

SALUD

SECRETARÍA DE SALUD



SUBSECRETARÍA DE PREVENCIÓN Y PROMOCIÓN DE LA SALUD
Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades
Programa de Enfermedades Transmitidas por Vector

**CENTRO NACIONAL DE VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA Y
CONTROL DE ENFERMEDADES**

**DIRECCION GENERAL DE PROGRAMAS PREVENTIVOS
PROGRAMA DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTOR**

**MANUAL PARA EL DIAGNOSTICO, TRATAMIENTO Y CONTROL
DE LAS LEISHMANIASIS**

DEFINICIONES OPERATIVAS

Brote. Ocurrencia de dos o más casos asociados epidemiológicamente entre sí².

Caso. Individuo en quien se sospecha, presume o confirma que padece una enfermedad o evento de interés epidemiológico⁵.

Caso confirmado. Todo caso en que se demuestre la presencia del parásito mediante pruebas parasitológicas y serológicas específicas, o bien sea clínicamente compatible con Leishmaniasis⁵.

Caso descartado. Todo caso sospechoso o probable en quien por estudios auxiliares, determina que no es causado por la enfermedad que inició su estudio o aquel que no requiere estudios auxiliares, pero presenta signos o síntomas propios de cualquier otro padecimiento o evento bajo vigilancia diferente al que motivó el inicio del estudio, así como la evidencia epidemiológica, en ellos puede o no haber confirmación etiológica de otro diagnóstico. Aquel que no cumple con los criterios de caso probable (si es sospechoso) o confirmado (si es probable)¹.

Caso probable. Todo caso sospechoso que presente algún o varios de los siguientes signos o síntomas⁵.

- a) Caso probable de **Leishmaniasis Cutánea Localizada (LCL)**: aparición de una o más lesiones nodulares o úlceras de bordes indurados, fondo limpio e indoloro, o bien reacción positiva a la Reacción de Montenegro.
- b) Caso probable de **Leishmaniasis Mucocutánea (LMC)**: aparición de lesiones y/o obstrucción o perforación de membranas nasales.
- c) Caso probable de **Leishmaniasis Visceral (LV)**: presencia de fiebre irregular y prolongada, hepatoesplenomegalia indolora, linfadenopatía y pérdida de peso o bien, reacción negativa a la prueba de Montenegro.
- d) Caso probable de **Leishmaniasis Cutánea Difusa (LCD)**: presencia múltiple de nódulos que se diseminan a lo largo de casi todo el cuerpo con anergia a la reacción de Montenegro.

Caso sospechoso. Toda persona con cuadro inespecífico de leishmaniasis que refiere antecedentes de residencia o vista a zona endémica de este padecimiento⁵.

● **Control.** Aplicación de medidas para la disminución de la incidencia, en casos de enfermedad¹.

● **Enfermedad transmisible.** Cualquier enfermedad debida a un agente infeccioso específico o sus productos tóxicos, que se manifiesta por la transmisión de ese agente o los productos de

un reservorio a un huésped susceptible, ya sea directamente de una persona o animal, o indirectamente por conducto de una planta o animal huésped intermediario, de un vector o del ambiente inanimado, y que se puede transmitir a otra persona o animal.

- **Huésped.** Persona o animal vivo que en circunstancias naturales permiten la subsistencia o el alojamiento de un agente infeccioso.

- **Notificación.** Acción de informar acerca de la presencia de padecimientos o eventos, por parte de las unidades del Sistema Nacional de Salud

Vigilancia epidemiológica. Estudio permanente y dinámico del estado de salud, así como de sus condicionantes, en la población¹.

I. INFORMACION GENERAL

Las Leishmaniasis son enfermedades zoonóticas que causan en el humano un conjunto de síntomas clínicos que pueden comprometer la piel, mucosas y vísceras. Son causadas por diferentes especies de protozoos del género *Leishmania* y transmitidos de una persona infectada a una sana mediante la picadura de insectos hematófagos de la familia Psychodidae, subfamilia Phlebotominae del género *Lutzomyia*.

Las leishmaniasis están presentes en una gran variedad de animales que actúan como reservorios, según la especie de *Leishmania* involucrada, pudiendo ser: caninos, roedores, desdentados y marsupiales, entre otros. El ser humano puede constituir una fuente ocasional de infección ya que puede contagiarse si entran en contacto con el ciclo zoonótico de transmisión de las leishmaniasis.

La enfermedad es endémica en 98 países del mundo, 34 países con registro de coinfección Leishmania-VIH; la OMS la considera como una de las seis enfermedades tropicales de mayor importancia. Se le atribuye 20,000 a 40,000 muertes al año. Se calcula que 350 millones de personas están en riesgo de contraer leishmania y cada año se registran aproximadamente 0.9 a 1.6 millones de casos nuevos.

El número de casos en el mundo va en aumento debido al incremento gradual de la transmisión en las ciudades, el desplazamiento de las poblaciones, la exposición de personas que no son inmunes, el deterioro de las condiciones sociales y económicas en zonas periurbanas, la desnutrición y la coinfección con VIH.

La manifestación de las dos formas básicas de esta enfermedad, leishmaniasis cutánea (cutánea localizada, cutánea difusa y mucocutánea) y la leishmaniasis visceral, depende de la especie de *Leishmania* de que se trate y de la respuesta inmunitaria del hospedero a la infección. La leishmaniasis visceral, es la forma más grave de esta enfermedad, resulta fatal en casi todos los casos, si no se trata.

En México se presenta cuatro variantes clínicas:

- Leishmaniasis cutánea localizada (LCL) o úlcera de los chicleros: se caracteriza por úlceras presentes en cualquier parte del cuerpo expuestas a las picaduras de los insectos, de bordes indurados, de fondo limpio, cuando afecta los cartílagos de nariz y orejas su evolución es crónica y mutilante; responde bien al tratamiento.
- Leishmaniasis cutánea difusa (LCD): se caracteriza por lesiones cutáneas nodulares o en placas que tienden a diseminarse en la piel de todo el cuerpo; su curación es difícil.
- Leishmaniasis mucocutánea (LMC): se caracteriza por lesiones iniciales de piel que, aunque lleguen a cicatrizar, producen metástasis que varios años después destruyen mucosas y cartílagos, particularmente en la nariz y en faringe con efectos invalidantes, su curación es difícil.
- Leishmaniasis visceral (LV) o Kala-azar: cursa con fiebre, pancitopenia, lesiones de órganos internos como hígado, bazo, médula ósea y ataque grave al estado general; los casos no tratados se asocian con padecimientos intercurrentes y conducen a la muerte.

