



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO PROFESIONAL
ASIGNATURA: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



**CARACTERIZACIÓN DE INFECCIÓN POR *Leishmania* spp. Y SU
DISTRIBUCIÓN GEOESPACIAL EN LA COMUNIDAD LAS TRINCHERAS,
MUNICIPIO NAGUANAGUA, ESTADO CARABOBO,
AÑO 2023**

Autores:

Juan C. Guevara F. C.I.: V-26.719.372

Silvia A. Guevara F. C.I.: V-27.424.494

Soraya E. Hernández E. C.I.: V-26.781.323

Tutor: MSc. Diana Graterol

Co-Tutor: Dra. Elizabeth Ferrer

Asesora metodológica: MSc. Aura Palencia

Naguanagua, Octubre 2.024



ACTA DE EVALUACIÓN

Quienes suscriben, miembros del Jurado designado por la Coordinación de la Asignatura Trabajo de Investigación, para evaluar el trabajo titulado: **“CARACTERIZACIÓN DE INFECCIÓN POR *Leishmania* spp. Y SU DISTRIBUCIÓN GEOESPACIAL EN LA COMUNIDAD LAS TRINCHERAS, MUNICIPIO NAGUANAGUA, ESTADO CARABOBO, AÑO 2023”**, realizado por los estudiantes: **Juan C. Guevara F., Silvia A. Guevara F. y Soraya E. Hernández E.**, titulares de la Cédula de Identidad: V-26.719.372, V-27.424.494 y V-26.781.323, respectivamente y tutorado por las Profesoras: **Diana Graterol y Elizabeth Ferrer**, titulares de la Cédula de Identidad V-14.999.305 y V-7.101.850 respectivamente. Hacemos de su conocimiento que hemos actuado como jurado evaluador del informe escrito, presentación y defensa del citado trabajo. Consideramos que reúne los requisitos de mérito para su **APROBACIÓN**.

En fe de lo cual se levanta esta Acta, en Naguanagua a los 21 días del mes de octubre del año dos mil veinticuatro.



Prof. Aura Palencia
C.I: 11.147.397
Jurado Principal



Prof. Marietta Díaz
C.I: 9.489.298
Jurado Principal



Prof. Oriana Mundaray
C.I: 19.756.404
Jurado Principal



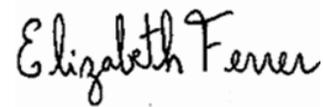
CONSTANCIA DE CERTIFICACIÓN DE LOS TUTORES

Por medio de la presente certificamos que hemos tenido conocimiento y asesoramos el Trabajo de Investigación titulado: **CARACTERIZACIÓN DE INFECCIÓN POR *Leishmania* spp. Y SU DISTRIBUCIÓN GEOESPACIAL EN LA COMUNIDAD LAS TRINCHERAS, MUNICIPIO NAGUANAGUA, ESTADO CARABOBO, AÑO 2023**, desde su inicio hasta su culminación. El mismo fue realizado por: **Juan C. Guevara F. C.I.: V-26.719.372**, **Silvia A. Guevara F. C.I.: V-27.424.494** y **Soraya E. Hernández E. C.I.: V-26.781.323**. Consideramos que el presente estudio, reúne todos los requisitos suficientes para ser sometido a evaluación.



MSc. Diana I. Graterol R.

C.I.: V-14.999.305



Dra. Elizabeth Ferrer J.

C.I.: V-7.101.850

DEDICATORIA

A mis amados padres, Glenda y Juan C gracias por ser parte de la energía que mueve mi corazón y por su apoyo incondicional estos años, gracias por forjar y hacerme el hombre que soy hoy, este logro también es de ustedes.

A mi hermana y mi sobrina, Inés y Aymara, gracias por la luz que le dan a mi vida y por ser mi apoyo en cada paso que doy, gracias por acompañarme y celebrar conmigo cada meta alcanzada.

A mi tía, Sadila, gracias por abrirme las puertas de tu hogar y por darme palabras de aliento en los momentos difíciles, gracias por tanto cariño y por siempre estar, sin ti este logro no significaría lo mismo.

A mi compañero de vida, Eliud, por acompañarme en los momentos buenos y malos estos años, tu apoyo en medio de la distancia y tu presencia ha marcado un antes y un después en mi vida. Que este sea uno de los muchos logros que alcanzaremos juntos. Hasta el final.

Y por supuesto no podría dejar de agradecer a las personas que de alguna u otra manera me acompañan a cumplir este logro, Edgarlis y Orly gracias por su amistad a través de los años, Sara gracias por cobijarme y ser mi familia al principio de este sueño, Marielena y Jesús gracias por su compañía y escucharme en momentos de ansiedad, y a ustedes Camila, Gabriela y José por llenar mis días de alegría y energía.

Esta tesis es un reflejo de todo lo que he aprendido de ustedes y es un homenaje a su amor y compañía. ¡GRACIAS!

Juan C. Guevara F.

DEDICATORIA

Dedico esta Tesis a Dios y a la Virgen Del Valle, por abrir mis puertas a nuevas oportunidades y haberme dado sabiduría y fortaleza; guiándome en el trayecto y bendiciéndome con salud, valentía y resiliencia para alcanzar mis metas como profesional.

A mi madre, Fabiola Fuentes, cuyo amor incondicional y apoyo inigualable han sido los cimientos sobre los cuales he construido mis sueños; su sacrificio diario, su dedicación incansable y su Fe inquebrantable en mis capacidades, han sido faros que me han guiado en cada paso de este arduo camino académico. Esta Tesis es un testimonio de su amor y esfuerzo, y un homenaje a la madre excepcional que ha sido mi mayor inspiración. Gracias por ser mi apoyo incondicional y por enseñarme el valor del esfuerzo y la perseverancia.

A la Escuela de Bioanálisis de la Universidad de Carabobo y a todos mis profesores universitarios que con compromiso y entrega han sido el pilar fundamental de mi formación académica; su profesionalismo y ética al compartir sus conocimientos ha dejado una huella imborrable que me inspira a ser una Bioanalista que esté a la altura de los valores y excelencia profesional que me han inculcado.

A mi novio, Marlon Díaz, por impulsarme en cada momento de dificultad y celebrar conmigo cada logro como propio; gracias por no solo ser mi compañero en esta aventura, sino también por ser mi refugio ante la adversidad y brindarme tu amor incondicional, apoyo y comprensión.

Silvia A. Guevara F.

DEDICATORIA

A Dios, por su bondad infinita y darme la oportunidad de cumplir cada uno de mis propósitos en esta travesía llamada: vida.

A Argenis Hernández, el mejor papá del universo. Nuestro apellido seguirá brillando en la tierra y en el cielo. Gracias por protegerme y haberme acompañado durante mis desvelos. ¿Te acuerdas cuándo me dijiste que tú mayor sueño era que me graduara? Te cuento que este trabajo es mi pase directo a ello. Te amo y te amaré por siempre.

A Zoraida Escobar, mi mayor inspiración y a quién tengo la dicha de llamarla mamá. Gracias por tus enseñanzas, por estar en mis días soleados y lluviosos, por ser mi lugar seguro y mi fuente inagotable de fortaleza y motivación. Te amo.

A Andrea Di Scipio, por ser mi cómplice y hermana de vida. Gracias por alentarme y acompañarme en cada paso y aventura.

A mi familia, quiénes han sido un pilar fundamental en este transitar.

A la Universidad de Carabobo y a la Escuela de Bioanálisis, lugares que no solo aprendí sobre el Bioanálisis, sino también fueron mi trampolín para poder explorar otras facetas de mi vida y coincidir con personas que han iluminado mi camino.

A la Soraya Hernández del 2016, por creer en sus sueños y su perseverancia desde el día que decidió convertirse en Licenciada en Bioanálisis.

Con amor, Soraya Elena Hernández Escobar.

AGRADECIMIENTOS

Dedicamos este trabajo a Dios, por darnos voluntad, sabiduría, paciencia y perseverancia para culminar una de las metas más anheladas en nuestras vidas.

A nuestros padres por apoyarnos de manera incondicional durante todo el proceso.

Al Instituto de Biología Molecular de Parásitos (Instituto BioMolP) por ser el espacio que permitió el desarrollo de nuevos conocimientos y este trabajo investigativo.

A la MSc. Diana Graterol por su entrega incondicional y por su invaluable apoyo, motivación, guía, paciencia y enseñanza constante, pues ha sido fundamental en el desarrollo de esta investigación; ya que es un ejemplo de dedicación y compromiso con la academia. Gracias por ser un ejemplo de solidaridad. Su labor no pasa desapercibida y estamos seguros de que su impacto se sentirá por mucho tiempo.

A la Lic. Laura El Masri por su apoyo y dedicación. Su ayuda desinteresada marcó una gran diferencia en el desarrollo de esta investigación.

A la MSc. Mónica Sequera porque su profesionalismo es inspirador y estamos agradecidos por el tiempo que ha invertido en ayudarnos.

A la Dra. Elizabeth Ferrer por su invaluable contribución en el desarrollo de esta investigación tanto a nivel material e intelectual.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<u>ÍNDICE DE TABLAS</u>	x
<u>ÍNDICE DE FIGURAS</u>	xi
<u>RESUMEN</u>	xii
<u>ABSTRACT</u>	xiii
<u>INTRODUCCIÓN</u>	1
<u>OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN</u>	5
<u>Objetivo general</u>	5
<u>Objetivos específicos</u>	5
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	6
<u>Diseño y tipo de investigación</u>	6
<u>Población y muestra</u>	6
<u>Consideraciones éticas</u>	6
<u>Procedimiento</u>	8
<u>Análisis de los datos</u>	12
<u>RESULTADOS</u>	13
<u>DISCUSIÓN</u>	26
<u>CONCLUSIONES</u>	31
<u>RECOMENDACIONES</u>	32
<u>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	33
<u>ANEXOS</u>	37

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	DESCRIPCIÓN	PÁG.
1	Distribución de los pacientes asintomáticos por grupo etario, sexo y zonas visitadas de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.	13
2	Distribución de los pacientes sintomáticos por grupo etario, sexo y zonas visitadas de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.	14
3	Características clínicas de los pacientes sintomáticos por zonas visitadas de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.	16
4	Características socio-demográficas y epidemiológicas de los habitantes de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.	21
5	Medida de la concentración y pureza del ADN con los protocolos de extracción evaluados.	23

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	DESCRIPCIÓN	PÁG.
1	Ubicación geográfica del área de estudio en el caserío Las Marías de la comunidad Las Trincheras del municipio Naguanagua en el norte de Venezuela.	8
2	Mapa georreferenciado de las viviendas visitadas de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.	15
3	Tipos de lesiones cutáneas encontradas en los pacientes sintomáticos de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.	18
4	Mapa de calor de zonas de riesgo de infección y distribución espacial de pacientes, con o sin lesiones, por vivienda en la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.	20
5	Electroforesis en gel de agarosa al 2% de los productos de amplificación de ADN de <i>Leishmania</i> en las muestras 1 al 44, teñido con bromuro de etidio (0,5 µg/ml).	24
6	Electroforesis en gel de agarosa al 2% de los productos de amplificación de ADN de <i>Leishmania</i> en las muestras 45 al 90, teñido con bromuro de etidio (0,5 µg/ml).	24



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO PROFESIONAL
ASIGNATURA: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



**CARACTERIZACIÓN DE INFECCIÓN POR *Leishmania* spp. Y SU DISTRIBUCIÓN
GEOESPACIAL EN LA COMUNIDAD LAS TRINCHERAS, MUNICIPIO NAGUANAGUA,
ESTADO CARABOBO, AÑO 2023**

