

# Estudio epidemiológico de la leishmaniosis en la comarca del Campo de Níjar (Almería)

An epidemiological survey on the leishmaniosis in the Campo de Níjar's area (Almeria)

SANCHIS MARÍN, M. C. <sup>1</sup>; MARTÍN SÁNCHEZ, J. <sup>2</sup>; AMATE, P. <sup>3</sup>;

ACEDO SÁNCHEZ, C. <sup>2</sup>; MIRAS, N. <sup>1</sup>; MOSTAPHA, L. <sup>2</sup> y MORILLAS, F. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dpto. Biología Aplicada. Facultad Ciencias Experimentales. Universidad de Almería. Almería.

<sup>2</sup> Dpto. Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada.

<sup>3</sup> Servicio Andaluz de Salud. Sección Veterinaria. Almería.

## RESUMEN

Se ha realizado un estudio epidemiológico sobre la leishmaniosis en el área Sur del matiz climático Mediterráneo Subdesértico de la provincia de Almería (Campo de Níjar, Sudeste de España). A una muestra de la población humana se le aplicó la Intradermorreacción de Montenegro (IDR): de 1.370 inoculados, sólo 33 (2'4 %) fueron positivos (induración  $\geq$  5 mm). De la población canina, se analizaron mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) 286 muestras de suero, de las que 174 (60'8 %) fueron negativas, y las 112 restantes tuvieron algún título (39'2 % de seropositividad); de éstas últimas sólo 13 presentaron título  $\geq$  160 (seroprevalencia del 4'5 %). El estudio se completó con la captura de vectores: 1) con trampas adhesivas se capturaron 216 ejemplares pertenecientes a las especies *Sergentomyia minuta* (62 %), *Phlebotomus perniciosus* (34'3 %), y *P. ariasi* y *P. papatasi* (3'7 %). 2) Trampas CDC: se capturaron 790 ejemplares pertenecientes a las especies *P. perniciosus* (73 %), *P. papatasi* (22'2 %), y *P. ariasi*, *P. longicuspis*, *P. alexandri*, *P. sergenti* y *S. minuta* (4'8 %). Aunque se diseccionaron 530 ejemplares hembras ninguna estuvo parasitada por *Leishmania*.

**Palabras clave:** Intradermorreacción en humanos. Leishmaniosis canina. Flebotomo vector. Campo Níjar. Almería. Sudeste España.

## ABSTRACT

We have realised an epidemiological study on the Leishmaniosis in the Southern area from Subdesertic Mediterranean bioclimatic zone, of the Almería's province (Campo de Níjar, Southeast Spain). The Montenegro Skin test (IDR) was applied to a sample of human population: of 1.370 individuals inoculated, only 33 (2'4 %) were positives (induration  $\geq$  5 mm). The canine population was analysed by Immunofluorescent Antibody test (IFI): of 286 sample of serum analysed, 174 were negatives (60'9 %) and 112 were with antibody titles  $\geq$  20 (39'2 % seropositivites); of these only 13 were with title  $\geq$  160 (seroprevalence of 4'5 %).

The study was completed with the capture of vectors: 1) with sticky traps we capture 216 specimens belonging to the species *S. minuta* (62 %), *P. perniciosus*

(34'3 %), and *P. ariasi* and *P. papatasi* (3'7 %). 2) With CDC traps we capture 790 specimens to the species *P. perniciosus* (73 %), *P. papatasi* (22'2), *P. ariasi*, *P. longicuspis*, *P. sergenti*, *P. alexandri* and *S. minuta* (4'8 %). Although we have diseccionate 530 specimens female none of them was parasitized by *Leishmania*.

**Key words:** Montenegro skin test. Canine leishmaniosis. Phlebotomine sandflies vector. Campo Níjar. Almería. Southeast Spain.

Recibido:

Aceptado:

BIBLID [0004-2927(1997) 38:1; 53-61]

## INTRODUCCIÓN

Al igual que sucede en otras provincias españolas (1-4), la de Almería presenta una alta prevalencia de leishmaniosis canina (LCa) (5). Dentro de ella, el matiz climático Mediterráneo Subdesértico atrae especialmente la atención porque 1) es la zona más árida de la España peninsular, 2) en ella se están produciendo grandes cambios en el medio ambiente como consecuencia de la actividad humana, basada principalmente en el cultivo de invernaderos y en la actividad turística.

