



EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LAS PRUEBAS INMUNOHISTOQUÍMICAS COMO HERRAMIENTA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA EN PANAMA

K. Gonzalez¹, J.E. Calzada¹, R. Díaz², H. Paz¹, A. Miranda¹, A. Saldaña¹, M. Laurenti³

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de los Estudios de la Salud (ICGES)

²Servicio de Patología, Hospital Santo Tomás

³Facultad de Medicina, Departamento de Patología, Universidad de Sao Paulo, Brasil

INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis tegumentaria (LT) es una de las zoonosis parasitarias de mayor incidencia en Panamá. Anualmente se registran aproximadamente 3,000 casos y se estima la existencia de una cifra muy similar sin diagnosticar. En ausencia de vacunas y medidas preventivas efectivas, los métodos diagnósticos juegan un papel importante en el control y el tratamiento adecuado de esta infección. Las técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) han demostrado ser una herramienta valiosa para complementar el diagnóstico de la leishmaniasis y para estudiar la respuesta inmune celular desarrollada durante la infección. En Panamá no se han implementado estas pruebas aún para el diagnóstico de LC.

OBJETIVO

Evaluar la utilidad de las pruebas inmunohistoquímicas como herramienta para el diagnostico de LT en pacientes panameños.

METODOLOGÍA:

Se analizaron 47 muestras de raspado cutáneo y biopsias de piel de pacientes con lesiones sospechosas a LT (Figura 1 A). Los cortes de tejido se fijaron en formol y se incluyeron en parafina; luego se evaluaron por histopatología (tinción de Hematoxilina-Eosina y Giemsa) en busca de amastigotes. Además, se realizó el diagnóstico IHQ usando un antisuero policlonal producido en ratones y el método de inmunoperoxidasa indirecta para la detección parasitaria.