La combinación de leishmaniasis con la infección del VIH es un nuevo cuadro patológico que debe abordarse con urgencia; incluso cuando los pacientes coinfectados son tratados, las recaídas son frecuentes y el desenlace suele ser fatal.

Las acciones de prevención y control del programa están principalmente enfocadas a reducir los daños a la salud mediante el diagnóstico y tratamiento oportuno de casos, así como el seguimiento clínico de los pacientes hasta su remisión.

Epidemiología

Como en otros países latinoamericanos, las leishmaniasis son enfermedades de impacto en México, consideradas como desatendidas o rezagadas y que afectan a los sectores más vulnerables y marginales de la población. Esta enfermedad se puede presentar en brotes o de manera aislada, generalmente en áreas agrícolas donde se siembra y cosecha cacao, café o árboles chicleros (de ahí su denominación de “úlceras de los chicleros”), cuyos desechos orgánicos favorecen el desarrollo de la mosca transmisora del parásito.^{2,4}

Si bien 17 estados reportaron casos alguna vez, actualmente la población en riesgo se distribuye en 13 entidades federativas con aproximadamente nueve millones de habitantes, agrupadas en tres áreas geográficas:

- a) Región del Golfo: Veracruz, Tabasco, Campeche, Quintana Roo y Yucatán.
- b) Región del Pacífico: Chiapas, Guerrero, Jalisco, Nayarit, Oaxaca y Sinaloa.
- c) Región Centro: Morelos y Puebla.

Durante el periodo 2007-2012 se registraron 3,637 casos en 18 entidades federativas que representan un decremento de 34.24 %, comparado con el periodo de los seis años anteriores (5,530 casos). Los estados que registraron 91 % del total durante el período 2007-2012 son: Tabasco con 35.5% (1,290 casos); Quintana Roo, 28.50% (1,035 casos), Chiapas con 14.2% (517 casos) y Campeche, 12.9% (468 casos).

La forma cutánea localizada (LCL) es la de mayor frecuencia (99%); en tanto que los casos de leishmaniasis cutánea diseminada (LCD) y mucocutánea (LMC), son de menor ocurrencia y presentan resistencia al tratamiento. La forma visceral (LV) es frecuente en menores de cinco años y, sin tratamiento oportuno, es mortal. Esta última se presenta anualmente en el estado de Chiapas y algunos casos esporádicos en Guerrero, Morelos y Puebla.

La enfermedad es ocupacional y afecta principalmente a hombres en edad productiva de 15 a 44 años, quienes por motivos de trabajo se adentran a las áreas selváticas donde habita el vector, exponiéndose a su picadura. La mayor parte de la población expuesta vive en áreas rurales (cafetales, cacaotales y otros). La residencia en áreas de transmisión y los frecuentes movimientos migratorios propician la dispersión del padecimiento.



Agente Etiológico

El agente etiológico de la Leishmaniasis es un protozooario de la familia Trypanosomatidae, *Leishmania*. Es un parásito digenético, en su ciclo de vida se encuentran dos formas o estadios.

- Promastigote: la forma infectante, elongado, extracelular, alargada, se desarrolla y multiplica en el tracto digestivo de los insectos transmisores. De 20-30 μm , flagelado para su movilidad en el intestino de los insectos vectores.
- Amastigote: la forma replicativa, redondo u oval, carece de flagelo, intracelular, se encuentra en los macrófagos donde se dividen, mide de 2-5 μm

De acuerdo al lugar donde se desarrolla parásito en el tubo digestivo del vector, el género *Leishmania* se divide en dos subgéneros: *Leishmania* y *Viannia*. El primero se desarrolla en la parte anterior del píloro (desarrollo suprapilórico), en la unión del intestino medio y posterior. En *Viannia*, el parásito ocurre tanto en el intestino medio como posterior.

En el mundo han sido identificadas 22 especies de *Leishmania* patogénicas al humano; 15 de ellas están presentes en las Américas.

Las diferentes especies de *Leishmania* infectante y la respuesta inmune desencadenante por el hospedero influyen en las diferentes respuestas y manifestaciones clínicas y pueden variar desde formas benignas y autolimitantes de leishmaniasis cutánea hasta las formas más graves, como la leishmaniasis mucosa, cutánea difusa y visceral.

En México se han reportado tres especies:

Leishmania mexicana: produce las formas cutáneas y difusa, siendo la especie causal más frecuente.

Leishmania infantum: antes *L. chagasi*, produce la forma visceral y grave de esta parasitosis.

Leishmania braziliensis: es una especie que produce formas cutáneas y mucocutáneas.

Vector

Los transmisores de las Leishmaniasis son insectos hembras hematófagas pertenecientes a la familia Psychodidae, subfamilia Phlebotominae compuesto por seis géneros, pero *Lutzomyia* es el vector más importante en las Américas.

En México se reconocen como posibles responsables de la transmisión a once especies, las cuales varían en importancia de acuerdo a la localización geográfica de las zonas endémicas, a la especie de parásito que transmite y a la variedad clínica de la enfermedad que ha sido asociada a su presencia. La mayoría de éstas se encuentran en zonas selváticas o bosques tropicales pero existen especies que están localizadas en regiones áridas o semi-desérticas.

La biología de cada una de las diferentes especies de flebótomos es única y compleja, especialmente cuando se trata de factores relacionados con el período y el local de desarrollo de los estadios inmaduros. Los aspectos sobre reproducción, alimentación, dispersión y comportamiento que influyen directamente en la epidemiología de las leishmaniasis, deben estudiarse por especie porque pueden variar considerablemente.

Transmisores asociados a las variedades cutáneas o tegumentarias:

Lutzomyia olmeca olmeca (vector comprobado en México)
Lutzomyia anthophora
Lutzomyia cruciata (encontrada naturalmente infectada)
Lutzomyia diabolica (vector comprobado en la frontera EUA-México)
Lutzomyia gomezi
Lutzomyia panamensis
Lutzomyia ovallesi
Lutzomyia shannoni (encontrada naturalmente infectada)
Lutzomyia ylephiletor

Transmisores asociados a la variedad visceral:

Lutzomyia longipalpis
Lutzomyia evansi

Nombre Común: Mosca chiclera, la chiclera, papalotilla, palomilla.