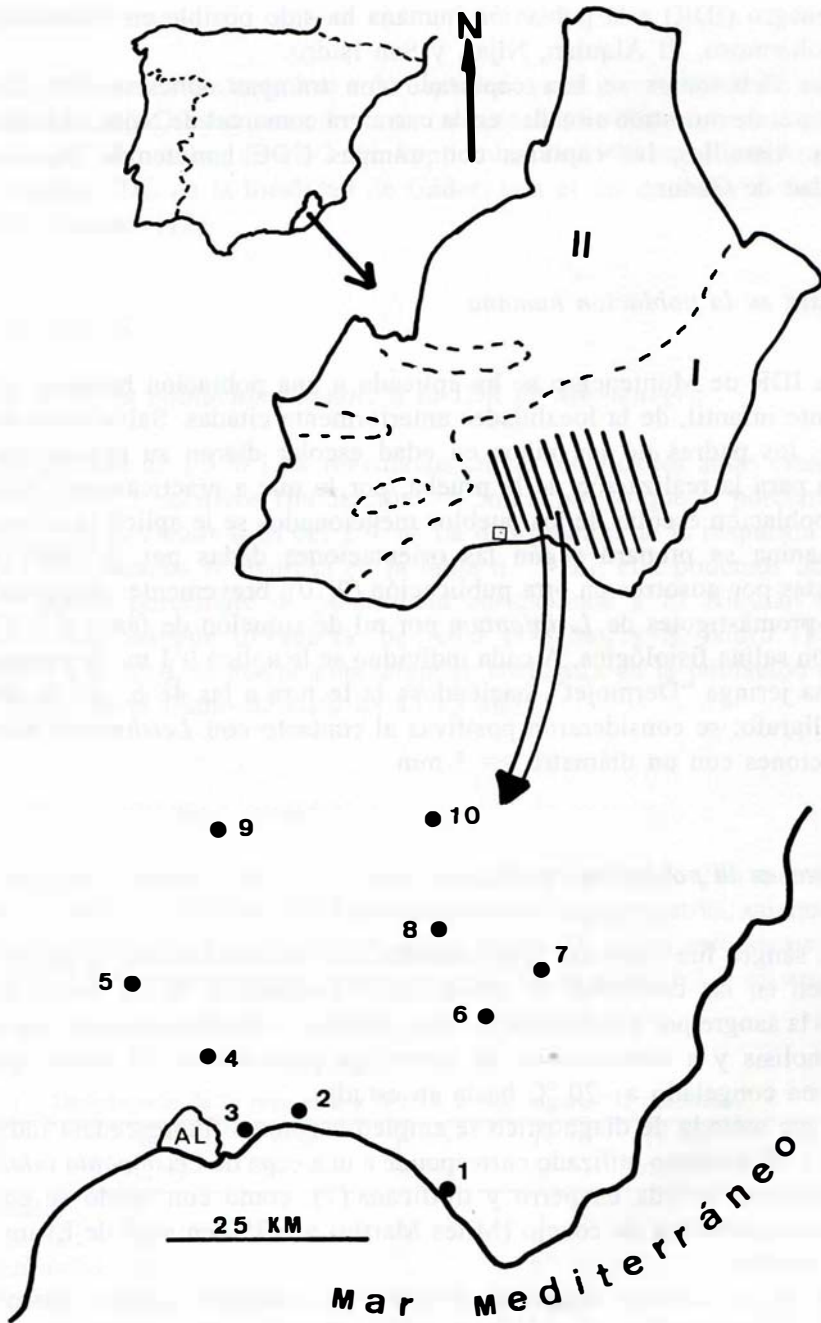
El presente trabajo tiene como fin el estudio de los factores epidemiológicos que intervienen en la enfermedad: el perro (reservorio), los flebotomos (vectores), y el hombre, en la zona del Campo de Níjar, al Sur del matiz climático Mediterráneo Subdesértico donde en los últimos años se ha producido un gran desarrollo de la agricultura de invernadero.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Zona de estudio (mapa)*

En la provincia de Almería se distinguen 4 matices climáticos claramente diferenciados (6). De ellos, es el Mediterráneo Subdesértico, que abarca el área Sur y Este de la provincia, el que presenta el clima más cálido y árido de la Península Ibérica. Dentro de este matiz hemos elegido diferentes localidades de la zona Sur, principalmente en el área del Campo de Níjar, donde se produce mayor concentración de invernaderos, para realizar el presente estudio epidemiológico.