Autores: Juan Guevara, Silvia Guevara y Soraya Hernández

Tutores: MSc. Diana Graterol y Dra. Elizabeth Ferrer

Asesor metodológico: MSc. Aura Palencia

Línea de investigación: Parásitos Protozoarios

Financiamiento: Autofinanciado

Realizado en: Instituto de Biología Molecular de Parásitos (Instituto BioMolP) e Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr. Francisco J. Triana Alonso” (Instituto BIOMED)

RESUMEN

La leishmaniasis es una infección parasitaria tropical antropozoonótica causada por protozoos del género *Leishmania*, transmitida en nuestro país por la picadura de insectos flebótomos hembra del género *Lutzomyia*. La detección e identificación de *Leishmania* en humanos es fundamental para el control y tratamiento adecuado de la leishmaniasis. Este estudio buscó caracterizar la infección por *Leishmania* en pacientes de la comunidad Las Trincheras, municipio Naguanagua, estado Carabobo. Se trató de un estudio de tipo no experimental descriptivo, transversal y de campo. Se aplicó encuesta clínico-epidemiológica junto con toma de muestra de sangre completa en 90 pacientes sintomáticos y asintomáticos de cuatro zonas del caserío Las Marías. La extracción de ADN se realizó con resina Chelex®100 seguido de amplificación mediante PCR múltiple de la región intergénica de miniexón empleando electroforesis en geles de agarosa al 2%. Se elaboró un análisis estadístico y geoespacial con la distribución y frecuencia de pacientes sintomáticos y asintomáticos de las zonas visitadas y variables a nivel epidemiológico. El 82,2% de los pacientes presentaron lesiones sugestivas de leishmaniasis, con mayor prevalencia en mujeres de 30 a 59 años. Las lesiones se presentan en los miembros inferiores, de tipo cicatriz de hasta 3 cm, únicas con prurito como síntoma principal. No se identificaron complejos de *Leishmania*. Las características ecológicas de la zona y la distribución espacial de los pacientes empleando SIG revelan áreas de alto riesgo de infección en El Pozo y Los Filtros, destacando la necesidad de enfocar las intervenciones en estas zonas para controlar la leishmaniasis de manera efectiva.

Palabras clave: Sistemas de Información Geográfica; *Leishmania*; lesiones; (fuente: DeCS, BIREME)



UNIVERSITY OF CARABOBO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
SCHOOL OF BIOANALYSIS
DEPARTMENT OF RESEARCH AND
PROFESSIONAL DEVELOPMENT
SUBJECT: RESEARCH WORK



CHARACTERIZATION OF INFECTION BY *Leishmania* spp. AND ITS GEOSPATIAL DISTRIBUTION IN THE LAS TRINCHERAS COMMUNITY, NAGUANAGUA MUNICIPALITY, CARABOBO STATE, 2023

Authors: Juan Guevara, Silvia Guevara and Soraya Hernández

Tutors: MSc. Diana Graterol and PhD. Elizabeth Ferrer

Methodological assessor: MSc. Aura Palencia

Research line: Protozoan Parasites

Funding: Autofinanced

Carried out in: Institute of Molecular Biology of Parasites (IBioMolP) and Institute for Biomedical Research “Dr. Francisco J. Triana Alonso” (BIOMED)

ABSTRACT

Leishmaniasis is a tropical anthrozoonotic parasitic infection caused by protozoa of the genus *Leishmania*, transmitted in our country by the bite of female sandflies of the genus *Lutzomyia*. Detection and identification of *Leishmania* in humans is crucial for the proper control and treatment of leishmaniasis. This study aimed to characterize the *Leishmania* infection in patients from Las Trincheras community, Naguanagua municipality, Carabobo state. It was a non-experimental, descriptive, cross-sectional, and field study. A clinical-epidemiological survey was applied along with blood sample collection from 90 symptomatic and asymptomatic patients from four zones of the Las Marías village. DNA extraction was performed using Chelex[®]100 resin followed by multiple PCR amplification of the intergenic region of miniexon using 2% agarose gel electrophoresis. A statistical and geospatial analysis was conducted on the distribution and frequency of symptomatic and asymptomatic patients in the visited zones and epidemiological variables. 82.2% of the patients presented lesions suggestive of leishmaniasis, with higher prevalence in women aged 30 to 59. Lesions were found primarily on the lower limbs, cicatrized up to 3 cm in diameter, and pruritus (itching) was the main symptom. No *Leishmania* complexes were identified. The ecological characteristics of the area and the spatial distribution of patients using GIS revealed high-risk infection areas in El Pozo and Los Filtros, highlighting the need to focus interventions in these zones for effective leishmaniasis control.

Key Words: Geographic Information Systems; *Leishmania*; lesions; (source: MeSH, NLM)

INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis es una enfermedad antroponóptica causada por más de 20 especies diferentes de protozoos hemoflagelados del género *Leishmania*. Es transmitida por la picadura de flebotomíneos hembras de la familia Psychodidae, de los géneros *Lutzomyia* y *Phlebotomus*, que actúan como vectores. La enfermedad se mantiene en la naturaleza a través de mamíferos reservorios como los cánidos silvestres y el perro doméstico ^[1]. La prevalencia de la leishmaniasis está estrechamente vinculada a factores ambientales, climatológicos, condiciones inmunológicas del hospedador y, especialmente, a factores sociales como la pobreza; que inciden directamente en la epidemiología de la enfermedad ^[1,2].

En la actualidad, la leishmaniasis es endémica en 88 países alrededor de los cinco continentes, con una prevalencia mundial de 12 millones de personas infectadas y unos 350 millones de personas en riesgo de infección. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la leishmaniasis es una de las diez enfermedades tropicales desatendidas más importantes a nivel global, con 0,9 a 1,6 millones de nuevos casos al año y entre 20.000 a 30.000 defunciones anuales. Esto la convierte en un grave problema de salud pública, afectando principalmente a los continentes de América, África y Asia; y a poblaciones vulnerables, especialmente aquellas que viven en condición de pobreza y en viviendas precarias ^[2].

Para el período 2001-2021, la Organización Panamericana de la Salud ubicó a Venezuela como uno de los países con mayor tasa de infección en América Latina. Los focos endémicos se concentraron en los valles del sistema montañoso de la costa y en las zonas montañosas de Táchira, Mérida, Trujillo, Lara, Aragua y Carabobo, con un reporte de 1.808 casos en 2021 y una tasa de incidencia promedio anual de 8,8 por 100.000 habitantes ^[3].

La infección por *Leishmania* se manifiesta en tres formas clínicas: leishmaniasis cutánea (LC), mucocutánea (LMC) y visceral (LV). La LC es la más común y causa desde pápulas hasta úlceras. LMC afecta boca, nariz y garganta, llegando a coexistir junto a la forma cutánea, mientras que la LV es la más severa, afectando órganos como la médula ósea, hígado y bazo, y puede ser fatal sin tratamiento^[2,3].

La leishmaniasis se clasifica según la región en la que ocurre, dividiéndose en Viejo Mundo (Asia, África, Medio Oriente y Europa) y Nuevo Mundo (América). El género *Leishmania* incluye los subgéneros *Leishmania*, que se desarrolla en el intestino medio del vector y se encuentra en ambos mundos, y *Viannia*, que se multiplica en el intestino distal y está restringido al Nuevo Mundo^[4]. Estos subgéneros comprenden complejos, representados por varias especies con características morfológicas similares, pero que difieren en distribución geográfica, comportamiento biológico e inmunológico. En Venezuela, se conocen siete especies de *Leishmania* que pueden causar la enfermedad en humanos, incluyendo *L. (Leishmania) infantum/chagasi* (causante de LV), *L. (Viannia) braziliensis* (causante de LMC), así como *L. (L.) mexicana* y otras cuatro especies que causan LC^[5].

En la última década, se ha observado un aumento de casos por Leishmaniasis en áreas circundantes a las principales poblaciones urbanas del país. La parasitosis se ha vuelto endémica debido a la proliferación excesiva de flebótomos, resultado de la interrupción de los programas sanitarios de rociamiento sistemático de insecticidas, así como del incremento de la densidad poblacional y la cercanía de las viviendas a zonas silvestres^[6]. En el estado Carabobo, son pocos los estudios que aportan cifras de casos de leishmaniasis en las comunidades, lo que resulta en una deficiente vigilancia epidemiológica, el poco interés a nivel asistencial y por ende el subregistro ya que muchos de los casos no se diagnostican ni se reportan, lo cual sin el manejo terapéutico apropiado puede ser fatal para el paciente.

En el año 2021, un brote de leishmaniasis afectó a los habitantes del caserío Las Marías, ubicado en las coordenadas 10°16'51" de latitud norte y 68°6'19" de longitud oeste, en la comunidad Las Trincheras a 9,8 Km al oeste del municipio Naguanagua, estado Carabobo ^[7,8]. En esta comunidad se presume que existan diversas formas clínicas de la enfermedad, así como también la presencia de diferentes especies de *Leishmania*. Sin embargo, debido al bajo nivel educativo de los residentes y la falta de reportes oficiales, no se ha logrado establecer un control epidemiológico efectivo para desarrollar estrategias más eficientes de prevención y control de la enfermedad, limitándose a tratar solo a los pocos pacientes que acuden a los Servicios de Atención Sanitaria ^[8].

La intervención en la comunidad para la identificación de las lesiones y el diagnóstico que permita la caracterización de las diferentes especies es crucial para abordar eficazmente la leishmaniasis desde una perspectiva de salud pública. Esto contribuye al entendimiento de la epidemiología y la distribución geográfica de la enfermedad en áreas poco estudiadas. Diversos estudios destacan la importancia del diagnóstico en la leishmaniasis: en 2020, Torrellas *et al.*, cuantificaron la infección asintomática por *Leishmania* en seis focos endémicos de LC en el estado Portuguesa, Venezuela, mediante la prueba cutánea de leishmanina (LST) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del espaciador transcrito interno 1 (ITS1), demostrando que la aplicación simultánea de ambas pruebas es vital para la caracterización y tipificación efectiva del parásito ^[9]. En el mismo año, Abdel *et al.*, determinaron las características clínicas, epidemiológicas y el conocimiento sobre la LC en la comunidad Las Trincheras, municipio Naguanagua, estado Carabobo, Venezuela, revelando que los afectados por la parasitosis en dicha zona son principalmente hombres, agricultores, con niveles educativos no superiores a medio diversificado, en situación de pobreza relativa, y con lesiones cutáneas únicas en regiones expuestas del cuerpo ^[10].

En 2022, Mohammad y AbdulKader identificaron un método sensible y específico para el diagnóstico de LC mediante por microscopía, PCR convencional y PCR anidada, demostrando que la PCR anidada es el método más efectivo debido a su alta sensibilidad y especificidad (100% sensible y 100% específica) para la detección y amplificación del genoma del parásito ^[11]. Por otra parte, un estudio de 2022, realizado por Omari *et al.*, en Marruecos, aporta una herramienta importante al utilizar Sistemas de Información Geográfica (SIG) para describir áreas de estudio y crear una base de datos con varios parámetros que relacionan el riesgo de enfermedades parasitarias como la leishmaniasis con la geografía, mediante el software de código abierto *QGIS*. Esto demuestra el valor de los SIG en la representación de parámetros, especialmente para estudios epidemiológicos ^[12].

