

ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA EN MAYPUCO, PERU¹

Carmen Arzubiaga,² Jorge Huayanay² e Italo Biaggioni²

Se estudió la prevalencia de leishmaniasis tegumentaria americana en una localidad de selva baja en el Perú, mediante la intradermorreacción de Montenegro y la determinación de anticuerpos en el suero por el método de inmunofluorescencia indirecta.

Introducción

Dos formas de leishmaniasis tegumentaria americana ocurren en el Perú: la uta en los valles interandinos occidentales, que produce una lesión cutánea de remisión espontánea y rara vez causa daño mucoso por contigüidad, y la espundia en la región amazónica, que también produce lesiones cutáneas; estas lesiones a veces no pueden distinguirse de las producidas por la uta; además la espundia puede ocasionar una lesión metastásica destructiva en mucosas, sobre todo en tabique nasal, mucosa oral y faríngea (1, 2).

Se conoce poco acerca de la epidemiología, la identidad de las cepas patógenas, los reservorios, las formas de transmisión, la historia natural y la distribución de la enfermedad, en particular en la amazonía. Pese a que existe un grado de subregistro

no precisado por las características socioculturales de la población afectada se reconocen áreas endémicas en el país. Dado el comportamiento focal de la enfermedad, y sus diferentes formas clínicas presumiblemente causadas por varias cepas de leishmania, es necesario ampliar los escasos estudios que existen en el Perú (2-5).

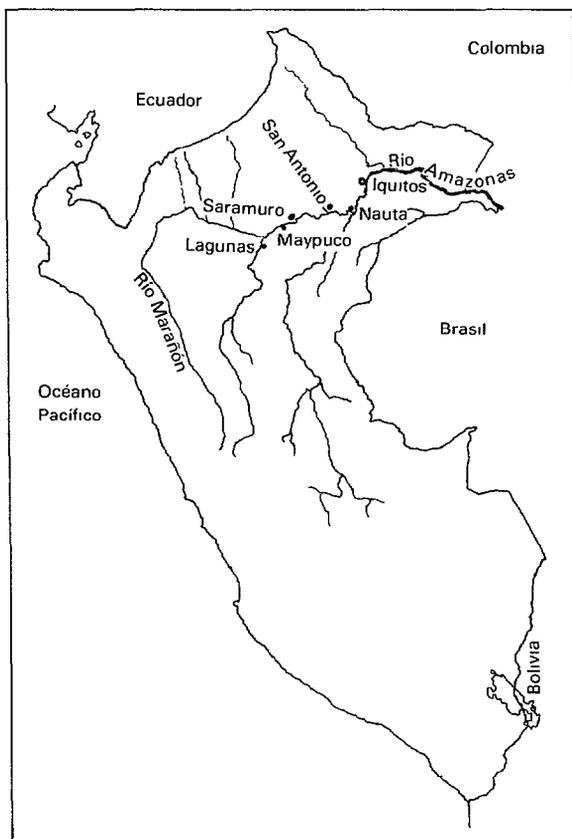
Desde hace bastante tiempo se conoce el valor de la prueba intradérmica para medir la prevalencia de infección (6), y se han hecho avances en la calidad del antígeno (7) y en los métodos de análisis de datos (8). Sin embargo, existen algunos interrogantes respecto a la especificidad de la prueba en ecologías como la amazónica.

Con la identificación de una zona de la amazonía donde al parecer se producen casos se despertó el interés por definir con mayor claridad la magnitud del problema. El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de infección humana por leishmaniasis mediante la prueba intradérmica, como criterio para decidir la necesidad de estudios posteriores. Al mismo tiempo se evaluaron la prueba intradérmica y la inmunofluorescencia indirecta como métodos de campo en esta situación particular.

¹ Realizado con el aporte financiero del Departamento de Epidemiología de la Región de Salud Nor-Oriente, Loreto, Perú, y del Programa Especial del PNUD/Banco Mundial/OMS de Investigaciones y Enseñanzas sobre Enfermedades Tropicales, Proyecto SWG 780235 y RSG 780488.

² Universidad Peruana Cayetano Heredia, Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt. Dirección postal: Apartado postal 5045, Lima, Perú.

FIGURA 1—Ubicación de la localidad de Maypuco en el Perú.