Las localidades muestreadas para el estudio serológico de la leishmaniosis canina han sido Cabo de Gata, Campohermoso, El Alquíán, La Cañada, Tabernas, San Isidro, y Viator. La aplicación de la Intradermorreacción de



Mapa de localización del área de estudio. □ y AL: Almería capital, I, II: matices climáticos Mediterráneo Subdesértico y continental respectivamente (6). 1: Cabo de Gata, 2: El Alquián, 3: La Cañada, 4: Viator, 5: Gador, 6: S. Isidro, 7: Campohermoso, 8: Níjar, 9: Tabernas, 10: Lucainema.

Montenegro (IDR) a la población humana ha sido posible en Cabo de Gata, Campohermoso, El Alquián, Níjar, y San Isidro.

Los flebotomos se han capturado con trampas adhesivas en diversas estaciones de muestreo situadas en la carretera comarcal de Níjar a Lucainema (Sierra Alamilla); las capturas con trampas CDC han tenido lugar en la localidad de Gádor.

### *Encuesta en la población humana*

La IDR de Montenegro se ha aplicado a una población humana, principalmente infantil, de la localidades anteriormente citadas. Salvo raras excepciones, los padres de los niños en edad escolar dieron su aprobación por escrito para la realización de la prueba, por lo que a prácticamente el 100% de la población escolar de los pueblos mencionados se le aplicó la misma. La leishmanina se preparó según las orientaciones dadas por la OMS (8), y expuestas por nosotros en otra publicación (9,10); brevemente: suspensión de 10 (6) promastigotes de *L. infantum* por ml de solución de fenol al 0'5% en solución salina fisiológica. A cada individuo se le aplicó 0'1 ml de suspensión con una jeringa "Dermojet", haciéndose la lectura a las 48 h. por la técnica del bolígrafo; se consideraron positivas al contacto con *Leishmania* aquellas induraciones con un diámetro  $\geq 5$  mm.

### *Encuesta en la población canina*

La sangre fue obtenida aprovechando las concentraciones de perros que se hacen en las campañas de erradicación antirrábica. A los perros se les extrajo la sangre por punción en la vena cefálica, se deja coagular en los tubos de hemolisis y a continuación se centrifuga para obtener el suero, que se almacena congelado a  $-20$  °C hasta su estudio.

Como método de diagnóstico se empleó la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) (5). El antígeno utilizado corresponde a una cepa de *Leishmania infantum*, anteriormente aislada en perro y tipificada (7); como conjugado se empleó antigammaglobulina de conejo (Miles Martín) a 1/350 en azul de Evans a 1/10 (4) en PBS.

Se han considerado seropositivos frente a *Leishmania* aquellos sueros que presentaron títulos de anticuerpos (Ac) con valores  $\geq 20$ , mientras que aquellos  $\geq 160$  se han retenido para determinar la seroprevalencia (5).

## Estudio del Vector

Los flebotomos vectores han sido capturados por el método de los papeles adhesivos (11) en 3 estaciones de muestreo situadas en Sierra Alamilla durante el mes de septiembre de 1992. En Septiembre de 1993 se hicieron capturas con trampas CDC en la localidad de Gádor, con el fin de aislar *Leishmania* de estos insectos (12).

## RESULTADOS

### Respuesta de la población humana a la IDR de Montenegro

De un total de 1.370 IDR inoculadas en las localidades antes citadas, se han obtenido 33 positivos (induración  $\geq 5$ mm) por lo que el porcentaje de contacto con *Leishmania* es del 2'4 %. La distribución de la respuesta en los lugares muestreados se expresa en la tabla n.º 1. En ella podemos observar que el mayor porcentaje de positividad corresponde a El Alquíán (7 %), seguido, con bastante diferencia, de Níjar (1'8 %), y S. Isidro (1'3 %). Respecto a la edad, el mayor porcentaje se encuentra en la población adulta, y el menor en el tramo de edad de 11-15 años.

### 2) Encuesta serológica canina

Durante el bienio 1992-93 se han recogido y analizado 286 muestras de suero. De ellas, el 60'8 % (174) presentaron serología negativa, mientras que el 30'2 % (112) restante mostraron algún título. De estos seropositivos, tan sólo 13 (4'5 %) presentaron título  $\geq 160$ . En la tabla n.º 2 aparecen las

Tabla 1.—Distribución de la respuesta a la IDR en los lugares de muestreo.