Características:

- Metamorfosis completa, es decir que pasan por las fases de huevo, larva, pupa y adulto.
- Los adultos miden menos de 5 mm de longitud, tienen patas largas, alas ampliamente lanceoladas (sin venas cruzadas más allá de la base) y tórax giboso.
- Se reproducen en el suelo, áreas húmedas y sombreadas con la presencia de materia orgánica.
- Hembras antropofílicas

- Hembras se alimentan de sangre de animales y de humanos para realizar la oviposición.
- Los adultos miden aproximadamente 5 mm de longitud, patas largas, alas lanceoladas y tórax giboso.
- Presencia de densos pelos en las alas y el tórax.
- Son de hábitats variados, desde selva húmeda a regiones muy áridas.
- Tienen actividad crepuscular y nocturna, pero pueden estar activos durante el día.
- Su vuelo es corto, silencioso y en pequeños saltos

Reservorios

Esta parasitosis es considerada una zoonosis donde pequeños mamíferos silvestres y cánidos domésticos son reservorios importantes. En algunas zonas endémicas el hombre se ha convertido en reservorio accidental de la enfermedad (para LV y posiblemente LCD). En las zonas de LV el perro es un importante reservorio, a diferencia de las áreas endémicas de las otras variedades clínicas donde roedores, marsupiales y otros mamíferos son los principales reservorios.

Algunos reservorios silvestres confirmados son:

Didelphys marsupialis
Heteromys gaumeri
Neotoma micropus
Oryzomys melanosis
Ootylomys phyllotis
Peromyscus yucatanicus
Sigmodon hispidus

Ciclo de Transmisión y Biológico de la Leishmania

Etapas en el ser humano. La leishmaniasis es transmitida por la picadura de un insecto hematófago. El insecto inyecta en la sangre la forma infecciosa y flagelada del parásito llamadas promastigotes (1 en la figura). Posteriormente, el promastigote, al ser fagocitados por los macrófagos (2) del huésped, pierde su flagelo y se convierte en amastigote (3). Estos se multiplican en las células infectadas hasta romperla e invaden otros macrófagos y afectan a distintos tejidos, dependiendo en parte de la especie de *Leishmania* (4). Esto origina las manifestaciones clínicas de la leishmaniasis. En los casos de leishmaniasis cutánea localizada la infección se limita a la piel, pero en otras variedades clínicas los macrófagos infectados con parásitos se diseminan por toda la piel, mucosas o vísceras.

Doméstico-rural y doméstico-urbano: áreas de foco residuales, bosque primario o de colonización no reciente, en que los vectores llegan al peridomicilio, ingresan en las viviendas y transmiten la infección, pudiéndose adaptar o no en el peridomicilio.

Variedades y Principales Datos Clínicos

Considerando las Leishmaniosis según su perfil clínico patológico, pueden establecerse las siguientes formas clínicas:

- Leishmaniosis cutánea localizada (LCL) o úlcera de los chicleros.
- Leishmaniosis cutánea difusa (LCD).
- Leishmaniosis mucocutánea (LMC) o espundia.
- Leishmaniosis visceral (LV) o Kala-azar.

LEISHMANIOSIS CUTÁNEA LOCALIZADA (LCL)

Periodo de incubación: variable, desde dos semanas a seis meses o más.

Cuadro Clínico:

La enfermedad comienza casi siempre por una mácula en el sitio de la picadura que dura 1 a 2 días, la mácula evoluciona a pápula, que dura unos 4 días como promedio. La lesión continúa creciendo y se desarrolla un nódulo, el cual consiste en una masa dérmica que contiene macrófagos vacuolados con abundantes parásitos de Leishmania y un infiltrado linfocitario. Este persiste una o dos semanas, crecen de tamaño y ocurre necrosis en el centro de la reacción granulomatosa la cual es inducida por la respuesta inmune, dando como resultado una úlcera. La ulceración es indolora, redondeada, de fondo limpio, color rosado, tejido granuloso y bordes indurados. A menudo está cubierta por una costra serohemática, que al quitarla deja salir líquido no purulento. Cuando el parásito es eliminado, por una respuesta inmune efectiva o por acción del tratamiento específico, se inicia la resolución de la lesión, dando lugar la cicatrización.

La LCL se localiza predominantemente en miembros inferiores y superiores (60% de los casos); siguiendo en orden de frecuencia en los pabellones auriculares (30%), la cara y el tronco. La lesión puede curar espontáneamente en algunos meses o años excepto en pabellones

auriculares donde es crónica y progresiva, produciendo mutilaciones descritas como “úlceras de los chicleros”.

Las lesiones se encuentran en los sitios descubiertos, accesibles a los piquetes de los insectos transmisores y suelen ser únicas, aunque se dan casos de úlceras múltiples.

Es muy sugerente de LCL la presencia de una ulceración con las características descritas, de evolución muy lenta, resistente a la terapia no específica, así como que el enfermo tenga antecedentes de haber radicado o visitado alguna zona endémica semanas o meses antes.

LEISHMASIOSIS CÚTANEAS DIFUSA (LCD)

Periodo de incubación: variable igual que la LCL.

Cuadro Clínico:

Se inicia siempre por una pápula en la piel, que después de varios meses se disemina por contigüidad o vía linfática a sitios cercanos de la lesión inicial, para luego difundirse lentamente por las vías linfática o hemática a prácticamente toda la piel del organismo (con excepción de cuero cabelludo, axilas, palmas de las manos y plantas de los pies), donde se desarrolla en forma de nódulos hiperpigmentados o placas, con abundantes parásitos, que son más acentuadas en las salientes óseas. En México es común que afecte genitales y mucosas.

Es una forma grave y anérgica de la enfermedad que por efecto directo del parásito o por una condición inmunológica subyacente, impide que el hospedero responda en forma adecuada ante la infección. La intradermorreacción de Montenegro no es reactiva, no cura espontáneamente, se muestra francamente refractaria a la terapia, respuesta al tratamiento es transitoria con frecuentes recaídas. Además de México donde es causada por *L. mexicana*, es una forma frecuentemente reportada en Brasil, Venezuela y Colombia.

LEISHMANIOSIS MUCOCUTÁNEA (LMC).

