

3: LA LV Y EL DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

3.1 ¿Cómo se efectúa la microscopía para el diagnóstico parasitológico?

Los frotis de aspirados o de biopsias (véase la sección 2) que llegan procedentes de los centros de salud pública o de los médicos de familia deben todos examinarse, idealmente, el mismo día de llegada. Si deben guardarse de un día a otro, hay que almacenarlos en seco, en envases cerrados, a temperatura ambiente.

Si los frotis de los pacientes se preparan en el laboratorio, deben secarse rápidamente (por ejemplo, frotando con el dedo la parte trasera del portaobjetos para calentar ligeramente el vidrio y hacer evaporar la humedad) e inmediatamente fijarse con metanol (alcohol metílico) absoluto (al 100%) durante un minuto. El metanol debe almacenarse en botellas bien cerradas para prevenir la absorción de agua.

Teñir las extensiones con coloración de Giemsa, como se indica en el apéndice 5.

Examinar los frotis teñidos con coloración de Giemsa utilizando un objetivo de inmersión en aceite (aumento de 100 X). Los amastigotes de *Leishmania* son organismos muy pequeños, redondos u ovalados, de aproximadamente 3 µm x 5 µm, que se encuentran dentro o fuera de células fagocitarias (macrófagos). Cada amastigote contiene un núcleo rojo malva, un pequeño cinetoplasto que se tiñe más intensamente de rojo malva, y un citoplasma celeste. La característica diagnóstica específica que hay que buscar en la LV es la presencia de núcleo y cinetoplasto en estos organismos (dia. 25, 26 & 27).

En aproximadamente el 50% de los pacientes que padecen de inmunosupresión grave, como los individuos coinfectados por el VIH, pueden encontrarse amastigotes de *Leishmania* en extensiones delgadas o frotis espesos de sangre periférica.

La sensibilidad del examen parasitológico puede a menudo aumentarse colocando asépticamente material de aspirado o de biopsia en un medio de cultivo y examinando el medio varios días después. [La preparación e inoculación de medios de cultivos se describe en el apéndice 4.] Tiene la desventaja de que no permite hacer un diagnóstico inmediato. Además, si el personal de laboratorio no es suficientemente competente en la preparación del medio y la inoculación de éste con material de aspirado y de biopsia, los cultivos estarán muy expuestos a la contaminación por bacterias u hongos. Los organismos del género *Leishmania* suelen crecer en el medio de cultivo como promastigotes flagelados que nadan sueltos en el medio, aunque también pueden dividirse y formar grupos de amastigotes (apéndice 4, dia.28).

3.2 ¿Qué signos hematológicos pueden ir asociados a la LV?

En el laboratorio, las pruebas hematológicas útiles para detectar signos de LV son el hematócrito, para determinar el volumen de hematíes, la determinación de la hemoglobina (Hb), el recuento leucocitario (apéndice 5) y la determinación de proteínas totales del suero.

Estas pruebas pueden indicar:

Anemia, especialmente en los casos graves de LV.

Recuento leucocitario reducido (leucopenia), con un valor total de $2,0 \times 10^9/l$.

Aumento de las proteínas totales del suero (dia.29).

Además, puede haber una velocidad de eritrosedimentación (VES) muy alta y un número reducido de plaquetas (trombocitopenia), lo que da lugar a un tiempo de coagulación prolongado.

3.3 ¿Qué pruebas serológicas son útiles para el diagnóstico de LV?

Las pruebas serológicas disponibles son la de formolgelificación (prueba del aldehído) en tubos o en portaobjetos (útil a falta de cualquier otra), la de aglutinación directa (DAT), la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFAT) y la prueba de inmunosorción enzimática (ELISA o dot-ELISA). Estas pruebas se describen detalladamente en los apéndices 6 (formolgelificación), 7 (DAT), 8 (IFAT) y 9 (ELISA) (dia.30, 31, 32 & 33).

Las pruebas de formolgelificación y DAT (si hay una fuente normalizada fiable de antígeno para ésta) pueden realizarse fuera de los laboratorios en los centros de atención primaria de salud. Las pruebas IFAT y ELISA exigen instalaciones de laboratorio y equipo más complejo, aunque se están comenzando a desarrollar pruebas ELISA rápidas o pruebas con tiras reactivas para utilizar en los centros de atención primaria o a domicilio.

3.4 ¿Qué métodos de diagnóstico deben utilizarse para el seguimiento de los pacientes que han sido tratados?

En los pacientes tratados que no muestran mejoría clínica y/o hematológica o que tienen una recaída clínica, deben repetirse las pruebas de diagnóstico parasitológico para determinar la presencia de *Leishmania*. Los pacientes parasitológicamente positivos necesitarán un nuevo tratamiento, posiblemente con un régimen modificado o un medicamento de segunda línea o una combinación de medicamentos (véase la sección 4).

En los pacientes que hayan mostrado una buena mejoría clínica, un resultado positivo en la prueba cutánea de la leishmanina (de Montenegro, apéndice 10, día.34) confirma la curación.

3.5 ¿Qué equipo y servicios mínimos o especiales se necesitan para el diagnóstico de laboratorio?

Para el examen microscópico de frotis coloreados: un microscopio con aumento de 50 X, o con un objetivo de inmersión en aceite con aumento de 100 X, portaobjetos, bandejas para coloración, jeringas (de 10 ó 20 ml), agujas, cloruro de sodio, hidrofosfato disódico, coloración de Giemsa.

En los apéndices (4-10) se describen otros equipos y servicios para las pruebas parasitológicas, serológicas y hematológicas.