LEISHMANIASIS CUTANEA CAUSADA POR *LEISHMANIA MEXICANA AMAZONENSIS* EN PANAMA*

Dr. John Petersen[1], Dr. Carl M. Johnson, APMC, FACP[2], Ana María de Vásquez[1], Dr. Rolando Sáenz APMC, FACP[3].
De la División de Biología Tropical[1], Consultor[2], y de la División de Enfermedades Infecciosas del Laboratorio Conmemorativo Gorgas[3].

Se presenta un caso humano de leishmaniasis cutánea causada por la *Leishmania mexicana amazonensis* en la República de Panamá. La cepa se identificó por medio de la electroforesis de isoenzimas de promastigotes. Su caracterización se basó en la movilidad de las enzimas G6PD, PGM, GPI, MPI, ME, 6PGD en acetato de celulosa. Se pudo observar que la cepa de *L.m. amazonensis* en estudio tuvo una migración electroforética completamente diferente a la cepa de la OMS, considerada como cepa de referencia para la *L.m. mexicana*, y a la cepa de referencia de *L. m. aristedesi*, que se mantiene en el Laboratorio Conmemorativo Gorgas. Sin embargo, fue indistinguible al de la cepa de OMS utilizada como referencia para la *L. m. amazonensis*. Las observaciones realizadas en los animales inoculados con promastigotes de esta cepa, revelaron que su comportamiento era similar a cualquiera de los parásitos del complejo de la *L. mexicana*. Este es el primer caso informado en Centro América y Panamá.

La *Leishmania braziliensis panamensis* es el principal agente causal de la leishmaniasis cutánea en la República de Panamá. Durante los últimos años se identificaron en el Laboratorio Conmemorativo Gorgas un total de 182 cepas aisladas de pacientes con leishmaniasis cutánea y todas, con excepción del caso que a continuación se describe, fueron caracterizadas como *L. braziliensis panamensis*. El caso autóctono que vamos a informar, es el de un paciente con leishmaniasis cutánea ocasionada por *L. mexicana amazonensis*.

Es importante el estudio de las diferentes cepas de *Leishmania* presentes en Panamá por sus implicaciones clínicas, pronósticas y terapéuticas. En el caso particular de la leishmaniasis cutánea producida por *L. mexicana amazonensis*, las lesiones pueden ser leves y cicatrizar

* Presentado para publicación en julio de 1987.

sin tratamiento; o pueden ocasionar formas severas, como la leishmaniasis cutánea difusa, de muy difícil tratamiento. En todo caso, a diferencia de la Leishmaniasis causada por *L. braziliensis panamensis*, no se complica con lesiones mucocutáneas.

Historia clínica

En diciembre de 1985 fue examinado, en la clínica del Laboratorio Conmemorativo Gorgas, un paciente de 41 años de edad, norteamericano, entomólogo, residente en la ciudad de Panamá, por presentar una lesión en la parte externa de la pierna derecha, de 5 1/2 meses de evolución. El paciente informó que había viajado al Darién durante el mes de abril de 1985, para recoger flebótomos a lo largo del Río Chucunaque, cerca de Boca Metetí. El método que usó el científico fue el de aspirar los flebótomos que se posaban sobre sus piernas descubiertas. El paciente no había viajado al exterior en los 4 meses que precedieron a la aparición de la lesión cutánea. Al examen físico se encontró una lesión papular de 17x21 mm de diámetro, cubierta parcialmente por una costra, que se descamaba frecuentemente y era algo pruriginosa e indolora; sin embargo, en ningún momento llegó a ulcerarse. Al paciente se le recetó Pentostam ® (estibogluconato de sodio), pero solo recibió 2 ampollas por día intramuscular. La lesión se mantuvo activa hasta abril de 1986, cuando cicatrizó dejando un área hiperpigmentada y ligeramente atrófica.

