

Universidad Nacional
Sistema de Estudios de Postgrado
Postgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales



Distribución espacial de los casos notificados como leishmaniasis e identificación de las especies de *Lutzomyia* (Díptera: *Psychodidae*) infectadas naturalmente en el cantón de Talamanca, Costa Rica.

Wilfredo Sosa Ochoa

Sustentante

Marco Vinicio Herrero Ph.D.

Tutor

Heredia, octubre del 2010

Tesis sometida a consideración del Tribunal Examinador del Postgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales, para optar al grado de *Magister Scientiae* en Enfermedades Tropicales.

Distribución espacial de los casos notificados como leishmaniasis e identificación de las especies de *Lutzomyia* (Díptera: *Psychodidae*) infectadas naturalmente en el cantón de Talamanca, Costa Rica.

Wilfredo Sosa Ochoa

Tesis sometida a consideración del Tribunal Examinador del Postgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales, para optar al grado de *Magister Scientiae* en Enfermedades Tropicales.

Miembros del Tribunal Examinador

Víctor Cartín Leiva, Ph.D.

Representante Consejo Central de Postgrado

Sandra Estrada König, M.Sc.

Coordinadora PCVET

Marco Vinicio Herrero, Ph.D.

Tutor

Andrea Urbina Villalobos, M.Sc.

Lectora

Silvia Argüello Vargas, M.Sc.

Lectora

Wilfredo Sosa Ochoa

Sustentante

Agradecimientos

A las personas que de alguna manera aportaron tiempo o conocimiento para la realización de este proyecto de investigación, especialmente al Dr. Rodrigo Marín, Dr. Pierre Mainsou, Manuel Gutiérrez, Víctor Blanco, Marcos Aguirre, David Guerra, Rafael Cardenas, Yamil Vallejos, Arturo Bravo, miembros de la Región Huetar Atlántica del Ministerio de Salud Pública de Costa Rica.

A Marco Vinicio Herrero PhD, Andrea Urbina M.Sc y Silvia Arguello M.Sc por toda su colaboración durante la realización de esta investigación.

Al Sr. Rodolfo Pereira, por su increíble colaboración en el aprendizaje en la captura de flebotomos.

Al personal del laboratorio de parasitología, por su excelente trato. A Ana Jimenez M.Sc. Jorge, Jackeline Oliveira PhD y Victor Montenegro PhD muchas gracias.

A Jessica, Gerardo, José Luis, Judyana, Yamil, Tania, Bessy, Francisco, Francis y Andrea por acompañarme durante este tiempo de aprendizaje.

Al personal administrativo del PCVET y del IRET por el apoyo en la logística durante la realización de esta investigación.

Al Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD) por el financiamiento a los estudios y realización de esta tesis de maestría en Costa Rica.

Dedicatoria

A Dios, a mis padres
y especialmente a mi esposa

Índice General

Capítulo 1

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Introducción general..... | 1 |
| 1.2 Marco teórico..... | 2 |
| 1.2.1 El Vector | 2 |
| 1.2.2 Criterios de Incriminación de Vectores | 4 |
| 1.2.3 Infecciones naturales de <i>Lutzomyia</i> con parásitos del género <i>Leishmania</i> | 6 |
| 1.2.4 El agente y las manifestaciones clínicas..... | 7 |
| 1.2.5 Epidemiología de la Leishmaniasis | 9 |
| 1.2.6 Los Sistemas de Información Geográfica (SIG)..... | 11 |
| 1.2.7 Bibliografía | 13 |

Capítulo 2

Distribución espacial de los casos notificados como leishmaniasis en el área de salud de Talamanca, Limón, Costa Rica (2008)

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Resumen | 17 |
| Abstract | 17 |
| 2.1 Introducción..... | 18 |
| 2.2 Metodología..... | 19 |
| 2.2.1 Definición de Caso | 19 |
| 2.2.2 Tipo de estudio..... | 20 |
| 2.2.3 Localización y demografía del área de estudio..... | 20 |
| 2.2.4 Caracterización Macroambiental del Cantón de Talamanca | 21 |
| 2.2.5 Recolección de registros | 21 |
| 2.2.6 Distribución geográfica de los casos de leishmaniasis..... | 22 |
| 2.2.7 Análisis estadístico y espacial..... | 22 |
| 2.3 Resultados Obtenidos..... | 23 |
| 2.3.1 Incidencia de casos notificados como leishmaniasis cutánea durante el año 2008 en el área de salud de Talamanca | 23 |
| 2.3.2 Identificación de EBAIS con mayor incidencia en el Cantón de Talamanca, Limón | 25 |
| 2.3.3 Caracterización macroambiental del Cantón de Talamanca | 26 |
| 2.3.4 Discusión..... | 28 |
| 2.3.5 Conclusiones..... | 29 |
| 2.3.6 Recomendaciones..... | 29 |
| 2.3.7 Literatura Citada..... | 30 |

Capítulo 3

Caracterización del hábitat e identificación de especies de *Lutzomyia* (Diptera: *Psychodidae*) infectadas naturalmente con parásitos del género *Leishmania* sp., del complejo *Leishmania braziliensis* y *Leishmania panamensis* en Amubri, cantón de Talamanca (Costa Rica).

| | |
|-----------------------------|----|
| Resumen | 32 |
| Abstract | 32 |
| 3.1 Introducción..... | 33 |
| 3.2 Metodología..... | 34 |
| 3.2.1 Área de estudio | 34 |
| 3.2.2 Tipo de estudio..... | 34 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.3 Tipo de muestreo | 34 |
| 3.2.4 Captura de <i>Lutzomyia</i> en domicilios humanos | 34 |
| 3.2.5 Conservación de las <i>Lutzomyia</i> | 35 |
| 3.2.6 Identificación taxonómica de las <i>Lutzomyia</i> | 35 |
| 3.2.7 Agrupación por especie y sexo | 36 |
| 3.2.8 Detección de especies infectadas con parásitos del género <i>Leishmania spp.</i> , del complejo <i>L. braziliensis</i> y <i>Leishmania panamensis</i> por medio de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) | 36 |
| 3.2.9 Caracterización macro-ambiental del área de estudio..... | 37 |
| 3.2.10 Caracterización micro-ambiental de las casas con presencia de <i>Lutzomyia</i> : | 38 |
| 3.3 Resultados Obtenidos..... | 38 |
| 3.3.1 Especies de <i>Lutzomyia</i> encontradas dentro de los domicilios..... | 38 |
| 3.3.2 Distribución geográfica de las especies identificadas en la localidad de Amubri | 41 |
| 3.3.3 Infecciones naturales por <i>Leishmania spp.</i> , complejo <i>ishmania braziliensis</i> y <i>Leishmania panamensis</i> en individuos del género <i>Lutzomyia</i> capturados | 45 |
| 3.3.4 Caracterización macro-ambiental del área de estudio:..... | 47 |
| 3.3.5 Características micro-ambientales de las casas muestreadas en la localidad de Amubri | 47 |
| 3.3.6 Discusión..... | 49 |
| 3.3.7 Conclusiones..... | 52 |
| 3.3.8 Recomendaciones..... | 53 |
| 3.3.9 Literatura Citada..... | 54 |

Capítulo 4.

| | |
|---------------------------------|----|
| Discusión General | 57 |
| Conclusiones Generales | 61 |
| Recomendaciones Generales | 62 |

Capítulo 5. Anexos

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------|----|
| Anexo 1. Lámpara tipo CDC (Communicable Disease Center) totalmente armada..... | 64 |
| Anexo 2. Encuestai. | 65 |

Índice de Cuadros

Capítulo 1

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| Cuadro 1. Especies antropófilas de <i>Lutzomyia</i> reportadas en Costa Rica y que han sido reportadas con infecciones naturales en el Continente Americano..... | 6 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|

Capítulo 2

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 1. Casos notificados de leishmaniasis en el área de salud de Talamanca, 2008. Distribución por sexo..... | 24 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 2. Prueba de significancia de Kruskal Wallis comparando la incidencia anual entre cada EBAIS del área de salud de Talamanca, Limón. 2008..... | 26 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 3. Características macroambientales del Cantón de Talamanca, Limón, Costa Rica..... | 27 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

Capítulo 3

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 1. Abundancia relativa y hembras capturadas con sangre de las especies de <i>Lutzomyia</i> en la localidad de Amubri..... | 40 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 2. Distribución del número de individuos capturados clasificados según la casa de captura, localidad, especie y sexo en la localidad de Amubri, Limón, Talamanca..... | 42 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 3. Detección de infección natural en grupos de individuos del género <i>Lutzomyia</i> en la localidad de Amubri por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)..... | 48 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 4. Características macroambientales del área de Amubri, Talamanca, Costa Rica..... | 50 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 5. Frecuencias de las variables microambientales de las casas con presencia y ausencia de individuos del género <i>Lutzomyia</i> en la localidad de Amubri..... | 51 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

Índice de Figuras

Capítulo 1

| | |
|-------------------------------------------------------|---|
| Figura 1: Ciclo Biológico <i>Lutzomyia spp.</i> | 4 |
|-------------------------------------------------------|---|

Capítulo 2

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Incidencia de casos notificados como leishmaniasis cutánea en los EBAIS del área de salud de Talamanca. 2008..... | 23 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 2. Incidencia anual de los casos notificados de leishmaniasis / 1000 habitantes según EBAIS y sexo, área de salud de Talamanca, 2008..... | 24 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 3. Incidencia anual por EBAIS en el área de salud de Talamanca, Limón, Costa Rica..... | 25 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

Capítulo 3

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Distribución de número de especies en cada sitio de captura..... | 41 |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 2. Distribución geográfica de <i>Lu. panamensis</i> en la villa de Amubri..... | 42 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 3. Distribución geográfica de <i>Lu. gomezi</i> en la villa de Amubri..... | 43 |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 4. Distribución geográfica de <i>Lu. ylephiletor</i> en la villa de Amubri..... | 44 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 5. Detección de ADN de parásitos del género <i>Leishmania</i> usando los iniciadores 13A y 13B..... | 46 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 6. Detección de ADN de parásitos del complejo <i>Leishmania (V) braziliensis</i> usando los iniciadores MP1L y MP3H..... | 46 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 7. Detección de ADN de parásitos de <i>Leishmania (V) panamensis</i> usando los iniciadores P1 y P2..... | 46 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

Capítulo 4

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| Anexo 1. Lámpara tipo CDC (Communicable Disease Center) totalmente armada. | 64 |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|

Lista de Abreviaturas

1. EBAIS: Establecimientos Básicos de Atención Integral de Salud
2. *Lu.*: *Lutzomyia*
3. *L. (V)*: *Leishmania* subgénero *Viannia*
4. LC: Leishmaniasis Cutánea
5. LMC: Leishmaniasis Mucocutánea
6. LV: Leishmaniasis Visceral
7. LCD: Leishmaniasis Cutánea Difusa
8. SIG: Sistemas de Información Geográfica
9. OPS: Organización Panamericana de la Salud
10. VSP: Vigilancia de Salud Pública
11. ATAPS: Asistente Técnico en Atención de Salud Primaria
12. INEC: Instituto Nacional de Estadística y Censos
13. ITCR: Instituto Tecnológico de Costa Rica
14. GPS (Siglas en Inglés): Sistema de Geoposicionamiento Global
15. CDC: Communicable Disease Center
16. PBS: Phosphate Buffered Saline
17. PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa
18. ADN: Ácido Desoxirribonucleico

Distribución espacial de los casos notificados como leishmaniasis e identificación de las especies de flebótomos infectados naturalmente en el cantón de Talamanca, Costa Rica.

Wilfredo Sosa-Ochoa

Resumen

La leishmaniasis es una de las enfermedades consideradas como desatendidas en el nuevo mundo. Al mismo tiempo existe un subregistro de casos a nivel latinoamericano y en Costa Rica es considerada como una enfermedad de notificación obligatoria.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la distribución espacial de los casos notificados como leishmaniasis y al mismo tiempo determinar infecciones naturales en las *Lutzomyias* presentes en el intradomicilio de las viviendas seleccionadas de la Villa de Amubri, Cantón de Talamanca. En la primera parte del estudio se usó como unidad observacional los EBAIS (Establecimientos Básicos de Atención Integral de Salud) del área de salud de Talamanca a los cuales se le calculó la incidencia anual promedio para determinar diferencias significativas entre cada uno de los EBAIS en el cuál se determinó que los EBAIS de Amubri, Gavilán y Katsi difieren de los restantes EBAIS. En una segunda parte se capturaron individuos del género *Lutzomyia* para su identificación taxonómica y determinación de infecciones naturales, se identificaron taxonómicamente 7 especies de *Lutzomyia* reportándose a *Lu. barrettoii majuscula* por primera vez para el Cantón de Talamanca. En este estudio no se logró determinar infecciones naturales en las hembras procesadas por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Abstract

Leishmaniasis is one of the unattended diseases in the new world. At the same time, there is a case underreporting at Latin American level and in Costa Rica it is considered as an imperative notification disease.

The present study's objective was to determine the spacial distribution of all reported cases as *leishmaniasis* and at the same time determine natural infections in the *Lutzomyias* present inside the selected households at Amubri Villa, Talamanca County. In this study's first part EBAIS (Basic Health Integral Attention Centres from its Spanish acronym) was used as observational unit from Talamanca's health area, to which the anual incidence was calculated in order to determine significant differences between each of the EBAIS: the Amubri, Gavila, and Katsi EBAIS were the ones that differ from the rest. In the second part, *Lutzomyia* individuals were captured for their taxonomic identification and natural infection determination. Seven *Lutzomyia* species were taxonomically identified and *Lu. barrettoii majuscula* was reported for the first time at Talamanca county. No natural infections could not be determined through Polimerase Chan Reaction (PCR).

Palabras Claves: Leishmaniasis, Lutzomyia, SIG, Infecciones Naturales

Capítulo 1

1. Introducción general

La Leishmaniasis es una enfermedad de notificación obligatoria en Costa Rica, presentándose la leishmaniasis cutánea como la principal forma clínica de la enfermedad. Esta enfermedad es transmitida por vectores pertenecientes al género *Lutzomyia*. En Costa Rica se han informado 62 especies de *Lutzomyia* de las cuales 19 son antropofílicas. Solo 2 de estas especies (*Lu. trapidoi* y *Lu. ylephiletor*) han sido identificadas con infección natural por *Leishmania panamensis*¹.

La colonización de las áreas selváticas y su destrucción subsecuente, ocasionó la disminución de diferentes especies de animales, favoreciendo el desarrollo de otras que ocuparon los nichos vacíos y característicos de zona de disturbio; este fenómeno afectó algunas especies de *Lutzomyia* que se adaptaron en mayor o menor grado a áreas rurales dedicadas a la agricultura e inclusive, a la vivienda del hombre, el cual ha pasado a desempeñar el papel de reservorio accidental o secundario al sustituir a los organismos que desempeñan dicho papel en la cadena trófica¹¹.

La presencia de diferentes eventos en salud no ocurren por azar. A través de los siglos se ha observado una relación muy estrecha de estos eventos con el medio ambiente, las condiciones sociales y otros factores. Por ejemplo, algunos eventos tienden a presentarse en grupos de población con ciertas condiciones de vida y de trabajo, en ciertas épocas del año (variaciones estacionales de temperatura), donde la población tiende a vivir o trasladarse como consecuencia de eventos catastróficos como terremotos, inundaciones y otros. Todos ellos tienen relación con su entorno espacial, esto es, en un marco geográfico, en un tiempo determinado y en una población específica⁴¹.

El propósito de esta investigación es describir la distribución espacial de los casos notificados de leishmaniasis cutánea, así como caracterizar su hábitat e identificar especies de *Lutzomyia* infectadas naturalmente con parásitos del género

Leishmania spp., del complejo *Leishmania braziliensis* y *Leishmania panamensis* en Amubri, cantón de Talamanca.

1.2 Marco teórico

1.2.1 El Vector

Los flebótomos del género *Lutzomyia* son insectos pequeños, con poca capacidad de vuelo; los adultos tienen un rango de tamaño entre 1,5 y 3,5 mm, son relativamente comunes, las hembras por lo general pican de noche y están restringidos al continente americano. Son insectos holometábolos, de ciclo de transmisión completo, deben existir condiciones para el desarrollo de las formas inmaduras y la supervivencia de la fase adulta². A continuación se detalla la biología del género *Lutzomyia*³.

Huevo: Son alargados, ovalados (elípticos) y algo curvos, con un color que varía de castaño claro a oscuro y miden entre 300 y 500 μ ; su superficie presenta crestas u otras protuberancias que forman patrones típicos de la especie o del complejo de especies (Figura 1a).

No se conoce mucho sobre los lugares donde la hembra oviposita, pero no lo hacen en el agua como los zancudos. El número de huevos que deposita una hembra varía de 40 a 70, según la especie, y el tiempo promedio de incubación para a la eclosión es de 8 a 15 días, existiendo referencias que mencionan que los huevos de algunas especies de *Lutzomyia* pueden mantenerse viables a pesar de enfrentarse a condiciones adversas, como sequía, frío y sequedad.

Larva: Transcurrido el tiempo de incubación de los huevos, eclosiona la primera fase larvaria, la que se alimenta de materia orgánica en descomposición. Este

estado comprende cuatro etapas: larva de primer, segundo, tercer y cuarto estadio, que se diferencian entre sí por el tamaño (Figura 1b- 1e) y necesitan de 26 a 41 días para llegar al estado de pupa.

La coloración de las larvas varía de acuerdo a la especie de *Lutzomyia*. Las larvas son pequeñas, alargadas, un tanto aplanadas en sentido dorso ventral, y presenta una cápsula cefálica esclerotizada bien desarrollada que se diferencia del resto del cuerpo. El cuerpo está formado por 12 segmentos: tres torácicos y nueve abdominales; a lo largo de éste, tanto en las superficies dorsal, ventral y lateral, existen cerdas finas con diferentes formas (cortas, largas, simples, múltiples), mientras que en la parte caudal están presentes cerdas largas, que difieren en número de acuerdo al estadio; así, la larva de primer estadio presenta dos cerdas, mientras que los siguientes tres estadios presentan cuatro cerdas caudales.