Periodo de Incubación: desde una semana a varios meses.

Cuadro Clínico:

Poco frecuente en nuestro país. Es la extensión a las mucosas de una lesión de LC en la cara presentándose en forma simultánea con las lesiones cutáneas iniciales, o más raramente por metástasis invaden vía linfática o hemática las mucosas e incluso el cartílago, casi siempre tardíamente como sucede en la cavidad oro-nasal y la faringe, especialmente cuando los

enfermos han sido mal tratados. Esta se presenta varios meses o muchos años después de haber cicatrizado la forma cutánea.

Las lesiones nasales son las más frecuentes, con granuloma del tabique, hay sensación de obstrucción nasal, prurito o dolor, costras sero-hemáticas, rinorrea muco-sanguinolenta o hemorragia y posterior perforación con hundimiento de la nariz (nariz de tapir). Las mucosas comúnmente afectadas son: faringe, paladar, laringe y labio superior. El eritema, edema y la infiltración produce aumento del volumen de la pinta de la nariz y alas nasales, extendiéndose ocasionalmente más allá del surco nasogeniano y hasta las mejillas. En la fase final hay mutilación de tejidos.

El proceso puede extenderse al paladar en donde produce lesiones infiltrativas en el paladar blando y faringe; la úvula se infiltra, se hipertrofia y luego se amputa. Pese al poder destructivo, las lesiones no suelen ser muy dolorosas pero provoca graves destrucciones y mutilaciones afectando la calidad de vida del paciente ya que interfieren en la fonación y la deglución causando inanición.

No evolucionan a la cura espontáneamente. Son resistentes a la terapia convencional y las infecciones bacterianas secundarias son la causa más común de la muerte.

LEISHMANIOSIS VISCERAL (LV).

Periodo de Incubación: 10 días a 24 meses.

Cuadro Clínico:

Se caracteriza al inicio por fiebre intermitente, malestar general, pérdida de peso, anorexia, molestias en el hipocondrio derecho y pancitopenia, todo lo cual se va acentuando gradualmente. Los signos clínicos habituales son: esplenomegalia indolora a la presión, hepatomegalia moderada y linfadenopatía, palidez de las mucosas y pérdida de peso. En los casos avanzados suele haber oscurecimiento de la piel, caquexia y pelo quebradizo; la presentación de neumonía, diarrea mucosanguinolenta y tuberculosis pulmonar intercurrente, son a menudo causas directas de muerte. Afecta comúnmente a niños.

Basándose en los síntomas y signos clínicos, la diferenciación entre LV y otras causas de esplenomegalia acompañada de fiebre, particularmente las neoplasias mieloproliferativas, es bastante difícil y por lo tanto es necesario confirmar el diagnóstico por parasitología, serología o ambos.

II. DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD.

Las manifestaciones clínicas de las Leishmaniasis son muy amplias y se pueden confundir con otras etiologías por lo que el diagnóstico temprano por laboratorio permite el tratamiento específico oportuno y así controlar la evolución de la enfermedad.

El diagnóstico debe basarse en la clínica, datos epidemiológicos y estudios de laboratorio. Se dan a continuación algunas bases para el diagnóstico clínico y se especifican los exámenes que son procedentes para la confirmación del diagnóstico, de las formas clínicas existentes en México.

Diagnóstico Clínico

En caso de leishmaniasis cutánea localizada es relativamente fácil el diagnóstico clínico para el médico experimentado, quien con frecuencia suele acertar hasta en un 80% utilizando también los antecedentes epidemiológicos.

Diagnóstico de Laboratorio

Las herramientas diagnósticas para las leishmaniasis varían de acuerdo a las diferentes formas clínicas y debe hacerse para confirmar el caso probable.

Los métodos diagnósticos se clasifican en:

Métodos directos: Impronta, frotis o extendido, cultivo, biopsia y PCR.

Métodos indirectos: Inmunofluorescencia indirecta (IFI), Elisa, Inmunohistoquímica (IHQ) y Prueba de Montenegro (IDR).

La observación o aislamiento del agente causal es determinante. Sin embargo, no resulta sencillo ya que en lesiones antiguas, con excepción de la de LCD, el parásito es muy escaso por lo que en este tipo de estudios la inmunología juega un papel importante.

Métodos Directos

Permite la observación del parásito en la muestra obtenida del paciente. Esta puede ser la observación de amastigotes en improntas o biopsias de material obtenido de la piel o mucosas o de promastigotes en cultivo de material aspirado de lesiones. También se puede detectar material genético (ADN o ARN) del parásito por medio de técnicas como la reacción de la cadena de polimerasa (PCR).

La sensibilidad de estos métodos es variable⁴.

TECNICAS DIAGNOSTICAS

Método Diagnóstico	LCL	LCD	LMC	LV
Impronta	++	++++	++	NR
Biopsia	++	++++	++	++++
Extendido de médula ósea	NR	NR	NR	+++
Aislamiento en animales y medios de cultivo	+++	++++	++	++
Serología	++	++++	++	++++
IDR	++++	Negativo	+++	Negativo

NR = no se realiza
++ = sensibilidad del 50–60%
+++ = sensibilidad del 60–90%
++++ = sensibilidad del 90-100% (valor diagnóstico importante)

Estudios Parasitológicos

En México lo habitual es practicar una impronta, usando una laminilla portaobjetos nueva, limpia y desengrasada, que se aplica una o varias veces sobre el borde activo de la úlcera, previa asepsia y levantamiento de la costra (en caso necesario), para obtener el exudado. Estas impresiones se dejan secar y se fijan con metanol absoluto, tiñéndose después con Giemsa para su observación microscópica.

En los primeros meses de evolución de LCL, el parásito puede observarse en impronta de las lesiones volviéndose difícil en casos antiguos. Por lo anterior se debe seleccionar la lesión con menor tiempo de evolución y sin infección. Tiene una sensibilidad de 50-60 % para LC pero puede aumentar por la experiencia de quien la toma. Es un procedimiento fácil, económico y rápido de realizar.

Igualmente útil es la realización de una biopsia, es un procedimiento más costoso y más demorado por ser un estudio histopatológico.