Materiales y métodos

El 5 de diciembre de 1985 se le hizo una prueba de Montenegro y un raspado de la lesión, cuando el paciente fue atendido por primera vez en el Laboratorio Conmemorativo Gorgas. La toma de la muestra para el aislamiento de los parásitos se realizó mediante un raspado del borde de la lesión con una brocha dental y el exudado fue recogido con una espátula estéril y colocado en el medio de transporte (0.85% w/v NaCl en agua destilada con 500 unidades de penicilina y 1 mg de estreptomicina/cc). Se utilizó para el cultivo el medio difásico de Senekjie (1).

Otro de los métodos usados para el aislamiento de los parásitos fue el de inocular una suspensión de promastigotes aislados en cultivo de la nariz del hamster dorado *(Mesocricetus auratus)*, a fin de poder estudiar la patogenicidad en el animal.

Los promastigotes obtenidos en el aislamiento original fueron identificados por medio del análisis de las isoenzimas en acetato de celulosa y comparados con las cepas de referencia de la Organización Mundial de la Salud

(OMS) (Tabla No. 1). La identificación se basó (Tabla No. 2), en la movilidad de las isoenzimas G6PD, PGM, GPI, MPI, ME y 6PGD (2).

La tercera prueba usada para la identificación de la cepa fue la de anticuerpos monoclonales, preparados contra *L. braziliensis panamensis, L. mexicana mexicana* y *L. mexicana amazonensis*, usando el método de inmunofluorescencia indirecta.

TABLA No. 1

CEPAS DE LEISHMANIA USADAS EN EL ESTUDIO

PN	ESPECIE	COMS	NOMENCLATURA
1	L. BRASILIENSIS PANAMENSIS	SI	MHOM/PA/71/LS94
2	L. MEXICANA PIFANOI	SI	MHOM/VE/57/LL1
3	L. MEXICANA VENEZUELENSIS	SI	MHOM/VE/74/PH-H3
4	L. MEXICANA GARNHAMI	SI	MHOM/VE/76/JAP78
5	L. MEXICANA MEXICANA	SI	MHOM/BZ/82/BEL21
6	L. MEXICANA AMAZONENSIS	SI	MHOM/BR/73/M2269
7	L. MEXICANA ARISTEDESI	SI	MPRO/PA/69/GML3
8	GML 584	NO	MHOM/PA/85/GML584

PN = POSICION Y NUMERO DE LOS EXTRACTOS EN LAS MEMBRANAS DE ACETATO DE CELULOSA (VER FIG.No.2).
COMS = CEPAS DE LA ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD.

TABLA No.2

ENZIMAS USADAS EN EL ESTUDIO

ENZIMA	CN	A
DEHIDROGENASA DE MALATO (DECARBOCILATO) (NADP+) (ENZIMA MALICA)	EC 1.1.1.40	ME
DEHIDROGENASA 6-GLUCONATO DE FOSFATO	EC 1.1.1.44	6PGD
DEHIDROGENASA 6-FOSFATO DE GLUCOSA	EC 1.1.1.49	G6PD
GLUCOMUTASA DE FOSFATO	EC 2.7.5.1	PGM
ISOMERASA DE FOSFATO DE MANOSA	EC 5.3.1.8	MPI
ISOMERASA DE FOSFATO DE GLUCOSA	EC 5.3.1.9	GPI

CN = CODIGO DE NOMENCLATURA RECOMENDADA POR EL COMITE DE NOMENCLATURA DE LA UNION INTERNACIONAL DE BIOQUIMICA (9).
A = ABREVIATURA.

Resultados

El estudio de las placas que fueron tomadas a la llegada del paciente el 5 de diciembre de 1985 y teñidas con Giemsa mostraron amastigotes del género *Leishmania*, dentro y fuera de los macrófagos.

La prueba de Montenegro fué positiva, mostrando un área de induración de 9 mm en diámetro.

Los parásitos que fueron aislados de la lesión se mantuvieron fácilmente en cultivo y el aislamiento original se denominó GML 584. El parásito fue aislado en cultivo nueve veces, durante el período comprendido entre diciembre de 1985 y abril de 1986. Intentos posteriores, a partir del mes de julio del mismo año, dieron resultados negativos.