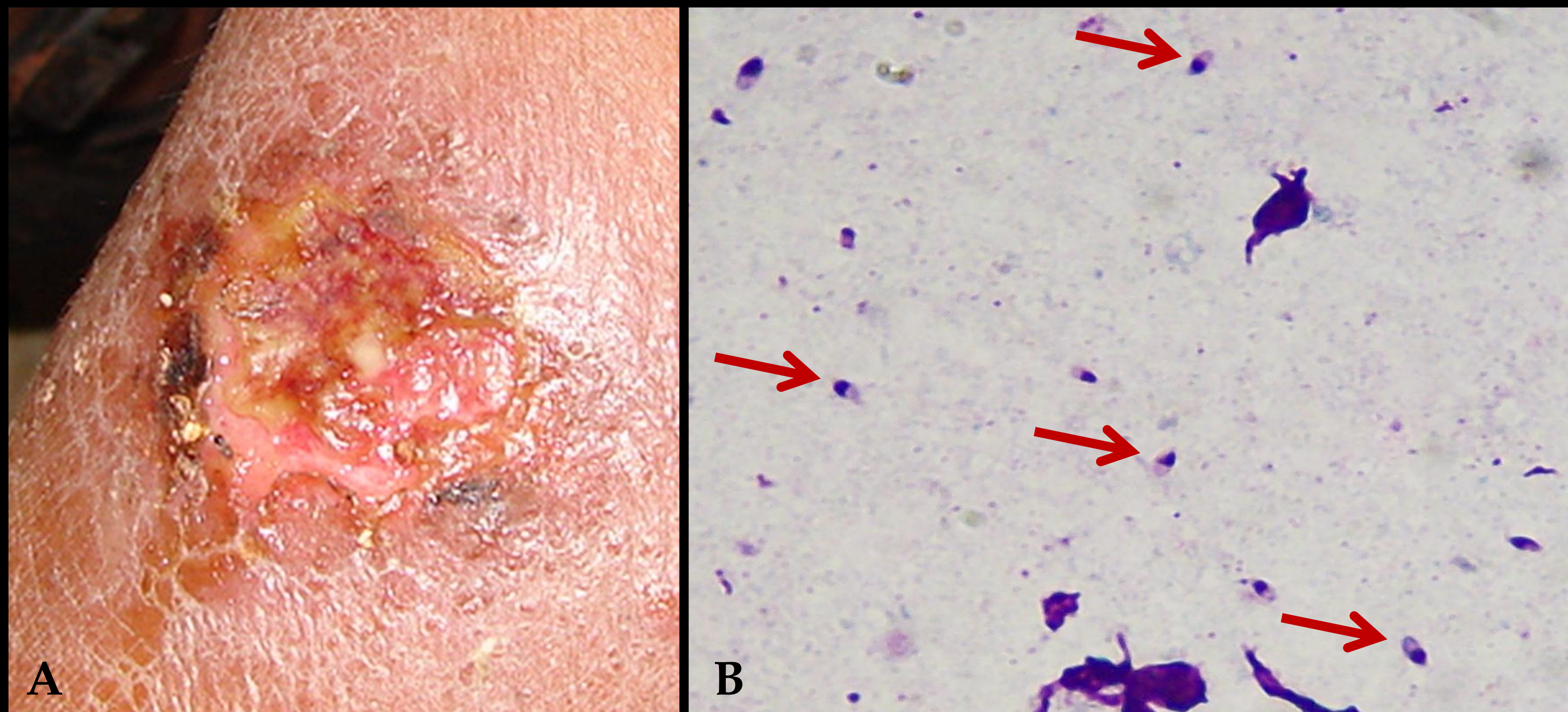


Figura 1: A. Lesión cutánea típica de leishmania en pierna derecha. B. Frotis positivo ++ amastigotes, teñido con Giemsa (1000x).

Las muestras de raspado cutáneo fueron evaluadas por pruebas parasitológicas convencionales (frotis y cultivo) (Figura 1B) y pruebas moleculares (PCR subgénero específico del kinetoplasto) (Figura 2). Los resultados de estas pruebas se consideraron como el “Criterio de Positividad” para los análisis de comparación.

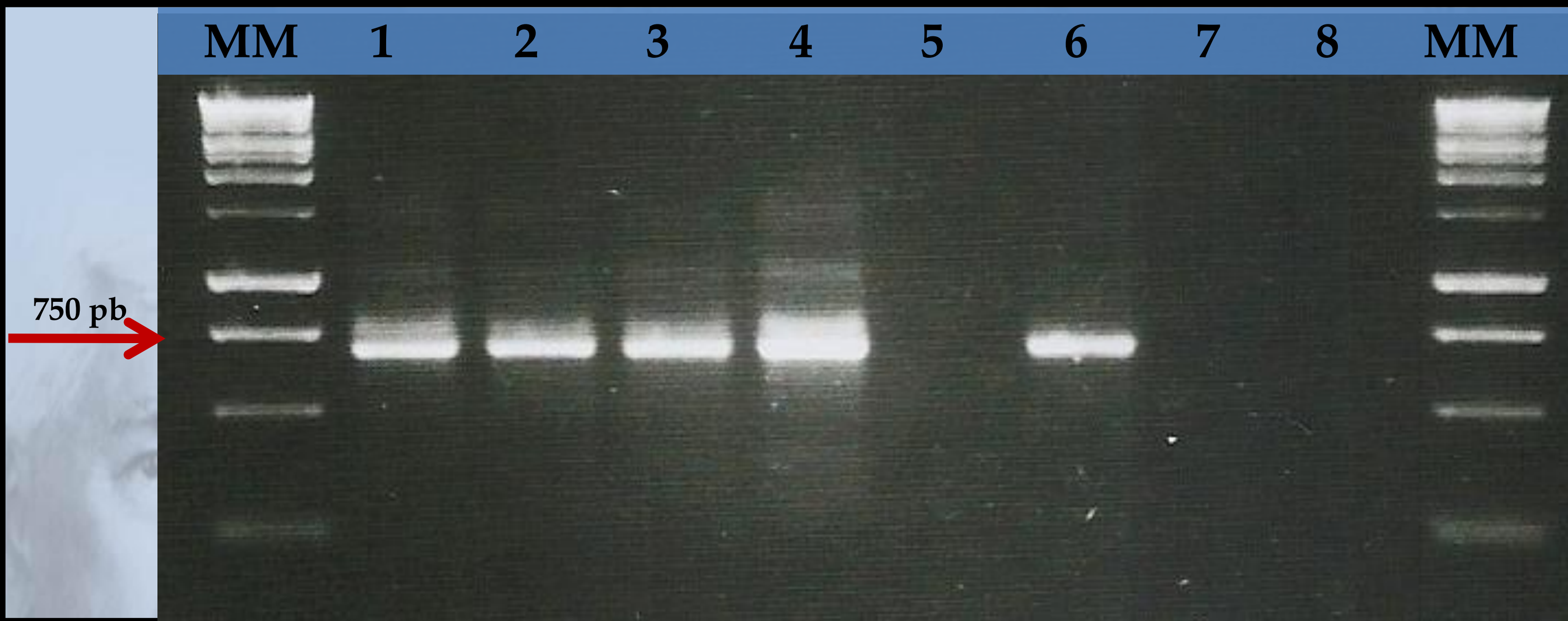


Figura 2: Resultado de PCR subgénero específico (kinetoplasto). MM: Promega DNA Ladder 1 kb; 1-2: Cepa control positivo *Leishmania panamensis*; 3,4,6: Muestras positivas (750 pb); 5,7: Muestras negativas; 8. Control Negativo de PCR.

