



Acta Médica Costarricense

ISSN: 0001-6012

ISSN: 0001-6002

Colegio de Médicos y Cirujanos de Costa Rica

Jaramillo-Antillón, Orlando; Espinoza-Aguirre, Azálea; Calvo-Fonseca, Nidia; Mata-Somarribas, Carlos; Wasserman, Henry
La leishmaniosis cutánea en Costa Rica: prevención, diagnóstico y tratamiento
Acta Médica Costarricense, vol. 60, núm. 3, 2018, Julio-Septiembre, pp. 103-114
Colegio de Médicos y Cirujanos de Costa Rica

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43458375002>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

UAEH [redalyc.org](http://www.redalyc.org)

Sistema de Información Científica Redalyc
Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso
abierto

La leishmaniosis cutánea en Costa Rica: prevención, diagnóstico y tratamiento

(Cutaneous leishmaniasis in Costa Rica: prevention, diagnosis and treatment)

Orlando Jaramillo-Antillón,¹ Azálea Espinoza-Aguirre,² Nidia Calvo-Fonseca,³ Carlos Mata-Somarribas,³ Henry Wasserman²

Resumen

El objetivo de esta investigación fue describir el estado actual de la leishmaniosis en Costa Rica, profundizar en las diferentes manifestaciones clínicas y en las especies identificadas a la fecha causantes de la enfermedad, para recomendar tratamientos de acuerdo con estas, así como describir su comportamiento epidemiológico con el propósito de recomendar estrategias de prevención y control en los grupos identificados.

Como fuentes de información se utilizaron la base de datos del Registro Colectivo del Ministerio de Salud de Costa Rica, de 2011 a 2016 y las estimaciones de población del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos.

La incidencia promedio de leishmaniosis en el trienio 2005-07 fue de 35,5 casos por 100 000 y pasó a 30,5 en el trienio 2014-16. Los grupos más afectados fueron los menores de 15 años con: 44,42 casos por cien mil. En San Ramón, Guatuso, Turrialba y Talamanca las tasas de incidencia superan la tasa de incidencia promedio.

Descriptores: leishmaniosis, vectores, reservorios y especies de leishmania.

Abstract

The purpose of the present research was to describe the different species of *Leishmania* sp. in Costa Rica so as to recommend specific treatment; also, we wish to describe the epidemiological behavior of the different species in order to suggest prevention and control strategies.

Our sources were Collective Registry Data of the Ministry of Health estimates (2011 to 2016) and population data from the National Institute of Statistics and the Census.

The average incidence rate from 2005 through 2007 was 35.5 cases per 100,000; the rate went down to 30.5 during the years 2011 through 2016. The most affected age group were those younger than 15 years with a rate of 44.42 per 100,000. Since 2005, the areas in which incidence rates are higher than the average national incidence rate are: San Ramón, Guatuso, Turrialba and Talamanca. Management must be carried out according to: the identified species of the parasite and also according to the experience of experts in Costa Rica. Prevention must be directed to the identified risk groups.

Keywords: Leishmaniasis, vectors, reservoirs, leishmania, species.

Fecha recibido: 26 de abril 2018

Fecha aprobado: 17 de junio 2018

Afiliación de los autores:

¹Profesor emérito Universidad de Costa Rica. ²Dirección Vigilancia de la Salud. Ministerio de Salud de Costa Rica. ³Centro Nacional de Referencia en Parasitología. Inciensa, Ministerio de Salud de Costa Rica.

Fuentes de apoyo: Ministerio de Salud, INCIENSA.

Conflicto de interés: los autores declaran no tener conflictos de interés para la realización de este estudio ni para su publicación.

✉ drorlandojaramillo@gmail.com

La presencia de leishmaniosis cutánea en Costa Rica, fue sospechada por el Dr. Clodomiro Picado en 1914, pero el reporte del primer caso fue hecho por Peña Chavarría en 1924.¹ Es conocida en por los campesinos como “papalomoyo” (del nahual: papalotl: mariposa y moyotl: mosquito), lo que sugiere que existía en nuestro medio, desde los tiempos precolombinos.²

La leishmaniosis cutánea o mucocutánea en nuestro país, es una enfermedad parasitaria crónica, no contagiosa, con compromiso cutáneo y dependiendo de las especies de *Leishmania* sp y del estado inmunológico del huésped, pueden ocurrir lesiones mucosas y cartilaginosas. Afecta a personas que trabajan en el campo, especialmente a aquellas involucradas con los problemas de expansión vial y desarrollo industrial, a pesar de mantenerse una alta prevalencia de esta enfermedad, en la cual los niños siguen siendo los más afectados desde hace más de 40 años.³

Existe mucho desconocimiento en el personal de salud y en la población general sobre esta enfermedad, por lo que el objetivo de la investigación fue describir las especies existentes de la *Leishmania* sp en el país para recomendar los tratamientos de acuerdo con estas, y describir su comportamiento epidemiológico con el propósito de recomendar estrategias de prevención y control en los grupos identificados. Además, se recomienda a las autoridades de salud, la utilización de estos resultados al elaborar normas de atención y protocolos de vigilancia.

Como fuentes de información se utilizaron la base de datos del Registro Colectivo del Ministerio de Salud de Costa Rica, de 2011 a 2016, y las estimaciones de población del Instituto Nacional de Estadísticas y **Censos**. Para ese periodo se calcularon tasas de incidencia promedio por trienio, según grupos de edad y cantón. Se compararon las tasas calculadas con otra investigación realizada en 2009, con el propósito de identificar cambios en el periodo, en los grupos de edad y los cantones. La revisión bibliográfica permitió describir las formas clínica y la distribución geográfica de los vectores que la ocasionan, así como las especies causantes de la leishmaniosis en Costa Rica.

Etiología de la leishmaniosis en Costa Rica

El agente causal es un protozooario del género *Leishmania*, que tiene dos formas: la no flagelada o amastigoto, que se encuentra en el hombre y en animales susceptibles o reservorios, y la forma flagelada o promastigoto, la cual se encuentra en el tubo digestivo de los insectos vectores de este parásito y en los cultivos;³ estas últimas constituyen las formas infectantes, que al ser inoculadas al hombre, pierden sus flagelos y se multiplican en el interior de los macrófagos y las células del sistema retículo endotelial.

La *Leishmania* (*Viannia*) *panamensis*, es la causante del 95 % de los casos, mientras la *L* (*Viannia*) *braziliensis*, solo del 5 %. Peraza, Urbina y Zeledón, lograron aislar las diferentes cepas de *Leishmania* sp, en treinta y cuatro pacientes con leishmaniosis cutánea, procedentes de las principales zonas endémicas en Costa Rica; encontraron *L. (V.) panamensis*, en 32 pacientes.

L. (V.) braziliensis fue encontrada en un paciente en Pérez Zeledón, en el Pacífico, y en otro en Gápiles, en el Caribe.⁴

No se ha encontrado publicaciones en las que se haya aislado las otras especies, en casos de leishmaniosis cutánea, mucocutánea o de mucosas. El conocimiento de los subgéneros existentes en el medio tiene gran importancia en el manejo terapéutico de cada caso, ya que la leishmaniosis que invade las mucosas de la cavidad bucal o la nariz, se asocia frecuentemente con *L. (V.) braziliensis*, aunque se sabe que en menor proporción, la *L. (V.) panamensis* puede producir lesiones de mucosas, como se ha reportado en Panamá.⁵

En 1989, Zeledón y cols⁶ reportan los primeros casos de *L. infantum* = *L. chagasi* en Costa Rica, como causante de **leishmaniasis cutánea atípica**, en una región semiárida, alrededor de Liberia, Guanacaste. Diez años después, Carrillo y cols⁷ reportan el primer caso de **leishmaniosis visceral** en Costa Rica, producida por *Leishmania donovani infantum* = *Leishmania donovani chagasi*.

En relación con los **vectores** de la leishmaniosis cutánea en Costa Rica, en un estudio realizado por Zeledón y cols,⁸ *L. (V.) panamensis*, se aisló en tres ocasiones, en dos especies de mosquitos vectores, *Lutzomyia* y *lephiletor* y en uno en *Lutzomyia trapidoi*. De acuerdo con estudios por su abundancia, presencia en casi todas las zonas del país y hábitos antropofílicos, *L. ylephiletor* sería el principal vector en Costa Rica.⁸ El nombre popular con el que lo conocen los campesinos es “aliblanco”. Algunas especies son relativamente domésticas y penetran en las casas para alimentarse. Su vuelo es corto y no sobrepasa los 50 metros.

Lutzomyia longipalpis se ha asociado con la transmisión de dos formas clínicas de leishmaniosis, producida por el mismo parásito, una forma cutánea papular o nodular no ulcerada y la clásica forma visceral, principalmente en niños pequeños. El vector más importante de la leishmaniosis visceral americana, *Lutzomyia longipalpis*, se encuentra sobre todo en zonas secas, semiáridas, y se ha detectado desde México a Argentina.⁹

Los principales **reservorios** de esta enfermedad han demostrado en los perezosos (*Bradypus griseus*) un 3,5 % de infección y en *Choloepus hoffmani*, un 3,1%, como los principales reservorios de *L. panamensis*.⁴ El perezoso de tres dedos, *B. griseus*, es más abundante en las partes bajas y húmedas del país, como la zona del Caribe y el sur del Pacífico. El de dos dedos *C. hoffmani*, es más abundante en las zonas más altas, aunque las dos especies viven en ambos ambientes y son muy abundantes en zonas con mucha humedad. Ninguna de las dos especies habita la parte con estación seca muy pronunciada, que comprende el noroeste del país, incluyendo la península de Nicoya, donde, aunque haya bosque más húmedo, no hay reportes de su existencia. Este mismo investigador ha aislado *L. panamensis*, en una especie de ratón silvestre: *Heteromys desmarestianus*.⁹ Como reservorios de la leishmaniasis cutánea atípica, se consideran a los perros y roedores.