Material y métodos

Población estudiada. El trabajo se realizó en el caserío de Maypuco, ubicado en el distrito del mismo nombre, provincia y departamento de Loreto (figura 1). Se encuentra en zona de selva baja a 240 km de la ciudad de Iquitos, en tierras inundables sobre la margen derecha del río Marañón. Tiene una población de 380 personas cuya distribución por edad y sexo se indica en el cuadro 1. Se realizó un muestreo de 67 habitantes (cuadro 2) que demostró ser representativo, con 95% de confianza, según el método de Kolmogorov-Smirnov (*Test of Goodness of Fit*) (9).

Intradermorreacción e inmunofluores-

cencia indirecta. La intradermorreacción con leishmanina o prueba de Montenegro (6) se realizó en todos los sujetos. Se empleó leishmanina preparada en el Laboratorio del Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, usando como antígeno promastigotes muertos de *Leishmania brasiliensis*, en una solución de fenol al 0,5% en salino, con un contenido de nitrógeno proteico de 35 µg/ml. Se aplicó 0,1 ml de leishmanina en la región superointerna del antebrazo izquierdo. La lectura se realizó a las 48 horas, con la medición de los diámetros de la induración, que se consideró reacción positiva si su extensión era igual o mayor a 5,0 mm.

Las muestras de sangre de los sujetos es-

CUADRO 1—Población total de Maypuco por grupos de edad.

Edad (en años)	Hombres		Mujeres		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
0 a 1	25	6,58	22	5,79	47	12,37
1 a 4	43	11,31	37	9,74	80	21,05
5 a 14	69	18,16	45	11,84	114	30,00
15 a 44	54	14,21	55	14,47	109	28,68
45 a 64	16	4,21	12	3,16	28	7,37
65 o más			2	0,53	2	0,53
Total	207	54,47	173	45,53	380	100,00

CUADRO 2—Población estudiada en Maypuco por grupos de edad.

Edad (en años)	Hombres		Mujeres		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
0 a 1	3	4,48	1	1,49	4	5,97
1 a 4	4	5,98	4	5,98	8	11,96
5 a 14	14	20,89	10	14,91	24	35,80
15 a 44	15	22,39	11	16,42	26	18,81
45 a 64	2	2,98	3	4,48	5	7,40
65 o más	0		0		0	
Total	38	52,72	29	43,28	67	100,00

tudiados se centrifugaron dentro de las seis horas siguientes. El material refrigerado se transportó al laboratorio con azida de sodio al 0,01% como preservativo. Las muestras se procesaron mediante el método de inmunofluorescencia indirecta dentro de los 15 días de obtenidas y, mientras tanto, se mantuvieron a -70 °C. Se usaron promastigotes de *L. brasiliensis*, cepa Yumare aislada por C. F. Pifano en el departamento de Yumare, Venezuela, como antígenos para la prueba, según las líneas generales del método empleado por Guimaraes (9, 10), para evaluar diferentes diluciones (1:16, 1:32, 1:64, 1:128). Se utilizaron como controles muestras de sueros positivos y como control negativo solo una muestra procesada con diluyente. Se consideraron significativos aquellos títulos iguales o mayores a 1:32 que dieron niveles de especificidad y sensibilidad adecuados para el método (11).

Resultados

Se aplicaron 67 intradermorreacciones, lo que representa un 17,6% de la población total. De los 67 pobladores, 18 (26,8%) fueron positivos. Todos los reactores eran mayores de 14 años y de ellos, 17 (94,4%), agricultores (cuadro 3), incluido el sanitario quien se desempeñaba como tal. Ninguno de los reactores presentaba leishmaniasis activa en el momento de la prueba, aunque se observaron lesiones con

cicatrices clínicamente compatibles con leishmaniasis tegumentaria americana en 4 de los 18 reactores (22,0%); los 14 restantes (77,7%) no tenían antecedentes ni mostraban lesiones dérmicas. Se debe subrayar que 100,0% de los sujetos con lesiones con cicatrices (todas localizadas en miembros inferiores) eran positivos a la prueba de Montenegro. La duración de la lesión inicial varió desde un mes hasta un año, y el tiempo transcurrido entre la aparición de la lesión y el examen fue desde un mes hasta 17 años. La relación según sexo fue de 2:1 (12 hombres y 6 mujeres) (cuadro 3).