Pupa: La larva de cuarto estadio busca un lugar más seco que el que ocupaba, para luego transformarse en pupa, que es de tamaño pequeño (aproximadamente 2 mm), con forma cilíndrica, mantiene una posición erecta al fijarse al sustrato por la parte posterior y su color varía de blanco a pardo oscuro (Figura 1f). En condiciones favorables, el estado de la pupa dura de 8 a 14 días. Las pupas son más resistentes que los huevos y las larvas a las variaciones climáticas.

Adulto: Los machos suelen emerger antes que las hembras. En el transcurso de las primeras 24 horas, los genitales externos masculinos giran 180°, por lo que adquieren una posición invertida permanente (Figura 1g). El período de vida del adulto en condiciones de laboratorio es de 20 a 35 días; en la naturaleza, el tiempo de vida se desconoce. El apareamiento puede realizarse antes o después de la alimentación o en el momento que la hembra ingiere sangre de un huésped. Las hembras son las únicas que pican a los vertebrados para alimentarse de sangre, por lo que se les consideran antropófilas o zoófilas.

Las especies de *Lutzomyia* tienen actividad crepuscular y nocturna (desde las 16:00 hasta las 07:00 horas del día siguiente), aunque también están activas durante el día, si es que se ingresa a los lugares donde ellos reposan. Ambos sexos vuelan planeando en desplazamientos generalmente cortos.

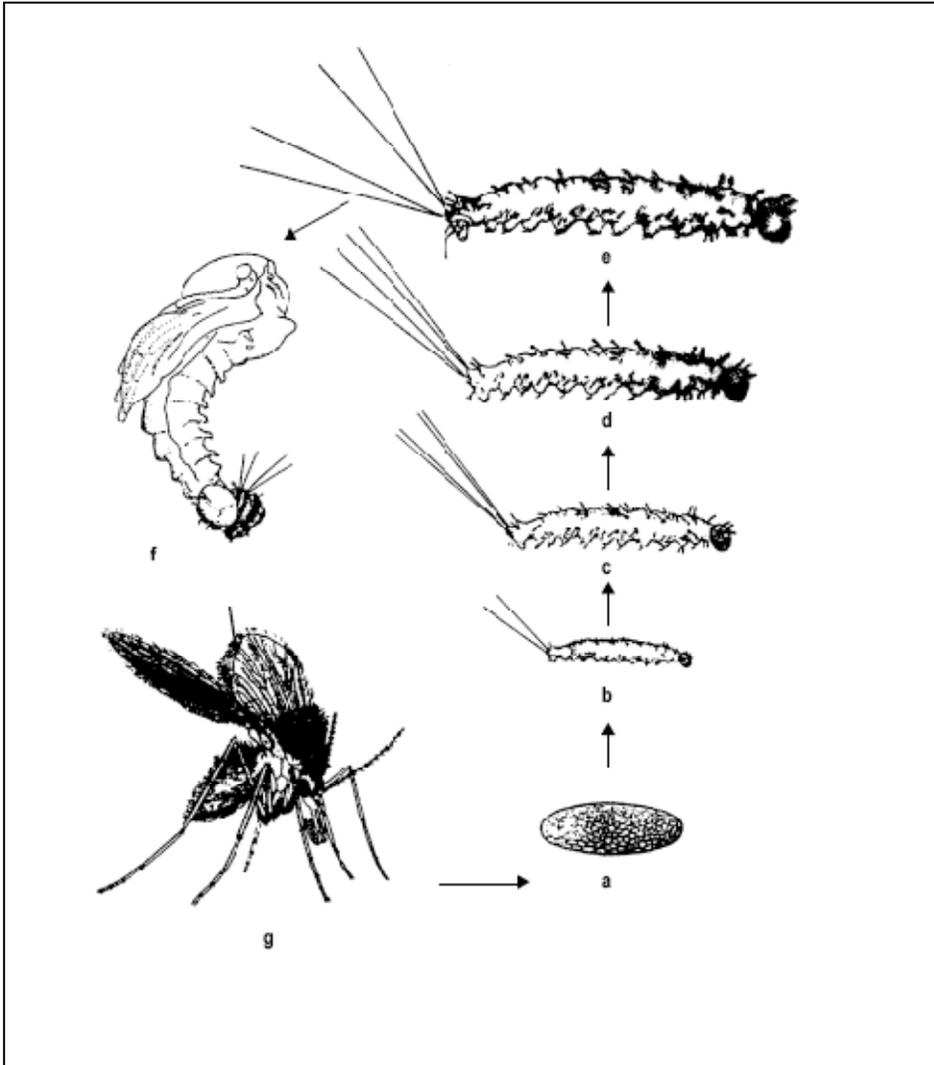


Figura 1: Ciclo Biológico *Lutzomyia* spp.

Fuente: Young D y Arias JR (1992)³

1.2.2 Criterios de Incriminación de Vectores

Según el informe del Tercer Multicoloquio Europeo en Parasitología⁴ se simplificaron los criterios de incriminación para los vectores de leishmaniasis. Los siguientes criterios son los utilizados:

1. Tiene que ser antropófilico, es decir, tener preferencia alimenticia de sangre humana.
2. Debe poseer cierto grado de zoofilia es decir, preferencia alimenticia en animales, para considerarse como posibles vectores en los ciclos zoonóticos.
3. Debe encontrarse infectado naturalmente con el agente etiológico y deben haberse realizado repetidos aislamientos del mosquito y su respectiva identificación de la especie de *Leishmania*, que debe ser semejante a la encontrada en el paciente.
4. El vector debe favorecer el desarrollo del agente etiológico, permitiendo su adaptación, desarrollo hasta llegar a la fase infectante y transmitirlo a un vertebrado.

En el Nuevo Mundo se han identificado especies de *Lutzomyia* que cumplen con los criterios de incriminación⁵. Killick-Kendrick en el año 1990 hace una recopilación de vectores incriminados en la transmisión de la leishmaniasis:

1. Vectores incriminados con ***L. i. chagasi*** (L. cutánea):
 - ***Lu. (Lu) longipalpis***⁶
 - Posiblemente ***Lu. (N) antunesi***⁷
2. Vectores incriminados con ***L. (V) braziliensis*** (L. mucocutánea):
 - ***Lu. (Ps)c. carrera***⁸
 - ***Lu. (Ps) wellcomei***
3. Vectores incriminados con ***L. (V) panamensis*** (L. cutánea):
 - ***Lu. (N) traidoi***⁹
 - ***Lu. (N) ylephiletor, Lu. (Ps) panamensis, Lu. gomezi*** (*cruziata* group)
4. Vectores incriminados con ***L. complejo mexicana*** (L. difusa):
 - ***Lu. (Lu) diabolica, Lu. (Psathroyomya) shannoni***¹⁰
 - ***Lu. (N) olmeca olmeca***¹¹

1.2.3 Infecciones naturales de *Lutzomyia* con parásitos del género *Leishmania*.

En Costa Rica se han detectado 62 especies de *Lutzomyia* de las cuales 19 poseen reporte de ser antropófilas¹. En el cuadro 1 se describen cuales de las 19 especies antropófilas informadas en Costa Rica han sido reportadas con infección natural a alguna especie de *Leishmania*.

Cuadro 1. Especies antropófilas de *Lutzomyia* informadas en Costa Rica y que han sido reportadas con infecciones naturales en el Continente Americano

| Especies de <i>Lutzomyia</i> antropófila en Costa Rica ¹ | Ambiente Domiciliar ¹ | | Antropófila ¹ | Tasa de Infección (%) | Especie de <i>Leishmania</i> aislada | Referencia |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------|------|--------------------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| | Intra | Peri | | | | |
| <i>W. rotundipenia</i> | + | + | + | N/A | N/A | |
| <i>Lu. hartmanni</i> | + | + | + | N/A | <i>L. colombiensis</i> | Kreutzer RD. 1991 |
| <i>Lu. sanguinaria</i> * | + | + | + | N/A | <i>L. panamensis</i> | Lewis & Ward, 1987 |
| <i>Lu. cruciata</i> | + | + | + | N/A | <i>L. mexicana</i> | Sánchez García. 2007 |
| <i>Lu. gomeza</i> | + | + | + | 0.65 | <i>L. panamensis</i> | Santamaria E. 2006 |
| <i>Lu. longipalpis</i> | + | + | + | 1.23 | <i>L. chagasi</i> | Do Nascimento JC. 2007 |
| <i>Lu. ylephiletor</i> | + | + | + | N/A | <i>L. panamensis</i> | Zeledón. 1977; Ramírez K. 2005 |
| <i>Lu. shannoni</i> | + | + | + | N/A | <i>L. mexicana</i> | Sánchez García. 2007 |
| <i>Lu. bispinosa</i> | + | + | + | N/A | N/A | |
| <i>Lu. serrana</i> | + | + | + | N/A | N/A | |
| <i>Lu. youngi</i> | + | + | + | N/A | N/A | |
| <i>Lu. ovallesi</i> | + | + | + | 1.5 | <i>L. (Viannia)</i> | Jorquera A, 2005 |
| <i>Lu. trapidoi</i> | + | + | + | 1.97 | <i>L. panamensis</i> | Zeledón. 1985 |
| <i>Lu. carrerae</i> | N/A | N/A | + | N/A | N/A | |
| <i>Lu. evansi</i> | N/A | N/A | + | N/A | <i>L. infantum</i> | Grimaldi G. et al. 1993 |
| <i>Lu. geniculata</i> | + | + | + | N/A | N/A | |
| <i>Lu. panamensis</i> | + | + | + | N/A | <i>L. panamensis</i> | Santamaria E. 2006 |
| <i>Lu. pia</i> | + | + | + | N/A | N/A | |
| <i>Lu. volcanensis</i> | | | + | N/A | N/A | |

*Infección experimental con *L. panamensis*.

N/A: No se encontraron reportes

1.2.4 El agente y las manifestaciones clínicas

El género *Leishmania* está dividido en dos subgéneros: *Leishmania* y *Viannia* dependiendo del lugar y el tipo de desarrollo que tenga el parásito en el flebótomo vector^{12,13}. Así mismo, están agrupados en tres complejos diferentes¹⁴: el complejo *Leishmania mexicana*, (que está constituido por *L.(L.) mexicana*, *L.(L.) amazonensis*, *L.(L.) pifanoi* y *L.(L.) venezuelensis*), el complejo *Leishmania braziliensis* (constituido a su vez por *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guayanensis*, *L. (V.) peruviana* y *L. (V.) panamensis*)^{15,16} y el complejo *Leishmania donovani* (constituido por *L. donovani*, *L. infantum* y *L. chagasi*)^{15,16}.

Leishmaniasis tegumentaria

La Leishmaniasis cutánea se presenta desde el sur de los Estados Unidos hasta el norte de la Argentina. Canadá, Chile, Uruguay y la mayoría de las islas del Caribe se encuentran libres de transmisión. El género *Leishmania* comprende alrededor de 30 especies de parásitos protozoos y, al menos, 12 son patógenos para el humano¹⁷, y pueden manifestarse en tres formas clínicas diferentes, que se describen a continuación.

Leishmaniasis cutánea

La leishmaniasis cutánea (LC) simple consiste en una o más úlceras cutáneas que aparecen entre 15 días y varios años (excepcionalmente) después de la picadura de un flebótomo infectado. Estas úlceras pueden ser pequeñas (< 0,25 cm) o muy grandes (> 30 cm). Clásicamente, la lesión es de bordes elevados y de centro papuloso y húmedo, pero puede manifestarse en formas irregulares. En algunos casos hay afección linfática, lo que indica la diseminación de la enfermedad. En

ciertos casos las lesiones pueden ser vegetativas o verrugosas. Pueden aparecer lesiones satélites a partir de una lesión primaria. Según el agente etiológico por ejemplo parásitos del complejo *L. braziliensis*, estas heridas pueden curarse espontáneamente, responder a tratamiento o ser difíciles de tratar con medicamentos. Muchas veces ocurre una recaída debido a un tratamiento incompleto. Hasta la fecha, en las Américas no hay registros científicamente documentados de resistencia a los medicamentos antimoniales¹⁸; sin embargo en la India se ha registrado hasta un 60% de resistencia a las drogas de primera línea¹⁹.

Leishmaniasis mucocutánea

La leishmaniasis mucocutánea (LMC), también llamada “espundia”, se manifiesta por la destrucción severa de las membranas nasofaríngeas. Esta forma de leishmaniasis normalmente no responde bien al tratamiento con medicamentos antimoniales, y muchas veces requiere series múltiples de aplicaciones. La metástasis a los tejidos mucosos puede ocurrir simultáneamente con una lesión crónica de LC, o puede presentarse hasta 24 años después de la infección original. Los agentes etiológicos aislados de pacientes con LMC son *L. braziliensis* y *L. panamensis*¹⁸.

Leishmaniasis cutánea difusa

La leishmaniasis cutánea difusa (LCD) es una forma diseminada que afecta la mayor parte del cuerpo del paciente, semejante a la lepra lepromatosa. Es rara (menos de 500 casos notificados en todo el mundo), y el paciente presenta un defecto inmunológico específico. Una característica de la LCD es que la enfermedad es crónica recidivante (no existe cura). Todas las lesiones son riquísimas en parásitos. La incidencia de la LCD es baja, pero se encuentran

casos desde México hasta Brasil. Se desconoce su fisiopatogenia, pero se estima que puede ser consecuencia de una deficiencia inmunológica específica en combinación con un parásito relativamente no inmunogénico.

Las lesiones no están aisladas por una pared de linfocitos, como en las lesiones clásicas de borde elevado, y por este motivo no se ulceran, a no ser que sean traumatizadas. De esta manera los parásitos no están restringidos y pueden dispersarse por la superficie de la piel, particularmente en las partes con temperaturas más bajas. Los agentes etiológicos asociados con esta forma en el Nuevo Mundo son *L. amazonensis* y *L. mexicana*¹⁹.

Leishmaniasis visceral

La leishmaniasis visceral es potencialmente fatal, causada por las especies de *L. (L.) donovani*, *L. (L.) infantum (chagasi)*. En humanos causa parasitismo y patología importante en hígado, bazo y médula ósea. En hígado, los amastigotes intracelulares se desarrollan rápidamente dentro de los 28 días siguientes a la infección, desapareciendo usualmente en los 30 días siguientes; en cambio, tanto en el bazo y en la médula ósea puede ser causa de infección crónica, sobreviviendo toda la vida del huésped^{20,21}.

Además, pese a que la leishmaniasis visceral en la mayoría de los casos es considerada una parasitosis subclínica, puede generar estado febril intermitente, astenia, cuadros diarreicos, vómitos y desnutrición²¹. Se acompaña de esplenomegalia indolora y hepatomegalia, anemia normocítica y normocrómica²².

1.2.5 Epidemiología de la leishmaniasis

La leishmaniasis es una enfermedad de prevalencia alta en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo, tales como el este y sureste de Asia, Oriente Medio, norte y este de África, el sur de Europa (cuena del Mediterráneo) y América Central y Sudamérica²³. Es endémica en 88 países en áreas tropicales, 72 de los cuales están en vías de desarrollo. Descrita en 24 países de América,

extendiéndose desde el sur de Estados Unidos (Texas) hasta el norte de Argentina²⁴.

A nivel mundial, el subregistro de casos es elevado; sin embargo, estimaciones basadas en los pocos datos disponibles indican que están expuestos a contraer la enfermedad alrededor de 350 millones de personas y que en la actualidad existen unos 12 millones de infectados, con unos 500,000 casos nuevos de leishmaniasis visceral y 1-1.5 millones de casos de leishmaniasis cutánea ulcerada por año. Los factores de riesgo ambientales incluyen migración, urbanización, deforestación y nuevos esquemas de irrigación²⁵. También existen factores de riesgo individuales como la desnutrición, infección VIH/SIDA y factores genéticos, entre otros²⁶. Pueden actuar como reservorio unas 100 especies de animales mamíferos. Los principales reservorios de las especies americanas de *Leishmania* son diferentes especies de roedores, osos perezosos (*Bradypus griseus* y *Choelepus hoffmanni*), guasalos y cánidos.

En Costa Rica la leishmaniasis se encuentra distribuida en las 7 provincias^{27,28}, siendo la LC la forma más común de la enfermedad, cuyo principal agente etiológico es *L. panamensis*^{29,30}. No obstante Peraza *et al.* (1998) y Zeledón (1991) confirmaron la existencia de *L. braziliensis* en zonas del Pacífico y el Caribe y *L. infantum* en el noreste del país, como agentes causales de LC.

Se han realizado diversos estudios epidemiológicos en los cuales se han identificado los factores de riesgo de la transmisión peridomiciliar e intradomiciliar de leishmaniasis cutánea, especialmente en el Cantón de Acosta³¹

Según los datos obtenidos del Ministerio de Salud Pública de Costa Rica esta incidencia se ha venido concentrando en niños menores de 9 años (19/1000, según los registros de 1990 a 1992), así como en mujeres adultas. Un factor importante es la deforestación agravada, particularmente en los alrededores de las viviendas, la captura repetida de hembras de *Lutzomyia*³² y el cumplimiento de uno de los criterios de incriminación de vectores más importante: la infección natural de *Lu. ylephiletor* con parásitos del complejo *Leishmania braziliensis*³³.

De acuerdo con las estadísticas publicadas por el Ministerio de Salud Pública, se informaron anualmente entre 481 y 998 casos durante el periodo 1996-2000, aproximadamente entre 14 y 26 casos por cada 100,000 habitantes³⁴.

En el año 2002 se informaron 690 casos de *Leishmania* con una tasa de 17.14 casos por 100,000 habitantes³⁵. En comunidades indígenas se observaron hasta 196 casos (48.68 /100,000 habitantes) de Leismaniasis^{34,35}.

Durante el año 2008 se registraron 1546 casos distribuidos en 102 distritos, siendo el distrito de Bratsi el que informó una mayor incidencia (52.67/1000 habitantes). Cuando se calculó el Índice de Moran se encontró la existencia de un patrón espacial de regiones con valores de datos similares o simplemente agrupación espacial ($I=0.3265$; $p=0.0016$). El distrito de Bratsi se encuentra entre los 100 y 1000 msnm, presenta una precipitación anual de 2200 mm hasta 3500 mm y una humedad relativa anual de 86% -88%³⁶.