En el Nuevo Mundo es una enfermedad endémica y un problema de salud pública en los países en vías de desarrollo;

el aumento del turismo ecológico lo ha extendido a los países desarrollados. Esta enfermedad continúa siendo un desafío para el diagnóstico y el tratamiento.

Manifestaciones clínicas de la leishmaniosis cutánea

El periodo de incubación de esta enfermedad varía de algunos días a semanas o meses. Se inicia con una lesión eritematosa y papular, única o múltiple, localizada habitualmente en las áreas expuestas de la piel. Las lesiones progresan a pápula-vesícula y por último a una úlcera o una lesión verrugosa, u otros aspectos clínicos menos frecuentes.¹⁰

En Costa Rica, la leishmaniosis cutánea americana se presenta en varias formas clínicas: cutánea, mucocutánea, de mucosas, cutánea atípica y visceral. Cuando el desarrollo intracelular de los amastigotos queda localizado en los macrófagos, en el sitio de inoculación se liberan varias citoquinas, se genera una reacción celular y se presenta la **leishmaniosis cutánea localizada**.

La lesión primaria es generalmente única, pero si hay múltiples picaduras del mosquito, pueden presentarse varias lesiones; la forma más frecuente es una úlcera, de borde cortante, elevado, pero se pueden presentar formas que sugieran impétigo, nodulares, vegetantes. Se presentan con mayor frecuencia en sitios descubiertos, como la cara, miembros superiores e inferiores, expuestos, donde el vector tiene mayor oportunidad de picar. En los lugares de clima caliente, es frecuente encontrar lesiones en el tórax, ya que quienes habitan estas regiones, trabajan y duermen sin camisa. Se ha tenido oportunidad de ver lesiones en todas las regiones del cuerpo, incluso en sitios tan cubiertos como los genitales.³

Si los amastigotos se van a otros lugares, a través de los vasos linfáticos, se tendrá la **leishmaniosis cutánea linfagítica**. En estos casos hay una lesión primaria que se ulcera y se acompaña por nódulos subcutáneos ascendentes en el trayecto linfático. Estas lesiones son muy semejantes a la esporotricosis linfagítica, con la única diferencia de que en esta última, la ulceración de los nódulos es más frecuente.³

Si esta diseminación es por la vía hematogena, se produce la **Leishmaniosis cutánea diseminada no anérgica**, esto ocurre en pacientes inmunosuprimidos. Las especies de

Leishmania sp que producen en Costa Rica estas formas clínicas son: la *Leishmania (Viannia) panamensis* y la *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Esta leishmaniosis, presenta conservación de la inmunidad celular, lo que se corrobora con la prueba de hipersensibilidad retardada (Leishmanina = Montenegro), que se mantiene positiva y responde al tratamiento con antimoniales, mediante los que se logra su curación.

Por diseminación hematogena ocurre también la **leishmaniosis de la mucosa y la cutáneo-mucosa**. Esta forma clínica se ha encontrado con mayor frecuencia en el hombre y es cuatro veces más común en personas que tienen más de 4 meses de la enfermedad, comparadas con las que reportan tener una duración menor. En mayores de 22 años el riesgo de leishmaniosis de mucosa aumenta significativamente (de 1,9 a 9,6 veces) y se relaciona con estados de desnutrición.¹⁰ Otra forma de presentación de este tipo de leishmaniosis de la mucosa, es en pacientes con múltiples lesiones y después de tratamientos incompletos o suspendidos, con antimoniales sistémicos.¹¹ Las lesiones mucosas pueden presentarse junto a las lesiones cutáneas, o lo que es más frecuente, meses o varios años después de las lesiones cutáneas ya cicatrizadas.¹⁰

La leishmaniosis de las mucosas o la cavidad oral, se presenta en un 3 a un 5 % de los casos y se conoce que la *L. (V.) braziliensis*, es el mayor causante de esta forma clínica. En la opinión de Zeledón,⁸ en países como Panamá y Costa Rica, también puede ser producida por *L. (V.) panamensis*, aunque pareciera ser un cuadro clínico más benigno, menos destructivo y de evolución más lenta, que el producido por *L. (V.) braziliensis*. En estos casos, la identificación de la cepa de *Leishmania* sp por medio de los métodos modernos como PCR, estudio de electroforesis de isoenzimas (la prueba óptima) y de inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales, cobra una gran importancia para un manejo moderno y eficaz del paciente.

La leishmaniosis diseminada no anérgica, no se debe confundir con la **leishmaniosis cutánea primitiva difusa anérgica**. Este último tipo, que se ha visto en América del Sur, es producido en 16 muestras estudiadas en Venezuela; en 13 (81 %) se demostró la *Leishmania amazonensis* y en 3 (19%), *Leishmania mexicana*.¹³ En nuestro medio, no existe ninguno de estos dos agentes etiológicos. Hay casos de esta forma clínica

Cuadro 1. Costa Rica. Casos y tasas de incidencia por leishmaniosis, según trienio, 2011-2016. Tasa por 100 000 habitantes

Grupos de edad	Periodo 2011-12		Periodo 2013-14		Periodo 2015-16	
	Casos	Incidencia	Casos	Incidencia	Casos	Incidencia
0 a 14	1459	64,75	1639	73,22	987	44,42
15 a 29	787	30,40	1066	40,96	553	21,38
30 a 44	437	22,01	628	30,39	382	17,49
45 a 59	251	16,65	413	26,14	252	15,46
60 y mas	164	26,44	245	36,62	130	17,88
Fuente: Dirección Vigilancia de la Salud. Ministerio de Salud						

de leishmaniosis reportados en Honduras, Nicaragua, México y República Dominicana.⁸

La leishmaniosis cutánea atípica (LCA) es una manifestación cutánea de la leishmaniosis, caracterizada por la presencia de nódulos o placas, con un halo claro de despigmentación, de predominio en la cara, en las extremidades o en el tórax, que no se ulceran y son pobres en parásitos; el parásito aislado corresponde a *Leishmania infantum* (= *Leishmania chagasi*), el agente etiológico de la leishmaniosis visceral en el Nuevo Mundo.

Estas lesiones recuerdan a la lepra tuberculoide nodular infantil, pero a diferencia de esta última, no se logra encontrar el caso multibacilar, contagiante, lo cual sí ocurre en la lepra.

La leishmaniosis cutánea atípica se ha encontrado en lugares semiáridos, en barrios colindantes en la ciudad de Liberia, en la provincia de Guanacaste, Costa Rica.⁶ Otros

lugares de Centroamérica son Nicaragua y Honduras. Lizardo y cols reportaron 27 casos de leishmaniosis cutánea atípica en Honduras, logrando identificar en 10 de ellos, *Leishmania chagasi*, y *Leishmania mexicana* en 1 caso.¹⁴

En julio de 1980, una perra dálmata de 6 años, “Flica”, traída de Alicante, España (zona endémica de leishmaniosis visceral), tenía 18 meses de estar en Costa Rica, asintomática; fue atendida en la Escuela de Veterinaria de la Universidad Nacional, en Heredia, Costa Rica, por presentar un cuadro febril y anorexia, adinamia y pérdida de peso, adenopatías y hepatoesplenomegalia moderada. Biopsias del hígado, bazo y ganglio poplíteo, teñidas con Gram, Wright y Ziehl-Neelsen, mostraron numerosos amastigotes. Fue tratada con tres ciclos de Glucantime,[®] con lo cual curó.¹⁵

Mendoza y cols, quienes trataron a esta perra creen que el inicio de la leishmaniosis visceral en el país, se presentó a raíz de este caso, ya que a los pocos años y por la misma zona donde vivió esta perra enferma, se empezaron a presentar múltiples casos de leishmaniosis cutánea atípica.

Zeledón y cols, en un estudio de 200 pacientes, realizado en 1986-1987, en Nazaret de Liberia, una región semiárida del noroeste de Costa Rica, en 43 pacientes con leishmaniosis atípica, lograron aislar en 4 de ellos una especie de *Leishmania* sp., encontrando en dos de estos, *Leishmania infantum* (= *L. chagasi*).⁶ Esta *Leishmania* sp. se presenta en las formas cutáneas de la leishmaniosis visceral. Ninguno de los pacientes tenía leishmaniosis visceral. Los autores creen que la entrada al norte de Costa Rica de la *Leishmania infantum* (= *L. chagasi*), se debió a inmigrantes de Nicaragua y Honduras. Ponce también comunicó el hallazgo en la Isla del Tigre, en el Golfo de Fonseca, en Honduras, en 15 niños con lesiones papulares no ulcerativas, y en dos de ellos aislaron *L. donovani chagasi*.¹⁶

Convit y cols estudiaron también 71 pacientes de esta misma zona de Costa Rica, de diferentes edades y sin antecedentes previos de leishmaniosis visceral. De los cultivos efectuados, solo en dos casos cultivaron leishmanias, las cuales identificaron como *Leishmania chagasi* = *L. infantum*. De las biopsias efectuadas, se encontró un “granuloma sarcoidal”, sin observarse parásitos en ninguno de los cortes histopatológicos. Se seleccionaron 6 de ellas, se analizaron y encontraron predominantemente sílica y aluminio, lo que los llevó a postular que este material inorgánico, de posible origen volcánico, en la piel, ayudó a modular la respuesta inmunológica a la *Leishmania* sp. y pudo evitar la diseminación a las vísceras, en los casos causados por esta *Leishmania chagasi*.¹⁷