Consiste en la toma de una pequeña porción del margen activo de la lesión, previa asepsia y anestesia local con lidocaína al 2% vía subcutánea. Se recomienda que antes de su fijación con formol al 10% se hagan improntas, haciendo varias impresiones de la muestra en la laminilla. La biopsia procesada y teñida en la forma habitual, tiene una sensibilidad hasta del 80%, mayor sensibilidad posee el aspirado de la lesión (microbiopsia) colocada y teñida con Giemsa sobre una laminilla.

En cuanto a la LCD los procedimientos anteriores brindan resultados positivos casi en el 100% de los casos.

En LMC puede comprobarse la presencia de *Leishmania* mediante los métodos antes anotados con una sensibilidad del 50-60%.

En el caso de la LV siempre se debe conducir al paciente a un nivel hospitalario donde se pueda realizar una aspiración (microbiopsia) de médula ósea o de bazo, tomando en cuenta los mejores cuidados de asepsia en la toma de la muestra y en la inoculación de los tubos. La biopsia de bazo, aunque menos recomendable por su peligrosidad, tiene una sensibilidad cercana al 100%, mientras que el de médula ósea oscila entre el 80-90 %.

Cultivo.

El cultivo del agente etiológico es determinante para el diagnóstico de la leishmaniosis ya que en ello se puede observar fase de promastigote del parásito. Es un procedimiento más costoso y requiere de tiempo para el diagnóstico (30 días o más) y tiene 70% de sensibilidad. Su mayor utilidad es para el estudio epidemiológico y conocer que especies y subespecies de *Leishmania* están involucradas.

Son útiles para el diagnóstico los cultivos en el medio bifásico Novy-Nicolle-Mac Neal (NNN), el cual se inocula con las muestras obtenidas por raspado, biopsia, microbiopsia de lesiones o médula ósea y se incuban entre 24 y 26%. Estos se revisan cada semana al microscopio en busca de promastigotes.

Inoculación en animales de laboratorio.

Al igual que el cultivo, la inoculación de animales resulta inconveniente debido al largo tiempo de incubación que tiene cada aislado de *Leishmania*, el cual puede prolongarse hasta un año. Así mismo, este es un excelente método para el aislamiento del parásito y su posterior tipificación.

La inoculación se realiza en animales susceptibles como son el hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) y los ratones singénicos de la cepa BALB/c. Los animales se inoculan con las muestras obtenidas por raspado, biopsia, microbiopsia de la lesión o con médula ósea u otras vísceras.

PCR, reacción de la cadena de polimerasa

La técnica consiste en amplificar una región específica del ADN del parásito mediante el uso de secuencias de oligonucleótidos que funcionan como indicadores para la extensión de las nuevas cadenas de ADN que se amplifican.

Es un procedimiento costoso, cuya sensibilidad y especificidad es elevada si se utilizan primers apropiados. El material que se utiliza se puede obtener de raspado o aspirado de la lesión, biopsia o sangre total.

Métodos Indirectos

Se basan en la detección de anticuerpos específicos contra *Leishmania*. Tiene sensibilidad y especificidad variable según forma clínica. Ofrecen apoyo diagnóstico para las leishmaniasis y en caso de LV son determinantes, se recomiendan son: Inmunofluorescencia indirecta (IFI), la prueba ELISA y la Intradermoreacción con Leishmanina (IDR) o Reacción de Montenegro.

Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Este método detecta anticuerpos específicos contra *Leishmaniasis*. La toma de muestra es por medio de recolección de sangre, con posterior separación del suero.

El Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE) tiene implementada la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) que consiste en emplear como antígeno un cultivo de *Leishmania mexicana* y un conjugado fluoresceinado de anti-IgG humanas. Se llevan a cabo diluciones del suero del sospechoso que se ponen en contacto con el antígeno y el conjugado. Se leen con el microscopio de fluorescencia, todo suero con título $\geq 1:4$ se considera positivo para LCL y LMC y $\geq 1:32$ para la LV.

ELISA

Detecta anticuerpos específicos contra *Leishmania* en sangre. Se realiza en laboratorio y la lectura de la prueba se hace en un espectrofotómetro. La muestra se considera positiva cuando la densidad óptica es igual o superior a la densidad óptica media de los sueros controles negativos más dos desviaciones estándar.

Las pruebas serológicas tienen una sensibilidad del 90-100 % en LCD y LV, mientras que para LMC sólo es sensible en un 50-60 %. No se recomienda para LCL.

Intradermoreacción con Leishmanina (IDR) o Reacción de Montenegro

Mide la respuesta de inmunidad celular retardada. Es un valioso auxiliar diagnóstico en apoyo de la clínica durante el trabajo de campo, junto con ésta, llega a tener una sensibilidad de 95% para los casos de LCL y de 80-90% para los casos de LMC. Desafortunadamente, no permite diferenciar infección pasada o presente. Es negativa en los casos de LCD y en los casos activos de LV, volviéndose positiva en ésta última después del tratamiento.

También puede ser útiles para determinar la epidemiología de la leishmaniosis en las poblaciones estudiadas.

La aplicación de la IDR es similar a la prueba del PPD o reacción de Mantoux. Después de la asepsia de la piel del antebrazo, se inyecta por vía intradérmica 0.1 ml de antígeno de Montenegro o Leishmania.

Se lee a las 48-72 horas después de su aplicación, midiendo la induración producida en el sitio de la inyección por el método del bolígrafo.

Una reacción positiva indica que el paciente ha tenido contacto con la leishmania; es una reacción de hipersensibilidad diferida a la leishmanina actuando como antígeno. La prueba resulta positiva con una sensibilidad del 95 % en caso de **LCL** y con menor sensibilidad (85-90 %) en **LMC**; resultando negativa en **LV** activa (se vuelve positiva cuando hay curación) y en **LCD**.

Para saber más sobre técnicas diagnósticas para Leishmaniasis favor de consultar: Lineamientos para la vigilancia por laboratorio de Leishmaniasis, Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos InDRE-RNLSP 2012, México D.F.

II.I. Flujograma general para el diagnóstico de Leishmaniasis cutánea

III. VIGILANCIA EPIDEMIOLOGIA

Los casos se reportaran a la jurisdicción sanitaria correspondiente y/o a la Jefatura de Servicios de Salud, de la entidad federativa que se trate, para que se notifique a la Dirección General Adjunta de Epidemiología y a la Coordinación de Vigilancia Epidemiológica. Todo caso confirmado amerita estudio epidemiológico completo para precisar el área de transmisión, estacionalidad de la enfermedad, edad y sexo de los pacientes, también se buscará otros casos en el grupo familiar, en la comunidad o en área. Otra información útil para la vigilancia: los datos relativos a la residencia, viajes, ocupación, y actividades de asueto, así como las encuestas entomológicas.