Si de la población estudiada se consideran solo a las personas mayores de 14 años, fueron positivos a la prueba de Montenegro 18 de 31 sujetos (58,0%), en tanto que del total de 25 agricultores, 17 (68,0%) fueron reactores en comparación con un reactor entre 42 no agricultores (2,4%) (cuadro 4). La relación entre la intradermorreacción de Montenegro y la presencia de lesión dérmica, edad y ocupación es estadísticamente significativa (12), no así la relación entre la positividad de la inmunofluorescencia indirecta y la reactividad de la leishmanina, empleando el coeficiente de contingencia (12).

Discusión

Wagner demostró la existencia de hipersensibilidad retardada en leishmaniasis de

CUADRO 3—Relación de 18 reactores a la leishmanina y resultados de inmunofluorescencia.

Edad	Sexo	Ocupación	Lugar de infección	Cicatriz	Leishmanina	IFI ^a
39	m	Sanitario	Desconocido	—	6×5	N ^b
51	f	Agricultor	Maypuco	—	10×11	N ^b
36	m	"	Lagunas	—	16×20	N ^b
39	m	"	Desconocido	—	5×5	N ^b
15	m	"	Maypuco	—	8×8	N ^b
18	m	"	"	+	6×6	1/16
37	f	"	"	+	6×6	1/16
28	f	Su casa	Lagunas	+	5×7	N ^b
36	m	Agricultor	Maypuco	—	13×13	N ^b
53	m	"	"	+	14×14	1/16
40	f	"	Desconocido	—	9×9	N ^b
49	m	"	"	—	14×15	N ^o
19	m	"	Maypuco	—	6×5	1/16
42	m	"	Desconocido	—	4×5	N ^b
38	f	"	Maypuco	—	6×6	1/16
15	m	"	"	—	10×7	1/16
16	m	"	"	—	5×5	N ^b
18	f	"	"	—	5×5	N ^b

^a Inmunofluorescencia indirecta.^b Negativo.

cobayos previamente inoculados con formas inactivas de leishmania (6). Montenegro fue el primero en usar la prueba cutánea para diagnosticar la leishmaniasis humana. Por primera vez en 1940 se aplicó la intradermorreacción con fines clínico-epidemiológicos, y observaciones poste-

riores comprobaron el valor y la elevada sensibilidad de la prueba (13). Se sabe que la intradermorreacción permanece positiva durante años e inclusive de por vida (14), aun después de la remisión clínica de la enfermedad, por lo que permite un diagnóstico retrospectivo de infección por leish-

CUADRO 4—Resultado de la intradermorreacción de Montenegro según edad, sexo y ocupación.

Edad (en años)	Positivo			Negativo				Total
	Agricultor	Ama de casa		Agricultor	Su casa		Total	
		Sexo			Sexo			
		M	F		M	F		
0 a 1						3	1	4
1 a 4						4	4	8
5 a 14				2		12	10 ^a	24
15 a 44	10 ^a	4	1	5	1		5	26
45 a 64	2	1					2	5
65 a más								0
Subtotal	12	5	1	7	1	19	22	67
Total			18				49	67

^a Uno de estos también se desempeñaba como sanitario.

mania y un cálculo bastante exacto de la prevalencia de la enfermedad. Respecto a la leishmanina utilizada en este estudio, investigaciones inéditas demuestran que tiene una alta especificidad (un falso positivo en 300 escolares sanos) y sensibilidad (15).

Los datos obtenidos en el presente trabajo revelan que 18 de los 67 habitantes estudiados (27,0%) fueron positivos a la prueba de Montenegro; de estos, la mayoría no tenía antecedentes de lesiones dérmicas sospechosas ni cicatrices características. Estos resultados son comparables con los de otros estudios de leishmaniasis (13, 16) y son semejantes a los que se obtuvieron en un área de selva alta (Tambopata, Puno), donde 26,0% de la población estudiada (de un total de 1 613) fueron positivos a la prueba de Montenegro y 21,0% no tenían antecedentes de lesión dérmica (4).