Carrillo y colaboradores publicaron, en 1999, el caso de un niño eutrófico, sin ninguna inmunodeficiencia, con 15 meses de edad y proveniente de una región semiárida, en Liberia, Guanacaste, Costa Rica, como el primer caso en humano, de leishmaniosis visceral, producido por *Leishmania donovani infantum* o *Leishmania donovani chagasi*, tratado con éxito con antimoniales, por 6 semanas.⁷ Hay otros dos pacientes reportados: uno atendido en el Servicio de Infectología del Hospital México, con infección por VIH (Dr. Juan Villalobos Vindas, Hospital México, comunicación personal), y una

Cuadro 2. Costa Rica. Comparación de tasas de Incidencia de la leishmaniosis por trienio, según cantón. Tasa de incidencia por 100 000 habitantes			
Provincias	Cantón	Incidencia promedio 2005-2007	Incidencia promedio 2014-16
San José	Puriscal	NCP*	48,74
	Acosta	NCP	40,97
	Dota	NCP	43,48
	Pérez Zeledón	41,3	48,16
Alajuela	San Ramón	44,9	72,99
	San Carlos	77,1	51,77
	Guatuso	NCP	79,42
Cartago	Jiménez	56,5	49,67
	Turrialba	124,5	311,01
Heredia	Sarapiquí	90,1	54,4
Puntarenas	Buenos Aires	76,3	43,94
	Osa	124,1	38,52
	Golfito	NCP	77,49
	Coto Brus	159,7	63,75
	Corredores	58,8	51,85
Limón	Limón	121,5	84,3
	Siquirres	114,2	157,05
	Talamanca	1179,4	584,43
	Matina	222,5	195,97
	Guácimo	126,3	124,51
* NCP: No se notificaron casos durante el periodo Fuente: Dirección Vigilancia de la Salud. Ministerio de Salud			

atendida en el Servicio de Hematología, del Hospital Calderón Guardia, que también presentaba infección por VIH.¹⁸

Diagnóstico

Datos epidemiológicos relevantes que permiten sospechar de la enfermedad son: el aspecto clínico, la presencia del mismo cuadro en personas de la comunidad, el lugar de procedencia del paciente o referir viajes a zonas endémicas, lo que debe ser confirmado siempre por exámenes parasitológicos e inmunológicos.

Lo ideal es la confirmación del parásito; para ello es muy importante no iniciar el tratamiento nunca con antimoniales, antes de solicitar los exámenes de laboratorio. La experiencia indica que una sola inyección es suficiente para tener el frotis negativo. La sensibilidad y la especificidad de las pruebas parasitológicas varían de acuerdo con el método de toma de muestra, el tiempo de evolución de las lesiones, los tratamientos previos y los conocimientos del personal profesional.¹⁹

El objetivo del **frotis directo** es la visualización microscópica de los amastigotos, los cuales representan la forma parasitaria intracelular encontrada en los hospedadores mamíferos, en este caso del ser humano. El frotis directo se puede realizar a partir de raspado de la lesión, biopsia o impresiones, aunque de manera convencional se hace referencia principalmente al raspado. Los amastigotos se pueden observar microscópicamente dentro de los macrófagos o fuera de ellos; son estructuras redondeadas u ovaladas, de 2 a 4 µm de diámetro, con un núcleo y kinetoplasto característicos, el citoplasma se colorea de azul pálido con Giemsa y el kinetoplasto se ve como una barra de color púrpura,²⁰ como se observa en la Figura 1.A.

El frotis directo es un método de bajo costo, fácil de efectuar, rápido, que no requiere equipo de laboratorio especializado y que se puede hacer en laboratorios con las condiciones mínimas, por lo que la observación microscópica directa de raspado de lesión teñido con colorante de Giemsa, se considera la primera opción para el diagnóstico definitivo de la leishmaniosis cutánea.²¹

Actualmente, con el uso de técnicas como el PCR cuantitativo, o qPCR, se ha logrado la cuantificación de la carga

parasitaria, permitiendo la comparación del número de parásitos en la lesión con el paso del tiempo, entre diferentes lesiones o entre lesiones mucosas y cutáneas.²² La carga parasitaria de las lesiones tiende a disminuir conforme la enfermedad progresa, por lo que el diagnóstico convencional se complica en lesiones crónicas o con mayor tiempo de evolución.²³ La posibilidad de encontrar el parásito realizando un frotis directo es inversamente proporcional a la duración de las lesiones: el 100 % en los primeros meses de evolución, el 75, % a seis meses y el 20 % a más de 12 meses, en estudios realizados en Brasil.²⁴ En Venezuela, Zepa O, *et al.*⁴¹ encontraron una mayor positividad cuando una lesión tiene menos de tres meses de evolución (94 %), lo que disminuye notablemente después de los cuatro meses (57 %).

De acuerdo con Rodríguez *et al.*¹⁹ en la leishmaniasis mucosa, el frotis directo no tiene valor diagnóstico, dadas la menor carga parasitaria que tienden a tener este tipo de lesiones²³ y la dificultad de la toma de muestra de estos sitios anatómicos. La abundancia de parásitos se ha descrito inclusive como 10 veces menor para lesiones mucosas, en comparación con lesiones cutáneas.²² En la leishmaniosis visceral, el aspirado de médula ósea es el más utilizado, con una sensibilidad del 76 al 85 %.

Variaciones en la técnica de la toma de muestra para el frotis directo, afectan la sensibilidad del método.²¹ Una muestra mal tomada puede provocar un resultado falso negativo. Se ha publicado la necesidad de realizar presión en la lesión para efectuar hemostasia local y drenar la mayor cantidad posible de sangre de la lesión, de modo que se obtenga un frotis sin eritrocitos ni interferentes para la observación de la lámina. Así también se ha propuesto la limpieza extensiva de la lesión, remoción de grano y detritos, y el montaje de un número de réplicas del frotis, para lograr elevar la sensibilidad del método.^{21,25,26}

El punto más importante para la variabilidad de la toma de muestra, parece ser el sitio de toma de muestra. Aunque algunas publicaciones muestran argumentos divergentes²¹ si se puede confirmar que el borde activo de la lesión no debe ser el sitio de toma de muestra, sino el interior de la úlcera. Una vez seleccionado el interior de la úlcera, no se han hallado

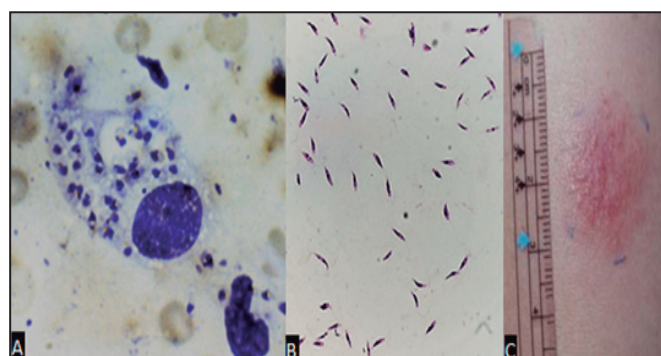


Figura 1. A. Frotis: amastigotos dentro de macrófago (Giemsa). B. Cultivo de Senekje: Promastigotos (forma flagelada), 100X (Giemsa). C. Intradermorreacción de Montenegro.
Fuente: Fotografías propiedad de los autores

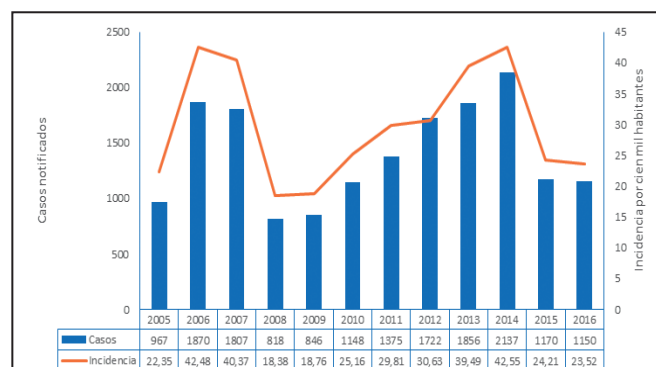


Figura 2. Costa Rica. Casos y tasas de leishmaniosis, según año, 2005-2016.
Tasa por 100 000 habitantes

Fuente: Dirección Vigilancia de la Salud. Ministerio de Salud

diferencias significativas en el diagnóstico para muestras tomadas del centro de la úlcera o de la base del borde de esta^{25,26} Como referente nacional en este tema, el Centro Nacional de Referencia de Parasitología del Inciensa ha realizado un proceso de estandarización de estos parámetros para la toma de muestra del frotis, de modo que permita elevar la sensibilidad de la técnica realizada a nivel nacional.

La leishmanina o intradermoreacción de Montenegro depende de una hipersensibilidad tipo IV retardada y se prepara con promastigotos muertos de *Leishmania*; el tipo varía según la zona geográfica. Se inyecta el antígeno en forma intradérmica y se hace la lectura a las 48-72 horas. Se considera positiva si se presenta una pápula o una placa eritematosa mayor a 5 mm (Fig. 1. C.) y significa que el linfocito T del paciente reconoce el antígeno del parásito, por haber estado expuesto a este, lo cual se presenta si el paciente tiene la enfermedad; también puede ser, como ocurre en zonas endémicas, que la positividad de esta prueba indique que estuvo en contacto con la leishmania y no desarrolló la enfermedad, es decir, una enfermedad subclínica.