1.2.6 Los sistemas de información geográfica (SIG)

Un sistema información geográfica (SIG) es una tecnología computacional poderosa que permite el análisis de grandes cantidades de información dentro de un contexto geográfico³⁷. De acuerdo con otros autores, un SIG es un conjunto organizado de equipo, paquetes de programas, datos geográficos y personal, diseñados para capturar, almacenar, actualizar, manejar, analizar y mostrar diferentes formas de información geográficamente referenciada, operando de manera integral³⁸.

Según Organización Panamericana de la Salud (OPS)³⁹ la relación de la Vigilancia en Salud Pública (VSP) y los SIG se da mediante un proceso dinámico, permanente y continuo de intercambio de información. En este proceso la VSP proporciona la información básica sobre eventos de salud, los factores de riesgo, los condicionantes e intervenciones. Tradicionalmente, se han utilizado mapas para describir la distribución espacial de fenómenos relacionados con la salud. Más recientemente, el uso de mapas ha contribuido a orientar la formulación de

hipótesis sobre la etiología de enfermedades, considerando las variaciones espaciales de factores ambientales y sociales. La facilidad de los SIG de procesar e integrar grandes cantidades de datos y producir mapas dinámicamente, permite potencializar el análisis y síntesis de información de salud pública. Los resultados generados por lo análisis georeferenciados de los SIG retroalimentan al sistema de Vigilancia en Salud Pública aumentando la calidad y oportunidad de la información requerida para el proceso de toma de decisiones. Mediante este proceso dinámico los SIG facilitan las siguientes actividades:

- La localización de eventos de salud en tiempo y espacio.
- El reconocimiento y monitoreo del comportamiento de un evento de salud y sus factores de riesgo en un período de tiempo definido (semanas, meses, años, etc)
- La identificación de áreas geográficas y grupos de población con mayores necesidades de salud y la posible respuesta a ellas, mediante la integración de variables múltiples (modelos multivariados).
- La evaluación del impacto de las intervenciones de salud.

Esta herramienta se está usando en diversas áreas de la ciencia especialmente en la salud pública como instrumentos de predicción de infestación de vectores del dengue como por ejemplo *Aedes albopictus*⁴⁰.

Actualmente existe un repunte en el uso de estas herramientas las cuales son utilizadas en la vigilancia epidemiológica y el análisis espacial en estudios de situación del dengue⁴¹.

Con respecto a la leishmaniasis en el 2003⁴² se describe un modelo eco-epidemiológico para trazar la distribución de la incidencia de leishmaniasis visceral en la localidad de Nevela, Sudán con respecto a factores macroambientales como: topografía, precipitación, tipo de vegetación, obteniendo como resultado que todos estos factores macroambientales están asociados con la distribución de la incidencia de leishmaniasis visceral. Es probable que estas variables tengan

influencias sobre las poblaciones de *Phlebotomus orientalis* y los reservorios de *L. donovani* en la región estudiada.

El Índice de Moran, el cual es similar al coeficiente de correlación de Pearson, es utilizado para analizar la correlación existente entre diferentes factores socio-demográficos⁴³. Los resultados mostraron una significancia de tiempo y espacio entre los conglomerados identificados en el estudio. Este estudio indicó que las tasas de leishmaniasis cutánea varían en el espacio y tiempo debido a la ruralidad de la zona y a otros factores macroambientales.

En Costa Rica se realizó la caracterización del hábitat y distribución de *Lutzomyia longipalpis* haciendo uso de los SIG⁴⁴. El propósito de este estudio fue determinar cuáles factores microambientales y macroambientales determinaron la distribución de *L. longipalpis* en lugares con historia previa de leishmaniasis cutánea atípica. Se observó que los factores ambientales que determinaron un factor de riesgo para la presencia del vector en zonas asociadas a la enfermedad fueron el tipo de suelo, bosque húmedo premontano transición a basal y la geología. Con respecto a los factores microambientales los más importantes fueron la ubicación de la letrina y la tenencia de animales domésticos principalmente gallinas y perros.

1.2.7 Bibliografía

1. Zeledón, R. Leishmaniasis in North America, Central America and the Caribbean Islands in: Leishmaniasis. KP Chang and RS Bray. Eds. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1985, 314 - 351 p.
2. Munstermann LE. Phlebotomine sand flies, the Psychodidae. In Marquart WC (ed.) *Biology of disease vectors*. 2nd ed. Burlington: Elsevier Academic Press; 2005. p. 141-151.
3. Youn Young D, Arias JR. Phlebotomus: vectores de la leishmaniasis en las Américas. Washington: OPS; 1992. Cuaderno Técnico N°33.
4. Killick-Kendrick, R. Studies and criteria for the incrimination of vectors and reservoir hosts of the leishmaniasis. *Proceedings of the International Workshop on Research on Control Strategies for the Leishmaniasis*. 1988, Ottawa. 1-4 June 1987. pp. 282-280. I.D.R.C.
5. Mathis, A; Deplazes, P. PCR and In Vitro Cultivation for Detection of *Leishmania* spp. In Diagnostic Samples from Human and Dogs. *Journal of Clinical Microbiology* 1995. 33(5):1145-1149.

6. Deane, L. de M. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no estado do Ceará. ServiGo Nacional de EducaGBo Sanitaria, Rio de Janeiro. (1956).
7. Ryan. L.. Silveira. F.T.. Lainson. R. & Shaw. J.J. *Leishmania* infections in *Lutzomyia longipulpis* and *Lu. antunesi* (Diptera: Psychodidae) on the Island of Marajo. Para State. Brazil. (Correspondence). Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1983 78:537-548.
8. Le Pont, F. & Desjeux, P. Leishmaniasis in Bolivia. The involvement of *Psychodopygus yucumensis* and *Psychodopygus llanosmartirisi* in the selvatic transmission cycle of *Leishmania braziliensis braziliensis* in a lowland subandean region. Memorias Instituto Oswaldo Cruz, 1986, 81,311-318.
9. Johnson. P.T.. McConnell, E. & Hertig. M. Natural infections of leptomonad flagellates in Panamanian sandflies Experimental Parasitology, 1963. 14, 107-122
10. Lawyer. P.G., Young. D.G., Butler. J.F. & Akin. D.E. Development of *Leishmania mexicana* in *Lutzomyia diabolica* and *Lutzomyia shannoni* (Diptera: Psychodidae). Journal of Medical Entomology. 1987. 24,347-355.
11. Lainson. R.. Shaw. J.J.. Silveira. F.T. & Braga. R.R. American visceral leishmaniasis; on the origin of *Lei. dinianin (Leishmania) chagasi*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1987 81, 517.
12. Killick-Kendrick, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. Medical and Veterinary Entomology, 1990, 4:1-24
13. Minori, T; Sasaki, JI; Nakata, M; Gomez, EA; Uezato, H; Nonaka, S; Hashiguchi, Y; Furuya, M; Saya, H. Rapid Identification of *Leishmania* Species From Formalin-Fixed Biopsy Samples By Polymorphism-Specific Polymerase Chain Reaction. Gene 1998, 210: 179-186.
14. Harris, E; Kropp, G; Belli, A; Rodríguez, B; Agabian, N. Single –Step Multiplex PCR Assay for Characterization of New World *Leishmania* Complexes. Journal of Clinical Microbiology, 1998, 36: 1989-1995
15. Farmer, JN- The protozoa: Introduction to Protozoology. Londres, UK, Mosby Company. 1980 p. 217 -218
16. Weiss, JB. DNA Probes and PCR for Diagnosis of Parasitic Infections. Clinical Microbiology Reviews. 1995, 8(1):113 -130.
17. Shaw J.J. & Lainson R.,: Leishmaniosis in Brazil: X. Some observations on intradermal reactions to different Trypanosomatid antigens of patients suffering from cutaneous and mucocutaneous Leishmaniosis, Trans. R. Soc Med. Hyg.;1975 Vol 69, No. 3, 323-335.
18. Organización Panamericana de la Salud (PAHO). Epidemiología y Control de la Leishmaniasis en las Américas, por País o Territorio.1996

19. Organización Panamericana de la Salud (PAHO). Información Farmacológica: Evaluación de nuevos productos. Revista Panamericana de salud Pública/Pan American. Journal of Public Health. 2003, Volume 13 (4) April 30, 2003 page(s) 256-66
20. Engwerda C, & Kaye P: Organ-especific immune responses associated with infections disease. Immunol Today 2000; 21: 73-8.
21. Badaro R, Jones C, Carvalho M, *et al*: New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. J Infect dis 1986; 154: 1003-11. [Medline]
22. Desjeux P, Aranda E, Aliaga O, Mollinedo S: Human visceral leishmaniasis in Bolivia: First proven autochthonous case from Los Yungas. Trans R. Soc Trop Med Hyg 1983; 77: 851-2.
23. Vidyashankar C, Noel GJ. Leishmaniasis. Medicine Journal 2002; 3:1-19
24. Grimaldi G, Tesh R, McMahon-Pratt D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. Am J Trop Med Hyg 1989; 41:697-725.
25. Organización Panamericana de la Salud (PAHO). Epidemiología y Control de la Leishmaniasis en las Américas, por País o Territorio. 2007.
26. Sinha PK, Pandey K, Bhattacharya SK. Diagnosis and management of *Leishmania* /HIV co-infection. Indian J Med Res 2005; 121: 407-14.
27. Zeledón, R. *et al.*, Leishmaniasis in North America, Central America and the Caribbean Islands. In Chang, KP; Bray, RS. Eds. Leishmaniasis Amsterdam. NL, Elsevier Press. 1985. p314-351.
28. Arias, J; Belt, F; Desjeux, P; Walton, B. Epidemiología y control de la leishmaniasis en las Américas, por país o territorio. Cuaderno Técnico 44. Washington, DC., USA, OPS.1996 p. 52
29. Zeledón R. Leishmaniasis en el istmo centroamericano e islas del Caribe. in Cosensa, H; Kroeger, A. eds. Enfermedades Parasitarias de mayor Prevalencia y Transmitidas por Vectores en Centro América. Programa de Cooperación Científica Internacional. 1992 p. 135-148
30. Peraza, J; Urbina, U; Zeledón, R. Zymodeme and Seodeme Characterization of *Leishmania* isolates obtenidos from Costa Rican Patients. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 1998, 93: 283-287.
31. Rojas, JC. Risk factor for domiciliary and peridomiciliary transmission of cutaneous leishmaniasis in Costa Rica. Ph. D. Tesis, Baltimore, US Johns Hopkins University. 1993.
32. Murillo, J. & Zeledón, R. Flebótomos de Costa Rica (Diptera: Psychodidae). Brenesia, 1985, 23: 1-137.
33. Ramírez, K. Optimización y uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para determinar la infección natural con parásitos del complejo *Leishmania braziliensis* en el flebótomo *Lutzomyia ylephleitor* proveniente de Breñon de Acosta. 2005.
34. Ministerio de Salud, CR (MS). Situación de las condiciones de salud de los pueblos indígenas en Costa Rica. 2000. En línea, consultado 2 febrero, 2009. Disponible: <http://www.ministeriodesalud.go.cr/ops/saludpueblosindigenas/>

35. Ministerio de Salud, CR (MS). Memoria anual 2002. Casos Registrados de Enfermedades de Declaración Obligatoria según causa específica según año de ocurrencia. Costa Rica 2000-2002. En línea, consultado 2 febrero 2009. Disponible: <http://www.ministeriodesalud.go.cr/memorias/mem2002.pdf>
36. Sosa-Ochoa W, Herrero MV. Distribución EspacioTemporal de la Leishmaniasis en Costa Rica (2008). 2009. Datos sin Publicar.
37. Vine, M.F., Degman, D. and Hanchette. C. Geographic Information System: Their use in environmental epidemiology research. *Environ Health Perspect* 105:598-605, 1997.
38. Chou, Y. Exploring Spatial Analysis in GIS. Delmar Publisher. 1996. 500p
39. Organización Panamericana de la Salud (OPS) Uso de los sistemas de información geográfica (SIG-Epi). *Boletín Epidemiológico (OPS)* 17:1-6, 1996
40. Benedict MQ et. Al. Spread of the Tiger: Global Risk of Invasion by the Mosquito *Aedes albopictus*. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2007 ; 7(1): 76–85.
41. Martínez Ramón. Geographic Information System For Dengue Prevention And Control. *World Health Organization on behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, 2007*, http://www.who.int/tdr/publications/publications/swg_dengue_2.htm
42. Dia-Eldin A. Elnaiem, Judith Schorscher, Anna Bendall, Valérie Obsomer, Maha E. Osman, Abdelrafie M. Mekkawi, Stephen J. Connor, Richard W. Ashford, And Madeleine C. Thomson. Risk Mapping Of Visceral Leishmaniasis: The Role Of Local Variation In Rainfall And Altitude On The Presence And Incidence Of Kala-Azar In Eastern Sudan. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 2003. 68(1), 2003, pp. 10–17.
43. George Luiz Machado-Coelho, Renato Assuncao, Wilson Mayrink and Waleska Teixeira Caiiffa. American cutaneous Leishmaniasis in Southeast Brazil: Space-time clustering. *International Journal of Epidemiology*. 1999. 28:982-989.
44. Argüello Silvia. Caracterización del hábitat y distribución de *Lutzomyia longipalpis* (Díptera: *Psychodidae*) en sitios con historia previa de Leishmaniasis cutánea atípica en Liberia (Guanacaste, Costa Rica). Tesis de Maestría Postgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales. 2006

CAPITULO 2

Distribución espacial de los casos notificados como leishmaniasis en el área de salud de Talamanca, Limón, Costa Rica (2008)

Wilfredo Sosa-Ochoa

Resumen

Objetivo: Analizar la distribución espacial de los casos de leishmaniasis cutánea a nivel de los EBAIS (Equipo Básico de Atención Integral en Salud) del cantón de Talamanca por medio de la incidencia anual. Se seleccionaron los registros de casos notificados de leishmaniasis del cantón de Talamanca durante el año 2008. **Metodología:** Estudio longitudinal retrospectivo de los casos notificados como leishmaniasis cutánea. Se usó como unidad observacional los EBAIS que notificaron casos de leishmaniasis durante el 2008, por medio del software ArcView se analizaron los registros obtenidos para comparar la distribución de los casos entre los EBAIS y las características macroambientales predominantes en las áreas de atracción de cada EBAIS estudiado. **Resultados:** Se notificaron un total de 375 casos de leishmaniasis durante las semanas epidemiológicas de la 1-52 durante el 2008 con una incidencia acumulada de 11.78 casos por 1000 habitantes. Los EBAIS que presentaron una mayor incidencia fueron: Gavilán (35.87 casos) Katsi (35.00 casos), Amubri (18.02 casos), Cahuita (14.99 casos) y Sepecue (14.86 casos). Se encontraron diferencias significativas en la incidencia entre los EBAIS del cantón de Talamanca. Este estudio hace uso de sistemas de información geográfica para el análisis de la casuística y provee un modelo de manejo de la información que puede apoyar la toma de decisiones entre éstas las relacionadas con la planificación de las actividades preventivas o de promoción de la salud al mismo tiempo permitió identificar las áreas, los grupos etarios más afectados y las variables macroambientales que están asociadas al aumento de la incidencia de leishmaniasis en el cantón de Talamanca.

Abstract

Objective: analyze the spacial distribution of cutaneous leishmaniasis cases at the EBAIS (Basic Health Integral Attention Centres from its Spanish acronym) level in talamanca county through annual incidence. The selected data was from the reported leishmaniasis cases in Talamanca during 2008. **Methodology:** retrospective longitudinal study of cutaneous leishmaniasis reported cases. The observational unit used was the EBAIS who reported leishmaniasis cases during 2008. Through an ArcView software, the data was analyzed to compare the case distribution among the EBAIS and the predominant macroenvironmental characteristics in the attraction areas of each EBAIS studied. **Results:** a total of 372 leishmania cases were reported during the epidemiological weeks 1-52 during 2008 with an accrued incidence of 11.78 cases per 1000 habitants. The EBAIS with the greater incidence levels were: Gavilán (35.87 cases) Katsi (35.00 cases), Amubri (18.02 cases), Cahuita (14.99 cases) y Sepecue (14.86 cases). Significant incidence differences were found among the Talamanca's EBAIS. This study used the geographic information systems for the casuistic analysis and to provide an information management model that can support decision making, specially the preventive activity planning or health promotion. At the same time, area identification, more affected age groups, and macroenvironmental variables associated with the leishmaniasis incidence increase in Talamanca county were determined.

Palabras claves: Incidencia de leishmaniasis, SIG, EBAIS, Caracterización Macroambiental

2.1 Introducción

La leishmaniasis es una enfermedad de alta prevalencia en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo, tales como el este y sureste de Asia, Oriente Medio, norte y este de África, el sur de Europa (cuenca del Mediterráneo) y América Central y Sudamérica¹. Es endémica en 88 países en áreas tropicales, 72 de los cuales están en vías de desarrollo. Descrita en 24 países de América, extendiéndose desde el sur de Estados Unidos (Texas) hasta el norte de Argentina².

A nivel mundial, el subregistro de casos es elevado; sin embargo, estimaciones basadas en los pocos datos disponibles indican que están expuestos a contraer la enfermedad alrededor de 350 millones de personas y que en la actualidad existen unos 12 millones de infectados, con unos 500,000 casos nuevos de leishmaniasis visceral y 1-1.5 millones de casos de leishmaniasis cutánea ulcerada por año.³

En las áreas rurales de Costa Rica es conocida con el nombre de “papalomoyo” (del Nahuatl: papalotl: mariposa y moyotl: mosquito), lo que indica que la misma existía desde los principios precolombinos.⁴

De acuerdo con las estadísticas publicadas por el Ministerio de Salud Pública, se informaron anualmente entre 481 y 998 casos durante el periodo 1996-2000, aproximadamente entre 14 y 26 casos por cada 100,000 habitantes. En comunidades indígenas se observaron hasta 196 casos de leishmaniasis^{5,6}.