Todos los casos de leishmaniosis son de notificación inmediata en caso de brote.

La notificación de las LCD, LMC y LV es semanal y se realizará a través de la forma “Informe Semanal de Casos Nuevos de Enfermedades”.²

La LCL es de notificación mensual independiente de su información inmediata cuando corresponda, que deberá realizarse mediante el llenado de la forma “Informe Mensual de Casos Nuevos de Enfermedades”.²

Son objetos de estudio epidemiológico los casos o defunciones por leishmaniosis en todas sus formas clínicas, se llenará el formato “Estudio Epidemiológico de Caso o Defunción”.²

De acuerdo a la situación epidemiológica del país todos los casos de leishmaniosis son motivo de registro nominal, para conocer el comportamiento epidemiológico de la enfermedad y contribuir a la evaluación de las acciones para su prevención y control. El registro nominal se elabora a partir de la información generada en las unidades operativas y se transmite al nivel inmediato superior de conformidad con los niveles técnico-administrativos del Sistema Nacional de Salud.

IV. TRATAMIENTO

Las medidas terapéuticas para leishmaniosis incluyen el empleo de fármacos específicos y la termoterapia, señalándose a continuación las características más importantes de los medicamentos y la forma de utilizarlos.

La terapia de las leishmaniosis es de acuerdo a la forma clínica y las características del paciente, en especial su estado nutricional y si afronta problemas cardíacos, máxime si se prevé la necesidad de un tratamiento más prolongado que lo habitual.

Los medicamentos considerados de elección en leishmaniosis son los antimoniales pentavalentes para uso parenteral, conociéndose actualmente dos diferentes sustancias de utilidad comprobada: el antimonio de meglumina (Glucantime) y el estibogluconato de sodio (Pentostam), químicamente similares y de toxicidad y eficacia análogas. Son de rápida excreción por las vías urinarias y de poco efecto acumulativo. Las dosis recomendadas son 20 mg de la sal base (equivalente a 60 mg ó 0.2 ml) diarios por kg de peso durante 20 días consecutivos; sin exceder de tres gramos diarios equivalentes a 10 ml de glucantime y a 8.5 ml de pentostam, independientemente de que el enfermo sobrepase los 50 kg de peso.

Proporcionalmente a su peso los niños necesitan más antimonio que los adultos y lo toleran mejor.

Los antimoniales tienen acción tóxica, que generalmente se manifiesta por anorexia, náusea, vómito, malestar general, cefalea, mialgias, polineuritis y letargia. Pocas veces se evidencia lesión renal. Las contraindicaciones para el empleo de los antimoniales pentavalentes son las

siguientes: tuberculosis pulmonar, insuficiencia hepática, pancreática o renal graves y severa alteración de la función cardiaca.

La solución de antimoniato de meglumina, contiene 30% de antimonio pentavalente (425 mg/ampolleta de 5 ml), para inyección intramuscular o intravenosa.

La solución de estibogluconato de sodio contiene alrededor de 10% de antimonio pentavalente (100 mg/ampolleta de 5ml) y se emplea también por vía parenteral. Hasta la fecha, ninguno de dichos medicamentos se produce en México.

Si en un caso bajo tratamiento se presentan manifestaciones tóxicas, se sostendrá la terapia mientras los síntomas y/o signos sean leves, pero se interrumpirá si el cuadro se acentúa o se torna severo.

1.- Antimonio

En el caso de la LCL con lesión única es recomendable la aplicación local de los antimoniales en la lesión y su contorno. Se utilizará una aguja fina (26 ó 26½), la infiltración ha de hacerse completa y la dosis será la necesaria para producir descoloramiento total de la base de la lesión. El tratamiento se aplicará una o dos veces por semana durante un mes.

Cuando las lesiones son múltiples, inflamadas o ulceradas, en lugares donde la cicatrización pueda producir invalidez (por ejemplo, en muñecas o codos) o desfiguraciones, es conveniente aplicar tratamiento diario por vía parenteral.

En LV se aplicará la misma dosis parenteral señalada para la LCL por un mínimo de 30 días. Todo caso deberá tratarse a nivel hospitalario y la oportunidad del tratamiento es decisiva para la curación.

En LCD y LMC se aplicará el mismo tratamiento que las formas clínicas anteriores. Si el resultado del esquema anterior no es satisfactorio se ministrará nifurtimox (Lampit) a la dosis diaria de 7 mg por kg de peso corporal repartida en dos tomas diarias durante 30 días.

El tratamiento de los enfermos de leishmaniosis deberá estar sujeto a un estricto control y vigilancia médica para detectar y tratar los posibles efectos tóxicos antes mencionados.

2. Termocirugía

Es el calor localizado y controlado con precisión, generado mediante ondas de radiofrecuencia por un campo de energía localizada [localized, current field-radio frequency (LCF-RF)], para el tratamiento de las LC.

Esta técnica requiere de un aparato “Thermosurgery“, y se aplica, previa asepsia y anestesia local, sobre la lesión por un período de 30 segundos durante el cual mantendrá una temperatura de 50°C.

Es necesario cubrir el contorno total de la lesión por lo que se aplica varias veces en una sola sesión. En la mayoría de los enfermos sólo es necesaria una sesión para lograr curación. Se recomienda mantener el área limpia. Tiene una eficacia de 90% en los casos de LCL y coadyuva eficazmente en el tratamiento de las otras LC.

3. Calor local

Se ha observado que LCL y LCD responden a la terapia con calor. Así la aplicación local de vapor de agua, 2 veces al día por 15 a 20 días, suele producir buenos efectos terapéuticos. La aplicación de vapor de agua a las úlceras o nódulos leishmaniásicos debe hacerse con cuidado para evitar quemaduras en el paciente.

Un mecanismo fácil y sencillo para ello, consiste en poner a funcionar una tetera tapada, con agua. Al pico de la tetera se conecta un tubo de hule o plástico de 70 a 90 cm de largo, por el que debe salir el vapor caliente del recipiente. Cuando la tetera está vaporizando, el extremo del tubo se aproxima a un centímetro de distancia de la lesión, intermitentemente, por 20 a 30 minutos. Cuando el enfermo indica molestia, se retira el tubo por unos segundos y después se vuelve a aproximar a la lesión. El vapor debe estar a una temperatura aproximada de 50° C.