Un resultado negativo señala que no ha habido exposición al parásito o que el paciente tiene anergia. Es de suma importancia hacer esta prueba, ya que los pacientes con anergia necesitarán un tratamiento especial.

El **cultivo parasitológico** se basa en la diferenciación de los amastigotos a formas extracelulares móviles o promastigotos, en condiciones nutricionales y de temperatura apropiada, lo cual sucede en unos pocos días o semanas, dependiendo del proceso de adecuación al medio y el estado del inóculo inicial (Fig. 1. B). El cultivo se siembra con muestras tomadas a través de raspado, aspirado o de una biopsia de piel, mucosas o médula ósea, las cuales deben ser maceradas y procesadas para facilitar la separación del tejido y liberación de los parásitos, sin haber sufrido desecación, congelación o refrigeración, dada la labilidad de las estructuras parasitarias, que se desea que estén viables. Se puede utilizar una variedad de medios apropiados para el cultivo y crecimiento de hematozoarios, como: Schneider, NNN o Senekjie.

En relación con la sensibilidad del método, diferentes publicaciones postulan rangos variables y, de igual manera al raspado, es preciso recordar que el montaje de réplicas aumenta la sensibilidad del método: de 2 a 4 réplicas es lo más utilizado.^{27, 28} Rodríguez refiere que la sensibilidad de la técnica de cultivo para la leishmaniosis cutánea oscila entre el 31 y el 67 %.¹⁹ Escobar *et al.* reportaron entre el 58 % y el 90 %, ³⁰ y Boggild y colaboradores,²⁷ entre el 40 y el 75 %. Rodríguez reporta para la leishmaniosis mucosa entre el 2 y el 40 %, y para la visceral, un 80 %.¹⁹ Esta variabilidad se debe en parte a las limitaciones propias de la técnica, implícitas en el método,^{25,29} como el requerir una infraestructura especializada para mantener cultivos axénicos, el deterioro de los medios, la desecación de la muestra, el alto costo, el tiempo requerido, el personal especializado o la propensión a contaminarse.

Sin embargo, la combinación del frotis directo señalado con el cultivo eleva la sensibilidad diagnóstica para la leishmaniosis

cutánea, además de poseer una alta especificidad,²⁸ incluso algunos estudios han llegado a utilizar esta técnica como estándar de oro³⁰ o a señalarla como una de las más sensibles. Sus ventajas radican en el incremento de la sensibilidad y en el hecho de que permite el aislamiento de cepas del parásito, con las que se pueden realizar múltiples análisis posteriores. Este método ha demostrado su eficiencia en casos en los que el frotis y la biopsia han estado negativos, como sucedió con un niño con lesión en la cara, en quien se logró el cultivo positivo a los 41 días.

La lectura de los medios de cultivos sembrados debe realizarse al menos una vez por semana y esperar al mes y medio, o 6 semanas, antes de descartar cualquier medio para realizar el reporte negativo.

En el caso de lesiones no ulceradas, circunscritas, limitadas, atípicas o con sospecha de ser lesiones de *L. infantum*, la toma de muestra por aspirado debe convertirse en la primera opción, dadas las ventajas que esta toma tiene sobre la biopsia: facilidad de toma, de procesamiento y menor traumatismo. Incluso, diferentes publicaciones proponen un aumento en la sensibilidad para la toma de muestra por aspirado que por biopsia.²⁶ El cultivo de este tipo de muestras se realiza de igual manera a las muestras clásicas.

La complejidad técnica de este método diagnóstico conlleva que, por el momento, en Costa Rica lo realice el CNRP del Inciensa. Como referente nacional en este tema, el CNRP del Inciensa ha realizado un proceso de estandarización del cultivo con medio Senekjie para el diagnóstico y aislamiento de cepas de casos sospechosos de leishmaniosis cutánea, mucocutánea o visceral.

Algunas particularidades de la leishmaniosis vuelven insuficientes los diagnósticos tradicionales citados, dadas sus limitaciones, como el hecho de que existen diagnósticos diferenciales con otros cuadros clínicos muy similares, que algunos cuadros clínicos de la enfermedad presentan una cronicidad importante y que el antimonio pentavalente sigue siendo el principal tratamiento, el cual, por su toxicidad, debería ser de uso limitado.²⁸ Los **métodos moleculares** se han vuelto más atractivos al ofrecer detección parasitaria sensible, específica, confiable y rápida. Distintos métodos de amplificación molecular han sido diseñados para el diagnóstico de la leishmaniosis. Se pueden señalar estudios que utilizan como blanco al ADN del minicírculo,³⁰ la subunidad 18S,³¹ el kinetoplasto,³² el minixón,³³ el espaciador transcrito interno ITS1 y la subunidad pequeña ribosomal SSU,³⁴ entre otros marcadores. El CNRP del Inciensa, ofrece diagnóstico molecular por PCR tiempo real para muestras sospechosas de leishmaniosis cutánea, mucocutánea o visceral.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado la **electroforesis de isoenzimas** como el método para la caracterización de *Leishmania* sp. En el último reporte técnico de la OMS para el Control de las leishmaniasis,³⁵ se clasifica a la identificación isoenzimática como el método más ampliamente utilizado y la base de la identificación, al estar fundado en un gran número de aislamientos epidemiológicamente definidos.

La eficiencia del método se basa en el número de sistemas enzimáticos que analiza y compara su reproducibilidad en diferentes centros. Sigue siendo considerado el estándar de oro en la identificación de especies.³⁶ Esta técnica consiste en la migración electroforética y la comparación con los patrones isoenzimáticos de cepas de referencia, para un número de enzimas específicas que cuentan con isoformas. Esta técnica fue utilizada por Peraza y cols⁴ para la primera identificación formal de especies nacionales, sin embargo; actualmente la técnica se puede considerar anticuada, es engorrosa y compleja, es lenta, tediosa y necesita de personal especializado, lo que la convierte en un método impráctico para ser aplicado a nivel de salud pública; su utilidad se ve limitada a centros de referencia regionales o investigación puntual; se prevé que en el futuro cercano esta metodología pierda su categoría de estándar de oro.³⁶

Los anticuerpos monoclonales han sido utilizados extensamente para la identificación de *Leishmania* spp, incluyendo el desarrollo de pruebas diagnósticas e investigación de antígenos inmunogénicos del parásito.³⁷

La inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales, se basa en la adhesión de anticuerpos específicos, los cuales son clones con idéntica afinidad obtenidos de un hibridoma, sobre antígenos y epítomos específicos de las diferentes especies del parásito. De igual manera al trabajo realizado por Peraza y colaboradores,⁴ estos anticuerpos específicos se prueban con las cepas desconocidas y de acuerdo con el patrón de reactividad permiten identificar la especie de *Leishmania* sp. en cuestión. En concordancia con criterios regionales el CNRP Inciensa ha estandarizado una técnica de inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales,³⁸ que permite identificar especies de *Leishmania* sp cultivadas de lesiones cutáneas, mucocutáneas o viscerales.

La electroforesis de isoenzimas será probablemente reemplazada en un futuro cercano por técnicas moleculares más rápidas y confiables, como lo son aquellas basadas en polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (**RFLPs**) o secuenciación.³⁸ Según criterios regionales, el CNRP INCIENSA ha estandarizado una técnica de RFLP basada en el gen de la hsp70,^{39,40} que permite la identificación de especies de *Leishmania* sp aisladas de lesiones cutáneas, mucocutáneas o viscerales.

En la leishmaniosis cutánea, el **análisis histopatológico de una biopsia** no es un método que se haga de rutina en nuestro medio, a no ser que se tenga duda del diagnóstico o se desee descartar otras posibilidades diagnósticas. Se prefiere usar de rutina el frotis, la leishmanina y el cultivo. La histopatología tiene la menor sensibilidad entre los métodos diagnósticos.

Conviene recordar que el procesamiento de la biopsia para cultivo o análisis molecular es diferente, por lo que se deben considerar las condiciones de envío y procesamiento antes de la toma de la muestra. Para la histopatología, la biopsia se debe realizar con bisturí o con sacabocado de 4 mm, que incluya tejido celular subcutáneo y fijarla en formol. La tinción de hematoxilina y eosina, que es la que se hace rutinariamente, permite ver los amastigotes, dentro de los macrófagos.

En Colombia, se refiere que la sensibilidad del método depende de la cronicidad de la enfermedad. En las lesiones de menos de tres meses de evolución, se logró demostrar el parásito en el 72 % de los casos.¹⁹ En Venezuela, en el Instituto de Biomedicina, Zepa y cols de 42 pacientes estudiados, lo encontraron solo en 25 (59,5 %), lo que contrasta por el método de escarificación de un 80 % positivo.⁴¹

La biopsia de las lesiones de **mucosas**, es de baja sensibilidad y especificidad: un estudio solo logró demostrar el parásito en el 51 % de los casos.¹⁹ Sin embargo, la biopsia ayuda a establecer diagnósticos diferenciales. Esto es importante cuando se pretende descartar una histoplasmosis, con la que se puede confundir. La biopsia por aspiración de médula permite hacer el diagnóstico de leishmaniosis **visceral**.¹⁹

Tratamiento

Hay variación geográfica en la respuesta clínica y terapéutica de la enfermedad, causada por diferentes poblaciones de *Leishmania* sp., de la misma o de diferentes especies.⁴²

El tratamiento de elección de la leishmaniosis en el país, se basa en antimonios pentavalentes (Glucantime®). La OPS / OMS brinda las siguientes recomendaciones para el manejo de esta enfermedad:⁴²

Leishmaniasis cutánea: antimoniales pentavalentes 10-20 mgSb⁵⁺/ kg / d de antimonio pentavalente, en dosis diaria durante 20 días. Dosis máxima de 3 ampollas / día para reducir los efectos adversos.