Jaramillo-Antillón y colaboradores⁷ recientemente reportaron la situación actual de la leishmaniasis en Costa Rica donde se analizaron datos de la Caja Costarricense del Seguro Social del año 2005-2007 informaron que la incidencia promedio de Costa Rica fue 35,7 casos por 100,000 habitantes, siendo el cantón de Talamanca (1179,4 casos por 100000 habitantes) el que presentó la tasa más alta en la provincia de Limón y en el país.

Existen ciertos factores de riesgo ambiental que están estrechamente relacionados con el aumento de los casos de leishmaniasis que incluyen migración, urbanización, deforestación, y nuevos esquemas de irrigación³. En Costa Rica la leishmaniasis cutánea se presenta en ciclos de tres años que coinciden con el fenómeno del Niño. Chaves y Pascual⁸ usaron esta asociación recientemente demostrada para fortalecer la habilidad de la previsión de modelos para predecir epidemias de leishmaniasis. Al mismo tiempo han identificado una fuerte relación entre el clima y enfermedades no estacionarias en el tiempo. La dinámica de la leishmaniasis cutánea evoluciona coherentemente con las variables climáticas incluso los índices del fenómeno del Niño, demostrando una fuerte asociación entre éstas, particularmente después de 1996.

La deforestación en las zonas neotropicales está fuertemente asociada a la reemergencia de la leishmaniasis y al aumento de la incidencia en las zonas donde las personas viven cerca de los bordes de los bosques^{9,10}.

Con el objetivo de analizar la distribución espacial de los casos notificados como leishmaniasis cutánea a nivel de los EBAIS (Equipo Básico de Atención Integral en Salud) en el área de salud de Talamanca por medio de la incidencia anual. Se seleccionaron los registros de casos notificados de leishmaniasis con respuesta terapéutica satisfactoria del área durante el año 2008.

2.2 Metodología

2.2.1 Definición de Caso

Caso clínico notificado: un caso de leishmaniasis cutánea es un paciente que presenta signos clínicos (lesiones cutáneas ulceradas) con respuesta terapéutica satisfactoria.

2.2.2 Tipo de estudio

Estudio longitudinal retrospectivo de los casos notificados como leishmaniasis durante el año 2008.

2.2.3 Localización y demografía del área de estudio

El área de salud de Talamanca se encuentra definida en el cantón de Talamanca. Este cantón se caracteriza por poseer el territorio más extenso de la Región Huetar Atlántica (2809,93 km²). Fue creado mediante la Ley N°4339, el 20 de mayo de 1969, limitando al este y al norte con la República de Panamá, al noroeste con el mar Caribe y al sureste con los cantones de Pérez Zeledón, Buenos Aires y Coto Brus.

Está conformado por cuatro distritos Cahuita, Sixaola, Bratsi y a partir del 13 de mayo del 2003 se aprobó la creación del distrito cuarto, Telire, segregado del distrito de Bratsi ¹¹

El cantón de Talamanca presenta la tasa de natalidad más alta de Costa Rica (26.57), una tasa de fecundidad general de 150,11, tasa de mortalidad general del 3,30 y una tasa de mortalidad infantil del 8,25. Las principales causas de morbilidad son: infecciones respiratorias agudas severas, infecciones parasitarias, gastroenteritis agudas e infecciones de las vías urinarias.

Con respecto a la organización el área de salud de Talamanca, consta de 11 EB AIS distribuidos en las siguientes localidades: Cahuita, Amubre, Suretka, Bribri, Daytona, Margarita, Gavilán, Sepecue, Bambú Home Creek y Telire. Cada EB AIS posee como mínimo: un médico, una enfermera auxiliar y un asistente técnico en atención de salud primaria (ATAPS)¹²

Tiene una población pluricultural de aproximadamente 31.927 habitantes según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) y fue declarada como reserva indígena en 1977 por medio de la Ley Indígena 6162, con un territorio de 62.000 hectáreas¹¹.

2.2.4 Caracterización macroambiental del cantón de Talamanca

Se caracterizó macroambientalmente el cantón de Talamanca utilizando la extensión de interceptos de dos temas de la unidad geoprocesadora de ArcView por medio de las siguientes capas: elevación (autor: ITCR, año: desconocido, fuente: hojas 1:200 000 del Ministerio de Agricultura y Ganadería) precipitación (autor: ITCR, año: desconocido, fuente: hojas 1:200 000 del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza), zonas de vida según Holdrige (autor: ITCR, año: desconocido, fuente: Mapa Ecológico de Costa Rica, según el sistema de clasificación de Zonas de Vida del mundo de L.R. Holdrige, Centro Científico Tropical, escala: 1:200 000) y tipo de suelo (autor: ITCR, año: 1989; fuente: hojas 1:200 000 del Centro Científico Tropical) que fueron obtenidos del Atlas Digital de Costa Rica 2004.

2.2.5 Recolección de registros

Se utilizó la base de datos de Vigilancia de la Caja Costarricense del Seguro Social del área de salud de Talamanca, de la cual se seleccionaron los registros notificados como leishmaniasis durante el periodo antes mencionado.

A nivel geográfico, se utilizaron los EBAIS del área de salud de Talamanca para describir los casos notificados como leishmaniasis.

2.2.6 Distribución geográfica de los casos de leishmaniasis

Con los datos proporcionados por la Caja Costarricense del Seguro Social del área de salud de Talamanca se procedió a crear una base de datos en

formato .dbf usando ArcView (ArcView 3.3. ESRI Inc. 2002) que incluye la información concerniente de los casos notificados como leishmaniasis durante el año 2008. Con el objetivo de describir la distribución geográfica de los casos de leishmaniasis referida a cada EBAIS se calculó la incidencia anual por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia anual} = \frac{\text{número de casos notificados}}{\text{población en riesgo}} \times 1000$$

Con los datos de incidencia anual se procedió a crear un mapa de símbolos graduados en ArcView, que se basa en la incidencia anual obtenida por EBAIS. La interpretación de los valores de la incidencia anual en el mapa es la siguiente:

- Alto Riesgo: Cuartil superior
- Moderado Riesgo: Tercer cuartil
- Bajo Riesgo: Segundo cuartil
- Sin Riesgo: Primer cuartil

2.2.7 Análisis estadístico y espacial

Para determinar la significancia de la incidencia anual entre sexo por EBAIS se realizó la prueba de dos proporciones para muestras independientes y para determinar la significancia de incidencia anual de los EBAIS se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis debido a que los datos no poseen una distribución normal y se desea determinar la significancia de la incidencia anual entre cada EBAIS del área de salud de Talamanca.

2.3 Resultados Obtenidos

2.3.1 Incidencia de casos notificados como leishmaniasis cutánea durante el año 2008 en el área de salud de Talamanca

Durante el año 2008 se notificaron un total de 375 casos de leishmaniasis cutánea, con una incidencia de 39,64 casos /1000 habitantes y una mediana de la incidencia de 9,61casos /1000 habitantes. En la figura 1 se observa la incidencia anual por EBAIS durante el año 2008.

Los EBAIS que reportaron una mayor incidencia anual fueron Gavilán (35,87 casos /1000 habitantes), Telire/Katsi (35,00 casos /1000 habitantes) y Amubri (18,02 casos / 1000 habitantes).

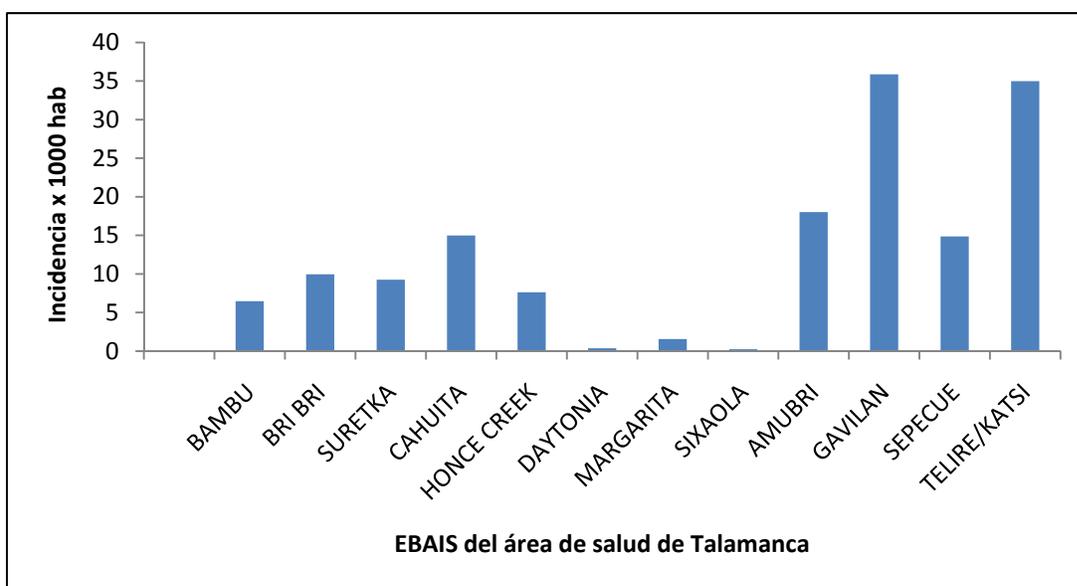


Figura 1. Incidencia de casos notificados como leishmaniasis cutánea en los EBAIS del área de salud de Talamanca. 2008

Durante el año 2008 se notificaron 375 casos clínicos de leishmaniasis en el área de salud de Talamanca, 47,5% correspondieron a personas del sexo femenino y 52,5% al sexo masculino. Con respecto a cada EBAIS solo en el de Gavilán se encontró diferencia significativa con respecto al sexo (Prueba de dos proporciones; $p=0,0092$) (Cuadro 1; Figura 2).

Cuadro 1. Casos notificados de leishmaniasis en el área de salud de Talamanca, 2008.
Distribución por sexo.

| EBAIS | Femenino % (n) | Masculino % (n) | Total% (n) | Valor (p) |
|--------------|----------------|-----------------|------------|-----------|
| Bambú | 62,5 (5) | 37,5 (3) | 100 (8) | 0,3756 |
| Bribri | 54,8 (17) | 45,2 (14) | 100 (31) | 0,4607 |
| Suretka | 46,7 (7) | 53,3 (8) | 100 (15) | 0,7330 |
| Cahuita | 41,9 (18) | 58,1 (25) | 100 (23) | 0,1396 |
| Home Creek | 40,5 (17) | 59,5 (25) | 100 (42) | 0,0875 |
| Daytona | 100,0 (1) | 0,0 (0) | 100 (1) | n/a |
| Margarita | 50,0 (3) | 50,0 (3) | 100 (6) | 1,0000 |
| Sixaola | 0,0 (0) | 100,0 (1) | 100 (1) | n/a |
| Amubri | 58,0 (40) | 42,0 (29) | 100 (69) | 0,0644 |
| Gavilán | 38,5 (25) | 61,5 (40) | 100 (65) | 0,0092 |
| Sepecue | 69,2 (9) | 30,8 (13) | 100 (21) | 0,2378 |
| Telire/Katsi | 50,0 (36) | 50,0 (36) | 100 (72) | 1,0000 |

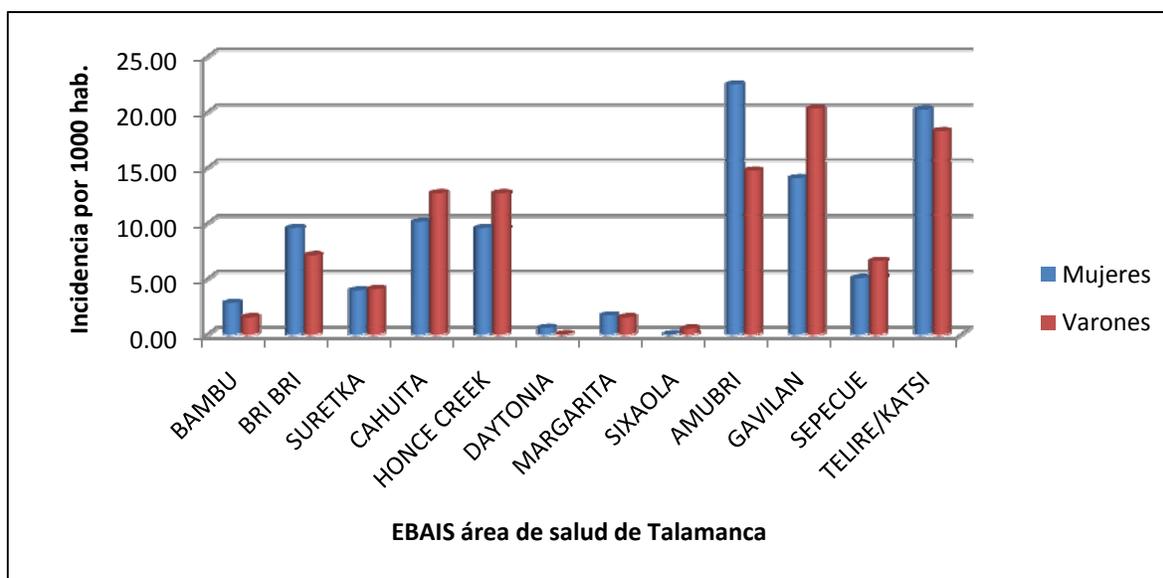


Figura 2. Incidencia anual de los casos notificados de leishmaniasis / 1000 habitantes según EBAIS y sexo, área de salud de Talamanca, 2008.

2.3.2 Identificación de EBAIS con mayor incidencia en el Cantón de Talamanca, Limón

Para mostrar la incidencia por cada EBAIS se procedió a la creación de un mapa (ver figura 3) del cantón de Talamanca, donde se agruparon las localidades que comprenden cada EBAIS y que registraron una incidencia igual o mayor a 0 casos por 1000 habitantes.

Los EBAIS que mostraron una mayor incidencia fueron: Gavilán (35.87 casos/1000 hab.) Katsi (35.00 casos/1000 hab.), Amubri (18.02 casos/hab.), Cahuita (14.99 casos/1000 hab) y Sepecue (14.86/1000 hab casos).

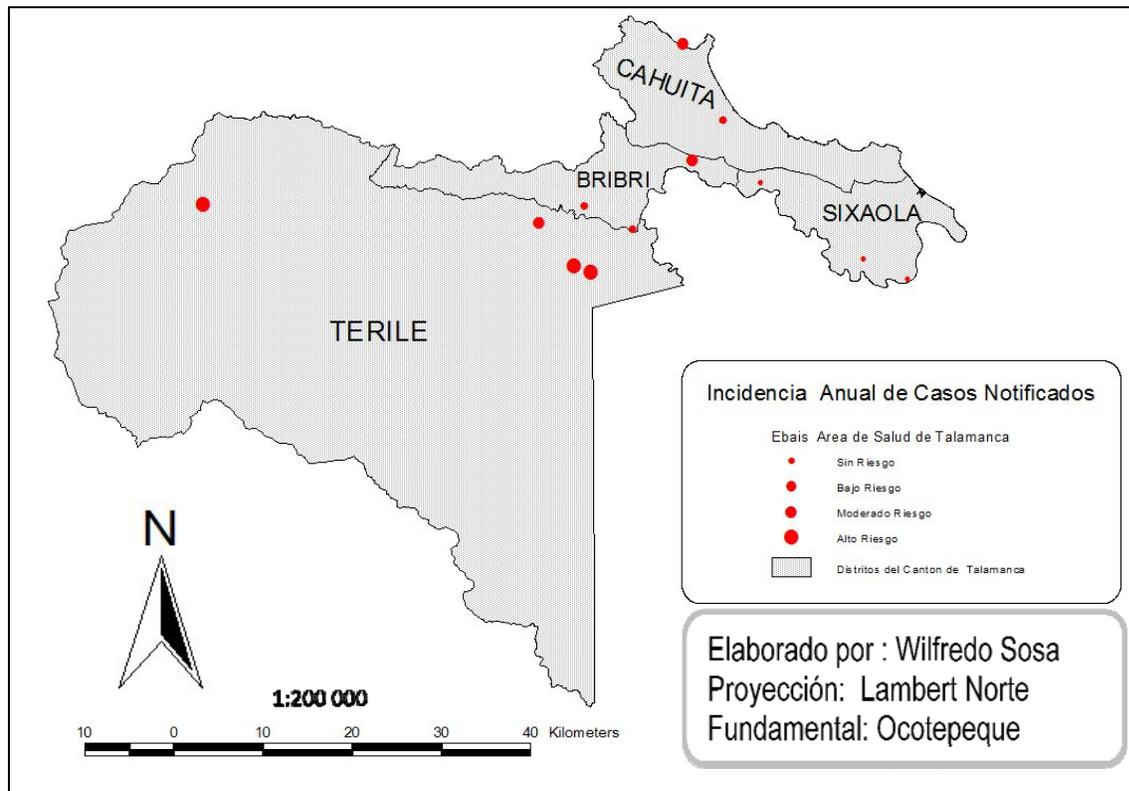


Figura 3. Incidencia anual por EBAIS en el área de salud de Talamanca, Limón, Costa Rica.

Con respecto a la significancia de la incidencia se encontró que existe diferencia significativa entre los EBAIS del área de salud de Talamanca ($H=95,77$; $p<0.0001$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Prueba de significancia de Kruskal Wallis comparando la incidencia anual entre cada EBAIS del área de salud de Talamanca, Limón. 2008

| EBAIS | Valor (H) | Significancia | | |
|--------------|------------------|----------------------|---|---|
| Sixaola | 220,15 | A | | |
| Daytona | 220,65 | A | | |
| Margarita | 232,37 | A | | |
| Bambú | 256,56 | A | B | |
| Suretka | 284,62 | A | B | C |
| Bribri | 318,33 | | B | C |
| Sepecue | 320,75 | | B | C |
| Cahuita | 326,63 | | | C |
| Home Creek | 326,63 | | | C |
| Amubri | 396,94 | | | D |
| Telire/Katsi | 408,63 | | | D |
| Gavilán | 437,75 | | | D |

Las letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) según la prueba de significancia de Kruskal Wallis

2.3.3 Caracterización macroambiental del cantón de Talamanca

Se caracterizó macroambientalmente el área de salud de Talamanca, seleccionándose las capas que pueden influir en la ecología de la enfermedad. Se encontró que el bosque húmedo tropical es el más frecuente de las zonas de vida de Holdrige identificadas. Con respecto al tipo de suelo los grupos que más frecuente se encontraron fueron tropohumult y eutropept respectivamente. Las frecuencias de cada capa se describen en el cuadro 3.