Edad	0-5		6-10		11-15		16-30		31-50		Total
	(n,	+) )	(n,	+) )	(n,	+) )	(n,	+) )	(n,	+) )	n, +, (%)
Localidad											
Cabo de Gata	15		62		65		1		9		152
Campohermoso	20		113		32		8	1			188, 3, (1'6)
El Alquíán	33	5	131	5	88	6	—	—	5	2	257, 18, (7)
Níjar	5		37	1	125	1	2	1	2		171, 3, (1'8)
S. Isidro	72	1	221	2	285	1	12		12	5	602, 9, (1'5)
Total (n, +)	145	6	564	8	595	8	23	2	43	9	1370, 33, (2'4)
%	4'1%		1'4%		1'3%		8'6%		20'9%		

Tabla n.º 2.—Resumen del título de Ac frente a *Leishmania* obtenidos en perros en las localidades muestreadas.

LOCALIDAD		Título de Ac					TOTAL
		0	20	40	80	160	
Cabo de Gata	n.º	19	3	1	—	1	23
	%	78'3	13	4'3		4'3	
Campohermoso	n.º	19	14	4	2	—	39
	%	48'7	35'9	10'2	5'1		
El Alquian	n.º	39	4	1	1	1	46
	%	84'8	8'7	2'1	2'1	2'1	
Gador	n.º	20	6	4	3	5	38
	%	52'6	15'8	10'5	7'9	13'2	
La Cañada	n.º	44	—	2	—	—	46
	%	95'7		4'3			
S. Isidro	n.º	16	15	7	5	3	46
	%	34'8	32'6	15'2	10,9	6'5	
Tabernas	n.º	9	4	4	6	3	26
	%	34'6	15'4	15'4	23	11'5	
Viator	n.º	9	7	5	1	—	22
	%	40'9	31'8	22'7	4'5		
TOTAL	n.º	174	53	28	16	13	286
	%	60'8	18'5	9'8	6'3	4'5	

localidades muestreadas y en él se especifican el número de sueros analizados en cada una de ellas, así como los porcentajes obtenidos para cada uno de los diferentes títulos de Ac.

En Gádor es donde encontramos mayor seroprevalencia (13'2 % con título  $\geq$  160), seguida de Tabernas (11'5 %) y S. Isidro (6'5 %).

### Capturas de Flebotomos.

En la tabla n.º 3 se expresan los resultados de capturas tanto con trampas adhesivas como con CDC. Con las primeras la especie más numerosa fue *Sergentomyia minuta* (62 %), seguida de *Phlebotomus perniciosus* (34'3 %), pero con las trampas CDC es ésta última especie la más capturada (73 %) seguida de *P. papatasi* (22'2 %). La presencia de otras especies como *P. ariasi*, *P. longicuspis*, *P. sergenti*, y *P. alexandri* fue testimonial, no representando la suma de todas ellas el 5 % de las capturas en cada uno de los métodos usados.

Tabla n.º 3.—Especies de Flebotomos capturados.

Especie	T.A.		CDC	
	n.º	%	n.º	%
P.p	74	34'3	577	73
P.a.	2	0'9	2	0'3
P.l.	—	—	2	0'3
P.pa.	6	2'7	175	22'1
P.s.	—	—	2	0'3
P.al.	—	—	2	0'3
S.m.	134	62	30	3'7
TOTAL		216		790

P.p.= *Phlebotomus perniciosus*; P.a.= *P. ariasi*; P.l.= *P. longicuspis*; P.pa.= *P. papatasi*; P.s.= *P. sergenti*; P.al.= *P. alexandri*; S.m.= *Sergentomya minuta*.

T.A.= Trampas adhesivas; CDC= Trampas tipo CDC.

## DISCUSIÓN

El trabajo que hemos realizado con la IDR de Montenegro, y aún cuando en los lugares muestreados la población infantil estudiada se aproxima al 100 % del total, hemos encontrado que tan sólo el 2'4 % ha estado en contacto con el parásito. Esta cifra es muy inferior a la obtenida en anteriores estudios realizados en otras comarcas del Sur de España (9,10) donde el porcentaje de muestras positivas fue del 40-50 %, pero están en consonancia con las cifras de seropositividad y seroprevalencia obtenidas en el reservorio canino, y son parecidas a las obtenidas en las proximidades de Madrid (13).