Leishmaniasis mucosa o mucocutánea: la misma dosis diaria continua, pero por 30 días.

El antimonio pentavalente que se usa en América Latina es la N metilglucamina Glucantime® del Laboratorio Sanofi Aventis; viene en una presentación de ampollas de 5 ml, con 405 mg de antimonio base ((Sb⁵⁺) cada ampolla, 1 cc = 81mg de antimonio base, en caja de 10 ampollas.

Si se siguen las dosis recomendadas por la OPS, en nuestro medio, hay varios problemas: estas dosis en un paciente de 80 kg, correspondería a 3,95 ampollas diarias, lo cual es intolerable si se aplica por vía intramuscular, por 20 o 30 días, dependiendo si se trata de una leishmaniosis cutánea o de mucosa.

En otros países, la dosis recomendada se aplica por vía intravenosa, lo que requiere un sistema de manejo en un hospital de día, lo cual hasta el momento no ha sido posible en Costa Rica.

La experiencia de uno de los autores del este artículo, OJA, en el manejo de la leishmaniosis en Costa Rica, ha sido la siguiente:

Leishmaniosis cutánea: (adulto) 1 ampolla de Glucantime® intramuscular / día / 30 días; valorar, si es necesario continuar con el tratamiento. Idealmente, hasta por 8 días más, postcuración clínica.

Leishmaniosis mucocutánea o mucosa: (adulto) 2 ampollas de Glucantime® intramuscular / día / 30 días; valorar, si es necesario continuar con el tratamiento. Idealmente, hasta por 8 días más, postcuración clínica.

Los casos de leishmaniosis en Costa Rica deben ser tratados con dosis inferiores a las recomendadas por la OPS, en lo referente a la leishmaniosis cutánea, pero por un tiempo más prolongado, lo que hace más tolerable el tratamiento, tiene mayor aceptación por el paciente, evita el abandono del tratamiento, implica menos efectos colaterales, refiere un costo menor y no ha presentado complicaciones serias por el uso de este antimonial. Hasta la fecha no ha tenido ningún caso que haya presentado posteriormente, leishmaniosis en la mucosa, ni recaída, tras 52 años de experiencia de estar usando esta dosis.

El tratamiento con dosis bajas ha sido experimentado en otros países con éxito, por Oliveira Neto *et al.*,⁴³ quienes trataron a 143 pacientes con dosis de 5mg (Sb⁵⁺) / kg/ día por 30 días, con curación de 120 pacientes (84 %), con solo un 4 % de efectos colaterales, sin evidencia de ataque a mucosa o relapso en 98 pacientes. Otros autores han encontrado buenos resultados con estas dosis bajas.^{44, 45}

Hay trabajos *in vitro*, hechos por Gayoso,⁵⁰ que han demostrado que los promastigotos de *Leishmania braziliensis* son más sensibles que las otras especies, al antimonio de N metilglucamina (Glucantime®), lo que explica la buena respuesta clínica obtenida aun cuando se usan tratamientos con dosis bajas del antimonial, como las administradas en un municipio de Río de Janeiro, Brasil.

El tratamiento en los niños se recomienda con la misma dosis del antimonio pentavalente, sin que sobrepase la dosis recomendada para el adulto.

Cucé recomienda como dosis ideal: en mayores de 4 años: 1 ampolla (425 mg de antimonio base, Sb⁵⁺), y en los menores de 4 años: 3ml de la ampolla (255 mg de antimonio base, Sb⁵⁺).⁵¹

Aunque las altas dosis de antimonio son el tratamiento de elección en la leishmaniosis cutánea, a pesar de sus efectos tóxicos, las dosis bajas de antimoniales producen buenos efectos terapéuticos y menor toxicidad, lo que ha sido una discusión por largo tiempo. En un estudio con 77 pacientes, publicado este año, se mostró una cura del 77,8 % con bajas dosis y del 94,4 % en quienes fueron tratados con una alta dosis del tratamiento.⁴⁸ Estos autores, sin embargo, recomiendan que en los pacientes mayores de 50 años, o los del grupo que pueden tener toxicidad con la droga, se debe preferir la dosis baja. Hay que hacer la salvedad de que la especie identificada en este estudio era la *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Es importante considerar que en Costa Rica, el agente causal en el 95 % es la *Leishmania (Viannia) panamensis*, que parece ser más sensible a los antimoniales.

Para el **control pre y durante el tratamiento**, Nane y cols⁴⁹ hacen las siguientes recomendaciones: frecuencia cardíaca, examen general de orina, nitrógeno ureico y creatinina, hemograma completo, transaminasas: TGO y TGP, amilasas y

lipasa, electrocardiograma (de ser posible, preferentemente), prueba de embarazo en mujeres en edad fértil.

Indicaciones de suspensión del tratamiento con antimonio pentavalente.⁵⁰ Se considera que el tratamiento se debe suspender si hay aumento 10 veces el valor basal de las transaminasas; aumento 5 veces de la amilasa; aumento de 2 veces el valor basal de la creatinina o prolongación del intervalo QT mayor de 450 ms en hombres y 470 en mujeres

Se consideran **contraindicaciones al tratamiento con antimoniales** el embarazo y la lactancia, existencia de cardiopatía, hepatopatía, nefropatía, tratamiento con drogas que producen nefropatía o hepatopatía, pacientes anticoagulados, tuberculosis activa, hipertiroidismo

La **evaluación del tratamiento**⁴² debe realizarse vigilando curación clínica de las lesiones, posterior a 6 meses de tratamiento; cicatrización con epitelización completa y aplanamiento del borde de las lesiones; desaparición de la induración de la base; desaparición de la linfangitis y ausencia de nuevas lesiones

Tratamiento intralesional con antimonio pentavalente.

Dado que la mayoría de los afectados son campesinos, trabajadores de zonas rurales, aunque también se ve con frecuencia en mujeres y niños motivó un estudio en Costa Rica en 1984⁵¹ aplicando el tratamiento intralesional. Inyectaron por debajo, alrededor y dentro de la lesión, el antimonial; realizaron controles clínicos cada ocho días y dependiendo del resultado se repetía o no la aplicación del tratamiento. De los 45 pacientes, 13 (26,88 %) curaron con una sola aplicación; 22 (48,88 %) con 2 aplicaciones; 8 (17,7 %) con 3 aplicaciones, y 2 (4,4 %) con 4 aplicaciones.

En 1997 Oliveira Neto⁵² trató 74 casos, recomendando este tratamiento para lesiones **únicas**, infiltrando los cuatro puntos cardinales hasta obtener un completo “blanqueo” de la lesión. Revisaron a los 15 días, y si no había mejoría, volvieron a infiltrar. Sin signos de mejoría a las 8 semanas, trataron a los pacientes en forma sistémica, con antimoniales pentavalentes. Reportaron una curación en 59 casos (80 %).

En caso de contraindicación al tratamiento sistémico con antimoniales, el uso intralesional del antimonio de meglumina se ha usado como alternativa terapéutica, Erica de Camargo⁵³ trató a 24 pacientes con este método, enfermos con leishmaniosis que tenían contraindicación para el uso de antimoniales sistémicos (pacientes con enfermedades renales, hepáticas y cardíacas, o mayores de 50 años), aplicando inyecciones intralesionales cada 15 días, con ausencia de toxicidad y con una curación en 20 (83,3 %) de los pacientes.

Este tratamiento está contraindicado⁵⁴ en pacientes con inmunosupresión y lesiones mayores a 3 cm de diámetro, o las localizadas en áreas como la cabeza.

Hay algunos expertos en el manejo de la leishmaniosis⁶⁰ que no recomiendan el uso de antimoniales intralesionales, porque se considera que sus bajas dosis originan resistencia y recidiva. Además, no previenen la aparición de lesiones mucosas.

Muchos son los factores que pueden afectar la **respuesta terapéutica al tratamiento**.⁵⁵ Algunas serían especie de leishmania: cepas de virulencia diferentes; estado inmunológico del paciente: Montenegro negativo, menor respuesta al tratamiento; edad: menor eficacia en niño; forma clínica de la enfermedad: cutánea, la de mejor respuesta; múltiples lesiones: menor respuesta; topografía: menor respuesta en miembros inferiores; tiempo de evolución: menor de 6 meses, mejor respuesta; tratamiento irregular: 20 días de tratamiento, en un periodo mayor de 30 días; historia de tratamiento anterior: menor respuesta al tratamiento; peso: mayor de 80 kg, más falla terapéutica; dosis inferiores a 10 mg/kg/ día, de antimonio de meglumina,^{55,56}

Un nuevo medicamento por vía oral, **miltefosina (Impavido®)** se ha demostrado efectivo *in vitro* e *in vivo*, en contra de agentes de la especie de *Leishmania* sp.; ha sido investigado por Soto y cols⁵⁶ en el tratamiento de la leishmaniosis cutánea en Colombia, con un porcentaje de cura del 94 % de los casos tratados. En otro estudio de los mismos autores, pacientes tratados en Colombia y en Guatemala, con una dosis del mismo producto, con 2,5 mg/kg por día, oral por 28 días, logró en Colombia, donde se presenta la *Leishmania (Viannia) panamensis*, un porcentaje de curación para la miltefosina del 91 % (40 de 44 pacientes).⁵⁷ En Guatemala, donde la *Leishmania (Viannia) braziliensis* y la *Leishmania mexicana mexicana*, el porcentaje de curación fue del 53 % (20 de 38) para la miltefosina (33 % para la *L. braziliensis*, 60 % para la *L. mexicana*).⁵⁷ En Bolivia, en 100 pacientes con leishmaniasis mucosa por *L. braziliensis*, se mostró tasas de curación o mejoría superiores al 89 %, con seguimientos de entre 9 y 12 meses.⁵⁸

Este medicamento, originalmente antineoplásico, posee una actividad leishmaniásica al interferir con vías metabólicas e inducir apoptosis, y ha demostrado su eficacia en casos de leishmaniasis cutánea por *L. panamensis* y de leishmaniasis visceral por *L. donovani*.