RESULTADO:

Basado en el criterio de positividad (frotis, cultivo y PCR) se pudo confirmar la presencia de *Leishmania* en 44/47 (94%) muestras. Estos resultados se compararon con la histopatología convencional (10/44: 23%) (Figura 3) y la IHQ (33/44: 75%) (Figura 4). Los resultados demuestran que la IHQ fue más sensible que la histopatología convencional (0.75 vs 0.23, ver tabla).

Método Diagnóstico	No. Positivos (n=47)	No. Negativos (n=47)	Sensibilidad (95% CI) (n=44) ^a	Concordancia general (Índice K) ^b
Frotis	26	5	-	-
Cultivo	41	6	-	-
PCR	44	3	-	-
IHQ	34	13	0.75 (0.59-0.86)	0.72 (0.44)
Histopatología	10	37	0.23 (0.11-0.38)	-

^a La sensibilidad de las pruebas Inmunohistoquímicas y la Histopatología fue calculada en base al “Criterio diagnóstico” establecido. Se consideró una muestra positiva a *Leishmania* cuando diera positivo con al menos una de las siguientes pruebas: frotis teñido con Giemsa, cultivo in vitro o PCR. ^b La concordancia y el Índice K fueron calculados entre la Histopatología y la Inmunohistoquímica. El índice k tiene un rango de 0 a 1.00, donde k<0.4 indica concordancia pobre, k de 0.4-0.7 indica buena concordancia y k >0.70 indica excelente concordancia.

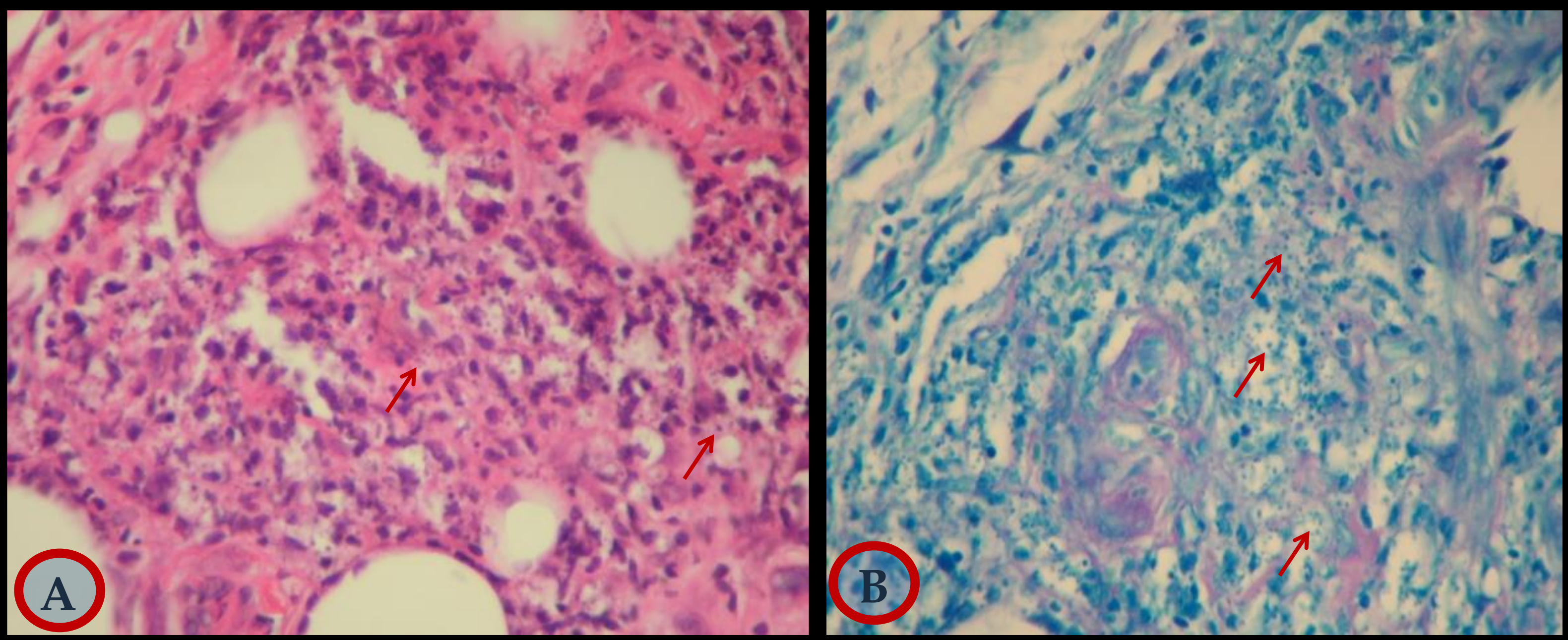


Figura 3: Biopsia cutánea positiva a *Leishmania* (++) amastigotes) por Histopatología. Amastigotes viables en vacuolas fagocíticas (200x). A: Tinción H&E. B: Tinción Giemsa.