También pueden servir las botellas tapadas con agua caliente (50–60 °C) colocadas sobre la lesión de 15 a 20 minutos, 2 o 3 veces al día por 15 a 20 días.

4.- Otros Tratamientos

El Nifurtimox (Lampit), un medicamento oral antichagásico, ha mostrado ser útil para LMC y LCD a la dosis ya mencionada.

En caso de rebeldía a los antimoniales en LV o LMC, pueden emplearse los fármacos de segunda línea: anfotericina B y pentamidina. La anfotericina B se administra cada tercer día,

mediante infusión intravenosa en solución glucosada al 5%, comenzando con una dosis inicial de 5-10 mg, que se aumentan paulatinamente 5 mg en cada administración, hasta alcanzar una dosis de 0.5-1 mg por kg de peso corporal, Su duración dependerá de la respuesta. No deben aplicarse más de 3 gr.

La pentamidina debe administrarse en dosis de 4 mg por kg de peso corporal, tres veces por semana, durante un período de entre 5 y 25 semanas.

Los tratamientos deben hacerse siempre en el hospital a causa de las frecuentes reacciones de intolerancia y la toxicidad renal, hepática, pancreática y cardíaca de los medicamentos.

5.- Seguimiento y Control de Casos Tratados.

Tratándose de un padecimiento de evolución crónica y ante la inseguridad del resultado de tratamiento médico, los enfermos de Leishmaniosis deben tener un seguimiento mediante un control clínico y de laboratorio, que permita determinar si ha habido curación.

Si completado el tratamiento para LCL, este resulta infructuoso, se prolongará la ministración del compuesto antimonial por 10 días más. Treinta días después, se practicarán examen clínico y estudio parasitológico de la lesión, como ya se indicó; si uno u otro o ambos exámenes indican que el proceso sigue activo, se repetirá un nuevo esquema de tratamiento con antimoniales, siempre y cuando no se tenga equipo de termoterapia, que en la actualidad es el método de elección para tratar esta forma clínica de leishmaniosis.

Al completarse los 30 días del ciclo terapéutico para LV con antimoniales, se hará nuevo estudio serológico. Si éste avala la curación, se hará vigilancia epidemiológica del paciente.

Si al terminarse la terapia inicial los exámenes revelan infección leishmaniásica activa, se dará otra serie de antimoniales, y se procederá a la vigilancia epidemiológica.

Si el tratamiento con antimoniales falla para LMC, puede aplicarse un segundo esquema 15 días después. Si con ambos esquemas no mejoran las lesiones se ministrará nifurtimox, de ser necesario se repetirán dos tratamientos más con antimoniales y nifurtimox a las dosis ya señaladas. Se realizarán estudios parasitológicos para avalar la curación.

V. ESTUDIOS ENTOMOLOGICOS

Los estudios entomológicos son necesarios en el programa de vectores para obtener diferentes datos sobre la biología del vector y así poder determinar entre otras cosas las acciones a realizar como medidas preventivas y de control.

Las actividades entomológicas recomendadas para cada estado serán según el riesgo relativo de transmisión de *Leishmania* spp.

Cuando se hayan notificado casos de leishmaniasis en algunas localidades y se programen encuestas entomológicas, se deberán realizar a lo largo de un año o en forma permanente con una periodicidad de 3 meses, usando los formatos para este fin. También se puede aprovechar el esfuerzo de captura de anofelinos para paludismo, colectando los flebótomos que sean atraídos.

Los datos a obtener por medio de la entomología son los siguientes:

- Especies presentes en el área
- Horario de actividad
- Densidad de imagos (Promedio de picadura hora hombre)
- Preferencias por lugares de refugio

Metodología:

Captura con cebo humano. Es similar a la efectuada para estudios de paludismo; los entomólogos se ubican en lugares protegidos por la vegetación a más de 20 m de las viviendas (captura silvestre) donde la población realice alguna actividad, en el peridomicilio (fuera de la casa y a no más de 20 m) o en el interior del domicilio (intradomiciliaria). Las colectas deben efectuarse desde poco antes del crepúsculo hasta al menos las 23 horas utilizando el tubo de captura (capturador de Castro) o el tubo con cloroformo y los datos se registran en el formato **SIVA 0403003**.

La técnica de cebo humano consiste en exponer las partes inferiores y superiores del cuerpo (pies y tórax) a la acción hematófaga de los flebótomos, a la hora en que dichos organismos empiezan su actividad (precrepuscular y al oscurecer) los flebótomos serán colectados con un tubo capturador además de que el entomólogo deberá contar con lámpara de mano y vasos encerados con tul en la parte de arriba en donde depositara los insectos colectados.

Los ejemplares se depositarán en frascos por hora de captura y se preservarán en etanol al 70 %. El material completo y debidamente etiquetado deberá ser enviado al Departamento de

Entomología del INDRE, con el formato único de envío de muestras entomológicas y copia del formato de captura **SIVA 0403003**.

Captura en sitios de reposo. Durante el día, el personal puede realizar la búsqueda de ejemplares en posibles sitios de reposo (raíces y troncos de árboles, huecos entre las rocas, nidos de mamíferos, cuevas, etc.). Los ejemplares se preservarán igual que en el caso anterior y los datos se registrarán en el formato **SIVA 0403003**.

Captura con trampas. Existe una amplia variedad de trampas (de luz, para el vuelo, pegajosas, con animales, etc.) que se podrían utilizar para la captura de flebótomos adultos pero la eficacia de estas varía según la especie en estudio, por lo tanto se utilizan estas como segunda opción. Los datos obtenidos con trampas se deberán registrar en el formato **SIVA 0403002**.

Se obtiene el porcentaje de individuos que se asocian a cada ambiente. Estos índices solo son comparables entre sí, si se ha realizado todos los estudios en una misma localidad, obteniéndose el grado de domiciliación de las especies (previamente identificadas), lo que puede ser la base para el tipo de intervención antivectorial a ser empleada.

Con estudios periódicos (3 o 4 al año) y sistemáticos, como se ha indicado, es posible graficar la distribución horaria de actividad hematófaga y la densidad poblacional relativa por especie en el año. Lo que permitiría desarrollar métodos de protección individual de la población y establecer épocas del año en las que debe reforzar la búsqueda de casos de leishmaniosis y la prevención de las picaduras de flebótomos.