La dosis ideal de miltefosina (Impavido®) es de 2,5 mg / kg de peso / día, durante 28 días.

Este medicamento, de administración oral, obvia la necesidad de hospitalización, reduce las incomodidades de las inyecciones (lo que puede mejorar la adherencia de los pacientes al tratamiento), disminuye costos, así como la demanda de servicios en las instalaciones sanitarias de por sí sobrecargadas de trabajo.⁵⁸

Las contraindicaciones para el uso de la miltefosina son: hipersensibilidad al producto activo o alguno de sus excipientes, daño grave preexistente de la función hepática o renal, síndrome de Sjogren-Larson, embarazo y mujeres en edad de concebir que no utilizan anticonceptivos fiables durante el tratamiento y hasta por 3 meses después de este.

La dosis recomendada de miltefosina es: en niños de 9 - 20 kg de peso corporal 25 mg ; en niños de 20 - 30 kg de peso corporal, 50 mg; niños de peso corporal superior a 30 kg y adultos hasta 45 kg reciben 100 mg.; y adultos que pesen más de 45 kg reciben 150 mg de miltefosina.

Las cápsulas son de 50 mg y deben tomarse con comidas. La dosis diaria debe dividirse durante el día. La duración del tratamiento es de 28 días.

Se recomienda realizar estudios de creatinina en suero y enzimas hepáticas, a intervalos semanales.

El **desoxicolato de anfotericina B** es el tratamiento de segunda elección, cuando no hay respuesta a los antimoniales.⁶⁵ Se administra por vía intravenosa a una dosis diaria de 0,5 a 1 mg / kg. No debe exceder una dosis acumulativa de 1,5 g.⁶⁶ Se deben hacer controles diarios y semanales de las funciones hepática y renal, así como de electrolitos y parámetros hematológicos.⁵⁰ Se recomienda para tratar las leishmaniasis visceral, la leishmaniasis mucosa, la coinfección de leishmaniasis e infección por VIH, y algunos casos resistentes al antimonio de meglumina.⁵⁰

Existen varias formas lipídicas de anfotericina B muy efectivas para la *Leishmania* sp., pero sin sus efectos tóxicos, las cuales lamentablemente, no se pueden acceder en Costa Rica.

La leishmaniosis de las mucosas se caracteriza por una intensa reacción inflamatoria con pocos parásitos en la lesión. Con base en observaciones previas, que sugieren un posible papel del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), se trató a 10 pacientes con leishmaniosis de las mucosas, refractarios a antimonio pentavalente (20 mg / kg / día), con esta misma dosis más **Pentoxifilina (Trental®)** 400 mg 3 veces al día por 30 días, con curación de 9 de los 10 pacientes.⁶⁰

Además del tratamiento específico, se debe hacer el **tratamiento local de las lesiones**, las cuales generalmente tienen una piodermatitis sobre agregada.³ Cuando es posible, lo ideal es realizar un frotis, cultivo y PSA de la lesión, para enviar el antibiótico de elección.

Se debe tratar de limpiar la lesión con un astringente utilizado para su limpieza y desinfección, que permita remover secreciones o costras, como la Solución de Burrow (Domeboro®), dos veces al día / 5 días. Después de aplicar estas compresas por 10 minutos, las cuales ayudan a quitar las costras, se aplica un antibiótico tópico como la fucidina. Si la lesión está muy infectada, la respuesta terapéutica será lenta con los medicamentos específicos, si no se trata al mismo tiempo con antibacterianos por vía oral.

Epidemiología y prevención

Las investigaciones realizadas por el grupo de la Escuela de Veterinaria de la Universidad Nacional, Costa Rica,⁶³ en Acosta, hacen creer que la epidemiología de esta enfermedad ha cambiado en ciertas partes del país, como una “transmisión domiciliaria”, encontrando que el 64 % de las *Lutzomyias* capturadas, se hallaban dentro de las casas y solo el 4 %, en los árboles. También determinaron que en los hogares con un alto número de habitantes y poca iluminación, tienen 3 veces más riesgo de padecer leishmaniosis. Las casas con poca iluminación son los sitios preferidos para el mosquito. Se encontró que a mayor número de animales domésticos dentro de la casa, mayor atracción para que el vector entre a esta.

En otro estudio realizado en esta misma zona, se insiste en que la incidencia se ha venido concentrando en niños menores de 9 años (19 / 1000), así como en mujeres adultas. Este cambio de situación apunta hacia una probable transmisión peridomiciliaria y aún intradomiciliaria de dicha enfermedad. Ambos grupos salen raras veces al bosque.

Otros indicadores en esta dirección son la deforestación agravada desde hace más de veinte años, particularmente en los alrededores de las viviendas y la captura de *Lutzomyia* grávidas y con ingesta reciente de sangre dentro de las viviendas (Murillo & Zeledón, 1985).

Los datos epidemiológicos obtenidos en estudios anteriores⁶⁴,⁶⁵ y durante este, demuestran que la leishmaniosis cutánea constituye un problema de salud pública en Costa Rica; la tasa de la incidencia se ha mantenido y los grupos de menor edad son los más afectados, según el resultado del presente estudio.

La aparición de *L. infantum* = *L. chagasi*, productora de leishmaniosis cutánea atípica y leishmaniosis visceral, hacen pensar en la necesidad de un programa nacional para el control de la leishmaniosis. Para esto, el Ministerio de Salud y la Caja Costarricense de Seguro Social, deberían formar un consejo asesor multidisciplinario, encargado de estructurar un programa nacional para el control de la leishmaniosis. Con este grupo multidisciplinario, se debería hacer las normas para el manejo de la leishmaniosis. Es necesario prevenir, tratar y mejorar la calidad de vida de los pacientes que sufren esta enfermedad. Además, la CCSS debe implementar un programa de adiestramiento para el personal de salud en el diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad, y fortalecer el diagnóstico de laboratorio, coordinado por el Centro Nacional de Referencia en Parasitología en el Inciensa. Este Centro debe establecer el diagnóstico molecular en casos donde el diagnóstico microscópico es insuficiente y en donde la lesión no permite la toma de un frotis, como sucede en las presentaciones atípicas o mucosas. También se requiere, para un mejor manejo de la enfermedad y para estudios epidemiológicos, la disposición de antígeno de Montenegro, ya que actualmente no se cuenta con este en el país.

El grupo asesor debería lograr, mediante el Departamento de Farmacovigilancia de la Caja Costarricense de Seguro Social, la adquisición de un antimonio pentavalente, que se pudiera usar por vía intramuscular e intravenosa, para seguir con las recomendaciones de la OMS / OPS, y la adquisición de miltefosina, para contar con la opción terapéutica de un medicamento por vía oral, y poder autorizar el uso de pentoxifilina, en casos resistentes o pacientes con anergia. Se debería adquirir anfotericina liposomal, para aquellos casos de leishmaniosis que ameritan este tratamiento, especialmente pacientes con sida concomitante. Se debe realizar un programa de divulgación, a nivel nacional y haciendo mayor énfasis en las zonas de más prevalencia. Este mismo grupo debe asesorar, realizar, estimular y facilitar las investigaciones sobre la leishmaniosis en Costa Rica.

Desde 1983, la leishmaniosis es de reporte obligatorio al Ministerio de Salud, según el decreto No. N° 40556 – S, por su

impacto en la salud pública, cuando se consideran los criterios de frecuencia, gravedad y posibilidad de prevención. Es preciso hacer la salvedad de que la notificación se basa en el lugar de residencia del paciente y no en el sitio donde adquirió la enfermedad;⁶⁶ recientemente esta enfermedad forma parte de grupo B de notificación obligatoria, semanal e individual. En los últimos 8 años, se ha mantenido entre las diez primeras enfermedades de reporte colectivo obligatorio. Se distribuye en todo el país, pero en algunas zonas geográficas su incidencia supera la tasa de incidencia nacional.⁶⁷ En la Figura 2 se puede observar el periodo 2005 - 2016. Su incidencia pasó de 23,35 x 100 000 habitantes en 2005, a 42,55 en 2014, indicando una diferencia de tasas de 19,20. Para 2016, desciende nuevamente a 23,52 casos por 100 000 habitantes, quedando muy similar a la incidencia reportada en 2005. El promedio de casos notificados del periodo fue aproximadamente de 1406 para la población.

Al estratificar la distribución de la incidencia de la enfermedad por grupos de edad (cada 15 años), se observa diferencias entre los grupos. El grupo menor de 14 años presentó la incidencia más alta en los tres periodos que se presentan. En el Cuadro 1 se observan las diferencias, al compararse con un estudio anterior.⁶⁴

Al observar la incidencia promedio de 2005 - 2007 en las provincias y cantones, San Ramón, Turrialba y Siquirres continúan aumentando su tasa de incidencia desde 2005, como se observa en el Cuadro 1. La tasa de incidencia promedio del periodo 2011 - 2016 fue 33,7, y la diferencia de tasas con el trienio anterior fue 2,63.