Cuadro 3. Características macroambientales del Cantón de Talamanca, Limón, Costa Rica

| Variable | Descripción | Frecuencia | |
|-------------------------------|-------------|-------------------------------------------------|-----|
| Geología (Descripción) | Qs | Depósitos Aluviales y Coluviales | 10 |
| | QT sc | Rocas Sedimentarias Volcanoclasticas | 13 |
| | Qvp | Facies Proximales de Rocas Volcánicas Recientes | 12 |
| | Ti | Rocas Intrusivas | 32 |
| | TKsd | Rocas Sedimentarias de Aguas Profundas | 6 |
| | Tv | Rocas Volcánicas | 9 |
| Zonas de Vida (Nombre) | Bh -T | Bosque Húmedo Tropical | 5 |
| | Bmh-P | Bosque Muy Húmedo Premontano | 4 |
| | Bmh-P6 | Bosque Muy Húmedo Premontano Transición a Basal | 3 |
| | Bmh-T | Bosque Muy Húmedo Tropical | 4 |
| | n/a | Bosque Pluvial Montano | 3 |
| | Bp-MB | Bosque Pluvial Montano Bajo | 1 |
| | Bp-P | Bosque Pluvial Premontano | 2 |
| | pp-SA | Paramo Pluvial Subalpino | 2 |
| Suelos (Gran Grupo) | | Eutropept | 9 |
| | | Tropaquent | 5 |
| | | Tropaquept | 2 |
| | | Tropohumult | 22 |
| | | Troportent | 4 |
| Precipitación (Ppa) | | 2200 | 2 |
| | | 2500 | 3 |
| | | 3000 | 4 |
| | | 3500 | 3 |
| | | 4000 | 1 |
| | | 4500 | 1 |
| | | 5000 | 1 |
| | | 5500 | 1 |
| Elevación (msnm) | | 0-500 | 125 |
| | | 600 -1000 | 186 |
| | | 1100 -1500 | 326 |
| | | 1600-2000 | 198 |
| | | 2100 -2500 | 101 |
| | | 2600 -3000 | 66 |
| | | 3100 -3500 | 33 |
| | 3600 -4000 | 6 | |

2.3.4 Discusión

En la actualidad, los sistemas de información geográfica son un instrumento ampliamente utilizado para llevar a cabo vigilancia epidemiológica y análisis espacial en los estudios de situación de enfermedades vectoriales¹³. Sin embargo, este instrumento apenas se está comenzando a utilizar en Costa Rica para este propósito.

Se encontró que durante el año 2008 en los EBAIS del área de salud de Talamanca se informaron 375 casos notificados como leishmaniasis con una incidencia anual de 39,64/1000 habitantes, lo que concuerda con datos informados en el periodo 2005 -2007, donde el Cantón de Talamanca es el que presenta una mayor incidencia.⁷

Con respecto a la distribución por sexo de los casos notificados como leishmaniasis en el área de salud de Talamanca, solo en el EBAIS de Gavilán se encontraron diferencias significativas (prueba de dos proporciones; $p=0,0092$) lo que concuerda con lo reportado por Treviño 2000¹⁴

Se encontraron diferencias significativas en las incidencias entre los EBAIS (Prueba de Kruskal Wallis: $p<0,0001$), siendo los EBAIS de Amubri Telire/Katsi y Gavilán los que difieren de los demás pero se comportan similarmente entre ellos.

La descripción macroambiental del área de salud de Talamanca nos indica que posee las condiciones ambientales para el mantenimiento del ciclo selvático de la leishmaniasis, debido a que los EBAIS se encuentra entre los 0 -500 msnm, una temperatura promedio de 25 °C, humedad relativa del 80,0%, bosque húmedo tropical, una precipitación anual de 3500 mm y como tipo de suelo en gran grupo Tropohumult y Eutropept así como ha sido informado en la literatura.^{14,15,16,17}

Este estudio hace uso de sistemas de información geográfica para el análisis de la casuística y provee un modelo de manejo de la información que puede apoyar la toma de decisiones, entre éstas, las relacionadas con la planificación de las actividades preventivas o de promoción de la salud al mismo tiempo permitió

identificar los EBAIS con mayor incidencia y las variables macroambientales que posiblemente estén asociadas al aumento de la incidencia de leishmaniasis en el área de salud de Talamanca.

2.3.5 Conclusiones

1. En los EBAIS de Amubri, Katsi y Gavilán fue donde se presentaron la mayor incidencia de casos notificados como leishmaniasis, esto sugiere que existen las condiciones para el establecimiento del ciclo de transmisión de la leishmaniasis cutánea en las localidades que son atendidas por estos EBAIS. El diagnóstico clínico se obtiene por la presencia de lesión con respuesta al tratamiento. Sin embargo, una limitación al diagnóstico es la no confirmación por microscopia del agente etiológico de los casos notificados lo que impide corroborar las tasas de incidencia encontradas.
2. Las condiciones socioeconómicas influyen también en el establecimiento de la biocenosis lo cual es particularmente importante en esta zona dada las condiciones de vida de la población. Talamanca tiene uno de los índices de desarrollo humano más bajos de Costa Rica. Esto también indica desigualdades en la atención de la salud entre las zonas rurales y las urbanas.

2.3.6 Recomendaciones

1. Establecer un sistema de vigilancia usando como unidad observacional los EBAIS para indicar anualmente las áreas que notifican el mayor número de casos.
2. Aprovechar los Sistemas de Información Geográfica usados en este estudio para el fortalecimiento de la unidad de vigilancia de salud del área de Talamanca.
3. Fortalecer la red de laboratorios del área de salud de Talamanca en el diagnóstico parasitológico de leishmaniasis por medio de capacitaciones en la toma de muestra a los médicos o enfermeras que atienden los pacientes en los EBAIS del área de salud de Talamanca.

2.3.7 Literatura Citada

1. Vidyashankar C, Noel GJ. Leishmaniasis. *Medicine Journal* 2002; 3:1-19.
2. Grimaldi G, Tesh R, McMahon-Pratt D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 41:697-725.
3. Organización Panamericana de la Salud (PAHO). *Epidemiología y Control de la Leishmaniasis en las Américas, por País o Territorio*. 2007
4. Zeledón R. Leishmaniasis in North America, Central America and the caribbean islands: Leishmaniasis, Chang K.P. ,Bray R.S.(eds.) Elsevier. Publ., Amsterdam, New York, Oxford: 1985; 313-350.
5. Ministerio de Salud, CR (MS). Situación de las condiciones de salud de los pueblos indígenas en Costa Rica. 2000. En línea, consultado 2 febrero, 2009. Disponible: <http://www.ministeriodesalud.go.cr/ops/saludpueblosindigenas/>
6. Ministerio de Salud, CR (MS). 2002. Memoria anual 2002. Casos Registrados de Enfermedades de Declaración Obligatoria según causa específica según año de ocurrencia. Costa Rica 2000-2002. En línea, consultado 2 febrero 2009. Disponible: <http://www.ministeriodesalud.go.cr/memorias/mem2002.pdf>
7. Jaramillo-Antillón O, Espinoza-Aguirre A, Lobo-Philp R. Estado actual de la leishmaniosis en Costa Rica. *Acta méd. costarric.*2009: Vol 51 (3), julio-setiembre 2009
8. Chaves LF, Pascual P. Climate cycles and forecasts of cutaneous leishmaniasis, a nonstationary vector-borne disease. *PLoS Med.* 2006; 3: e295. DOI: 10.1371/journal.pmed.0030295
9. Badaro R. Current situation in regard to leishmaniasis in Brazil. In: *Research on Control Strategies for the Leishmaniasis; Proceedings of an International Workshop held in Ottawa, Canada 14 June 1987*. B.C. Walton (eds). IDRC Manuscript Report 184e. Ottawa, Canada: International Development Research Centre. (1988) pp 91–100.
10. Yadon ZE, Rodríguez LC, Davies CR, Quigley MA. Indoor and peridomestic transmission of American cutaneous leishmaniasis in northwestern Argentina: A retrospective case-control study. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* 2003; 68: 519 -526.
11. Diario oficial la Gaceta. San José, Costa Rica. 20 de mayo del 2004. En línea, consultado 29 de junio del 2009. <http://www.hacienda.go.cr/centro/datos/Decreto/Decretos-La%20Gaceta%2098-20%20MAY-2004.pdf>
12. Caja Costarricense del Seguro Social. 2009. Área de Salud Talamanca. Información general. Características demográficas. Red de servicios. Ubicación geográfica. En línea. Consultado 1 de julio del 2010. Disponible: http://www.ccss.sa.cr/html/organizacion/gestion/gerencias/administrativa/dcss/archivos/catalogo_del_proveedor/HUETAR_ATLANTICA/AREAS_DE_SALUD/Talamanca.pdf

13. Martinez R. Geographic Information System For Dengue Prevention And Control. Working paper for the Scientific Working Group on Dengue Research, convened by the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, Geneva, 1-5 October 2006. World Health Organization on behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, 2007, http://www.who.int/tdr/publications/publications/swg_dengue_2.htm
14. Treviño Nancy. Dinámica de Infección de Leishmaniasis y Fluctuación de *Lutzomyia* spp (díptera: *Psychodidae*) en cafetales de Nayariy, México. (Tesis Doctoral) Universidad Autónoma de Nuevo León. 2000.
15. Tejada A, Cáceres A, Zorrilla V, Palacios O & Miranda J. Distribución de *Lutzomyia* spp. (Diptera: *Psychodidae: Phlebotominae*) en el valle de Huallaga, Huánuco. Instituto de Medicina Tropical “Daniel A. Carrión”, Facultad de Medicina Humana. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima –Perú.
16. Traviezo LE. Flebotomofauna al sureste del estado Lara, Venezuela. *Biomédica*. 2006: vol.26 suppl.1 Bogotá Oct. 2006
17. Argüello-Vargas S. Caracterización del hábitat y distribución de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: *Psychodidae*) en sitios con historia previa de leishmaniasis cutánea atípica en Liberia (Guanacaste, Costa Rica). (Tesis de Maestría). Postgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales, Universidad Nacional de Costa Rica. 2006.

CAPITULO 3

Caracterización del hábitat e identificación de especies de *Lutzomyia* (Diptera: *Psychodidae*) infectadas naturalmente con parásitos del género *Leishmania*, del complejo *Leishmania braziliensis* y *Leishmania panamensis* en Amubri, cantón de Talamanca (Costa Rica).

Wilfredo Sosa-Ochoa

RESUMEN

Objetivo: El propósito del presente estudio fue determinar infecciones naturales de las especies de *Lutzomyia* presentes en domicilios humanos intradomiciliarios de Amubri, cantón de Talamanca y caracterizar su hábitat. **Métodos:** Por medio de un muestreo probabilístico se seleccionaron 32 viviendas en las cuales se colocaron por cinco noches consecutivas trampas tipo CDC sin utilizar atrayente químico. Las hembras colectadas de *Lutzomyia* fueron identificadas por medio de aclaramiento de la espermateca y el cibario utilizando KOH al 10%. Los machos fueron identificados por medio de la observación de la genitalia externa, característica de cada especie. La caracterización macro-ambiental del área de estudio se realizó por medio de capas temáticas del Atlas de Costa Rica utilizando la extensión geoprocesadora del software ArcView. Se realizó una encuesta en la cual se determinaron los factores micro-ambientales presentes en las casas estudiadas. **Resultados:** En la localidad de Amubri, cantón de Talamanca, se recolectaron 229 individuos del género *Lutzomyia* distribuidos en 18 casas de un total de 32 muestreadas. *Lu. panamensis*, *Lu. gomezi*, *Lu. ylephiletor* y *Lu. barrettoii majuscula* fueron las más abundantes en la zona. La caracterización microambiental de las viviendas mostró que existe una homogeneidad en las variables microambientales de las casas en la comunidad de Amubri. **Conclusiones:** Se reporta por primera vez para el Cantón de Talamanca las especies de *Lu. barrettoii majuscula* y *Lu. serrana*. La abundancia de especies antropófilas y vectoras como *Lu. panamensis* y *Lu. gomezi* sugiere la posibilidad que estén involucradas como principales transmisoras de leishmaniasis cutánea en la localidad de Amubri.

ABSTRACT

Objective: the purpose of this study was to determine naturally infected *Lutzomyia* species that were present at Amubri, Talamanca county's households and characterize its habitat. **Methods:** through a probabilistic sampling, 32 houses were selected in which CDC traps were placed five nights in a row, without a chemical attractant. The collected were identified through spermatheca and female cibarium clearing using KOH at 10%. The males were identified by observing each species' characteristic external genitalia. The study area's macro-environmental characterization was made through theme layer from the Costarican Atlas using the ArcView geoprocessor software extension. A survey was made which determined the micro-environmental factors present in the studied houses. **Results:** In Amubri, Talamanca county, 229 individuals collected from the *Lutzomyia* gender distributed in 18 houses from a total sample of 32. *Lu. panamensis*, *Lu. gomezi*, *Lu. ylephiletor*, and *Lu. barrettoii majuscula* were the most abundant in the area. The household microenvironmental characterization showed an existing homogeneity in the houses' variables in Amubri. **Conclusions:** the *Lu. barrettoii majuscula* and *Lu. serrana* were reported for the first time in the Talamanca county. The abundance of anthropophilic species and vectors such as *Lu. panamensis* and *Lu. gomezi* suggests the possibility of being involved as the main transmitters for cutaneous leishmaniasis in the Amubri locality.

Palabras Claves: Lutzomyia, Amubri, Infecciones Naturales, SIG

3.1 Introducción

En Costa Rica, la leishmaniasis cutánea americana se presenta en varias formas clínicas: cutánea, mucocutánea y cutánea atípica y se encuentra distribuida en las siete provincias del país^{1,2} siendo la leishmaniasis cutánea la forma más común de la enfermedad y *Leishmania panamensis* el principal agente etiológico^{3,4}. No obstante Peraza y Zeledón⁴ confirmaron la presencia de *L. braziliensis* en zonas del Pacífico y el Caribe y *L. infantum* en el noreste del país, como agentes causales de leishmaniasis cutánea.

Las *Lutzomyia*, vectores involucrados en la transmisión de la infección, son dípteros de la familia Psychodidae, presentes en el continente americano que tienen importancia en Salud Pública, pues están considerados como vectores de agentes patógenos de la leishmaniasis tegumentaria y visceral, además de la bartonelosis humana y de la transmisión de algunos virus⁵.

En el continente americano, se han reportado aproximadamente 480 especies de *Lutzomyia*, de las cuales, 62 especies han sido reportadas en Costa Rica y 19 son antropófilicas⁶.

En Costa Rica, las especies de *Lutzomyia* implicadas como vectores de la leishmaniasis son *Lutzomyia ylephiletor* y *Lutzomyia trapidoi*^{1,7}. Siendo *Lu. ylephiletor*, por su abundancia, presencia en casi todas las zonas del país, hábitos antropófilicos y haber sido detectada con infección natural, el principal vector de la leishmaniasis en Costa Rica⁶. Sin embargo, *Leishmania panamensis* ha sido aislada de *Lutzomyia panamensis*, *Lutzomyia gomezi* y *Lutzomyia sanguinaria*⁸ y todas estas especies se encuentran presentes en la región del cantón de Talamanca.⁹ El propósito del presente estudio fue determinar las especies de *Lutzomyia* presentes en domicilios humanos de Amubri, cantón de Talamanca que estén infectadas naturalmente con especies de *Leishmania* spp., del complejo *L. braziliensis* y *L. panamensis* y caracterizar su hábitat.

3.2 Metodología

3.2.1 Área de estudio

La villa de Amubri se encuentra ubicada en el distrito de Telire, Cantón de Talamanca con una población de 2087 habitantes (1066 masculinos y 1021 femeninos) pertenecientes a la reserva indígena “Bribri”, (INEC, 2004). En la villa de Amubri hay un total de 303 casas habitadas. Las coordenadas geográficas medias de la villa de Amubri están dadas por 9.518040 latitud norte y -82.954190 longitud oeste, con una elevación de 70 msnm¹⁰.

3.2.2 Tipo de estudio: Transversal

3.2.3 Tipo de muestreo

Se realizó un muestreo probabilístico por medio del software Raosoft sample size calculator¹¹ donde los parámetros que se utilizaron fueron: el número de casas de Amubri (303), con 10% de error, nivel de confianza del 75% y 50% de respuesta de distribución, obteniéndose que se necesita muestrear 30 casas.

El criterio espacial para el muestreo fue que las trampas se colocaran a una distancia mínima de 500 metros entre cada una, debido a que el rango promedio de vuelo de las especies de *Lutzomyia* en las áreas Neotropicales es de aproximadamente 1 kilómetro¹². Se tomaron las coordenadas geográficas de cada casa por medio de un Sistema de Geoposicionamiento Global (GPS: por sus siglas en inglés).

3.2.4 Captura de *Lutzomyia* en domicilios humanos

Los flebótomos fueron capturados entre el 15 y el 30 de junio del año 2009 tomando en cuenta el periodo de desarrollo de las *Lutzomyia* y las semanas epidemiológicas que más informaron casos de leishmaniasis durante el año 2007 y 2008 (semana epidemiológica 22 -29 que corresponden del 25 de mayo -19 de

julio), por medio de trampas tipo CDC (Communicable Disease Center, ver anexo 1) como atrayente luminoso se utilizó luz blanca de 6 voltios sin atrayente químico que se colocaron en ambientes intradomiciliares las cuales fueron colocadas entre 30 cm y 1 metro sobre el suelo¹³.

Las trampas totalmente armadas fueron colocadas desde las 18:00 horas hasta las 6:00 horas del día siguiente ya que los flebótomos tienen una preferencia por la actividad nocturna. Las trampas se colocaron por 5 noches consecutivas en el lugar más oscuro de la vivienda (preferiblemente los dormitorios).