Por todo lo anterior, surge el interés en conocer la situación actual de leishmaniasis en la comunidad Las Trincheras del municipio Naguanagua estado Carabobo. Esta comunidad se caracteriza por ubicarse en una zona boscosa con densa vegetación, donde la actividad principal es la agricultura. Las condiciones ambientales y climáticas de temperatura, humedad y vientos son favorables para el mantenimiento del ciclo de la enfermedad, siendo las condiciones socio sanitarias y socioeconómicas, la extrema pobreza, las viviendas inadecuadas, la mala alimentación y la falta de educación, los factores que contribuyen a la prevalencia de esta parasitosis, que afecta aproximadamente a 348 personas según censo local.

En este sentido, se busca caracterizar clínicamente a los pacientes con lesiones de leishmaniasis, así como determinar la distribución geográfica de la infección usando SIG, lo que es indicativo de la distribución geoespacial de posibles focos de infección, que permitan agrupar los casos por vivienda y grupo familiar, documentar su distribución y diseñar medidas de control apropiadas para la región.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo general

Caracterizar la infección por *Leishmania* e identificar las especies involucradas mediante marcadores moleculares, en pacientes sintomáticos y asintomáticos de la comunidad Las Trincheras, municipio Naguanagua, estado Carabobo para el año 2023 y la distribución geoespacial de posibles focos de infección.

Objetivos específicos

Caracterizar la población objeto de estudio según el grupo etario, sexo y características clínicas.

Evaluar las condiciones sociodemográficas y epidemiológicas de los habitantes de la comunidad en estudio.

Determinar la presencia de ADN de *Leishmania* spp. de los complejos del género *Leishmania*: *L. (L.) donovani*, *L. (L.) mexicana* y *L. (V.) braziliensis* en muestras de pacientes sintomáticos y asintomáticos de la comunidad de estudio; empleando la PCR múltiple de la región intergénica de miniexón.

Definir la disposición geoespacial de las especies de *Leishmania* circulantes en las muestras de pacientes sintomáticos y asintomáticos de la comunidad Las Trincheras, mediante el *software* de código abierto *QGIS*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y tipo de investigación

Esta investigación fue de tipo descriptivo con diseño no experimental, correlacional y de campo transversal, debido a que se recolectaron los datos directamente en la comunidad de pacientes sintomáticos y asintomáticos sin manipular deliberadamente las variables, en un solo momento y tiempo único ^[13,14].

Población y muestra

La población estuvo conformada por 348 habitantes, según censo aportado por la vocera UBCH para el año 2022, que residen en el caserío Las Marías, ubicado en la comunidad Las Trincheras del municipio Naguanagua, estado Carabobo, Venezuela. La muestra estuvo constituida por 90 personas que conformaban 42 familias, sin discriminación de edad y sexo, cuyos miembros aceptaron participar voluntariamente en la investigación. Se consideró como criterio de inclusión, la presencia de síntomas y/o lesiones sugestivas de leishmaniasis, con o sin tratamiento, así como la participación de personas asintomáticas que convivan con ellos durante el periodo de muestreo, de diciembre de 2023 a marzo de 2024.

Consideraciones éticas

Los objetivos de la investigación fueron comunicados en primer lugar a la vocera de las UBCH caserío Las Marías, quien aprobó inicialmente el desarrollo del estudio en la comunidad. Posteriormente, la información fue extendida a los integrantes de cada grupo familiar con énfasis en el jefe de familia, quien autorizó la participación voluntaria de su núcleo familiar en la investigación, a través de la firma

de un consentimiento informado ^[15] (Anexo A). En el caso de participantes menores de edad se le solicitó una autorización al representante legal (Anexo B).

Todos los protocolos, instrumentos de recolección de datos y el consentimiento informado aplicado a las personas que participaron en la investigación fueron validados por el Comité de Bioética del Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr. Francisco J. Triana Alonso” de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, sede Aragua (Instituto BIOMED). (Anexo C).

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el caserío Las Marías ubicado en la comunidad Las Trincheras, municipio Naguanagua del estado Carabobo. La zona de estudio abarca un área de aproximadamente 273,18 hectáreas, a unos 714 metros sobre el nivel del mar, en las coordenadas 10°16'51" de latitud norte y 68°6'19" de longitud oeste, con una población de 348 habitantes para el año 2022, según datos de la propia comuna.

El área de estudio abarcó las zonas denominadas “Las Tiamas”, “Campo Alegre”, “El Pozo” y “Los Filtros”, seleccionadas por su asociación con recientes casos humanos de leishmaniasis ocurridos en la zona. Corresponde a un ambiente selvático intervenido, con una media de temperatura máxima anual de 28,6°C, una precipitación promedio anual que varía entre 25 y 200 mm y una humedad relativa del 72 a 79%. Para el estudio se seleccionaron 42 viviendas, considerando como criterio de inclusión aquellas donde algún miembro de la familia presente úlceras activas o cicatrices compatibles con leishmaniasis, adquiridas en los últimos dos años y que habiten la vivienda durante el mismo periodo de infección.

Fi
cc
M

la
la.

Procedimiento

Encuesta clínico-epidemiológica de la población

Para conocer las características clínico-epidemiológicas de la población se utilizó un cuestionario tipo encuesta con preguntas abiertas y cerradas (Anexo C) con el objeto de recabar la mayor cantidad de información relevante para el estudio, que incluyó condiciones sociodemográficas (edad, sexo, profesión, grado de instrucción, ocupación, tiempo de residencia, fuente de ingresos, condiciones y tipo de vivienda), epidemiológicas (ubicación de la vivienda, convivencia con animales domésticos, contacto con plagas) así como la presencia de signos y síntomas sugestivos de leishmaniasis, ubicación, tamaño y tipo de lesión, pruebas diagnósticas aplicadas y tratamiento cumplido. La finalidad de las preguntas cuya respuesta fue de naturaleza abierta permitió la comprensión de los datos personales del participante y aquellas cuya respuesta fue de naturaleza cerrada fueron destinadas a la tabulación.

Obtención de las muestras de sangre completa

Una vez llenada la encuesta y firmado el consentimiento informado, se procedió a la obtención de la muestra de sangre completa mediante punción venosa en la cara anterior del antebrazo. Se recolectó 5 mL de sangre, la cual se mantuvo en 2 condiciones: unas gotas (6 mm de diámetro con aproximadamente 50 μ L de sangre) se colocaron en papel de filtro para el protocolo de extracción de ADN con resina de Chelex[®]-100 [16] y el resto se colocó en tubo con EDTA como anticoagulante en reserva de pruebas confirmatorias. Las muestras se guardaron en refrigeración a 4°C y las de papel filtro a temperatura ambiente hasta el momento de su procesamiento; las cuales fueron analizadas en el Instituto de Biología Molecular de Parásitos (Instituto BioMolP).

Georreferenciación de las viviendas

Las viviendas de los participantes en la investigación fueron georreferenciadas en coordenadas de proyección Universal Transversal de Mercator (UTM) utilizando el *software* utilitario *Google Earth* (<https://earth.google.com/web/>) donde se generó una capa vectorial de puntos con la base de datos de los pacientes sintomáticos y las especies de *Leishmania* detectadas, en un archivo con extensión kml, el cual fue transformado en un archivo *shapefile* (extensión .shp) para el análisis espacial utilizando el *software* de código abierto QGIS 3.34.8 LTR (*Quantum GIS Development Team, 2022*) disponible en <https://qgis.org/>. Para la proyección se empleó el sistema de referencia de coordenadas UTM Huso 19 Norte datum WGS 84 (EPSG 32619).

Extracción de ADN con resina de Chelex[®]-100 (BioRad)

Se extrajo el ADN del parásito, a partir de muestras de sangre completa cargada en papel de filtro utilizando el protocolo de Reyes *et al.* ^[16] mediante extracción con resina de Chelex[®]-100. Con la ayuda de una perforadora, se cortó círculos de 6 mm de diámetro del papel de filtro impregnado en sangre, que corresponden aproximadamente a 50 μ L. Los círculos de papel de filtro se colocaron en un microtubo, seguidamente se les añadió 1 mL de agua destilada estéril y se incubaron por 30 min a temperatura ambiente. Vale mencionar que previamente se probaron cuatro protocolos diferentes para llegar a este punto: a) muestra de sangre completa; b) sobrenadante de primera extracción de sangre completa; c) papel de filtro con sangre completa y d) sobrenadante de primera extracción en papel de filtro con sangre completa.

Posteriormente, el ADN de cada tubo se obtuvo mediante centrifugación (Labnet Hermle, Z 233 M-2) a 14000 rpm durante 3 min y se descartó el sobrenadante dejando un volumen de 50 μ L, al cual se le adicionó 200 μ L de la resina de Chelex[®]-100 al 5% y se incubó durante 30 min a 56°C (Lab-Line, 18050A). Seguidamente se agitó en vórtex (Barnstead, M63215) por 10 seg y se incubó a 100°C durante 10 min (Heater LabLine, 2054); se agitó nuevamente por 10 seg, para luego proceder a separar la resina y las proteínas desnaturalizadas, mediante centrifugación por 3 min a 14000 rpm, finalmente se extrajo el sobrenadante que contiene el ADN, se transfirió a un tubo estéril previamente rotulado y se almacenó a -20 °C hasta su uso.

Medida de la concentración y pureza del ADN

La concentración y pureza del ADN extraído de las muestras de papel de filtro con sangre completa se determinó por los métodos descritos por Sambrook y Russell ^[17]. La concentración de ADN se estimó en un espectrofotómetro UV/Visible (Fisher

Scientific, Genesys 10UV), midiendo la absorbancia a 260 nm (A_{260}) utilizando la siguiente fórmula: $[ADN] = A_{260} \text{ nm} \times \text{factor de dilución} \times 50 \mu\text{g/mL}$. El grado de pureza se calculó mediante el índice de absorbancia 260/280 nm, considerando como valores óptimos de pureza el rango entre 1,7- 1,9 ^[18].

Determinación de los complejos de *Leishmania* mediante PCR múltiple de la región intergénica de miniexón

Se siguió el protocolo descrito por Harris *et al.* ^[19], empleando a LU-5A (5'-TTT ATT GGT ATG CGA AAC TTC-3') como cebador directo, cuya secuencia de oligonucleótidos es conservada en todas las especies de *Leishmania*, y varios cebadores reversos: LB-3C (5'-CGT (C/G)CC GAA CCC CGT GTC-3'), LM-3A (5'-GCA CCG CAC CGG (A/G)CC AC-3') y LC-3L (5'-GCC CGC G(C/T)G TCA CCA CCA T-3'), todos complementarios a las secuencias variables. La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 15 μL , con tampón (Tris-HCl 50 mM, pH 9; NaCl 50 mM), MgCl_2 1,5 mM, de cada desoxinucleótido trifosfato (dNTP) 0,1 mM, cebador directo LU-5A 0,3 μM y los cebadores reversos (LB-3C, LM-3A, LC-3L) 0,3 μM , ADN polimerasa 0,5 U y ADN molde 10 ng. Para el control de calidad de la PCR, se incluyó un control negativo correspondiente a la mezcla de reactivos libre de ADN y controles positivos correspondientes a ADN de las cepas de *Leishmania* en cultivo (*L. (V). braziliensis* MHOM/BR/1975/M2903 ^[20], *L. (L). mexicana* MHOM/BZ/1982/BEL21 ^[21] y *L. (L). donovani* MHOM/IN1980/DD8 ^[22]).

Las reacciones de amplificación fueron incubadas en un termociclador automático (Biosystems, Veriti 96-Well Thermal Cycler) utilizando el siguiente programa de amplificación: desnaturalización inicial 95°C x 5 min, seguido de 45 ciclos (desnaturalización 95°C x 45 seg, hibridación 54°C x 60 seg, extensión 72°C x 45 seg) y una extensión final 72°C x 5 min. Los productos de amplificación fueron visualizados en electroforesis en gel de agarosa al 2%, teñido con bromuro de etidio.