La presencia de reactores sin lesión puede explicarse por la existencia de infecciones subclínicas como varios autores han sugerido (4, 13, 17). En otros países se han descrito casos de intradermorreacción positiva por contacto con leishmaninas de animales (18, 19), pero esto no se ha demostrado en el Perú. Asimismo se describen reacciones cruzadas con tripanosomiasis (20), aunque existe controversia al respecto (6). En todo caso, no se han registrado casos de tripanosomiasis en el área estudiada.

La reacción fue positiva exclusivamente en personas mayores de 14 años, en su gran mayoría varones y agricultores. Esta población está más expuesta al vector por el trabajo que desempeña, cultivando o cazando cerca de ríos distantes del poblado. La ausencia de reacciones positivas en menores de 14 años sugiere que la transmisión intradomiciliaria es poco probable y que en el área estudiada el vector o los reservorios naturales, o ambos, no están presentes. No se ha comprobado que el hombre pueda ser reservorio además de hospedero accidental. Se supone que los parásitos responsables de la leishmaniasis tegumentaria americana en Perú son *L. brasiliensis brasiliensis* y *L. bra-*

siliensis guyanensis en la vertiente oriental de la cordillera y en la amazonía; y *L. peruviana* en la vertiente occidental (2). Se conoce poco acerca de los vectores y reservorios, sobre todo en la región amazónica, aunque se considera a pequeños mamíferos salvajes como posibles reservorios. Asimismo, el o los vectores no han sido identificados plenamente en la región amazónica. En recientes estudios se considera a *Lutzomia peruensis* como uno de los posibles vectores naturales en la vertiente occidental, pues se ha recuperado leishmanias de hámsters inoculados con triturados de este flebótomo (21). Al estudiar las características del vector se describen sus hábitos agrestes fuera del núcleo urbano, en forma coincidente con lo encontrado en el presente trabajo.

Se demostró en 1963 que el suero de pacientes con leishmaniasis mediterránea visceral reaccionaba con formas de cultivo de *L. donovani*, empleando técnicas de inmunofluorescencia indirecta (6). Su utilidad en el diagnóstico de kala-azar se demostró un año después como también la existencia de reacción cruzada con suero de pacientes con leishmaniasis (22, 23). Finalmente se demostró que, al tratar los sueros con antígeno heterólogo, desaparecían las reacciones cruzadas y se obtenían sueros monoespecíficos contra *L. brasiliensis* (24).

De la experiencia con el empleo de la inmunofluorescencia indirecta, sobre todo en la escuela brasileña, se concluye que la técnica es útil en especial en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con leishmaniasis activa, y el título es significativo en más del 90,0% de los casos (6). Los títulos de anticuerpos no se correlacionan con el grado de parasitismo en las lesiones ni con la intensidad de la reacción de Montenegro (25-27), si bien, entre esos autores, algunos encuentran títulos más altos en formas tardías de la enfermedad con lesiones mucosas, que en las formas dérmicas recientes (27). Se informa que los títulos disminuyen o desaparecen después del tratamiento (25), por lo que, a diferencia de lo que sucede con la

intradermorreacción de Montenegro, la prueba de inmunofluorescencia es negativa en la fase inactiva o de cicatrización de la enfermedad. Los resultados del presente estudio son concordantes con la literatura, pues al no manifestar formas activas de la enfermedad, los títulos de inmunofluorescencia indirecta no fueron de valor.

Resumen

Se estudió la prevalencia de leishmaniasis tegumentaria americana en una localidad de selva baja en Loreto, Perú. En 67 sujetos (17,6% del total de la población) se determinó la hipersensibilidad cutánea (intradermorreacción de Montenegro) y el nivel de anticuerpos en el suero por el método de inmunofluorescencia indirecta. Ninguno de los reactivos presentaba leishmaniasis activa en el momento de la prueba, aunque se

observaron lesiones con cicatrices clínicamente compatibles con leishmaniasis tegumentaria americana en 4 de los 18 reactivos (22,0%), lo que sugiere la importancia de la infección subclínica en la población estudiada. La intradermorreacción de Montenegro fue positiva en 26,8% de los sujetos estudiados y en 68,0% de los agricultores. Estos resultados sugieren que la infección no se adquiere en áreas pobladas y más bien está relacionada con ocupaciones desarrolladas en áreas alejadas, donde se encuentran el vector y los reservorios naturales. ■

Agradecimiento

Los autores expresan su agradecimiento a los Dres. Hugo Lumbreras y Humberto Guerra por la revisión del manuscrito y sugerencias, y a los Dres. Jorge Sibina, Director de la Región de Salud Nor-Oriente y Eduardo García, Jefe del Departamento de Epidemiología.