El material completo y debidamente etiquetado deberá ser enviado al Departamento de Entomología del INDRE, con el formato único de envío de muestras entomológicas y copia del formato de captura **SIVA 0403002**.

VI. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL

Los conocimientos actuales sobre las leishmaniosis, no ofrecen alternativas verdaderamente eficaces en métodos de lucha contra la parasitosis y esto ocurre en la panorámica mundial del padecimiento. En México donde los estudios sobre reservorios y vectores de la enfermedad, son escasos, existen menos bases firmes para implementar medidas efectivas que reduzcan en forma notoria la transmisión. Por lo anterior, los programas de prevención y control de leishmaniosis se sustentan en las siguientes bases:

1) Análisis de la Información

Para planificar las actividades de prevención y control es importante analizar toda la información disponible sobre casos humanos, huéspedes reservorios, flebótomos vectores, y las medidas de control aplicadas.

2) Educación a la Población

Se debe mantener informada a la población de las áreas afectadas sobre el problema pidiéndole además su participación para que evite la picadura de los flebótomos mediante el uso de mosquiteros de malla fina en puertas y ventanas y la aplicación de repelentes. Su cooperación ayudará al médico epidemiólogo a precisar el área donde se esté llevando a cabo la transmisión de la enfermedad así como la notificación de casos nuevos.

Se sensibilizará a la comunidad por medio de acciones educativas como son, pláticas a personas clave y grupos, mensajes escritos (volantes, trípticos, etc.), u orales por aparatos de sonido y/o visitas domiciliarias, estas actividades serán llevadas a cabo por el personal de la unidad médica (médico, enfermera, promotor, etc.). Se programará cuatro pláticas por año por localidad positiva, reforzándose en caso de ser necesario.

3) Vigilancia Epidemiológica

a.- Detección oportuna de casos

La finalidad de la detección oportuna de casos es definir la importancia de las leishmaniosis en términos tanto cuantitativos como geográficos.

En áreas donde se tenga antecedentes de casos y en aquellas propicias para que los haya, al personal médico de las unidades médicas del SNS se les capacitará en los aspectos más relevantes de las leishmaniosis y se les advertirá sobre posibilidades de la presencia de casos para que sean captados a través de la consulta diaria. Lo anterior para que dicho personal ante cualquier caso sospechoso realice y/o promueva los estudios clínicos, epidemiológicos y de laboratorio que correspondan para confirmar el diagnóstico.

b.- Búsqueda Intencionada de Casos

Cuando se informe un caso o se muestre alta endemia en alguna localidad es de gran valor que la unidad médica realice una encuesta general, tanto clínica como mediante intradermoreacción con leishmanina para identificar casos de infección y enfermedad, promocionando simultáneamente la asistencia de pacientes al servicio de salud o lugar habilitado como clínica para su tratamiento.

Si no se cuenta con el servicio citado; se preguntará a los habitantes sobre los casos conocidos por ellos. La lista de sospechosos se dará a la unidad médica más cercana para su diagnóstico futuro y tratamiento oportuno.

Con los casos descubiertos es conveniente elaborar mapas epidemiológicos para delimitar las áreas endémicas y estratificar localidades según el número de casos.

Conviene programar las encuestas de manera que coincidan con la recrudescencia estacional de la enfermedad en la localidad.

4) Vigilancia Clínica

a.- Tratamiento de Casos

El médico ministrará el tratamiento adecuado a los enfermos encontrados, realizando también el seguimiento que sea pertinente, para conocer si ocurren recaídas, fracasos terapéuticos o efectos secundarios de los medicamentos y la termoterapia.

b.- Seguimiento y Control de Casos

Se mantendrá un seguimiento de todos los casos de LCL, LMC y LV hasta su curación y se vigilará la evolución clínica de los casos de LCD.

5) Actividades Entomológicas

Se deben de realizar estudios entomológicos encaminados básicamente al conocimiento de la bionomía de flebótomos para una mejor programación de las actividades de control.

Las actividades entomológicas son:

a.- Encuesta entomológica de adultos mediante:

- 1) captura con cebo humano;
- 2) búsqueda en sitios de reposo;
- 3) trampeo.

b.- Identificación taxonómica de flebótomos.

c.- Determinación de factores entomológicos de riesgo.

6) Ordenamiento del Medio

Las medidas de manejo del medio pueden ayudar a una reducción del contacto hombre-vector, estas pueden ser:

a.- La remoción de desechos, basura y malezas en el peridomicilio, destrucción de madrigueras de animales que estén cerca de las casas.

b.- Chapeo del domicilio

c.- Construir los asentamientos humanos o deforestar alrededor del poblado a distancias seguras más allá del rango de vuelo (300 m aproximadamente) y del hábitat de los flebótomos, siempre y cuando esto sea posible.

7) Uso de Insecticidas

Los insecticidas juegan un papel importante en el control de vectores y se utilizarán siempre y cuando los estudios entomológicos muestren altas densidades alrededor y dentro de las viviendas.

Debido al poco conocimiento que tenemos de los flebótomos sobre todo en su fase larval, el control químico estará enfocado al adulto del vector en espera de reducir la densidad de éstos en las localidades donde exista transmisión.

a.- Rociado Domiciliario

Cuando los estudios entomológicos demuestren la entrada y reposo de los flebótomos en el domicilio se utilizará misma metodología e insecticidas que para Paludismo.

El Diazinón 40 g/l (4%) puede usarse para el tratamiento de la basura aplicándose una vez por semana durante 4 meses.

b.- Nebulización Espacial

En localidades con transmisión o brotes epidémicos simultáneamente al rociado domiciliario se aplica niebla fría siguiendo la misma metodología e insecticidas que para Paludismo.

En los refugios naturales de los mosquitos, la nebulización se efectúa en el horario de reposo de los flebótomos.

Bibliografía

1. Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, Para la vigilancia epidemiológica.
2. World Health Organization technical reports serious 949. Control of the leishmaniasis: report of the meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010.
3. InDRE-RNLSP. Lineamientos para la vigilancia por laboratorio de Leishmaniasis, Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, México D.F. 2012.
4. Secretaria de Salud. Dirección general de Epidemiología. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Vectores. Septiembre 2012