La separación del ADN se realizó en una cámara de electroforesis horizontal (Labnet, Gel XL Ultra V-2), con voltaje constante 100 V, utilizando TAE (Tampón Tris Ácido acético 40 mM, EDTA 0,5 M; pH 8,0) como tampón de migración. Las bandas de ADN obtenidas se visualizaron en un equipo de fotodocumentación DigiDoc-It de UVP y se compararon con un marcador de tamaño de 100 pb.

Análisis de los datos

Los resultados obtenidos se analizaron en tablas descriptivas empleando frecuencias absolutas y relativas (%). En el caso de la PCR, las bandas de ADN se visualizaron con luz ultravioleta usando el sistema DigiDoc-It de UVP. El tamaño de las bandas de ADN se estimó por comparación con los marcadores de ADN 100 pb.

Se utilizó el paquete estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) versión 26.0 para *Windows* y el *software* QGIS versión 3.34.8-Prizren para la elaboración de los mapas donde se analizó las variables en formato ráster que se relacionó con la distribución y frecuencia de lesiones sugestivas de leishmaniasis en los pacientes sintomáticos del área de estudio. Se aplicó la prueba Chi cuadrado de Pearson (χ^2) con un nivel de confiabilidad del 95% ($p < 0.05$) para detectar las asociaciones estadísticamente significativas entre las variables a nivel epidemiológico.

RESULTADOS

Se evaluaron 90 participantes que conformaban 42 grupos familiares, con edad promedio de $34,9 \pm 21,8$ años. De ellos, 42 (46,7%) pertenecían al sexo masculino y 48 (53,3%) al femenino. La muestra fue subdividida de acuerdo a los grupos etarios establecidos por la OMS para una mejor comprensión de la data, resultando cinco grupos: niños de 0 a 11 años (18,9%), adolescentes de 12 a 17 años (11,1%), jóvenes de 18 a 29 años (16,7%), adultos de 30 a 59 años (35,6%) y adulto mayor >60 años (17,8%). Los jefes de familia de cada grupo familiar tenían un tiempo de residencia en la localidad de Las Trincheras superior a 10 años (n= 30, 71,4%).

Tabla 1. Distribución de los pacientes asintomáticos por grupo etario, sexo y zonas visitadas de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.

			ZONAS VISITADAS									
			Campo Alegre		El Pozo		Las Tiamas		Los Filtros		Total	
SEXO			n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Masculino	GRUPO ETARIO	0 a 11	-	-	-	-	-	-	1	6,25	1	6,25
		12 a 17	-	-	1	6,25	-	-	-	-	1	6,25
		18 a 29	-	-	-	-	-	-	1	6,25	1	6,25
		30 a 59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		>60	-	-	-	-	1	6,25	2	12,5	3	18,75
	Total	-	-	1	6,25	1	6,25	4	25,0	6	37,5	
Femenino	GRUPO ETARIO	0 a 11	-	-	-	-	1	6,25	-	-	1	6,25
		12 a 17	-	-	2	12,5	-	-	-	-	2	12,5
		18 a 29	-	-	2	12,5	1	6,25	-	-	3	18,75
		30 a 59	-	-	1	6,25	1	6,25	-	-	2	12,5
		>60	-	-	1	6,25	-	-	1	6,25	2	12,5
	Total	-	-	6	37,5	3	18,75	1	6,25	10	62,5	

De los 90 pacientes participantes en el estudio, 74 (82,2%) presentaron lesiones sugestivas de leishmaniasis, mientras que 16 (17,7%) fueron asintomáticos. La Tabla 1 muestra la distribución de los pacientes asintomáticos por grupo etario y sexo según las zonas visitadas. La mayor proporción de la población (62,5%, n=10) es del sexo

femenino y se encuentra principalmente en la zona de El Pozo con 37,5% (n=6), distribuidas equitativamente entre los grupos etarios de 12 a 17 años y de 18 a 29 años con 12,5% (n=2) cada uno, y de 30 a 59 años y mayores de 60 años con 6,25% (n=1). Por su parte, el sexo masculino ocupó el 37,5% (n=6), ubicándose en la zona de Los Filtros, donde predominan con el 25,0% (n=4), principalmente en el grupo etario de mayores de 60 años con 12,5% (n=2) y en los grupos de 0 a 11 años y de 18 a 29 años con 6,25% (n=1). Las Tiamas fue la tercera zona, ocupada en su mayoría por el sexo femenino (18,75%, n=3), distribuidas equitativamente entre los grupos etarios de 0 a 11 años, de 18 a 29 años y de 30 a 59 años con 6,25% (n=1). La zona de Campo Alegre no presentó pacientes asintomáticos.

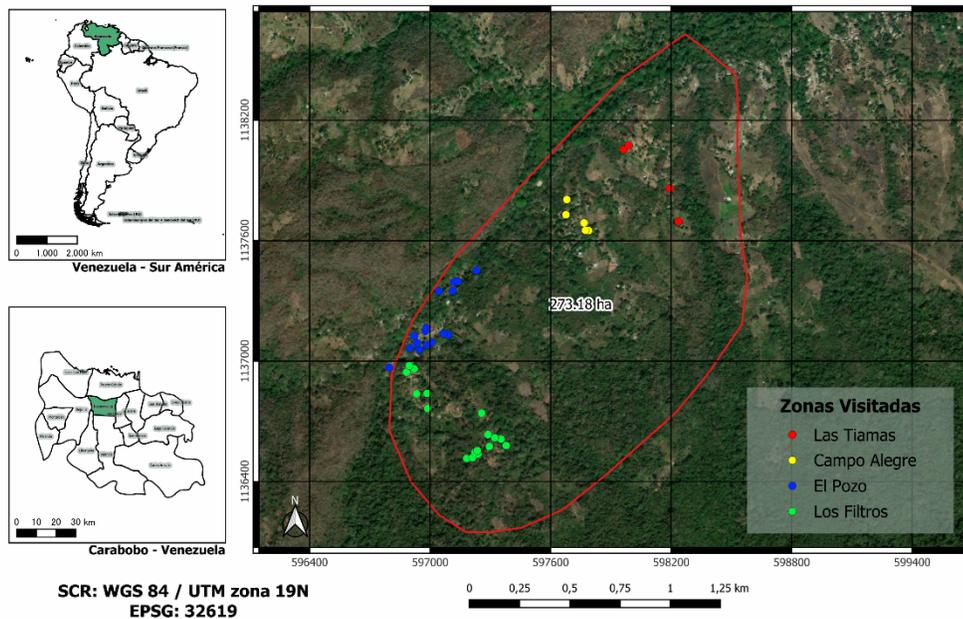
Tabla 2. Distribución de los pacientes sintomáticos por grupo etario, sexo y zonas visitadas de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.

SEXO	GRUPO ETARIO		ZONAS VISITADAS									
			Campo Alegre		El Pozo		Las Tiamas		Los Filtros		Total	
			n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Masculino	GRUPO ETARIO	0 a 11	1	1,35	-	-	2	2,70	5	6,75	8	10,81
		12 a 17	-	-	1	1,35	-	-	4	5,40	5	6,75
		18 a 29	1	1,35	2	2,70	-	-	1	1,35	4	5,40
		30 a 59	-	-	4	5,40	3	4,05	4	5,40	11	14,86
		>60	1	1,35	3	4,05	1	1,35	3	4,05	8	10,81
		Total	3	4,05	10	13,51	6	8,10	17	22,97	36	48,65
Femenino	GRUPO ETARIO	0 a 11	-	-	-	-	2	2,70	5	6,75	7	9,45
		12 a 17	-	-	1	1,35	-	-	1	1,35	2	2,70
		18 a 29	-	-	3	4,05	-	-	4	5,40	7	9,45
		30 a 59	2	2,70	8	10,80	-	-	9	12,16	19	25,67
		>60	-	-	2	2,70	-	-	1	1,35	3	4,05
		Total	2	2,70	14	18,90	2	2,70	20	27,02	38	51,35

La Tabla 2 muestra la distribución de los pacientes sintomáticos por grupo etario y sexo según las zonas visitadas. La mayor proporción de la población es del sexo femenino (51,35%, n=38), ubicándose principalmente en Los Filtros (27,02%, n=20), especialmente en el grupo etario de 30 a 59 años (12,16%, n=9). El Pozo le sigue con un 18,90% (n=14), también predominando en el mismo grupo etario

(10,80%, n=8). El sexo masculino representó el 48,65% (n=36), ubicándose en Los Filtros (22,97%, n=17), en su mayoría en el grupo etario de 0 a 11 años (6,75%, n=5). El Pozo ocupa el segundo lugar con un 13,51% (n=10), con mayor distribución en el grupo etario de 30 a 59 años (5,40%, n=4). Las Tiamas es la tercera zona con 8,10% (n=6), en su mayoría masculina, con mayor presencia en el grupo de 30 a 59 años (4,05%, n=3). Campo Alegre es la última zona, con un 4,05% (n=3), distribuido equitativamente entre los grupos etarios de 0 a 11 años, 18 a 29 años y mayores de 60 años (1,35%, n=1).

Figura 2. Mapa georreferenciado de las viviendas visitadas de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023. Mapa creado utilizando el *software* QGIS.



La ubicación georreferenciada de las viviendas de los grupos familiares participantes en cada zona visitada de la comunidad Las Trincheras se muestra en la Figura 2. De las 42 viviendas visitadas, 17 se encuentran en la zona de Los Filtros, 16 en El Pozo, 5 en Campo Alegre y 4 en Las Tiamas.

Tabla 3. Características clínicas de los pacientes sintomáticos por zonas visitadas de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.

	ZONAS VISITADAS				(n= 74)		p valor*
	CA	EP	LT	LF	n	%	
Localización de las lesiones							
Miembros superiores	2	6	3	11	22	29,7	0,682
Miembros inferiores	3	15	4	24	46	62,2	
Abdomen	-	1	1	4	6	8,1	
Cuello	-	1	-	2	3	4,1	
Cabeza	-	-	-	2	2	2,7	
Tórax	-	2	-	-	2	2,7	
Número de lesiones							
Únicas	5	18	7	30	60	81,1	0,895
Múltiple	-	6	1	7	14	18,9	
Tipo de lesión							
Úlceras	1	-	-	4	5	6,8	0,355
Cicatrices	4	23	8	33	68	91,9	
Desconocida	-	1	-	-	1	1,4	
Tamaño de la lesión							
Hasta 3 cm	4	19	7	25	55	74,3	0,574
Mayor de 3 cm	1	5	1	12	19	25,7	
Tratamiento							
Cumplido	4	17	6	35	62	83,8	0,074
No cumplido	-	4	2	2	8	10,8	
No registrado	1	3	-	-	4	5,4	

*valor de la significancia para la prueba χ^2 de Pearson ($p < 0.05$); CA= Campo Alegre; EP= El Pozo; LT= Las Tiamas; LF= Los Filtros

La Tabla 3 presenta las características clínicas de los pacientes sintomáticos según las zonas visitadas. Se observa que la mayoría de las lesiones se encuentran localizadas en los miembros inferiores, con un 62,2% (n=46), siendo predominante en la zona de Los Filtros (n=24), seguidas por las lesiones en los miembros superiores con un 29,7% (n=22), de las cuales (n=11) están igualmente ubicadas en la zona de Los Filtros. Por su parte, las lesiones en abdomen (8,1%, n=6), cuello (4,1%, n=3), cabeza (2,7%, n=2) y tórax (2,7%, n=2) fueron las menos frecuentes.