REFERENCIAS

- Herrer, A., Hidalgo, V. y Meneses, O. Leishmaniasis tegumentaria e insecticidas en el Perú. Reactivación de la uta en los últimos años. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 22:203-206, 1980.
- Lainson, R. y Shaw, J. J. Leishmaniasis and leishmaniasis of the New World, with particular reference to Brazil. *Bull Pan Am Health Organ* 7(4):1-19, 1973.
- Tejada, A. Leishmaniasis tegumentaria en el Perú. Investigación epidemiológica-clínica de la leishmaniasis tegumentaria en los departamentos de Cuzco y Madre de Dios. (Tesis de Doctorado Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, 1973.)
- Herrer, A. Informe de las investigaciones ecológico-epidemiológicas llevadas a cabo sobre la leishmaniasis tegumentaria en el Alto Tambopata, Departamento de Puno, 1976. (Comunicación personal.)
- Mori, R. Leishmaniasis mucocutánea, Loreto, Perú. La exploración petrolífera y su problemática en relación con la leishmaniasis tegumentaria americana. Tesis de Bachiller 3661, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, 1977.
- Furtado, T. Criterios e diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana. *An Bras Dermatol* 55:81-86 1980.
- Mayrink, W., Melo, M. N., Costa, C. A., Magalhães, P. A., Dias, M., Coelho, M. V., Araujo, F. G., Wellmann, P., Figueiredo, Y. P. y Batista, S. M. Intradermorreacção de Montenegro na leishmaniose tegumentar americana após terapêutica antimonial. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 18:182-185, 1976.
- Restrepo, M. La reacción de Montenegro en la epidemiología de la leishmaniasis sudamericana. *Bol Of Sanit Panam* 89(2):130-138, 1980.
- Armitage, P. *Statistical Methods in Medical Research*. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1973.
- Guimaraes, M. C. S., Giovannini, V. L. y Camargo, M. E. Antigenic standardization for mucocutaneous leishmaniasis immunofluorescent test. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 16:145-148, 1974.
- Canella, R., Colichón, A., López, L. y La

- Torre, C. Curso de introducción a las técnicas de inmunofluorescencia. Departamento de Microbiología, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, 1973.
12. Ostle, B. y Mensing, R. *Statistics in Research*. 3 ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1975.
 13. Pifano, F. La evaluación de la leishmaniasis tegumentaria americana en el valle de Aroa, estado Yaracuy, mediante el índice alérgico (intradermorreacción con antígeno de *L. brasiliensis*). *Arch Venez Med Trop Parasitol Med* 4:25-35, 1962.
 14. Zuckerman, A. Current status of the immunology of blood and tissue protozoa. *Exp Parasitol* 38:370-400, 1975.
 15. Benavente, L. Leishmaniasis cutánea andina. Aspectos epidemiológicos y culturales de un brote en la localidad de Surco, Perú. Septiembre de 1981. (Comunicación personal.)
 16. Melo, M. N., Mayrink, W., Costa, C. A., Magalhães, P. A., Dias, M., Williams, P., Araujo, F. G., Coelho, M. V. y Batista, S. M. Padronização do antígeno de Montenegro. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 19:161-164, 1977.
 17. Pessoa, S. B. y López, J. A. S. Sobre a intradermorreacção de Montenegro em região endêmica de leishmaniose tegumentar e visceral. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 5:170-175, 1963.
 18. Southgate, B. A. *Leishmania adleri* and natural immunity. *J Trop Med Hyg* 70:33-36, 1967.
 19. Imperato, P. J. Positive leishmanin skin sensitivity in the absence of clinical leishmaniasis. *J Trop Med Hyg* 76:132-134, 1973.
 20. Cohen, S. *Immunology of parasitic infections*. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1976.
 21. Herrer, A. *Lutzomyia peruensis* Shannon 1929, posible vector natural de la uta (leishmaniasis tegumentaria). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 24:168-172, 1982.
 22. Duxbury, R. E. y Sadun, E. H. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 13:525-529, 1964.
 23. Bray, R. S. y Lainson, R. The immunology and serology of leishmaniasis. The fluorescent antibody staining technique. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 59:535-544, 1965.
 24. Camargo, M. E. y Rebonato, C. Cross-reactivity in immunofluorescent test for trypanosoma and leishmania antibodies. *Am J Trop Med Hyg* 18:500-505, 1969.
 25. Chiari, C., Mayrink, W. y Magalhães, P. Reação de imunofluorescência indireta no controle de tratamento da leishmaniose tegumentar americana. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 15:298-303, 1973.
 26. Bittencourt, A. C., Sodre, A. y Andrade, Z. A. Pesquisa de anticorpos circulantes pelo método da imunofluorescência na leishmaniose tegumentar. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 10:247-252, 1968.
 27. Guimaraes, F., Lage, H. A., Venancio, I. A. y Grunberg, N. F. Estudo comparativo de reação indireta de anticorpos fluorescentes em doença de Chagas, leishmaniose tegumentar e calasar com varios antígenos de leishmania y trypanosoma. *Hospitals* 5:1811-1825, 1969.