La alta incidencia en el grupo de edad menor de 15 años, podría sugerir una transmisión intradomiciliaria, como anteriormente había sido sugerido por el grupo de estudio de la Escuela Veterinaria de la Universidad Nacional.⁶³ La alta incidencia en Siquirres, Talamanca, Matina, Guácimo, San Carlos, Turrialba, Osa y Golfito, zonas de mucha humedad y donde abundan los perezosos que son reservorios de la enfermedad, es relevante por el carácter altamente turístico de estos cantones, en virtud de sus atractivos ecológicos, sobre todo sus bosques húmedos tropicales.

La prevención es mejor que el tratamiento, tanto para el paciente como para la comunidad.⁶¹ La prevención primaria debe empezar por la identificación de los grupos de riesgo, y por el abordaje de los factores de exposición para prevenir los piquetes del vector (con mayor frecuencia entre las 5 - 8 pm).

En las zonas endémicas, a los campesinos y turistas se les debe aconsejar el uso de mosquiteros y evitar las actividades sin protección de insecticidas, lo mismo que el uso de camisa de manga larga y pantalones largos, así como mosquiteros al dormir, los cuales deben impregnarse con permetrina u otro repelente de insectos, al igual que las cortinas, para reducir la oportunidad del piquete del mosquito hembra. Orellano,⁶² en Argentina, impregnando con insecticida las cortinas y la ropa, logró disminuir 2,5 veces los casos de leishmaniasis cutánea y tres veces los de leishmaniasis mucocutánea, en una región endémica de *L. braziliensis*.

Referencias

- Peña A. Leishmaniosis tegumentaria en Costa Rica. Segundo Congreso Centroamericano. Comunicación a la Junta Directiva del Hosp. San Juan de Dios Agosto de 1924. Gaceta médica de Caracas; 1934: 204.
- Zeledón R. *Leishmaniasis* in North America and the Caribbean Islands: *Leishmaniasis*, Chang K.P, Bray R.S. (eds) Elsevier.Publ., Amsterdam, New York, Oxford: 1985; 313-350
- Jaramillo O. *Leishmaniasis* en Costa Rica.1986. En: Normas Pediátricas. Loría R. Editorial Universidad de Costa Rica p.595-603.
- Peraza J. Urbina A, Zeledón R. Zymodeme and Serodeme Characterization of *Leishmania* Isolates Obtained from Costa Rica Patients. Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro. 1998; 93: 283-287.
- Miranda A, Carrasco R, Paz Hector, Pascale Juan, Samudio F, Saldaña A, Santamaría G, Mendoza Y, Calzada J: Molecular epidemiology of american tegumentary leishmaniasis in Panamá. Am J Trop Hyg 81 2009, pp. 565-571.
- Zeledón R, Hidalgo H, Víquez A, Urbina A: Atypical cutaneous *Leishmaniasis* in a semiarid region of north-west Costa Rica. Trans R Soc Trop Med Hyg 1989; 83:786.
- Carrillo J, Chinchilla M, Valverde b, Porras O, Mora L: Visceral *Leishmaniasis* in Costa Rica: First Case Report. Clin Infect Dis 1999; 29:678-9.
- Zeledón R.1992.*Leishmaniasis* en el istmo centroamericano e Islas del Caribe. Enfermedades parasitarias de mayor prevalencia y transmitidas por vectores en Centroamérica. Cosenza, H y Kroeger, A.1992; 135-148.Eds.
- Zeledón R. McPherson B, Ponce C.: Isolation of *Leishmania braziliensis* from a wirodent in Costa Rica. Am J Trop Med Hyg.1977; 26:1044-1045.
- Talhari S, Talhari A, Ferreira L, Naiff R: 1995 Leishmaniosis cutáneomucosa. Dermatología Tropical p.23-45 MEDSI. Editora Médica e Científica Ltda.1995; p 23-45.
- Machado-Coelho G, Caiaffa WS, Genaro O, Magal AES, Mayrink W: Risk factors for mucosal manifestations on American cutaneous leishmaniasis .Trans R Soc Trop Med Hyg 2005; 99; 55-61.
- A Schwartz E, Hatz C,Blum J: 2006 New World cutaneous leishmaniasis in travelers. Lancet Infect Dis 2006;6:342-49.
- Zerpa O, Convit J: *Leishmaniasis* cutánea difusa en Venezuela Gax Med Bahía 2009;79 (Supl.3):30-34.
- Lizardo G., Ponce C, Ponce E, Sierra M: Caracterización de pacientes con leishmaniasis cutánea atípica. Rev Med Honduras 2008; 76:101-107.
- Mendoza L, Podetti M, Chavez F, Zeledón R.; Visceral leishmaniasis in a dog introduced into Costa Rica. Trans R Soc Trop Med Hyg 1983; 77:283-284.
- Ponce C, Ponce E, Morrison A, Cruz A, Kreutzer R, D McMahon-Pratt and F Neva. *Leishmania donovani* chagasi: New clinical variant of cutaneous leishmaniasis in Honduras. Lancet 1991; 337: 67-70.
- Convit J, Ulrich M, Pérez M, Hung J, Castillo J, Rojas H, Víquez A, Araya L.N, De Lima H: Atypical cutaneous leishmaniasis in Central America: Possible interaction between infectious and environmental elements. Trans R Soc Trop Med Hyg 2005; 9:13-17.
- Méndez López M, López Villegas J.: *Leishmaniasis* visceral en médula ósea. Rev Clin Escuela de Medicina UCR –HSJD 2016.Vol 6 No II.
- Rodríguez G, Arena C, Ovalle C, Hernández C, Camargo C. Las *Leishmaniasis*. Atlas y texto 2016.pag.107-113. Centro Dermatológico Federico Lleras Camargo, Bogotá, Colombia.
- Elmahallawy E, Sampedro A, Rodríguez-Granger J, Hoyos-Mallecot Y, Agil A, Navarro J, Gutiérrez J. Diagnosis of *Leishmaniasis*. J Infect Dev Ctries 2014; 8:961-972.
- Ramírez JR, Agudelo S, Muskus C, Alzate JF, Berberich C, Barker D, Vélez ID. Diagnosis of cutaneous *Leishmaniasis* in Colombia: the sampling site within lesions influences the sensitivity of parasitologic diagnosis. J Clin Microbiol 2000; 38:3768-3773.
- Jara M, Adaui V, Valencia BM, Martinez D, Alba M, Castrillón C, Cruz M, Cruz I, van der Auwera G, Llanos-Cuentas A, Dujardin JC, Arévalo J. Real-Time PCR Assay for Detection and Quantification of *Leishmania* (Viannia) Organisms in Skin and Mucosal Lesions: Exploratory Study of Parasite Load and Clinical Parameters. J Clin Microbiol 2013; 51(6): 1826-1833.
- Pereira LO, Moreira RB, de Oliveira MP, Reis SO, de Oliveira NMP, Pirmez C. Is *Leishmania* (Viannia) braziliensis parasite load associated with disease pathogenesis?. Int. J. Infect. Dis. 2017; 57:132-137.
- Furtado T. Criterios para diagnóstico de LTA .Anais Brasileiros de Dermatología 65:51-86,1980.
- Ramírez JR, Agudelo S, Muskus C, Alzate JF, Berberich C, Barker D, Vélez ID. The method used to sample ulcers influences the diagnosis of cutaneous *Leishmaniasis*. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2002; 96: 169-171.
- Suárez M, Valencia BM, Jara M, Alba M, Boggild AK, Dujardin JC, Llanos-Cuentas A, Arevalo J, Adaui V. Quantification of *Leishmania* (Viannia) Kinetoplast DNA in Ulcers of Cutaneous *Leishmaniasis* Reveals Inter-site and Inter-sampling Variability in Parasite Load. PLoS. Negl. Trop. Dis. 2015; 9(7): e0003936. doi:10.1371/journal.pntd.0003936.
- Boggild AK, Miranda-Verastegui C, Espinosa D, Arevalo J, Adaui V, Tulliano G, Llanos-Cuentas A, Low DE. Evaluation of a microculture method for isolation of *Leishmania* parasites from cutaneous lesions of patients in Peru. J. Clin. Microbiol. 2007; 45(11):3680-3684.
- Adams E, Gomez M, Scheske L, Rios R, Márquez R, Cossio A, Albertini A, Schallig H, Saravia N. Sensitive Diagnosis of Cutaneous *Leishmaniasis* by Lesion Swab Sampling Coupled to qPCR. Parasitology. 2014; 141(14): 1891-7.
- Escobar MA, Martínez F, Smith DS, Palma GI. American cutaneous and mucocutaneous *Leishmaniasis* (tegumentary): a diagnostic challenge. Trop. Doct. 1992;1:69-72.
- Avilés H, Belli A, Armijos R, Monroy FP, Harris E. PCR detection and identification of *Leishmania* parasites in clinical specimens in Ecuador: A comparison with classical diagnostic methods. J. Parasitol. 1999; 85 (2): 181-187.
- Van der Meide W, Guerra J, Schoone G, Farenhorst M, Coelho L, Faber W, Peekel I, Schallig H. 2008. Comparison between quantitative nucleic acid sequence-based amplification, real-time reverse transcriptase PCR, and real-time PCR for quantification of *Leishmania* parasites. Clin Microbiol. 46(1):73-78.
- Espinosa D, Boggild AK, Deborggraeve S, Laurent T, Valencia C, Pacheco R, Miranda-Verastegui C, Llanos-Cuentas A, Leclipteux T, Dujardin C, Buscher P, Arévalo J. *Leishmania* OligoC-Test as a simple, rapid and standardized tool for molecular diagnosis of cutaneous *Leishmaniasis* in Peru. J. Clin. Microbiol. 2009; 47(08):2560-2563.
- Hu R, Kent AD, Adams E, van der Veer C, Sabajo L, Mans D, de Vries H, Schallig H, Lai R. Case report: First Case of cutaneous *Leishmaniasis* caused by *Leishmania* (Viannia) braziliensis in Suriname. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2012; 86(5):825-827.
- Schonian G, Nasereddin A, Dinse N, Schweynoch C, Schallig H, Presber W, Jaffe C. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2003; 47:349-358.
- Organización Mundial de la Salud. Control de las leishmaniasis: informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el control de las leishmaniasis. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2012.
- Van der Auwera G, Dujardin JC. Species typing in dermal *Leishmaniasis*. Clin. Microbiology. Rev. 2015; 28(2):265-294.
- Grimaldi G, McMahon-Pratt D. Monoclonal antibodies for the identification of New World *Leishmania* species. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1996; 91(1):37-42.
- McMahon-Pratt D, Jaffe CL, Grimaldi G. Application of monoclonal antibodies to the classification of *Leishmania* species. En: Morel CM, eds. Genes and Antigens of Parasites. Rio de Janeiro, Brasil: Fundação Oswaldo Cruz; 1984.
- García L, Kindt A, Bermudez H, Llanos-Cuenta A, De Doncker S, Arevalo J, Quispe KW, Dujardin JC. Culture-Independent Species Typing of Neotropical *Leishmania* for Clinical Validation of a PCR-Based Assay Targeting Heat Shock Protein 70 Genes. J. Clin. Microbiol. 2004;42(5):2294-2297.
- Montalvo AM, Fraga J, Monzote L, Montano I, De Doncker S, Dujardin JC, van der Auwera G. Heat-shock protein 70 PCR-RFLP: a universal simple tool for *Leishmania* species discrimination in the New and Old World. Parasitology. 2010; 137: 1159-1168.