Los resultados de los estudios de isoenzimas mostraron (Tabla No. 1) que la cepa GML 584 migraba de manera muy diferente a las cepas de referencia de la OMS, que son el modelo para *L. braziliensis panamanesis* y *L. mexicana mexicana*, como también era diferente a la cepa de referencia del Laboratorio Conmemorativo Gorgas de *L. mexicana aristedesi*. Sin embargo, se comportaba de modo similar a las cepas de la OMS de *L. mexicana amazonensis* y *L. mexicana garnhami*.

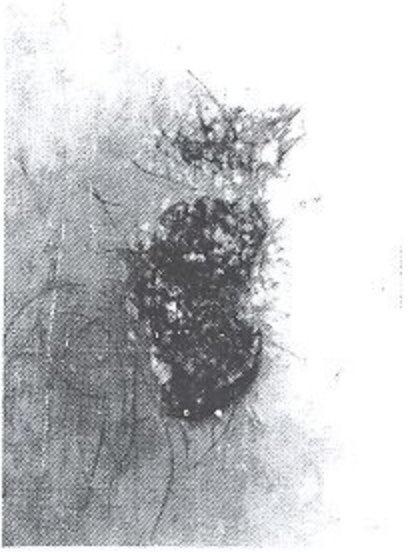

Fig. No. 1

Fotografía tomada de la lesión en enero de 1986.

Por lo arriba mencionado opinamos que la cepa GML 584 no era ni *L. braziliensis panamensis* ni *L. mexicana mexicana* ni *L. mexicana aristedesi*.

Los anticuerpos monoclonales usados en la prueba de inmunofluorescencia (IFA) confirmaron la identificación de la cepa GML 584 como *L. mexicana amazonensis*.

Los promastigotes de la cepa en estudio, que fueron inoculados en la nariz de hamsters dorados *(Mesocricetus auratus)*, comenzaron a producir lesiones 20 días después de ser inoculados y alcanzaron su máxima magnitud a los 45 días. Las lesiones tumorales mostraron una gran cantidad de macrófagos, con amastigotes intracelulares. El tiempo de

vida del animal se redujo a 9 meses.

El comportamiento de la *L. mexicana* en hamsters fue notoriamente distinto al comportamiento de la *L. braziliensis*. Con esta última especie la lesión en el sitio inoculado era leve, y comenzó a los 9 días después de inoculado el animal, alcanzando su máxima expresión alrededor de 21 días después inoculación. Los animales sobrevivieron durante un período de 14 a 16 meses.

Basados en las evidencias obtenidas por medio de la electroforesis de las isoenzimas, de la prueba de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales y en la patogenicidad de la cepa en el hamsters deducimos que la cepa GML 584 era de *Leishmania mexicana amazonensis*. Este es el primer caso informado en Centro América y Panamá.

Comentarios

La presencia del complejo de la *L. mexicana* en la República de Panamá fue observada durante estudios realizados en Sasardí, Comarca de San Blas en el año de 1968 (3). Una nueva especie del complejo de la *L. mexicana*, llamada *L. mexicana aristedesi*, fue aislada durante esos estudios principalmente de la rata arrocera *(Oryzomys capito)*. Hasta la fecha, no se ha podido aislar este parásito de humanos (4), ni de ninguna otra área que no sea Sasardí.

Sin embargo, Kreutzer y sus colaboradores informaron recientemente haber aislado parásitos del complejo de la *L. mexicana* en 8 pacientes que habían estado en el área de Fort Sherman, en la provincia de Colón (5).