3.2.5 Conservación de las *Lutzomyia*

Los flebótomos se recolectaron en bolsas y fueron extraídos por medio de un aspirador, los adultos se conservaron secos, en cajas pequeñas entre hojas de papel secante, colocando naftalina ya que fueron procesados en los siguientes dos meses posteriores a la captura¹³.

3.2.6 Identificación taxonómica de las *Lutzomyia*

Los machos fueron identificados por los genitales ya que se pueden visualizar las estructuras reproductivas externas, a las hembras se le diseccionó los últimos tres segmentos del abdomen para identificar la espermateca y la cabeza para identificar el cibario por medio de los criterios de clasificación según Young & Duncan⁵.

El montaje para la identificación taxonómica de las hembras se realizó según los criterios de Young & Duncan⁵:

- Los ejemplares de las *Lutzomyia* se colocaron en PBS estéril durante dos horas para hidratar el cuerpo del insecto. Se procedió a diseccionar los últimos tres segmentos y la cabeza de la *Lutzomyia*. Luego, se realizó el proceso de clarificación, colocándolos en una solución de hidróxido de potasio al 10% en donde permanecieron durante dos y media horas tomando tonos claros.

- Para detener este proceso, se lavó los últimos tres segmentos y la cabeza con agua destilada tres veces durante cinco minutos.
- Las piezas decoloradas se montaron en medio de hoyero y se observaron las espermatecas en objetivo de 20X la cual es específica para cada especie.

3.2.7 Agrupación por especie y sexo

Se agruparon por especie y sexo de cada vivienda muestreada. Una vez identificada la especie y el sexo de cada *Lutzomyia* se procedió a formar los grupos de 5 hembras con el resto del cuerpo que se mantuvo intacto en PBS estéril a -20 °C.

3.2.8 Detección de especies infectadas con parásitos del género *Leishmania* spp., del complejo *L. braziliensis* y *Leishmania panamensis* por medio de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)

El ADN de los grupos de hembras fue extraído y purificado por medio del protocolo descrito por la casa Quiagen¹⁴. Para la amplificación de las regiones conservadas de los parásitos de *Leishmania* se utilizaron los siguientes juegos de iniciadores. Para la identificación del género *Leishmania* se usaron los siguientes juegos de iniciadores 13A: 5'-GTG GGG GAG GGG CGT TCT- 3'); 13B: 5'-ATT TTA CAC CAA CCC CCA GTT- 3') con un producto de 120 pb¹⁵. Para la identificación de parásitos pertenecientes al complejo *Leishmania braziliensis* se utilizaron los siguientes juegos de iniciadores: MP1L: 5'-TAC TCC CCG ACA TGC CTC TG- 3'; MP3H: 5'-GAA CGG GGT TTC TGT ATG C-3') con un producto de 70 pb¹⁶. Para el proceso de amplificación se utilizó un termociclador marca Perkin Elmer utilizando para la desnaturalización inicial 94 °C por 3 min, 35 ciclos 94 °C por 30 segundos una temperatura de acoplamiento de 56 °C por 30 segundos y una temperatura extensión de 72 °C por 30 segundos.

Para la identificación de parásitos pertenecientes a la especie *Leishmania panamensis* se utilizaron los siguientes juegos de iniciadores: P1: 5'-GGT CGG ATC TGC ATG CAT CAC -3' P2: 5'-CAA AAA GCG AGG GAC TGC GGG -3' con un producto de 79 pb¹⁷. Para el proceso de amplificación se utilizó un termociclador marca Perkin Elmer utilizando para la desnaturalización inicial 94 °C por 5 min, 35 ciclos 95 °C por 30 segundos una temperatura de acoplamiento de 70 °C por 90 segundos y una temperatura extensión de 72 °C por 90 segundos. Como controles positivos se utilizó una cepa de referencia de *Leishmania panamensis* MHOM/PA/71/LS94 donada por la Dra. Andrea Urbina del laboratorio de Zoonosis de la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Costa Rica y otra cepa de *Leishmania braziliensis* MHOM/BR/75/M2903 donada por el Dr. Octavio Souza del Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Parasitarias de Panamá.

La visualización de los productos amplificados se realizó por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 2,0%.

3.2.9 Caracterización macro-ambiental del área de estudio

Se realizó una caracterización general del área de estudio por medio de las capas temáticas del Atlas 2004 por medio de la técnica de asignación de datos (Spatial Join) utilizando la extensión geoprocesadora de ArcView (Xtools.aux)¹⁸.

Las capas utilizadas fueron: geología, tipos de suelo, precipitación, elevación, meses secos y zonas de vida.

3.2.10 Caracterización micro-ambiental de las casas con presencia de *Lutzomyia*

Se realizó una encuesta (Anexo 2) en la cual se determinaron los factores micro-ambientales presentes en las casas estudiadas. De la encuesta se obtuvieron los siguientes datos: código de casa, coordenadas geográficas, localidad, tipo de vivienda donde vive, tenencia de animales, actividad ocupacional e historia previa

de leishmaniasis. Las viviendas se agruparon en dos estratos: un primer estrato en el cual se incluyeron las viviendas con presencia de hembras de *Lutzomyia*; y un segundo estrato en el cual se incluyeron las viviendas en las que no se encontraron hembras del género *Lutzomyia*. Ambos estratos se compararon entre sí por medio de la prueba estadística de diferencia de dos proporciones utilizando el software estadístico InfoStat/Profesional versión 1.1

3.3 Resultados Obtenidos

3.3.1 Especies de *Lutzomyia* encontradas dentro de los domicilios

En el Cuadro 1 se presentan las especies de *Lutzomyia* encontradas en la localidad de Amubri, con su abundancia relativa por especie.

Cuadro 1. Abundancia relativa y hembras capturadas con sangre de las especies de *Lutzomyia* en la localidad de Amubri.

| Especie | Sexo (%) | | Hembras con sangre (%) n= 24 |
|---------------------------------|---------------|-----------------|------------------------------|
| | Machos (n=32) | Hembras (n=197) | |
| <i>Lu. panamensis</i> | 81,25 | 65,5 | 33,4 |
| <i>Lu. gomezi</i> | 13,0 | 23,5 | 16,6 |
| <i>Lu. ylephiletor</i> | 5,75 | 4,0 | 50,0 |
| <i>Lu. cruciata</i> | 0 | 2,0 | |
| <i>Lu. geniculata</i> | 0 | 1,0 | |
| <i>Lu. barrettoii majuscula</i> | 0 | 2,5 | |
| <i>Lu. serrana</i> | 0 | 1,5 | |

En la localidad de Amubri, cantón de Talamanca, se recolectaron 229 individuos del género *Lutzomyia* distribuidos en 18 casas de un total de 32 muestreadas.

Se muestrearon 32 casas de la localidad de Amubri de las cuales 18 (56,25%) resultaron con presencia de alguna especie de *Lutzomyia*. En el Cuadro 2 se presenta la distribución del número de individuos clasificados según la casa de captura.

En total se identificaron siete especies del género *Lutzomyia*, siendo la casa con código A-017 donde se identificaron seis de las siete especies. En la Figura 1 se observa la distribución de las especies por número y sitio de captura.

Cuadro 2. Distribución del número de individuos capturados clasificados según la casa de captura, localidad, especie y sexo en la localidad de Amubri, Limón, Talamanca.

| Casa | Localidad | Fecha de muestreo Año 2009 | No. Individuos capturados | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|-----------|----------------------------|---------------------------|------------|-------------------|-----------|------------------------|----------|---------------------|----------|-----------------------|----------|-----------------------|---|--------------------|---|
| | | | <i>Lu. panamensis</i> | | <i>Lu. gomezi</i> | | <i>Lu. ylephiletor</i> | | <i>Lu. cruciata</i> | | <i>Lu. geniculata</i> | | <i>Lu. barrettoii</i> | | <i>Lu. serrana</i> | |
| | | | M | H | M | H | M | H | M | H | M | H | M | H | M | H |
| S-001 | Tsuidi | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-002 | Tsuidi | 15/06/09 | - | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - |
| S-003 | Tsuidi | 15/06/09 | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-004 | Tsuidi | 15/06/09 | - | 1 | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-005 | Amubri | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-006 | Amubri | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-007 | Amubri | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-008 | Amubri | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-009 | Amubri | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-010 | Amubri | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-011 | Amubri | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - |
| A-012 | Amubri | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-013 | Amubri | 15/06/09 | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-014 | Amubri | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-015 | Amubri | 15/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-016 | Amubri | 22/06/09 | - | 2 | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-017 | Amubri | 22/06/09 | 21 | 108 | 2 | 39 | 2 | - | 4 | - | - | - | 1 | - | 3 | - |
| A-018 | Amubri | 22/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A-019 | Amubri | 22/06/09 | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - |
| C-020 | Cachabri | 22/06/09 | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C-021 | Cachabri | 22/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C-022 | Cachabri | 22/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C-023 | Cachabri | 22/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - |
| C-024 | Cachabri | 22/06/09 | - | 2 | - | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C-025 | Cachabri | 22/06/09 | 2 | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C-026 | Cachabri | 22/06/09 | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C-027 | Cachabri | 22/06/09 | - | - | 2 | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C-028 | Cachabri | 22/06/09 | 1 | 1 | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - |
| C-029 | Cachabri | 22/06/09 | 2 | 4 | - | 1 | - | 4 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C-030 | Cachabri | 22/06/09 | - | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C-031 | Cachabri | 22/06/09 | - | 4 | - | - | - | 1 | - | - | - | 1 | - | - | - | - |
| A-032 | Amubri | 22/06/09 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Total | | | 26 | 129 | 4 | 46 | 2 | 8 | 4 | 2 | 5 | 3 | | | | |

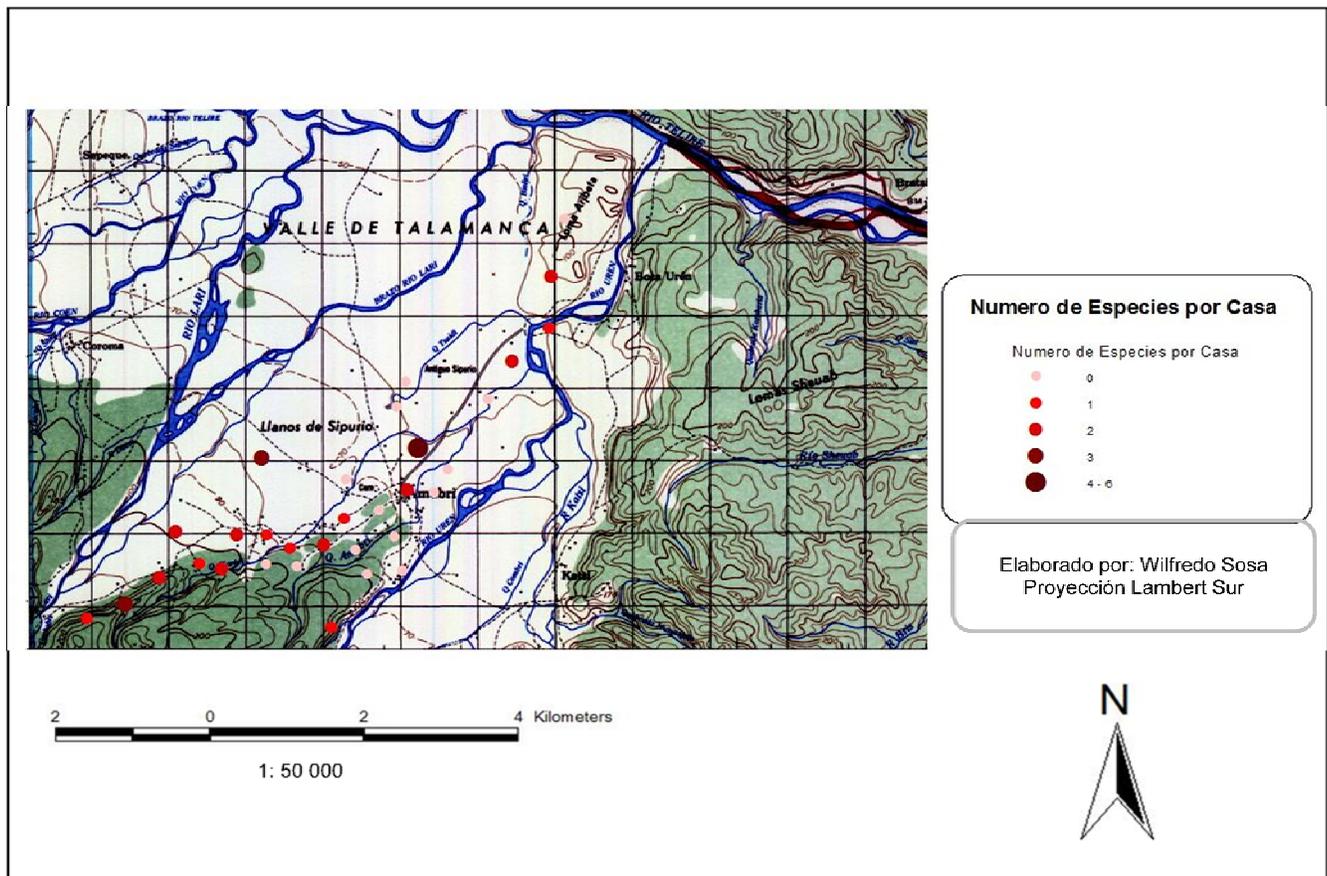


Figura 1. Distribución de número de especies en cada sitio de captura.

3.3.2 Distribución geográfica de las especies identificadas en la localidad de Amubri

En el presente estudio se identificaron siete especies pertenecientes al género *Lutzomyia* de las cuales seis poseen evidencia de ser antropófilas y cuatro se han descrito como vectores de *Leishmania* spp^{1,7,8}. A continuación se detalla la distribución geográfica de las tres especies de *Lutzomyia* con mayor abundancia relativa identificadas en la localidad de Amubri.

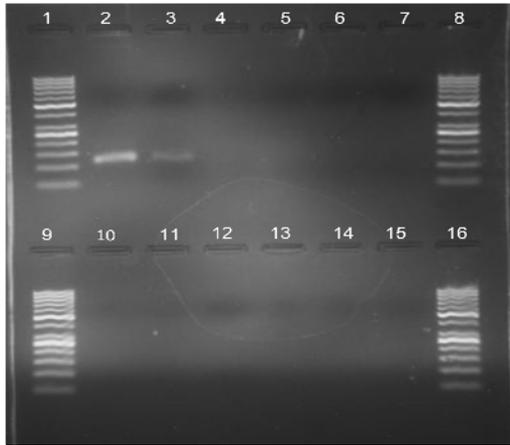
3.3.3 Infecciones naturales por *Leishmania*, complejo *Leishmania braziliensis* y *Leishmania panamensis* en individuos del género *Lutzomyia* capturados

Para la detección de ADN de especies de *Leishmania* se procesaron un total de 173 hembras de las diferentes especies distribuidas en 32 grupos tomando en cuenta la especie y domicilio de captura. En el Cuadro 3 se presenta el número total de hembras procesadas por PCR.

Cuadro 3. Detección de infección natural en grupos de individuos del género *Lutzomyia* en la localidad de Amubri por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

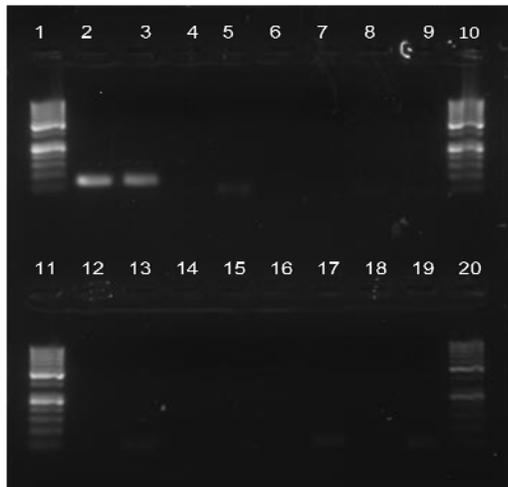
| Especie | Grupos procesados por PCR (No. flebótomos procesados) en la localidad de Amubri. | Positivos a <i>Leishmania</i> | Positivos al complejo <i>L. braziliensis</i> | Positivos a <i>L. panamensis</i> |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| <i>Lu. panamensis</i> | 20 (111) | 0 | 0 | 0 |
| <i>Lu. gomezi</i> | 7 (44) | 0 | 0 | 0 |
| <i>Lu. ylephiletor</i> | 5 (18) | 0 | 0 | 0 |

En el presente estudio no se logró amplificar ADN de parásitos del género *Leishmania*, del complejo *L. braziliensis* y *L. panamensis* por medio de la Técnica de Reacción de la Polimerasa. En las Figuras 5,6 y 7 se observan los resultados obtenidos de la electroforesis para el género *Leishmania*, complejo *L. braziliensis* y *L. panamensis*.



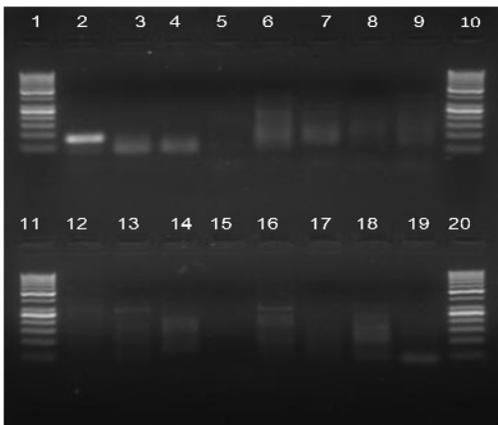
Carril 1,8,9 y16: marcador de peso molecular 50 pb
 Carril 2: control positivo: cultivo de *L.(V) panamensis* MHOM/PA/71/LS94.
 Carril 3: control positivo: cultivo de *L.(V) braziliensis* MHOM/BR/75/M2903
 Carril 4: control negativo: ADN *Tripanosoma vivax*
 Carril 5-7 y 10-15: grupos de *Lutzomyia* de la localidad de Amubri.