Por otra parte, las lesiones cutáneas de localización única representan el 81,1% (60/74) de los casos, con mayor proporción en la zona de Los Filtros (n=30) y en



Figura 3. Tipos de lesiones cutáneas encontradas en los pacientes sintomáticos de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.

En la Figura 3 se muestran los tipos de lesiones cutáneas encontradas en los pacientes sintomáticos, la mayoría con diagnóstico de leishmaniasis cutánea localizada (LCL). La foto A muestra la lesión de una paciente de 58 años, domiciliada en el sector Los Filtros, con diagnóstico probable de LCL. Esta lesión, que apareció en 2023, se caracteriza por úlcera única ovalada de bordes eritematosos, de más de 3 cm, ubicada en el brazo dorsal derecho (Figura 3, foto A). Por otro lado, en la foto B, se observa la lesión de una paciente de 21 años, domiciliada en el sector Los Filtros, con igual diagnóstico probable de LCL desde 2021. Esta úlcera única, de 4 cm x 1,5 cm, tiene bordes eritematosos infiltrados y fondo fibrinoso, situada en la tibia frontal izquierda (Figura 3, foto B). En la foto C, se identifica la lesión de una paciente de 34 años, domiciliada en el sector Campo Alegre, con diagnóstico probable de LCL, aparecida en 2023. Esta úlcera única presenta bordes irregulares y está cubierta por una costra de aspecto granuloso en el brazo derecho (Figura 3, foto C).

En la foto D, se muestra la lesión de un paciente de 63 años, domiciliado en el sector Los Filtros, con diagnóstico probable de LCL. Esta lesión, aparecida en 2021, se caracteriza por una úlcera única redondeada de bordes irregulares e indurados, con fondo eritematoso de 2,3 x 2,5 cm, ubicada en el brazo dorsal derecho (Figura 3, foto D). Mientras que en la foto E, se identifica la lesión de una paciente de 26 años, también domiciliada en el sector Los Filtros, con diagnóstico probable de leishmaniasis cutánea difusa desde el 2020. Esta lesión se caracteriza por nódulos eritematosos, múltiples úlceras mayores a 3 cm, con bordes enrollados y placas de aspecto cicatrizal ubicadas en la tibia dorsal derecha (Figura 3, foto E). Finalmente, en la foto F, se muestra la lesión de un paciente de 58 años, domiciliado en el sector Las Tiamas, con diagnóstico probable de LCL, aparecida en 2023. Esta cicatriz tiene un aspecto aplanado de 2 cm × 2 cm, ubicada en la tibia dorsal izquierda (Figura 3, foto F).

Figura 4. Mapa de calor de zonas de riesgo de infección y distribución espacial de pacientes, con o sin lesiones, por vivienda en la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023. **A**= disposición espacial de los pacientes asintomáticos por vivienda en el área de estudio; **B**= disposición espacial de los pacientes con lesiones ulcerosas por vivienda en el área de estudio y **C**= disposición espacial de los pacientes con lesiones cicatrizales por vivienda, en la zona de muy alto riesgo del área de estudio. Mapa creado utilizando el *software* QGIS.

La Figura 4 muestra las zonas de riesgo de infección y la distribución espacial de pacientes con o sin lesiones por vivienda. En el mapa A, se observa la distribución de los pacientes asintomáticos, predominando grupos familiares con 1 a 3 pacientes (n=8/42). El mapa B ilustra las zonas de riesgo de infección con un mapa de calor, observándose cinco zonas de riesgo en un área de 273,18 hectáreas (2,73 km²). La mayor concentración de pacientes con lesiones ulcerosas por vivienda se localiza en la zona de Los Filtros (n=5/42), lo cual coincide con lo reportado. Finalmente, el mapa C resalta la zona de muy alto riesgo de infección, evidenciando una disposición espacial agregada de pacientes con lesiones cicatrizales por vivienda, en un área de 76,49 ha (764,9 m²), lo que representa el 27,99% del área total de las zonas visitadas.

Tabla 4. Características socio-demográficas y epidemiológicas de los habitantes de la comunidad Las Trincheras, estado Carabobo, año 2023.

CARACTERÍSTICAS		(n= 42)	
		n	%
Condición de la vivienda			
Paredes	Bloques/Ladrillos	32	76,2
	Otros	10	23,8
Techos	Concreto	5	11,9
	Asbesto	2	4,8
	Cartón	1	2,4
	Zinc/Acerolit	29	69,0
	Madera	5	11,9
Pisos	Cerámica	4	9,5
	Cemento	31	73,8
	Tierra	7	16,7
Pacios	Cerámica	1	2,4
	Cemento	9	21,4
	Tierra	32	76,2
Estrato socioeconómico			
	Estrato III (baja calidad de vida)	1	2,4
	Estrato IV (pobreza relativa)	18	42,9
	Estrato V (pobreza crítica)	23	54,8
Vivienda cercana a			
	Basureros	10	23,8
	Mataderos	1	2,4
	Canales de aguas negras	2	4,8
	Vegetación alta arbórea-arbustiva	26	61,9
	Vegetación baja agropastoril	31	73,8
	Suelo desnudo	38	90,5
Vectores y reservorios parasitarios			
	Convive con animales	37	88,1
	Presencia de perros en casa	27	64,3
	Contacto con <i>Lutzomyia</i>	42	100,0
	Uso de mosquitero	6	14,3
	Práctica la fumigación	1	2,4
Síntomas			
	Sin síntomas	16	17,8
	Lesiones en piel ulcerada	14	18,9
	Dolor en lesión	18	24,3
	Descamación	6	8,1
	Costras serohemáticas	9	12,2
	Prurito (comezón)	22	29,7
	Fiebre	4	5,4
	Malestar general	5	6,8
	Inflamación e induración local en piel	14	18,9
	Pérdida de peso	3	4,1
	Anorexia (pérdida de apetito)	3	4,1
	Lesiones en piel circunscritas y no ulceradas	6	8,1

La Tabla 4 muestra las características sociodemográficas y epidemiológicas de los habitantes de la comunidad Las Trincheras, que contribuyen en la transmisión de leishmaniasis. Para ello, se aplicó una encuesta domiciliaria a los jefes de familia de los 42 grupos familiares participantes. Se observó que la mayoría de los habitantes residen en viviendas con condiciones similares: paredes de bloques/ladrillos (76,2%), techos de zinc/acerolit (69,0%), pisos de cemento (73,8%) y patios de tierra (76,2%). En relación al estrato socioeconómico, la mayoría pertenece a los estratos V de pobreza crítica (54,8%; n=23) y IV de pobreza relativa (42,9%; n=18) determinados según el método Graffar modificado por Méndez Castellano.

Respecto a la ubicación de las viviendas y su cercanía a factores de riesgo epidemiológicos, se infirió que la mayoría poseen suelos desnudos (90,5%), están próximas a vegetación baja agropastoril (73,8%) y vegetación alta arbórea-arbustiva (61,9%), y están ubicadas cerca de basureros (23,8%). En cuanto a la convivencia con reservorios y vectores, se evidenció que el 100% (n=42) ha tenido contacto con el vector *Lutzomyia*, mientras que el 88,1% convive con animales y el 64,3% principalmente con el reservorio (perro). Solo el 14,3% de los grupos familiares utiliza mosquiteros como método de profilaxis.

Con respecto a las manifestaciones clínicas en los 90 participantes, se evidenció que el síntoma predominante fue prurito (29,7%; n=22), seguido de dolor en la lesión (24,3%; n=18), lesiones en la piel ulceradas y con inflamación e induración local en piel (18,9%; n=14) respectivamente. Solo el 17,8% (n=16) no presentó síntomas.

Además del análisis de las características epidemiológicas, sociodemográficas, de las lesiones y de la distribución geoespacial de la comunidad; se realizó un análisis molecular de las muestras de pacientes sintomáticos y asintomáticos para la caracterización de las especies pertenecientes al complejo *Leishmania* spp.

La Tabla 5 compara cuatro protocolos diferentes utilizados para evaluar la concentración y pureza del ADN extraído, con el objetivo de determinar la metodología que ofrece el mejor rendimiento para el análisis molecular. Estos protocolos se realizaron antes del ensayo de extracción de ADN en las muestras en estudio. Las muestras analizadas fueron: sangre completa (Sangre Completa 1), sobrenadante de primera extracción de sangre completa (Sangre Completa 2), papel de filtro con sangre completa (Papel de Filtro 1) y sobrenadante de primera extracción en papel de filtro con sangre completa (Papel de Filtro 2). Los resultados mostraron un rendimiento similar en términos de concentración y pureza en todos los protocolos, asociado a la estabilidad e integridad de la molécula de ADN.

Tabla 5. Medida de la concentración y pureza del ADN con los protocolos de extracción evaluados.

Muestra de ADN	A₂₆₀ nm	A₂₈₀ nm	[] ng/μL	A_{260/280} nm
Sangre Completa 1	1,105	0,802	552,5	1,378
Sangre Completa 2	1,117	0,973	558,5	1,148
Papel Filtro 1	0,027	0,023	13,5	1,174
Papel Filtro 2	0,021	0,019	10,5	1,105

Las Figuras 5 y 6 muestran los resultados de la amplificación del ADN de *Leishmania* spp. mediante PCR y electroforesis en gel de agarosa al 2%, utilizando muestras 1 a 90. La Figura 5 (geles A, B, C y D) muestra las corridas electroforéticas de las muestras 1 a 44, mientras que la Figura 6 (E, F, G y H) muestra las corridas electroforéticas de las muestras 45 a 90. Lamentablemente, no se observó la amplificación de bandas de la región intergénica del miniexón, al compararlas con un marcador de tamaño de 100 pb. Esta ausencia de bandas características, incluso en los controles, evidencia una limitación de la técnica molecular utilizada y sugiere que los controles podrían haber estado deteriorados. En su lugar, se observaron dímeros de primers, resaltando la necesidad de realizar nuevos estudios moleculares.

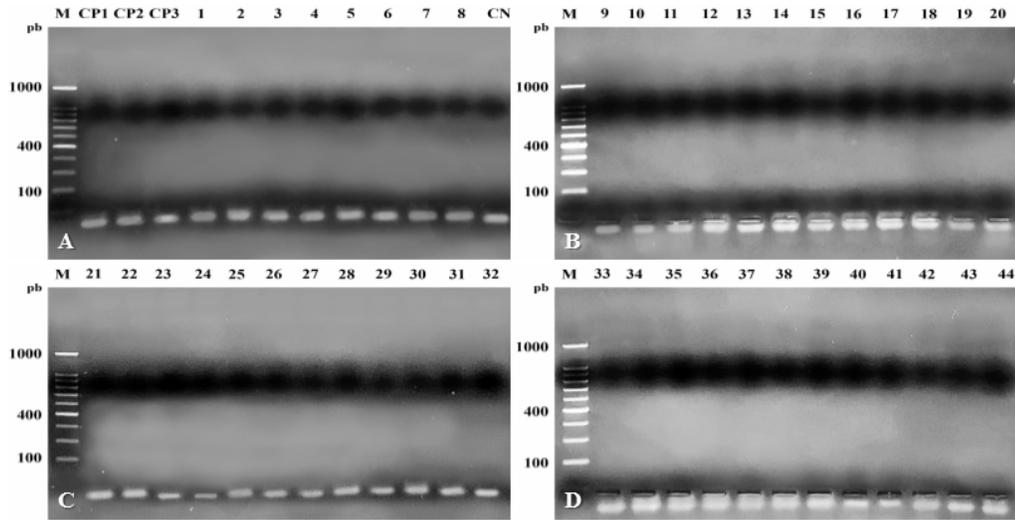


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa al 2% de los productos de amplificación de ADN de *Leishmania* en las muestras 1 al 44, teñido con bromuro de etidio (0,5 $\mu\text{g/ml}$). Se emplearon oligonucleótidos LU-5A, LB-3C, LM-3A y LC-3L de la región intergénica de miniexón de los complejos de *Leishmania*. Marcador de tamaño molecular 100 pb. Canal CP1= control positivo *L. braziliensis* (PH8), CP2= control positivo *L. mexicana* (S66), CP3= control positivo *L. chagasi* (515), 1 al 44= muestras de los pacientes 1 a 44, CN= control negativo.

