie de leishmania, que esté localizada en la cara o sobre alguna de las articulaciones del cuerpo del paciente.
-	Cualquier lesión de más de 3 cm de diámetro, causada por cualquier especie de leishmania, en cualquier parte del cuerpo.
-	Cualquier lesión, de cualquier tamaño, en cualquier parte del cuerpo, causada por cualquier especie de leishmania, que presente compromiso linfático ganglionar.
-	Cualquier lesión, de cualquier tamaño, en cualquier parte del cuerpo, causada por cualquier especie de leishmania, que presente contaminación secundaria severa por bacterias u hongos.
-	Lesiones múltiples o generalizadas de cualquier tamaño, causadas por cualquier especie de leishmania (más de tres lesiones en sitios diferentes)