An epidemiologic study of American cutaneous leishmaniasis in Maypuco, Peru (Summary)

A study was conducted to determine the prevalence of American cutaneous leishmaniasis in a town located in a low tropical forest area of Loreto, Peru. Montenegro's intradermal reaction was used to test cutaneous hypersensitivity in 67 subjects (17,6% of the total population) and indirect immunofluorescence was used to determine the level of antibodies in their sera. Although none of the reactors presented active leishmaniasis at the time of the test, lesions with scars that are compatible with American cutaneous

leishmaniasis were observed in 4 of the 18 reactors (22,0%), which suggests the importance of the subclinical infection among the population studied. Montenegro's intradermal reaction was positive in 26,8% of the subjects examined and in 68,0% of the farmers. These results suggest that the infection is not acquired in populated areas, but is instead related to occupations in outlying areas where the vector and natural reservoirs are located.

Estudo epidemiológico da leishmaniose tegumentária americana em Maypuco, Peru (Resumo)

Estudou-se a prevalência da leishmaniose tegumentária americana num lugarejo de matagal baixo em Loreto, Peru. Em 67 sujeitos (17,6% do total da população) determinou-se a hipersensibilidade cutânea (intradermorreação de Montenegro) e o nível de anticorpos no soro, pelo método de imunofluorescência indireta. Nenhum dos reatores mostrava leishmaniose ativa no momento do teste embora observassem-se lesões com cicatrizes clinicamente compatíveis com a leishmaniose

tegumentária americana em 4 dos 18 reatores (22,0%), o que sugere a importância da infecção subclínica no povoado estudado. A intradermorreação de Montenegro foi positiva em 26,8% dos sujeitos estudados e em 68% dos lavradores. Esses resultados obtidos sugerem que a infecção não se adquire em áreas povoadas e que mais e mais está relacionada com ocupações próprias de zonas afastadas onde se encontram tanto o vector quanto os reservatórios naturais.

Etude épidémiologique de la leishmaniose tégumentaire américaine au Maypuco, Pérou (Résumé)

La prévalence de leishmaniose tégumentaire américaine a été étudiée à Loreto, localité des basses terres de la forêt vierge du Pérou. Des test d'hypersensibilité cutanée (intra-dermoréaction de Montenegro) et la mesure du niveau d'anticorps dans le sérum selon la méthode d'immuno-fluorescence indirecte ont été effectués sur 67 sujets (17,6% de la population totale). Aucun d'eux ne présentait de leishmaniose active au moment de ces tests, mais des lésions avec cicatrices cliniquement compatibles avec la leishmaniose tégumentaire

américaine ont été observées sur 4 de 18 sujets (22,0%), indices révélateurs de l'importance de l'infection subclinique au sein de cette population. L'intra-dermoréaction de Montenegro a été positive chez 26,8% des sujets sur lesquels elle a été pratiquée et 68,0% des agriculteurs. D'après ces résultats il semble que l'infection ne provient pas des centres de population mais qu'elle se propage dans les zones périphériques où se trouvent le vecteur et les réservoirs naturels.