La *L. mexicana amazonensis* ha sido identificada en las regiones Amazónicas de Brasil y del sur de Venezuela; probablemente se encuentra en otros países de Sur América, en especial en las regiones Amazónicas de Perú, Ecuador y Colombia. En Brasil, se identificaron casos de leishmaniasis, cuyo agente etiológico era la *L. mexicana amazonensis*, con cuadro clínico desfigurativo e incurable, conocido como leishmaniasis cutánea difusa (6); mientras que otros desarrollaban, infectados con la misma cepa, lesiones leves y que cicatrizaban espontáneamente. La enfermedad no es común en el hombre; la mayoría de las cepas de *L. mexicana amazonensis* han sido aisladas de animales silvestres, tales como roedores, zarigüeyas y algunos carnívoros. Se conoce como agente vectores de la *L. mexicana amazonensis* a todo el grupo de flebótomos pertenecientes al complejo de la *Lutzomyia flaviscutellata*, el cual incluye a la *Lu. olmeca bicolor* que se describió en Panamá (7). Los flebótomos pertenecientes al grupo de la *Lu. flaviscutellata*, se

alimentan primordialmente en roedores y rara vez en el hombre. Este es quizás el factor más importante por el cual la enfermedad no es común en humanos.

Recientemente se identificó en las montañas de la parte oeste de Venezuela una especie nueva de *Leishmania* (8), llamada *L. mexicana garnhami*. Esta cepa produce lesiones no dolorosas que cicatrizan espontáneamente en un período aproximado de 6 meses. La transmisión del parásito se lleva a cabo en poblaciones urbanas y rurales dedicadas a la agricultura, a una altura de 800 a 1800 metros.

SUMMARY

This is the first report of *Leishmania mexican amazonensis* causing human disease in Panama. The strain was identified by isoenzyme electroforesis of promastigotes. Parasite identification was based on isoenzyme mobility of G6PD, PGM, GPI, MPI, ME, and 6PGD on cellulose acetate. The isolate of *L. m. amazonensis* migrated significantly different from both the WHO reference strain for *L. m. mexican* and the GML reference strain for *L. m. aristedesi*, but migrated indistinguishably from the WHO reference strain for *L. m. amazonensis*. Parasites cultured from the biopsied lesion were inoculted into the nose of golden hamsters. The rate and degree of development of the nasal lesions was consistent with the *L. mexicana* complex parasites, but different from the pattern associated with *L. braziliensis panamensis*.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean dejar constancia de su gratitud al Dr. Ronald Anthony de la Universidad de Maryland por haber realizado las pruebas de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales desarrollados en su laboratorio. A los Drs. Lloyd Smrkovski y Jorge Arias por sus acertados comentarios en la redacción de éste manuscrito, como también al Dr. Smrkovski por la foto de la lesión.

BIBLIOGRAFIA

1. Herrer A, Thatcher VE, Johnson CM: Natural infections of *Leishmania* and tryponosomes demonstrated by skin culture. J Parasitol 52:954-957, 1966
2. Kreutzer RD, Christensen HA: Characterization of *Leishmania* spp. by isozyme electrophoresis. Am J Trop Med Hyg 29 (2):199-208, 1980
3. Herrer A, Telford SR, Christensen HA: Enzootic cutaneous leishmaniasis in eastern Panama: I. Investigation of the infection among forest mammals. Ann Trop Med Parasit 65(3):349-358, 1971
4. Christensen HA, Fairchild GB, Herrer A, Johnson C, Young DC, Vasquez AM de: The Ecology of cutaneous Leishmaniasis in the Republic of Panama. J Med Entomol. 20 (5):463-484, 1983
5. Kreutzer RD, Semko ME, Hendricks LD, Wright N: Identification of *Leishmania* ssp. by multiple isoenzyme analysis. Am J Trop Med Hyg 32(4):703-715, 1983

6. Ridley DS: A histological classification of cutaneous leishmaniasis and its geographical expression. Trans R Soc Trop Med Hyg 74(4):515-521, 1980

7. Fairchild GB, Theodor O: On *Lutzomyia flaviscutellata* (Mangabeira) and *L. olmeca* (Vargas and Diaz-Najera) (Diptera: Psychodidae). J Med Ent 8(2):153-159, 1971

8. Scorza JV, Valera M, Scorza C de, Carnevali M, Moreno E. Lugo-Hernandez A: A new species of *Leishmania* parasite from the Venezuelan Andes Region. Trans R Soc Trop Med Hyg 73(3):293-298, 1979

9. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry: **Enzyme Nomenclature** (1978), New York, Academic Press, 1979, pp 606