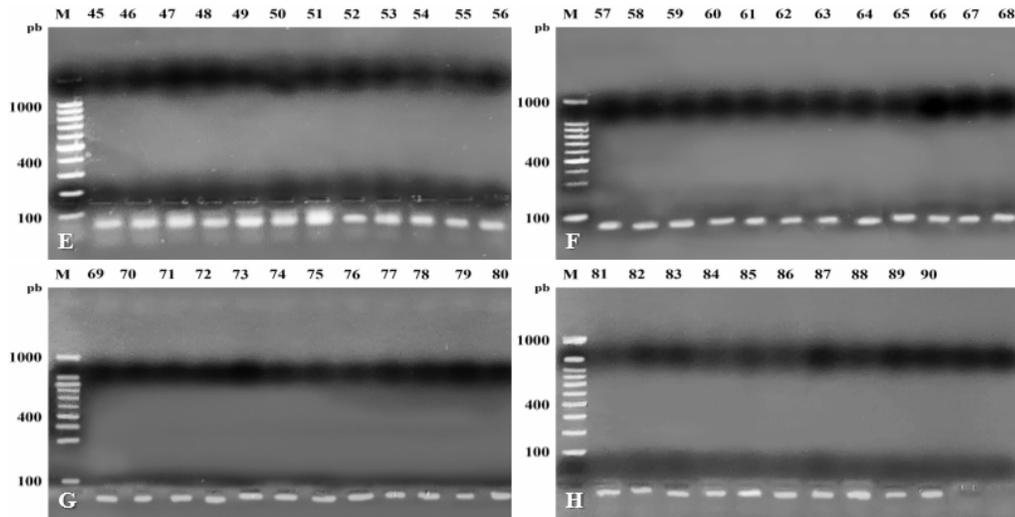


Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa al 2% de los productos de amplificación de ADN de *Leishmania* en las muestras 45 al 90, teñido con bromuro de etidio (0,5 $\mu\text{g/ml}$). Se emplearon oligonucleótidos LU-5A, LB-3C, LM-3A y LC-3L de la región intergénica de miniexón de los complejos de *Leishmania*. M= Marcador de tamaño molecular 100 pb, Canal 45 al 90= muestras de los pacientes 45 a 90.

Para mejorar la fiabilidad de los resultados, se recomienda optimizar las condiciones experimentales de amplificación y utilizar controles de calidad óptima en futuros estudios. Estos ajustes permitirían una mejor separación y visualización de las bandas, incrementando la precisión y validez de los hallazgos.

DISCUSIÓN

Según estimaciones de la OMS, a nivel mundial, se calcula que cada año se presentan entre 700 mil y 1 millón de casos de leishmaniasis, causados por más de 20 especies del género *Leishmania* spp. Las manifestaciones clínicas más frecuentes de la enfermedad incluyen LC, LMC y LV ^[2].

La LC sigue siendo un importante problema de salud pública en muchas regiones del mundo. La información y evaluación de la prevalencia de infecciones sintomáticas y asintomáticas de LCL en áreas endémicas en Venezuela es escasa, a pesar de que esta información es crucial para entender y monitorear la dinámica de transmisión de la enfermedad ^[6]. En zonas rurales como la comunidad Las Trincheras, el mantenimiento del ciclo de la enfermedad puede atribuirse a múltiples factores asociados a las características ecológicas propias de la zona que son propicias para el desarrollo y preservación del vector y reservorio, así como la alta posibilidad de contacto entre parásito y el hospedador susceptible. En el caserío Las Marías, el antecedente epidemiológico del brote ocurrido en el año 2021 es especialmente relevante ^[7].

La evaluación de 90 participantes agrupados en 42 grupos familiares, con un promedio de edad de $34,9 \pm 21,8$ años, proporciona una visión integral de la prevalencia y características clínicas de la leishmaniasis en el caserío Las Marías. Los hallazgos de este estudio se centran en la caracterización y comportamiento epidemiológico de la leishmaniasis, y su relación con las características demográficas de la comunidad durante el año 2023. El estudio revela el desarrollo de la enfermedad en sus diferentes manifestaciones clínicas, de acuerdo a la edad, sexo, lugar de residencia, estrato socio-económico y condiciones epidemiológicas.

En cuanto a la relación entre sexo, grupo etario y la incidencia de la patología, en esta investigación la distribución de los participantes por género muestra un ligero predominio del sexo femenino (51,35%) en comparación con estudios previos realizado por Abdel *et al.*, en el año 2020 ^[10] en la misma comunidad, donde se evidenció que el 53,0% de los pacientes pertenecían al sexo masculino. Este notorio cambio podría estar relacionado con aspectos sociales, culturales y religiosos, así como también el aumento de la población femenina en la zona, en conjunto con el creciente interés de participar en este tipo de investigaciones. No obstante, se constató que el grupo etario predominante continúa siendo el de 30 a 59 años (33,3%), correlacionándose con una mayor exposición al vector, y por ende, la presentación de la enfermedad, con la edad económicamente productiva, lo que concuerda con estudios que sugieren que la actividad laboral aumenta el riesgo de contacto con vectores de leishmaniasis ^[23].

De los 90 participantes del estudio, 46 presentaron lesiones en los miembros inferiores (62,2%), en contraste con investigaciones anteriores ^[10] donde el predominio de las lesiones se encontró en los miembros superiores (40,5%), lo que pudiese estar relacionado con la vegetación baja agropastoril (73,8%) y vegetación alta arbórea-arbustiva (61,9%) que abunda en los alrededores de la vivienda, aumentando el riesgo de exposición a vectores. Sin embargo, ambos estudios coinciden en la prevalencia de lesiones cutáneas únicas (81,1%) sobre las múltiples ^[24]. Vale destacar, que uno de los principales aportes de esta investigación es la descripción de lesiones en los pacientes, sobre todo ulcerosas y cicatrizales. Este hallazgo podría relacionarse con las prácticas de medicina tradicional naturista aplicadas en la comunidad ante la aparición de lesiones ulcerativas. Aunque otro dato significativo es que la mayoría de los individuos conoce y ha sido tratado con antimonio de metilglumina (83,8%), pero optan por el tratamiento sintomático según la aparición de las lesiones. Además, las lesiones menores a 3 cm predominan

en el 74,3% de los pacientes, lo que concuerda con investigaciones que sugieren que la respuesta inmune del hospedador influye en el tamaño de las lesiones ^[25].

Es de interés epidemiológico analizar los factores sociodemográficos asociados a la infección por *Leishmania* en el caserío Las Marías; donde vivir en un área endémica supone un mayor riesgo debido a la exposición a vectores y reservorios. Según investigaciones en 2020, la población se caracterizó por pertenecer al estrato IV (73,0%) y realizar actividades económicas de obrería y agricultura ^[10]. Actualmente, la mayoría de la población pertenece al estrato V (pobreza crítica) en un 54,8%, a pesar de realizar las mismas actividades económicas y mantener las mismas condiciones de vivienda.

En términos generales, el patrón de comportamiento de la infección por *Leishmania* en Venezuela no difiere del observado en otras regiones. Las características propias de piedemonte con bosque húmedo y vegetación frondosa, como vegetación alta arbórea-arbustiva, vegetación baja, agropastoril y suelos desnudos, definen la casuística de la leishmaniasis tegumentaria americana, constituyendo el ecosistema que caracteriza a los brotes epidemiológicos de *Leishmania* spp.

En Venezuela, siete especies de *Leishmania* spp. pueden causar la enfermedad en humanos. La falta de reportes oficiales institucionales sobre los vectores y especies de *Leishmania* presentes en Las Trincheras; resalta la importancia de considerar a los agentes causales de la enfermedad, especialmente porque los caninos, principales reservorios del parásito, coexisten con los hospedadores susceptibles en las viviendas de la comunidad. Surge así la necesidad de implementar diagnósticos precisos para identificar al agente patógeno, como lo describen recientemente López y Rondon ^[26]. La mayoría de las familias estudiadas en el caserío Las Marías comparten su vivienda con cánidos (64,3%) y no utilizan mosquiteros como protección contra insectos. A

pesar de que en la investigación realizada por Leguía y Moscoso ^[27] no se encontró una asociación significativa con el padecimiento de LC, esta situación sigue siendo preocupante. En la misma investigación, los síntomas más comunes entre los pacientes con LC incluyeron: dolor en la lesión (42,0%), prurito localizado (16,5%) y fiebre (2,9%) en contraste con los hallazgos obtenidos en esta investigación, donde el prurito localizado (29,7%) y el dolor en la lesión (24,3%) fueron más prevalente, mientras que la fiebre no mostró significancia estadística.

En comparación con otros autores, nuestros hallazgos coinciden en gran medida con las investigaciones realizadas por López *et al.* (2014) y Ferrer *et al.* (2015) quienes también encontraron una alta prevalencia de leishmaniasis en áreas rurales y una fuerte asociación con factores socioeconómicos y ambientales ^[28,29]. La técnica de extracción de ADN con resina de Chelex[®]-100 utilizada en este estudio mostró ventajas en términos de simplicidad y seguridad respecto a la extracción con solventes orgánicos, correspondiendo con López *et al.* sobre la eficacia de esta metodología en cuanto a sencillez, rapidez, reproducibilidad y seguridad para el investigador. Además, dicha técnica permite el mejor manejo de un gran número de muestras y es más económica, por lo que podría sugerirse su uso como técnica de extracción de rutina en laboratorios que estén orientados al diagnóstico de diversas parasitosis.

Por otra parte, en el estudio de Ferrer *et al.*, se evaluó la sensibilidad de la técnica de PCR a partir de ADN extraído de parásitos en cultivo, utilizando varias concentraciones de ADN molde. Se encontró que la mínima cantidad de ADN capaz de producir amplificación fue de 1 µg a 10 pg. Sin embargo, cuando se utilizó 10 ng de ADN molde para la amplificación, no se detectaron bandas nítidas e íntegras durante la electroforesis para los complejos del género *Leishmania*. A pesar de asumir la coexistencia de diversas especies de *Leishmania* en la comunidad, y al no obtenerse bandas tras la PCR, se confirmó la ausencia de LV en dicha comunidad,

aunque las manifestaciones clínicas indicaron la presencia de LCL ^[29]. El estudio demostró la necesidad de implementar la técnica molecular, pero lamentablemente no funcionó como se esperaba. Es imperativo realizar nuevos controles adicionales. Sin embargo, la disponibilidad de cepas de *Leishmania* en el país es cada vez más limitada, y los laboratorios que manejan cultivos de *Leishmania* también están disminuyendo, lo que complica aún más la obtención de cepas necesarias para hacer controles de calidad. Esta situación resalta la urgencia de fortalecer la infraestructura y los recursos disponibles para la investigación y el control de *Leishmania* en el país, asegurando así resultados más fiables en futuros estudios.