41. Zerpa O. *et al.* Comparación de cinco métodos para el diagnóstico de leishmaniasis cutánea. *Dermatología Venezolana* Vol. 40, No.4. ,2002.
42. *Leishmaniasis* en las Américas. Recomendaciones para el tratamiento. Washington D.C. OPS, 2013.pp.2-38.
43. M. de Oliveira-Neto., Matto M, Pirmez C, Fernandez O, Goncalvez-Costa S., de Souza C, Grimaldi G: A low dose antimony treatment in 159 patients with american cutaneous leishmaniasis:Extensive follow-up studies (up to 10 years) *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1977;651-655.
44. De Oliveira Schubach A, Feldman K, Marzochi F, Soares J, Pacheco T, Lodi M, Francesconi do Vale C, Lambert S Almeida M: Retrospective study of 151 patients with cutaneous leishmaniasis treated with meglumine antimoniate. *Rev.Soc.-Bras.Med.Trop.* 2005; 38. DOI: 10.1590/S0037-86822005000300001
45. Andrade M, Brito M, Thomas da Silva S, Lima s, Almeida M E, Alburquerque E, Marinho Junior J, Iahikawa E, Cupolillo E Brandao-Filho S.: Leishmaniose tegumentar causada por *Leishmania* (Viannia) braziliensis, en área de treinamento militar na Zona de Mata de Pernambuco.
46. Gayoso R *et al.*: Sensitivity of *Leishmania* braziliensis promastigotes to meglumine antimoniate (Glucantime) is higher than other Leishmanias species and correlate with response to therapy in american tegumentary leishmaniasis. *J Parasitol* 2007. 93:688-693.
47. Cucé L,Oliveira Z, Lazarini S: Tratamento da leishmanios tegumentar americana na infancia. 1984. *An Bras Dermatol*, 59: 169-173.
48. Saheki Mn, Lyra MR, Bedoya –Pacheco SJ, Antonio LF, Pimentel MIF, Salguiero MN, Vasconcellos ECFE, Passos SRL, Santos GPLD, Ribeiro MN, Fagundes A, Madeira MF, Mouta-Confort E, Marzochi MCA, Valette-Rosalino CM, Schubach AQ. Low versus high dose of antimony for American cutaneous leishmaniasis: A randomized controlled blind non-inferiority trial in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One* 2017; 12:E0178592.DOI:10.1371/journal.pone0178592.
49. Nane R, Borges K, Nogueira L. Sampaio J, Tauil P, Sampaio R. Clinical and epidemiological and therapeutic study of 402 patients with american cutaneous leishmaniasis attended at University Hospital of Brasília, D.F. Brazil. *An Bras Dermatol*, 2005; 80 (3):249-254.
50. Rodríguez G, Arena C, Ovalle C, Hernández C, Camargo C: Las *Leishmaniasis*. Atlas y texto 2016.pag.163-171. Centro Dermatológico Federico Lleras Camargo, Bogotá, Colombia.
51. Solano E, Hidalgo H, Zeledón R.: Tratamiento intralesional exitoso de la leishmaniasis por *Leishmania brasiliensis panamensis* con Glucantime. *Med. Cut. I.L.A.* Vol. XII / 1984; págs. 19-24
52. Oliveira –Neto, Manuel P, *et al.* Intralesional therapy of american cutaneous leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de Janeiro, Brazil: *Int J Dermatol* 1997; 36:463-468.
53. De Camargo Ferrerira e Vasconcelos Erica, Fernandes M, Oliveira A, De Vasconcelos R, Azeredo-Coutinho R, Conceicao Silva F, De Matos M, Morteira J, Fátima Madeira M Baptista C, Veleto-Rosalino V. Intralesional meglumine antimoniate for treatment of cutaneous leishmaniasis in patients with contraindicación to systemic therapy from Rio de Janeiro (2000-2006).*Am J Trop Med Hyg* 2012;87:257-260.
54. De Oliveira Duque M, De Camargo Ferreira E, Fernandez M, Marcelo L, Bedoya S, De Almeida M, Valette C, De Oliveira A. Standarization of intralesional meglumine antimoniat treatment for cutaneous leishmaniasis. *Rev Soc Bras Med Trop* 2016;49:
55. Miranda A, Hueb M, Adler regañar Thiago, Rodríguez dos Santos, Fernandez C. Factores asociados al fracaso del tratamiento de la leishmaniasis cutánea con antimonio de meglumina. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; 39:2.
56. Soto J, Arana A, Toledo J, Rizzo N Vega J, Díaz A, Luz M, Gutiérrez P, Arboleda M, Berman J, Jungue K, Engel J. and Sidermann H.: Miltefosine for New World Cutaneous *Leishmaniasis*. *Clin Infect Dis* 2004; 38:1266-72.
57. Soto J, Toledo J, Gutiérrez P, Nicholls R, Padilla J, Engel J, FischerC, Voss A, Berman J.:Treatment of American Cutaneous *Leishmaniasis* with Miltefosine, an Oral Agent. *Clin InfectDis* 2001;33: e57-61.
58. Soto J, Soto P: Miltefosina oral para el tratamiento de la leishmaniasis. *Biomedica* 2006; 26 (Supl.1):207-17
59. Croft S; Combs G: *Leishmaniasis* Current Chemototherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol* 2003; 19:502-508.
60. Lessa H,Machado P, Lima F, Curz A, Bacellar O, Guerreiro J and Carvalho E. Successful treatment of refractory mucosal leishmaniasis with pentoxifilline plus antimony. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65:87-89.
61. De Vries H, Reedjik S, Schalling H. Cutaneous *Leishmaniasis*: Recent developments in diagnosis and management. *Am J Clin Dermatol* 2015; 16; 99-109.
62. Orellano P, Vázquez N, Salomon O. Cost-effectiveness of prevention strategies for american tegumentary leishmaniasis in Argentina. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro 2013;29: 2459-2472, dez, 2013.
63. Rojas J, Zeledón R, Murillo J, Urbina A.;1988. Identification of risk factors associated with Cutaneous *Leishmaniasis* in Costa Rica. In: *Research on Control Strategies for Leishmaniasis* (B. C. Walton; P.M. Wijeratne & F. Mondaber, ed), pp244-251, Ottawa: International Development Research Centre.
64. Jaramillo O, Espinoza A, Lobo R.: Estado actual de la leishmaniosis en Costa Rica. *Acta Méd Costarric* 2009;51:158-164.
65. Hidalgo H, Jaramillo O. Contribución a la epidemiología de la leishmaniasis en Costa Rica. *Acta Méd Costarric* 1977; 20:83-101.
66. Poder Ejecutivo de Costa Rica. Decreto No. N° 40556 – S. Ministerio de Salud de Costa Rica, Reglamento de Vigilancia de la Salud. La Gaceta No. 203 de octubre del 2012. San José, Costa Rica. [Consultado el 18 de enero 2017]. Disponible en: https://www.imprentanacional.go.cr/pub/2017/08/23/ALCA206_23_08_2017.pdf
67. Ministerio de Salud de Costa Rica. Vigilancia de la Salud, Consulta a bases de datos. [Consultado el 18 de enero 2017]. Disponible en : <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/vigilancia-de-la-salud/estadisticas-y-bases-de-datos/notificacion-colectiva>