Figura 5. Detección de ADN de parásitos del género *Leishmania* usando los iniciadores 13A y 13B



Carril 1,10,11 y 20: marcador de peso molecular 50 pb
 Carril 2: control positivo: cultivo de *L.(V) panamensis* MHOM/PA/71/LS94.
 Carril 3: control positivo: cultivo de *L.(V) braziliensis* MHOM/BR/75/M2903
 Carril 4: control negativo: ADN *Tripanosoma vivax*
 Carril 5-9 y 12-19: grupos de *Lutzomyia* de la localidad de Amubri.

Figura 6. Detección de ADN de parásitos del complejo *Leishmania (V) braziliensis* usando los iniciadores MP1L y MP3H.



Carril 1,10,11 y 20: marcador de peso molecular 50 pb
 Carril 2: control positivo: cultivo de *L.(V) panamensis* MHOM/PA/71/LS94.
 Carril 3: cultivo de *L.(V) braziliensis* MHOM/BR/75/M2903
 Carril 4: control negativo: ADN *Tripanosoma vivax*
 Carril 5-9 y 12-19: grupos de *Lutzomyia* de la localidad de Amubri.

Figura 7. Detección de ADN de parásitos de *Leishmania (V) panamensis* usando los iniciadores P1 y P2.

3.3.4 Caracterización macro-ambiental del área de estudio

Se caracterizó macroambientalmente la villa de Amubri donde se encontraron precipitaciones anuales entre 2500 -3000 mm; el área de estudio se encuentra entre los 100 y 200 msnm; está compuesta por los grandes grupos de suelos de Eutropept, Trpohumult, Troporhent. Las zonas de vida encontradas son bosque húmedo tropical y bosque muy húmedo premontano transición a basal. En el Cuadro 4 se presentan todas las variables macroambientales con sus respectivas frecuencias.

Cuadro 4. Características macroambientales del área de Amubri, Talamanca, Costa Rica

| Variable | Área de Estudio | Frecuencia |
|------------------------|-------------------------------------------------|------------|
| Precipitación (Ppa) | 2500 | 1 |
| | 3000 | 31 |
| Elevación | 100 | 29 |
| | 200 | 3 |
| Suelos (Gran grupo) | Eutropept | 22 |
| | Tropohumult | 7 |
| | Troporhent | 3 |
| Geología (descripción) | Depósitos aluviales y coluviales | 31 |
| | Rocas sedimentarias de agua profundas | 1 |
| Meses secos | 2 | 32 |
| Zonas de vida (nombre) | Bosque húmedo tropical | 28 |
| | Bosque muy húmedo premontano transición a basal | 4 |

3.3.5 Características micro-ambientales de las casas muestreadas en la localidad de Amubri

La caracterización microambiental de las viviendas mostró que existe una homogeneidad en las variables microambientales de las casas en la comunidad de Amubri. En el Cuadro 5 se presentan las frecuencias de las variables microambientales de las casas con presencia y ausencia de individuos del género *Lutzomyia* en la localidad de Amubri.

Cuadro 5. Frecuencias de las variables microambientales de las casas con presencia y ausencia de individuos del género *Lutzomyia* en la localidad de Amubri.

| Variable | Frecuencia casas con presencia de individuos del genero <i>Lutzomyia</i> ; n=18 (%) | Frecuencia casas ausentes de individuos del genero <i>Lutzomyia</i> ; n=14 (%) | Valor de P |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Gambas de arboles | 14 (77,8) | 10 (71,4) | 0,70 |
| Troncos caídos | 15 (83,3) | 10 (71,4) | 0,66 |
| Sitio de reposo de animales | 11 (61,1) | 10 (71,4) | 0,71 |
| Gallineros | 10 (55,6) | 11 (78,6) | 0,26 |
| Tenencia de animales (Intr /Extra) | 5 (27,8) | 0 (0) | |
| Animales domésticos | | | |
| Perros | 17 (94,4) | 14 (100) | 1,00 |
| Gato | 9 (50,0) | 11 (78,6) | 0,14 |
| Aves | 17 (94,4) | 13 (92,9) | 1,00 |
| Cerdos | 14 (77,8) | 12 (85,7) | 0,67 |
| Caballos | 6 (33,3) | 8 (57,1) | 0,28 |
| Roedores | 3 (16,7) | 2 (14,3) | 1,00 |
| Conejos | 0 (0) | 1 (7,1) | 0,43 |
| Termeros | 0 (0) | 0 (0) | - |
| Tipo de Vivienda | | | |
| Adobe | 0 (0) | 0 (0) | - |
| Bloque | 2 (11,1) | 1 (7,1) | 1,00 |
| Madera | 18 (100) | 14 (100) | 1,00 |
| Sobre pilones | 4 (22,2) | 5 (35,7) | 0,45 |
| Pared irregular | 3 (16,7) | 1 (7,1) | 0,61 |
| Tipo de Servicio Sanitario | | | |
| Letrina | 13 (72,2) | 9 (64,3) | 0,71 |
| Tanque séptico | 5 (27,8) | 6 (42,9) | 0,46 |
| Aire libre | 0 (0) | 0 (0) | - |
| Ubicación Servicio Sanitario | | | |
| Fuera de la casa | 16 (88,9) | 11 (78,6) | 0,63 |
| Dentro de la casa | 2 (11,1) | 3 (21,4) | 0,63 |
| Tipo de Piso | | | |
| Tierra | 0 (0) | 1 (7,1) | 0,43 |
| Madera | 16 (88,9) | 11 (78,6) | 0,63 |
| Cemento | 2 (11,1) | 4 (28,6) | 0,36 |
| Tipo de Paredes | | | |
| Cartón | 0 (0) | 0 (0) | - |
| Bambú | 0 (0) | 0 (0) | - |
| Palma y/o paja | 2 (11,1) | 0 (0) | 0,49 |
| Adobe | 0 (0) | 0 (0) | - |
| Zinc | 0 (0) | 0 (0) | - |
| Madera | 16 (88,9) | 14 (100) | 0,49 |
| Cemento | 1 (5,6) | 3 (21,4) | 0,29 |
| Tipo de Techo | | | |
| Zinc | 14 (77,8) | 11 (78,6) | 1,00 |
| Teja | 1 (5,6) | 0 (0) | 1,00 |
| Palma y/o paja | 6 (33,3) | 3 (21,4) | 0,69 |
| Tipo de Iluminación | | | |
| Eléctrica | 8 (44,4) | 10 (71,4) | 0,075 |
| Vela | 8 (44,4) | 4 (28,6) | 0,47 |
| Alcohol y/o Querosene | 2 (11,1) | 0 (0) | 0,49 |
| Tipo de Ventanas | | | |
| Vidrio | 1 (5,6) | 2 (14,3) | 0,56 |
| Madera | 10 (55,6) | 9 (64,3) | 0,72 |
| Sin ventanas | 8 (44,4) | 3 (21,4) | 0,26 |

3.3.6 Discusión

La infección natural es uno de los criterios más importantes en la incriminación de una especie de *Lutzomyia* como vector de *Leishmania*¹⁹ y es la que presenta mayor dificultad en su demostración^{20,21}. Detectar infecciones naturales en las hembras de *Lutzomyia* ha sido un trabajo muy laborioso y no siempre se obtienen los resultados esperados. Diversos estudios mencionan que el índice de infección de *Lutzomyia* con promastigotes es bajo.

Las tasas de infecciones naturales entre las especies de *Lutzomyia* oscilan entre el 0,1% y el 1,9%^{22,23,24}. Para un cálculo exacto de las tasas de infección natural lo más adecuado podría ser extraer el ADN de las hembras individualmente y posteriormente mezclar el ADN de varias hembras en grupos; posteriormente, procesar estos grupos por PCR y al obtener un grupo positivo, correr de nuevo el ADN de cada hembra perteneciente a ese grupo²⁵.

En el presente estudio las especies más abundantes fueron *Lu. panamensis* (hembras: 65,5%; machos: 81,25%) que se encontró en el 32,0% (10/32) de las viviendas y *Lu. gomezi* (hembras: 23,5%; machos: 13,0%) en 19,0% (6/32) de las viviendas. Ambas están entre las principales especies antropófilas de Costa Rica¹ y Panamá y se encuentran infectadas naturalmente con *L. panamensis*^{8,26}. Se informa por primera vez para el cantón de Talamanca la presencia de *Lu. serrana* y *Lu. barrettoii majuscula*.

Lu. panamensis se encontró en el 66,6% de las casas con presencia de hembras y existe una homogeneidad entre las casas con respecto a algunas variables microambientales como son: gambas, gallineros, tenencia de animales domésticos (perro, cerdo y aves), tipo de vivienda (madera), tipo de servicio sanitario (letrinas) coincidiendo con varios estudios realizados en una área endémica de leishmaniasis cutánea en Costa Rica^{27,28}.

Lu. gomezi, vector reconocido de leishmaniasis cutánea en Panamá²⁸; ha sido encontrada infectada naturalmente con diferentes especies de *Leishmania* en distintos países de Suramérica (Colombia^{29,30}, Venezuela³¹).

Tanto *Lu. panamensis* como *Lu. gomezi*, en la localidad de Amubri, fueron abundantes en el intradomicilio, lo cual coincide con informes en los que se demuestra su habilidad para adaptarse a ambientes modificados debido a la deforestación o a la presencia de hábitat humanos cerca de los bosques³².

Lu. barretoii majuscula se encontró dentro de los domicilios. Sin embargo, esta especie no es antropófila pero es atraída por la luz, lo que explica su abundancia en las capturas realizadas con las trampas que utilizan la luz como estímulo de atracción.

Se encontraron tres especies con presencia de sangre en el abdomen (*Lu. panamensis*, *Lu. gomezi* y *Lu. ylephiletor*); sin embargo no se logró determinar si la ingesta de sangre era de humano debido a que el tiempo transcurrido desde la captura en el campo hasta el procesamiento en el laboratorio fue muy largo. La estabilidad y la concentración de la plantilla de ADN ha sido una preocupación debido a que se ha observado la degradación de la plantilla durante la digestión de la sangre en el abdomen de los mosquitos³³. Sant'Anna³⁴ propone que el tiempo transcurrido entre la captura y el procesamiento de la sangre obtenida del abdomen de *Lutzomyia* no debe exceder de las 72 horas para poder ser detectada por medio del PCR.

Con respecto a las variables macroambientales se encontró concordancia entre las variables presentes en el área de estudio (precipitación, elevación y zona de vida) y las informadas en la literatura como focos endémicos de leishmaniasis cutánea.^{8,35,36}

Según Rojas²⁸ ciertas condiciones socioeconómicas y en la infraestructura de las viviendas (letrina peridomiciliar, presencia de animales, sitios de reposo de animales debajo de las casas y las casas sobre pilones) pueden estar relacionadas con la presencia de vectores. En este estudio se encontró que el 84,0% (27/32) de las casas poseen letrina peridomiciliar, el 66,0% (21/32) poseen sitios de reposo debajo de las casas, la mayoría de las viviendas poseen animales: perros 91,0% (31/32), aves 91,0% (31/32) y cerdos 81,0% (26/32).

En siete casas se encontraron hembras con sangre. Estas casas coinciden con la presencia de perros y cerdos en el peridomicilio, letrinas peridomiciliar, en cuanto a los materiales de construcciones todas poseen piso de madera y están ubicadas sobre pilones; algunas de estas características coinciden con informes en la localidad de Nazareth, provincia de Guanacaste³⁷ y en el cantón de Acosta²⁸.

En este estudio no se logró detectar infecciones naturales en las hembras capturadas en el intradomicilio de las viviendas de Amubri, cantón de Talamanca lo que sugiere que la transmisión de la leishmaniasis cutánea se da en el peridomicilio o extradomicilio. Sin embargo, la abundancia de especies antropófilas y vectoras como *Lu. panamensis* y *Lu. gomezi* sugiere la posibilidad que estén involucradas como principales transmisoras de la enfermedad en la localidad de Amubri. En los últimos años la domiciliación de la transmisión de la leishmaniasis se ha informado de manera frecuente en latinoamérica³⁸, lo cual es discutido por Campbell *et al.*⁴⁰, presenta posibilidades para la extracción de una mayor información respecto a la enfermedad, al vector y a la especie del parásito por medio del análisis espacial usando técnicas de los Sistemas de Información Geográfica. Determinantes ecológicas como la temperatura, zona de vida y precipitación pueden analizarse y observar las distribuciones con respecto a la enfermedad. Esto mejoraría las estimaciones de la distribución de las zonas de riesgo al vector y a las especies involucradas en la transmisión y así realizar una buena asignación de recursos y la selección de intervenciones apropiadas.

3.3.7 Conclusiones

1. La transmisión de la leishmaniasis en la zona depende en buena parte del componente vectorial, esto es la composición de especies, el antropofilismo y la tasa de inoculación entomológica (producto de la tasa de infección circulante multiplicada por la tasa de contacto vector-huésped).
2. Este estudio explora la posibilidad de encontrar transmisión intradomiciliar indicada por la presencia de vectores infectados en el interior de las casas (domiciliación); sin embargo, no se encontraron *Lutzomyia* infectadas naturalmente.
3. La no detección de infecciones naturales puede ser debido a que las tasas de infección sean muy bajas y a que el número de individuos capturados por especie en que se trato de detectar la presencia de los parásitos fuera muy pequeña. Este muestreo se realizo durante cinco noches consecutivas, en una semana durante el mes de mayo, con el objetivo de incrementar las tasas de captura por especie; en futuras investigaciones sería necesario aumentar el esfuerzo de captura dada la diversidad de especies encontrada durante este estudio.
4. Queda claramente demostrado que al menos ocho especies de flebótomos pueden ser encontradas en el interior de los domicilios humanos en Amubri, algunas de estas previamente informadas como antropófilicas y vectores de leishmaniasis.
5. En lo que respecta a la estructura de las viviendas, no hubo diferencias significativas entre las que tuvieron presencia de flebótomos y aquellas en que no.

3.3.8 Recomendaciones

1. Implementar un sistema de vigilancia entomológica mensual tanto en el intradomicilio como en el peridomicilio para evaluar la diversidad de especies presentes en el área de Amubri.
2. Es necesario realizar medidas de intervención como la utilización de mosquiteros impregnados con insecticida para evitar la picadura del flebotomino durante la noche.
3. Es necesario incriminar a los principales vectores de leishmaniasis cutánea en la villa de Amubri para poder definir medidas de intervención directamente contra la enfermedad y el vector.
4. Realizar una encuesta serológica a los animales domésticos que habitan las viviendas de la villa de Amubri ya que pueden estar manteniendo el ciclo de transmisión en la zona.
5. Concientizar a las autoridades del Ministerio de Salud de Costa Rica que la leishmaniasis cutánea sigue siendo un problema serio de morbilidad en la zona de Talamanca.
6. Es necesario que exista un empoderamiento de los habitantes de la villa de Amubri con respecto a la enfermedad y a las medidas de control contra los flebotominos.

3.3.9 Literatura Citada

1. Zeledón, R. *et al.*, Leishmaniasis in North America, Central America and the Caribbean Islands. In Chang, KP; Bray, RS. Eds. Leishmaniasis Amsterdam. NL, Elsevier Press. 1985. p314-351.
2. Arias, J; Belt, F; Desjeux, P; Walton, B. Epidemiología y control de la leishmaniasis en las Américas, por país o territorio. Cuaderno Técnico 44. Washington, DC., USA, OPS. 1996. p. 52
3. Zeledón R. Leishmaniasis en el istmo centroamericano e islas del Caribe. In Cosensa, H; Kroeger, A. eds. Enfermedades Parasitarias de mayor Prevalencia y Transmitidas por Vectores en Centro América. Programa de Cooperación Científica Internacional. 1992. p. 135-148
4. Peraza, J; Urbina, U; Zeledón, R. Zymodeme and Seodeme Characterization of *Leishmania* isolates obtenidos from Costa Rican Patients. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 1998. 93: 283-287.
5. Young, D. & M. Duncan. 1994 Guide to identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in México, the West Indies, Central and South America (Díptera: Psychodidae). Memoirs of the American Entomological Institute. Florida, USA.
6. Zeledón R, Murillo J, Gutiérrez H: Flebótomos antropófilos y leishmaniasis cutánea en Costa Rica. Bol Of Sanit Panam, 1985; 99: 163- 162.
7. Ramírez, K. Optimización y uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para determinar la infección natural con parásitos del complejo *Leishmania braziliensis* en el flebótomo *Lutzomyia ylephiletor* proveniente de Breñon de Acosta. 2005.
8. Santamaría E, Ponce N, Zipa Y & Ferro C. Presencia en el peridomicilio de vectores infectados con *Leishmania (Viannia) panamensis* en dos focos endémicos en el occidente de Boyacá, piedemonte del valle del Magdalena medio, Colombia. Biomédica. 2006; 26: 82-84.
9. Murillo, J. & Zeledón, R. Flebótomos de Costa Rica. Brenesia. 1985: 23:1-37
10. Instituto Geográfico Nacional. División Territorial y Administrativa de la República de Costa Rica. 2005.
11. Raosoft. Sample size calculator. En línea. consultado el 29 de junio del 2009. <http://www.ezsurvey.com/samplesize.html>
12. Mullen G.; Durden Lance. Medical and Veterinary Entomology. San Diego, California 92101-4495, USA. Academic Press. 2002.
13. Manual de Procedimientos de Identificación de vectores de Leishmaniasis. Elaborado por el Instituto Nacional de Salud. Perú, 2002
14. DNA Purification from Tissues (QIAamp DNA Mini Kit). Quiagen® Sample & Assay technology. 2007
15. Rodgers, MR; Popper, SJ; Wirth, DF. Amplification of Kinetoplast DNA as a tool in the detección and diagnosis of *Leishmania*. Experimental Parasitology.1990: 71: 267-275.