El análisis georreferenciado de las viviendas utilizando el Sistema de Información Geográfica permitió identificar patrones de distribución espacial de la enfermedad, destacando la zona de El Pozo y Los Filtros como las más afectadas. Este enfoque es consistente con estudios previos que utilizan herramientas de mapeo geográfico para entender la dinámica de enfermedades vectoriales y establecer estrategias de control más efectivas.

En resumen, los resultados de esta investigación subrayan la importancia de considerar los factores sociodemográficos, ambientales y de tratamiento en el control de la leishmaniasis. La alta prevalencia de la enfermedad en Las Trincheras, especialmente en grupos vulnerables, destaca la necesidad de intervenciones integradas que aborden tanto la prevención como el tratamiento. Futuros estudios deberían enfocarse en mejorar el acceso a tratamientos y en implementar medidas de control vectorial basadas en evidencia para reducir la carga de la enfermedad en comunidades rurales.

CONCLUSIONES

- ❖ El 82,2% (n=74) de los pacientes presentaron lesiones sugestivas de leishmaniasis, mientras que 17,7% (n=16) fueron asintomáticos, lo que representa una muestra de 25,9% de la población total.
- ❖ En el caserío Las Marías, las lesiones sintomáticas mostraron una mayor prevalencia en mujeres de 30 a 59 años, con predominio en la zona de El Pozo.
- ❖ Las lesiones se presentan con mayor frecuencia en los miembros inferiores, siendo de tipo cicatriz de hasta 3 cm de diámetro, y el prurito (comezón) es el síntoma principal.
- ❖ Los factores de riesgos asociados a la leishmaniasis en Las Marías están vinculados directamente con las características ecológicas de la zona, que son propicias para el desarrollo y preservación del vector.
- ❖ La mayor densidad de pacientes por vivienda con lesiones de tipo cicatriz se ubican en El Pozo, siendo una zona de muy alto riesgo de infección y evidenciándose una disposición espacial agregada que representó 27,99% del área total de las zonas visitadas.
- ❖ Las lesiones de tipo úlcera se agrupan en mayor proporción en la zona de Los Filtros, siendo una zona de alto riesgo de infección y representa el 0,20% del área total visitada.
- ❖ El empleo de SIG permitió relacionar la distribución de los pacientes sintomáticos y asintomáticos en el área total del estudio e identificar las zonas de riesgo epidemiológico, lo que representa un mayor riesgo de foco endémico en la comunidad Las Marías.

RECOMENDACIONES

- ❖ Las dificultades técnicas experimentadas en la amplificación por PCR de la secuencia de miniexón para la caracterización molecular de *Leishmania* spp. se debieron a la calidad de los controles positivos de las especies *L. braziliensis*, *L. mexicana* y *L. chagasi*. Es necesario emplear nuevos controles para la estandarización del protocolo de PCR, mejorando la precisión y fiabilidad del proceso.
- ❖ Para aumentar la sensibilidad en el diagnóstico de LC en el área de estudio, se recomienda realizar la recolección de muestras mediante biopsia cutánea o raspado de lesión para futuras investigaciones. Estas técnicas permiten obtener muestras más ricas en material genético del parásito, lo que facilita la identificación y caracterización molecular de las especies de *Leishmania*.
- ❖ Los hallazgos de esta investigación deben ser utilizados como referencia para el desarrollo de programas de salud epidemiológicos destinados al control endémico de la leishmaniasis. Implementar estos programas en áreas endémicas ayudará a monitorear y reducir la incidencia de la enfermedad, mejorando la calidad de vida de las comunidades afectadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Programa de control de Leishmaniasis: normas, pautas y procedimientos para el diagnóstico y control [Internet]. Caracas: MPPS; 2019 [citado 17 de enero de 2023]. Disponible en: <https://bit.ly/44UBgh8>
2. Organización Mundial de la Salud. Leishmaniasis [Internet]. Washington: OMS, 2023 [citado 8 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://bit.ly/2FWFP2d>
3. Organización Panamericana de la Salud. Sistema de Información Regional de Leishmaniasis en las Américas (SisLeish) [Internet]. Washington: OPS; 2022 [citado 2 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3sUkPUH>
4. Bonfante-Garrido R, Barroeta S. *Leishmaniasis y Leishmaniasis en América con especial referencia a Venezuela*. Primera Edición. Barquisimeto: Tipografía y Litografía Horizonte C.A; 2002.
5. Organización Panamericana de la Salud. Atlas interactivo de leishmaniasis en las Américas: aspectos clínicos y diagnósticos diferenciales [Internet]. Washington: OPS; 2020 [citado 12 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3WPL20S>
6. OPS/OMS. Manual de diagnóstico y tratamiento de las leishmaniasis [Internet]. Washington: OPS/OMS; 2018 [citado 23 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://bit.ly/45g6orr>
7. Sánchez R. Carabobo. Habitantes de Las Marías en Naguanagua preocupados por brote de leishmaniasis [Internet]. Venezuela: puntodecorte.net; 2021 [citado 16 de enero de 2023]. Disponible en: <https://bit.ly/3Q2zuGy>
8. Gelvez. Guías de Venezuela: Las Marías, municipio Naguanagua estado Carabobo [Internet]. Venezuela: gelvez.com.ve; 2022 [citado 19 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://bit.ly/3MDEr4w>

9. Torrellas A, Ferrer E, Cruz I, De Lima H, Borges R, Delgado O, *et al.* Surveillance for *Leishmania* asymptomatic infection in endemic foci of cutaneous leishmaniasis in Venezuela: a combination of leishmanin skin test and PCR using blood clots improves detection and enables identification of species. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2020; 114(6): 433-9.
10. Abdel K, Hernández D, Hidalgo O, Hidalgo S, Hung F, Lorenzo C, *et al.* Características clínicas-epidemiológicas y conocimiento sobre la leishmaniosis tegumentaria americana en una población de Carabobo. Venezuela. *Rev Peru Investig Salud.* 2020; 4(1): 09-16.
11. Mohammad H, AbdulKader S. Highly sensitive nested polymerase chain reaction to improve the detection of *Leishmania* species in clinical specimens. *J Parasit Dis.* 2022; 46(3): 754-63.
12. El Omari H, Chahlaoui A, Talbi F, Taam A, El Ouali A. Mapping of the study area with GIS a tool for the description of study sites in Epidemiology. In: *The Proceedings of the International Conference on Smart City Applications.* USA: Springer International Publishing; 2022.
13. Martínez M, Briones R, Cortés J. Metodología de la Investigación para el área de la Salud. 2^{da} Edición. México: McGraw Hill Interamericana; 2013.
14. Arias FG. El Proyecto de Investigación. Introducción a la metodología científica. 6^{ta} Edición. Venezuela: Editorial Episteme; 2012.
15. Arroyo Castro L. El consentimiento informado en la investigación científica. Marco jurídico. *Rev Jur Seg Soc.* 2004; 13: 83-96.
16. Reyes J, Viettri M, Rivas A, Lares M, Herrera L, Aguilar CM, *et al.* Estandarización de la técnica de PCR para la detección de ADN de *Leishmania* sp. en muestras de sangre de caninos. *Rev Fac Cs Vets.* 2015; 56(2): 67-74.
17. Sambrook J, Russel D. *Molecular cloning: a laboratory manual.* 3^{ra} Edición. USA: Cold Spring Harbor; 2001.

18. Luque J, Herráez Á. Texto ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética: Concepto, técnicas y aplicaciones en Ciencias de la Salud. España: Harcourt S.A.; 2001.
19. Harris E, Kropp G, Belli A, Rodriguez B, Agabian N. (1998). Single-step multiplex PCR assay for characterization of New World *Leishmania* complexes. J Clin Microbiol. 1998; 36(7): 1989-95.
20. Da Silva L, De Sousa S, Da Graça G, Porrozzi R, Cupolillo E. Sequence analysis and PCR-RFLP profiling of the hsp70 gene as a valuable tool for identifying *Leishmania* species associated with human leishmaniasis in Brazil. Infect Genet Evol. 2010; 10(1): 77-83.
21. Castilho T, Shaw J, Floeter-Winter L. New PCR assay using glucose-6-phosphate dehydrogenase for identification of *Leishmania* species. J Clin Microbiol. 2003; 41(2): 540-6.
22. Zemanova E, Jirkú M, Mauricio I, Horák A, Miles M, Lukes J. The *Leishmania donovani* complex: Genotypes of five metabolic enzymes (ICD, ME, MPI, G6PDH, and FH), new targets for multilocus sequence typing. Int J Parasitol. 2007; 37(2): 149-60.
23. Salomón OD. Vectores de Leishmaniasis en las Américas. Gaz Méd Bahia. 2009; 79 (Supl.3): 3-15.
24. Serrano-Coll H, Ramos AP, Cardona-Castro N, Llanos-Cuentas A. Leishmaniasis cutánea: una mirada a la clínica, diagnóstico y tratamiento de esta enigmática enfermedad. Piel. 2021; 36(5): 317-24.
25. Ríos JM, Sousa O. Inmunología en la infección por *Leishmania*: conceptos actuales. Rev Méd Cient. 2011; 23(1): 19-31.
26. Lopez-Medina NK, Rondon-Barragan IS. Identificación de *Leishmania spp* en caninos de tres departamentos del centro de Colombia y su correlación clínica. Rev Inv Vet Perú. 2024; 35(4): e26389.
27. Leguia M, Moscoso K. Factores sociodemográficos asociados a Leishmaniasis cutánea, en pacientes atendidos en el centro de salud de

- Pilcopata 2020-2023. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2024. [Tesis para optar al título de Licenciado en Enfermería]. Perú: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2024.
28. López M, Viettri M, Ferrer E, Herrera L. Comparación de dos protocolos de extracción de ADN de *Trypanosoma cruzi* cultivados en medio axénico. Rev Fac Cienc Vet. 2014; 56(2): 222-227.
29. Ferrer E, Reyes J, Viettri M, Rivas A, Lares M, Herrera L, *et al.* Estandarización de la técnica de PCR para la detección de ADN de *Leishmania* sp. en muestras de sangre de caninos. Rev Fac Cienc Vet. 2015; 56(2): 72-79.

ANEXOS

ANEXO A: Consentimiento informado para participante mayor de edad (+18 años)



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS-SEDE CARABOBO
INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR DE PARÁSITOS



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS “DR. FRANCISCO J. TRIANA ALONSO”

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Entre el Instituto de Biología Molecular de Parásitos (Instituto BioMolP) y el Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr. Francisco J. Triana Alonso” (Instituto BIOMED) se lleva a cabo la investigación titulada: **“Caracterización molecular de infección por *Leishmania* spp. y su distribución geoespacial en la comunidad Las Trincheras, municipio Naguanagua, estado Carabobo, año 2023”**.

Dirigido a todo el grupo familiar del caserío Las Marías, comunidad Las Trincheras del municipio Naguanagua estado Carabobo para el diagnóstico de leishmaniasis, que es una enfermedad producida por un parásito que lo transmite un mosquito y que pueden tenerlo los animales domésticos.

Yo, _____, portador(a) de la C.I. N° _____, manifiesto que he sido informado(a) del propósito de esta investigación, que he hecho las preguntas que me surgieron y he recibido información suficiente sobre el mismo. Estoy de acuerdo en participar en el estudio, donando de manera voluntaria a los Institutos, una muestra de 5 mL de sangre venosa, para que realicen los estudios de diagnóstico en los laboratorios de la Universidad y se confirme que se trata de infección por *Leishmania*, por lo que autorizo la extracción, manejo y procesamiento de mi muestra. Los investigadores responsables se han comprometido a darme información oportuna sobre cualquier inquietud relacionada con la investigación y aclarar cualquier procedimiento del mismo. Me garantizan confidencialidad y que los resultados de las pruebas me serán entregados oportunamente. Entiendo que conservo el derecho a retirarme del estudio, en cualquier momento que desee.