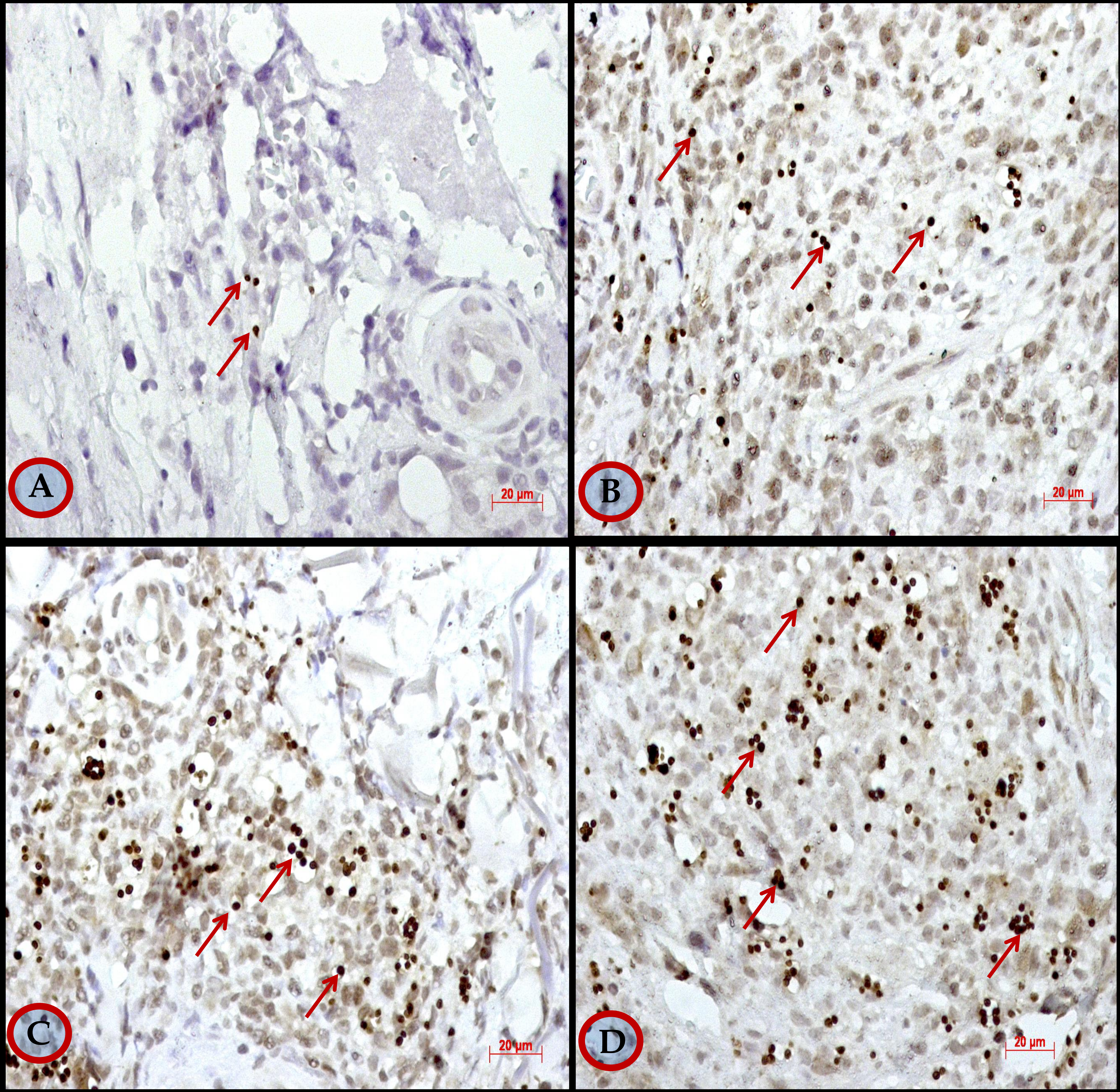


Figura 4: Biopsias cutáneas positivas a *Leishmania* por IHQ. Se observan amastigotes con coloración marrón. Foto A: positivo + amastigotes. Foto B: positivo ++ amastigotes. Foto C y D: positivo +++ amastigotes.

CONCLUSIONES:

La IHQ es una herramienta valiosa para la detección de *Leishmania*, facilita la observación y evita confusiones en la identificación del parásito, lo que mejora la calidad del diagnóstico.

La IHQ mejora considerablemente la detección de parásitos de *Leishmania* en cortes histopatológicos, apoyando la necesidad de implementar esta herramienta diagnóstica en Panamá.

Las técnicas inmunohistoquímicas permiten evaluar la respuesta inmune del paciente y así dar nuevas guías para el tratamiento y control de la enfermedad en el país.