16. López, M; Inga, R; Cangalaya, M; Echeverría, J; Llanos –Cuentas; Orrego, C; Arevalo, J. Diagnosis of Leishmania using the Polymerase Chain Reaction: A Simplified Procedure for Field Work. *Am. J. trop. Med. Hyg.* 1993; 49(3): 348 -356.
17. Minori T, Matsumoto T, Calvopiña MH, Gomez EA, Saya H, Katakura K *et al.* Usefulness of sampling with cotton swab for PCR-diagnosis of cutaneous leishmaniasis in the New World. *Acta Trop.* 2002; 81:197-202.
18. ESRI. ArcView 3.3. ESRI Inc. 2002.
19. Killick-Kendrick R. Phlebotomus vectors of the leishmaniasis: a review. *Med Vet Entomol.* 1990;4:1-24.
20. Young DG, Morales A, Kreutzer RD, Alexander B, Corredor A, Tesh RB *et al.* Isolations of *Leishmania braziliensis* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) from cryopreserved Colombian sandflies (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol* 1987;24:587-9.
21. Kreutzer RD, Corredor A, Grimaldi JR, Grogli M, Rowton ED, Young DG *et al.* Characterization of *Leishmania colombiensis* sp.n. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), a new parasite infecting humans, animals, and phlebotomine sand flies in Colombia and Panama. *Am J Trop Med Hyg* 1991;44:662-75.
22. Travi BL, Montoya J, Solarte Y, Lozano L, Jaramillo C. Leishmaniasis in Colombia. I. Studies on the phlebotomine fauna associated with endemic foci in the Pacific Coast region. *Am J Trop Med Hyg.* 1998; 39:261-6
23. Santamaría E, Ponce N, Puerta C, Ferro C. Validación de la PCR en la detección de parásitos de *Leishmania (Viannia)* spp. en *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) como herramienta en la definición de especies vectores. *Biomédica.* 2005; 25(2):271-9.
24. Jorquera A, Gonzales R, Marcano-Marchán E, Oviedo M, & Matos M. Multiplex-PCR for detection of natural *Leishmania* infection in *Lutzomyia* spp. Captured in an endemic region for cutaneous leishmaniasis in state of sucre, Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 2005. Vol. 100(1): 45-48.
25. Pérez JE, Ogusuku E, Inga R, López M, Monje J, Paz L *et al.* Natural Leishmania infection of *Lutzomyia* spp. In Peru. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1994;88:161-4
26. Telford S.R., Herrer A & Christensen A. Enzootic cutaneous leishmaniasis in eastern Panamá. III. Ecological factors relating to the mammalian host. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1972;66:173-179.
27. Herrero MV, Urbina A, Gutierrez A, Jiménez A, Pereira R & Rivera C. Peridomesticity of sandflies and Phlebotominae sandflies (Diptera: Psychodidae) in a focus of Leishmaniasis in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 1991; 39:155-157.
28. Rojas JC, 1993. Risk factor for domiciliary and peridomestic transmission of cutaneous Leishmaniasis in Costa Rica (Doctoral Thesis). Baltimore, Maryland: School of Hygiene and Public Health of the Johns Hopkins University, 400 pp.

29. Flórez M, Martínez J, Gutiérrez R, Luna K, Serrano VH, Ferro C, *et al.* *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) en un foco suburbano de leishmaniosis visceral en el Cañón del Chicamocha en Santander Colombia. *Biomédica*. 2006;26(Suppl.1):19-20.
30. Sandoval CM, Angulo VM, Gutiérrez R. Muñoz G, & Ferro C. Especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) posibles vectores de leishmaniasis en la ciudad de Bucaramanga, Santander, Colombia. *Biomédica*. 1998;18:161-8.
31. Traviezo LE. Flebotomofauna al sureste del estado Lara, Venezuela. *Biomédica*. 2006;26(Suppl.1):73-81.
32. Travi BL, Adler GH, Lozano M, Cadena H, Montoya- Lerma J. Impact of hábitat degradation on phlebotomine (Diptera: Psychodidae) of tropical dry forest in orthern Colombia. *J Med Entomol*. 2002: 39:451-6.
33. Mukabana W.R. Takken W. Seda P. Killeen G.F. Hawley W.A. Knols B.G. Extent of digestion affects the success of amplifying human DNA from blood meals of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *Bull. Entomol. Res.* 2002;92:233–239. [PubMed: 12088540]
34. Sant'Anna R.V. *et al.* Blood meal identification and parasite detection in laboratory-fed and field-capture *Lutzomyia longipalpis* by PCR using FTA databasing paper. *Acta Trop.* 2008; 107(3): 230-237.
35. Treviño N. Dinámica de Infección de Leishmaniasis y Fluctuación de *Lutzomyia spp* (Diptera: Psychodidae) en cafetales de Nayariy, México. (Tesis Doctoral) Universidad Autónoma de Nuevo León. 2000.
36. Marquardt W.; Demaree R.; Grieve R. *Parasitology Vector and Biology*. Second Edition. Harcourt Academic Press. 2000.
37. Argüello-Vargas S. Caracterización del hábitat y distribución de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) e sitios con historia previa de leishmaniasis cutánea atípica en Liberia (Guanacaste, Costa Rica). (Tesis de Maestría). Postgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales, Universidad Nacional de Costa Rica; 2006.
38. Campbell-Lendrum D, Dujardin JP, Martinez E, Feliciangeli MD, Perez JE, Silans LN *et al.* Domestic and peridomestic transmission of American cutaneous leishmaniasis: changing epidemiological patterns present new control opportunities. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96:159-62.

2. Discusión General

En el presente estudio se utilizan los sistemas de información geográfica como una herramienta que está siendo ampliamente utilizada para llevar a cabo vigilancia epidemiológica y análisis espacial en los estudios de situación de enfermedades vectoriales¹³. Sin embargo, este instrumento apenas se está comenzando a utilizar en Costa Rica para este propósito.

Se encontró que durante el año 2008 en los EBAIS del área de salud de Talamanca se informaron 375 casos notificados como leishmaniasis con una incidencia anual de 39,64/1000 habitantes, lo que concuerda con datos informados en el periodo 2005 -2007, donde el Cantón de Talamanca es el que presenta una mayor incidencia según lo informado por Jaramillo –Antillón O. 2009⁷

Con respecto a la distribución por sexo de los casos notificados como leishmaniasis en el área de salud de Talamanca, solo en el EBAIS de Gavilán se encontraron diferencias significativas (prueba de dos proporciones; $p=0,0092$) lo que concuerda con lo informado por Treviño N. 2000¹⁴

La descripción macroambiental del área de salud de Talamanca nos indica que posee las condiciones ambientales para el mantenimiento del ciclo selvático de la leishmaniasis, debido a que los EBAIS se encuentra entre los 0 -500 msnm, una temperatura promedio de 25 °C, humedad relativa del 80%, bosque húmedo tropical, una precipitación anual de 3500 mm y como tipo de suelo en gran grupo Tropohumult y Eutropept así como ha sido informado en la literatura por Treviño N.; Tejada A.; Traviezo LE.; Argüello –Vargas S.^{14,15,16,17}

En el presente estudio las especies más abundantes fueron *Lu. panamensis* (hembras: 65,5%; machos: 81,25%) que se encontró en el 32,0% (10/32) de las viviendas y *Lu. gomezi* (hembras: 23,5%; machos: 13,0%) en 19,0% (6/32) de las viviendas. Ambas están entre las principales especies antropófilas de Costa Rica según Zeledón¹ y en Panamá se han informado con infecciones naturales con *L. panamensis* según lo informado por Santamaría E. y Telford S.R.^{8,26}. Se informa

por primera vez para el cantón de Talamanca la presencia de *Lu. serrana* y *Lu. barrettoii majuscula*.

Lu. panamensis se encontró en el 66,6% de las casas con presencia de hembras y existe una homogeneidad entre las casas con respecto a algunas variables microambientales como son: gambas, gallineros, tenencia de animales domésticos (perro, cerdo y aves), tipo de vivienda (madera), tipo de servicio sanitario (letrinas) coincidiendo con varios estudios realizados en una área endémica de leishmaniasis cutánea en Costa Rica según informes de Herrero MV y Rojas JC.^{27,28}

Lu. gomezi, vector reconocido de leishmaniasis cutánea en Panamá²⁸; ha sido encontrada infectada naturalmente con diferentes especies de *Leishmania* en distintos países de Suramérica (Colombia^{29,30}, Venezuela³¹).

Tanto *Lu. panamensis* como *Lu. gomezi*, en la localidad de Amubri, fueron abundantes en el intradomicilio, lo cual coincide con informes en los que se demuestra su habilidad para adaptarse a ambientes modificados debido a la deforestación o a la presencia de hábitat humanos cerca de los bosques lo que coincide con informes de Traviezo LE³².

Lu. barrettoii majuscula se encontró dentro de los domicilios. Sin embargo, esta especie no es antropófila pero es atraída por la luz, lo que explica su abundancia en las capturas realizadas con las trampas que utilizan la luz como estímulo de atracción.

Se encontraron tres especies con presencia de sangre en el abdomen (*Lu. panamensis*, *Lu. gomezi* y *Lu. ylephiletor*); sin embargo no se logró determinar si la ingesta de sangre era de humano debido a que el tiempo transcurrido desde la captura en el campo hasta el procesamiento en el laboratorio fue muy largo. La estabilidad y la concentración de la plantilla de ADN ha sido una preocupación debido a que se ha observado la degradación de la plantilla durante la digestión de la sangre en el abdomen de los mosquitos. Sant'Anna³⁴ propone que el tiempo transcurrido entre la captura y el procesamiento de la sangre obtenida del

abdomen de *Lutzomyia* no debe exceder de las 72 horas para poder ser detectada por medio del PCR.

Con respecto a las variables macroambientales se encontró concordancia entre las variables presentes en el área de estudio (precipitación, elevación y zona de vida) y las informadas en la literatura como focos endémicos de leishmaniasis cutánea según Santamaria E.; Treviño N.; Marquardt W.^{8,35,36}

Según Rojas²⁸ ciertas condiciones socioeconómicas y en la infraestructura de las viviendas (letrina peridomiciliar, presencia de animales, sitios de reposo de animales debajo de las casas y las casas sobre pilones) pueden estar relacionadas con la presencia de vectores. En este estudio se encontró que el 84,0% (27/32) de las casas poseen letrina peridomiciliar, el 66,0% (21/32) poseen sitios de reposo debajo de las casas, la mayoría de las viviendas poseen animales: perros 91,0% (31/32), aves 91,0% (31/32) y cerdos 81,0% (26/32).

En siete casas se encontraron hembras con sangre. Estas casas coinciden con la presencia de perros y cerdos en el peridomicilio, letrinas peridomiciliar, en cuanto a los materiales de construcciones todas poseen piso de madera y están ubicadas sobre pilones; algunas de estas características coinciden con informes en la localidad de Nazareth, provincia de Guanacaste y en el cantón de Acosta²⁸.

En este estudio no se logró detectar infecciones naturales en las hembras capturadas en el intradomicilio de las viviendas de Amubri, cantón de Talamanca lo que sugiere que la transmisión de la leishmaniasis cutánea se da en el peridomicilio o extradomicilio. Sin embargo, la abundancia de especies antropófilas y vectoras como *Lu. panamensis* y *Lu. gomezi* sugiere la posibilidad que estén involucradas como principales transmisoras de la enfermedad en la localidad de Amubri. En los últimos años la domiciliación de la transmisión de la leishmaniasis se ha informado de manera frecuente en latinoamerica, lo cual es discutido por Campbell *et al.*³⁸, presenta posibilidades para la extracción de una mayor información respecto a la enfermedad, al vector y a la especie del parásito por medio del análisis espacial usando técnicas de los Sistemas de Información

Geográfica. Determinantes ecológicas como la temperatura, zona de vida y precipitación pueden analizarse y observar las distribuciones con respecto a la enfermedad. Esto mejoraría las estimaciones de la distribución de las zonas de riesgo al vector y a las especies involucradas en la transmisión y así realizar una buena asignación de recursos y la selección de intervenciones apropiadas.

3. Conclusiones Generales

1. En los EBAIS de Amubri, Katsi y Gavilán fue donde se presentaron la mayor incidencia de casos notificados como leishmaniasis, esto sugiere que existen las condiciones para el establecimiento del ciclo de transmisión de la leishmaniasis cutánea en las localidades que son atendidas por estos EBAIS. El diagnóstico clínico se obtiene por la presencia de lesión con respuesta al tratamiento. Sin embargo, una limitación al diagnóstico es la no confirmación por microscopía del agente etiológico de los casos notificados lo que impide corroborar las tasas de incidencia encontradas.
2. Las condiciones socioeconómicas influyen también en el establecimiento de la biocenosis lo cual es particularmente importante en esta zona dada las condiciones de vida de la población. Talamanca tiene uno de los índices de desarrollo humano más bajos de Costa Rica. Esto también indica desigualdades en la atención de la salud entre las zonas rurales y las urbanas.
3. La transmisión de la leishmaniasis en la zona depende en buena parte del componente vectorial, esto es la composición de especies, el antropofilismo y la tasa de inoculación entomológica (producto de la tasa de infección circulante multiplicada por la tasa de contacto vector-huésped).
4. Este estudio explora la posibilidad de encontrar transmisión intradomiciliar indicada por la presencia de vectores infectados en el interior de las casas (domiciliación); sin embargo, no se encontraron *Lutzomyia* infectadas naturalmente.
5. La no detección de infecciones naturales puede ser debido a que las tasas de infección sean muy bajas y a que el número de individuos capturados por especie en que se trato de detectar la presencia de los parásitos fuera muy pequeña. Este muestreo se realizo durante cinco noches consecutivas, en una semana durante el mes de mayo; con el objetivo de incrementar las tasas de captura por especie, en futuras investigaciones sería necesario aumentar el esfuerzo de captura dada la diversidad de especies encontrada durante este estudio.
6. Otra alternativa es que en este caso la transmisión ocurra en forma exofílica, por lo que las especies sinantrópicas pudieran no ser los

transmisores y existe la posibilidad de que otros flebótomos exofilicos estén jugando el papel principal en la transmisión de la enfermedad.

7. Queda claramente demostrado que al menos ocho especies de flebótomos pueden ser encontradas en el interior de los domicilios humanos en Amubri, algunas de estas previamente informadas como antropófilicas y vectores de leishmaniasis.
8. En lo que respecta a la estructura de las viviendas, no hubo diferencias significativas entre las que tuvieron presencia de flebótomos y aquellas en que no.

4. Recomendaciones Generales

1. Establecer un sistema de vigilancia usando como unidad observacional los EBAIS para indicar anualmente las áreas que notifican el mayor número de casos.
2. Aprovechar los Sistemas de Información Geográfica usados en este estudio para el fortalecimiento de la unidad de vigilancia de salud del área de Talamanca.
3. Fortalecer la red de laboratorios del área de salud de Talamanca en el diagnóstico parasitológico de leishmaniasis por medio de capacitaciones en la toma de muestra a los médicos o enfermeras que atienden los pacientes en los EBAIS del área de salud de Talamanca.
4. Implementar un sistema de vigilancia entomológica mensual tanto en el intradomicilio como en el peridomicilio para evaluar la diversidad de especies presentes en el área de Amubri.
5. Es necesario realizar medidas de intervención como la utilización de mosquiteros impregnados con insecticida para evitar la picadura del flebotomino durante la noche.

6. Es necesario incriminar a los principales vectores de leishmaniasis cutánea en la villa de Amubri para poder definir medidas de intervención directamente contra la enfermedad y el vector.
7. Realizar una encuesta serológica a los animales domésticos que habitan las viviendas de la villa de Amubri ya que pueden estar manteniendo el ciclo de transmisión en la zona.
8. Concientizar a las autoridades del Ministerio de Salud de Costa Rica que la leishmaniasis cutánea sigue siendo un problema serio de morbilidad en la zona de Talamanca.
9. Es necesario que exista un empoderamiento de los habitantes de la villa de Amubri con respecto a la enfermedad y a las medidas de control contra los flebótomos.

Anexo 1. Lámpara tipo CDC (Comunicable Disease Center) totalmente armada.



Anexo 2. Encuesta.

Fecha: _____ Distrito: _____

No. Casa: _____ Localidad: _____

Coordenadas Geográficas: Lat: _____ Long: _____

Factores Microambientales a Observar:

1. Gambas y huecos de árbol
 - a. Sí
 - b. No
2. Troncos caídos
 - a. Sí
 - b. No
3. Sitios de reposo de animales
 - a. Sí
 - b. No
4. Gallineros
 - a. Sí
 - b. No
5. Tenencia de Animales
 - a. Intradomiciliar
 - b. Extradomiciliar
 - c. Intra/Extradomiciliar
 - d. No hay animales
 - e. Otro: Especifique: _____
6. Animales domésticos
 - a. Perro
 - b. Gato
 - c. Aves
 - d. Cerdos
 - e. Caballos
 - f. Roedores
 - g. Conejos
 - h. Terneros
 - i. Ninguno
 - j. Otro: Especifique: _____

7. Tipo de Vivienda
- a. Adobe
 - b. Bloque
 - c. Madera
 - d. Sobre Pilonos
 - e. Otro: Especifique: _____
8. Tipo Servicio Sanitario
- a. Letrina
 - b. Tanque Séptico
 - c. Aire Libre
 - d. Otro: Especifique: _____
9. Ubicación del Servicio Sanitario
- a. Fuera de la Casa
 - b. Dentro de la Casa
 - c. No tienen
 - d. Otro: Especifique: _____
10. Tipo de Piso
- a. Tierra
 - b. Madera
 - c. Cemento
 - d. Otro: Especifique: _____
11. Paredes
- a. Cartón
 - b. Bambú
 - c. Palma y/o paja
 - d. Adobe
 - e. Zinc
 - f. Madera
 - g. Cemento
 - h. Otro: Especifique: _____
12. Tipo de Techo
- a. Zinc
 - b. Teja
 - c. Palma y/o paja
 - d. Otro: Especifique: _____

13. Tipo de Iluminación

- a. Eléctrica
- b. Alcohol y/o queroseno
- c. Vela
- d. Otro: Especifique: _____

14. Ventanas

- a. Vidrio
- b. Madera
- c. Sin Ventanas
- d. Otro: Especifique: _____

Información de Trampa

1. Tipo de Trampa

- a. CDC
- b. Tubo Aspirador

2. Ubicación Trampa

- a. Peridomiciliar: Altura: _____
- b. Intradomiciliar: Altura: _____
- c. Letrinas: Altura: _____

3. Número de Días de Captura: _____

Observaciones: _____