Firma del Participante

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR:

Luego de haber explicado detalladamente al participante la naturaleza del protocolo mencionado. Certifico mediante la presente que, a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médica, de idioma o de instrucción han impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Nombre del Investigador: _____

C.I.: _____

Lugar: _____

Firma del Investigador: _____

Fecha: _____

ANEXO B: Consentimiento informado para participante menor de edad



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS-SEDE CARABOBO
INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR DE PARÁSITOS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS “DR. FRANCISCO J. TRIANA ALONSO”**

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Entre el Instituto de Biología Molecular de Parásitos (Instituto BioMolP) y el Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr. Francisco J. Triana Alonso” (Instituto BIOMED) se lleva a cabo la investigación titulada: **“Caracterización molecular de infección por *Leishmania* spp. y su distribución geoespacial en la comunidad Las Trincheras, municipio Naguanagua, estado Carabobo, año 2023”**.

Dirigido a todo el grupo familiar del caserío Las Marías, comunidad Las Trincheras del municipio Naguanagua estado Carabobo para el diagnóstico de leishmaniasis, que es una enfermedad producida por un parásito que lo transmite un mosquito y que pueden tenerlo los animales domésticos.

Yo, _____, portador(a) de la C.I. N° _____, representante del niño/a: _____, de _____ años de edad, manifiesto que he sido informado(a) del propósito de esta investigación, que he hecho las preguntas que me surgieron y he recibido información suficiente sobre el mismo. Así mismo, doy mi consentimiento y autorización para que mi representado participe en el estudio, donando de manera voluntaria a los Institutos, una muestra de 5 mL de sangre venosa, para que realicen los estudios de diagnóstico en los laboratorios de la Universidad y se confirme que se trata de infección por *Leishmania*. Los investigadores responsables se han comprometido a darme información oportuna sobre cualquier inquietud relacionada con la investigación y aclarar cualquier procedimiento del mismo. Me garantizan confidencialidad y que los resultados de las pruebas me serán entregados oportunamente. Entiendo que conservo el derecho de retirar la participación de mi representado en el estudio, en cualquier momento que desee.

Firma del Representante

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR:

Luego de haber explicado detalladamente al participante la naturaleza del protocolo mencionado. Certifico mediante la presente que, a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médica, de idioma o de instrucción han impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Nombre del Investigador: _____

C.I.: _____

Lugar: _____

Firma del Investigador: _____

Fecha: _____



C: Encuesta clínico-epidemiológica para descripción de la población



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS-SEDE CARABOBO
INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR DE PARÁSITOS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS “DR. FRANCISCO J. TRIANA ALONSO”

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Proyecto de Investigación: “Caracterización molecular de infección por *Leishmania* spp. y su distribución geoespacial en la comunidad Las Trincheras, municipio Naguanagua, estado Carabobo, año 2023”.

La presente encuesta tiene como objetivo determinar las condiciones sociodemográficas y epidemiológicas del grupo familiar incluyendo evaluación clínica de lesiones en los participantes en el estudio. Se realiza con fines investigativos.

Encuesta N° _____ Encuestador: _____ Fecha: ____ / ____ / 2023

Encuestado: _____ C.I.: _____ ¿Es el jefe de familia? Si ____ No ____

Localización: N° Vivienda: _____ Latitud: _____ Longitud: _____ SRC: _____

I. Datos Personales:

Género: M F Edad: _____ Fecha de Nacimiento: ____ / ____ / ____ Lugar de Nacimiento: _____

Raza: Blanca ____ Negra ____ Mestiza ____ Amarilla ____

Estado Civil: Soltero ____ Casado ____ Divorciado ____ Viudo ____ Concubinato ____

Dirección de Habitación: _____

Teléfono de Habitación: _____ Celular: _____

Grupo familiar: N° de personas _____ N° de Niños _____ N° de Adultos _____

N°	Miembros del grupo familiar	Sexo	Edad

II. Datos Sociodemográficos:

Tiempo de residencia en su dirección actual: <1 año ____ 1-3 años ____ 4-10 años ____ >10 años ____

Residencia: Propia ____ Alquilada ____ Familiar ____ Prestada ____ Invadida ____

Trabajo u Ocupación actual: Desempleado _____ Agricultor _____ Del Hogar _____ Obrero _____
Comerciante _____ Empleado _____ Funcionario _____ Estudiante _____ Otros _____

Lugar de Trabajo: _____ Duración: _____ horas

Estratificación Socioeconómica:

Profesión del jefe de familia: Universitario: _____ Técnico Superior: _____ Empleado: _____ Obrero especializado: _____
Obrero no especializado: _____ Otros: _____

Grado de Instrucción: Universitario: _____ Técnico Superior: _____ Bachiller: _____ III Etapa (7-9°): _____ II Etapa (4-6°): _____ I Etapa (1-3°): _____ Preescolar: _____ Analfabeta: _____ Otro: _____

Fuente principal de ingresos:

Herencia: _____ Ganancias/Honorarios: _____ Sueldo mensual: _____ Salario semanal: _____ A destajo: _____
Donaciones/Becas: _____ Ingreso mensual familiar: _____
Bs/\$

III. Características de la Vivienda:

Condición de la Vivienda:

Tipo de Vivienda: Casa _____ Apartamento _____ Rancho _____ Otro _____

Condición física de la vivienda: Construida _____ En construcción _____

Paredes: Bloques/Ladrillos _____ Madera _____ Cartón _____ Metal _____ Otros _____

Techos: Concreto _____ Madera _____ Asbesto _____ Cartón _____ Zinc/Acerolit _____

Pisos: Cerámica _____ Madera _____ Cemento _____ Tierra _____ Otros _____

Patios: Cerámica _____ Madera _____ Cemento _____ Tierra _____ Otros _____

Servicios con que cuenta la vivienda: Agua por tuberías _____ Aseo urbano _____ Cloacas _____ Luz _____ Gas _____ Alcantarillado _____ Tanque de agua _____

Frecuentemente almacena agua en tobos: Si _____ No _____

Cuántos baños tiene la casa: _____ que están dentro o fuera de la casa (D/F): _____

Condiciones Grupo Familiar:

Cuántas personas viven en el hogar: _____ Cuántas familias viven juntas en el hogar: _____

Cuántas habitaciones tiene la casa: _____ Número máximo de personas que duermen por habitación: _____

Número máximo de personas que duermen en una misma cama: _____

IV. Datos Clínicos:

Número de miembros de la familia: Sintomáticos: _____ Asintomáticos: _____

Signos y síntomas:

Coloque el número del miembro de su familia que haya presentado los siguientes signos y síntomas: Lesiones en piel ulcerada _____ Dolor en lesión _____ Descamación _____ Costras serohemáticas _____ Prurito (comezón) _____ Sensación de obstrucción nasal _____ Inflamación de la nariz _____ Aumento de volumen en la punta de la nariz _____ Flujo nasal con sangre _____ Sangrado de nariz _____ Destrucción de nariz _____ Destrucción de paladar _____ Destrucción de faringe _____ Fiebre _____ Malestar general _____

Inflamación e induración local en piel _____ Pérdida de peso _____ Anorexia (pérdida de apetito) _____

Diarrea _____ Inflamación de ganglios _____ Crecimiento de hígado/bazo _____ Lesiones de membranas

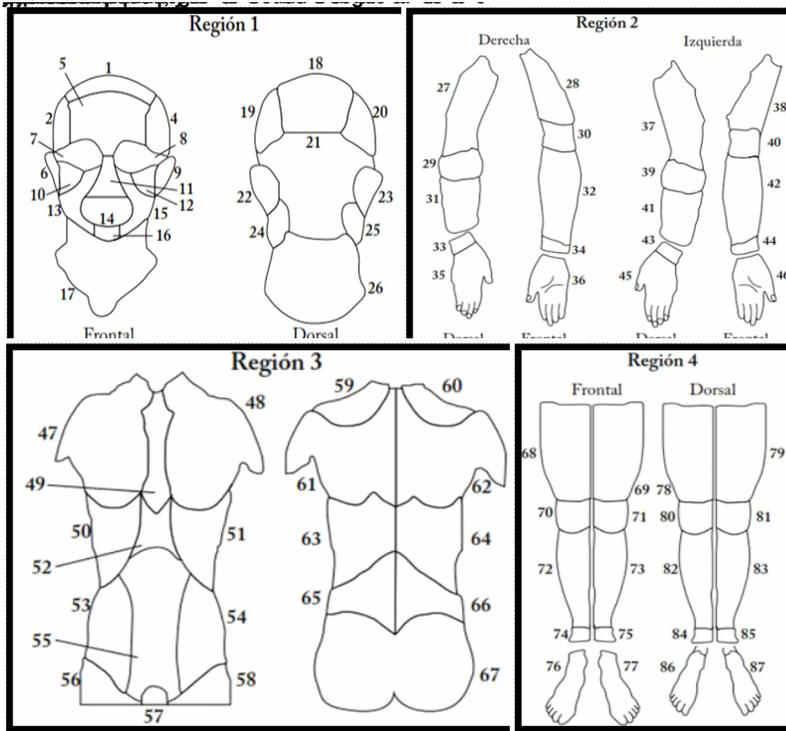
mucosas _____ Granuloma dérmico _____ Lesiones en piel circunscritas y no ulceradas _____ Otro especificar _____

Diagnóstico probable:

- Leishmaniasis cutánea localizada Leishmaniasis mucocutánea Leishmaniasis visceral
 Leishmaniasis cutánea difusa Leishmaniasis diseminada Leishmaniasis mucosa

Observaciones _____

Ubicación de las lesiones:



Fecha de aparición de la lesión:

____ / ____ / ____

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Diámetro de las lesiones:

Hasta 3 cm _____ Mayor de 3 cm _____

Intradermorreacción:

¿Se aplicó IDR (Leishmanina)? Si _____ No _____ Fecha de aplicación: ____ / ____ / ____
 Resultado: Positivo _____ Negativo _____ Tamaño lectura _____ mm

Diagnóstico y tratamiento:

¿Ha acudido a un centro de salud (público o privado) para diagnóstico o tratamiento? Si: _____ No: _____
 En caso que su respuesta sea afirmativa, ¿Fue diagnosticado mediante pruebas de laboratorio? Si: _____ No: _____

¿Recibió tratamiento para leishmaniasis? Si _____ No _____ ¿Cuál? _____

¿Cumplió el tratamiento completo? Si _____ No _____ Fecha inicio: _____ Fecha culminación: _____

¿Presentó reacciones adversas al tratamiento? Si _____ No _____ ¿Cuál? _____

V. Datos Epidemiológicos:

Su vivienda se encuentra cerca de: Basureros _____ Plazas de mercado _____ Mataderos _____ Canales de aguas negras _____ Plantas de tratamientos aguas residuales _____ Vegetación alta arbórea-arbustiva _____ Vegetación baja agropastoril _____ Suelo desnudo _____

Vectores y reservorios parasitarios:

Convive en su casa con animales: Si _____ No _____ ¿Cantidad de perros en la casa? _____

¿Tienen control veterinario? Si _____ No _____ Desparasitación _____ Vacunación _____

Sabe de la presencia de plagas en el sector: Si _____ No _____

¿Tuvo contacto con *Lutzomyia*? Si: _____ No: _____ ¿Usa mosquiteros en su hogar? Si _____ No _____

¿Se ha puesto en práctica la fumigación para evitar insectos roedores en la vivienda? Si _____ No _____

Gracias por su colaboración