Pensamos que estas bajas cifras pueden ser debidas a varias causas: 1) el hecho de haber desaparecido la obligatoriedad de acudir a las concentraciones caninas para la vacunación antirrábica; al desaparecer tal obligatoriedad pudiera ser que propietarios con perros sintomáticos no acudieran por la mala imagen que da el perro enfermo de leishmaniosis, y esto se traduce en una seroprevalencia inferior a la real. 2) La zona estudiada tiene una agricultura basada en los cultivos de invernadero donde el uso de los plaguicidas es habitual; este uso de plaguicidas tendría una repercusión importante sobre las poblaciones de flebotomos de la zona, y de ahí la disminución de seropositividad de LCa y el porcentaje de IDR positivos en humanos. En apoyo de este argumento está el dato de que en los lugares de máxima seroprevalencia canina (Gádor y Tabernas) no hay invernaderos. 3) El cultivo de invernadero prescinde totalmente de los animales de labranza, evitándose así las cuerdas próximas a las viviendas humanas, y por tanto un lugar idóneo para el desarrollo del vector.

Respecto al vector, las dos especies mayoritarias de la provincia (14,15)

se mantienen en este estudio. Sin embargo, el número de capturas por m<sup>2</sup> es inferior al conseguido en otras ocasiones, lo que viene a concordar con el dato apuntado anteriormente sobre que el uso de plaguicidas influye en la epidemiología de la leishmaniosis. No podemos explicar, sin embargo, que no se encontraran hembras de flebotomos infectadas por *Leishmania* en una localidad donde al 13'5 % de la población canina presenta serología con título  $\geq$  160.

## AGRADECIMIENTOS

A los veterinarios del Servicio Andaluz de Salud de Almería que nos ayudaron a conseguir sueros caninos. A los Directores de los Colegios públicos que nos facilitaron la colocación de la IDR a la población infantil así como a las Asociaciones de padres de alumnos. Al Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) por la aprobación del proyecto 92/086, y al Servicio Andaluz de Salud por el proyecto 0071.9.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) AMELA, C., MÉNDEZ, I., TORCAL, J. M., MEDINA, G., PACHON, I., CAÑAVATE, C., ALVAR, J.: "Epidemiology of canine leishmaniasis in the Madrid región, Spain". *Eur J Epidemiol* (1995), 11:157-61.
- (2) ARNEDO PENA, A., BELLIDO BLASCO, JB., GONZÁLEZ, MORÁN, F., ARIAS SÁNCHEZ, A., CALVO MAS, C., SAFONT ADSUARA, L., FABRA PEIRAT, E., CRIADO JUÁREZ, J., PONS ROIG, P.: "Leishmaniasis en Castellón: estudio epidemiológico de los casos humanos, vector y reservorio canino". *Rev San Hig Publ* (1994), 68:481-91.
- (3) GÓMEZ NIETO, C., NAVARRETE, I., HABELA, M., HERNÁNDEZ, S.: "Seroprevalence of canine leishmaniasis around Cáceres, Spain". *Prev Vet Med* (1992), 13:173-8.
- (4) MARTÍNEZ CRUZ, MS., MARTÍNEZ MORENO, A., MARTÍNEZ MORENO, F., HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ, S.: "Epidemiología de la leishmaniosis canina en Córdoba (España)". *Rev Iber Parasitol* (1990), 50:1-7.
- (5) MORILLAS, F., SANCHÍS MARÍN, M. C., ACEDO, C., MORILLAS, A., MARTÍN SÁNCHEZ, J.: Encuesta seroepidemiológica sobre la leishmaniosis canina e infección del flebotomo vector por *Leishmania* en la provincia de Almería (Sur de España). En: libro homenaje al Prof. F. Martínez Gómez. Edit. S. Hernández, Univ. Córdoba (1992), pp: 135-47.
- (6) DÍAZ ÁLVAREZ, J. R., CAPEL, J. J.: Atlas geográfico provincial comentado de Almería. Ediciones Andalucía. Granada (1984), 134 pp.
- (7) MARTÍN SÁNCHEZ, J., MORILLAS, F., SANCHÍS MARÍN, M. C., ACEDO SÁNCHEZ, C.: "Isoenzymatic characterization of the etiologic agent of canine leishmaniasis in the Granada region of Southern Spain". *Amer J Trop Med Hyg* (1994), 50:758-62.
- (8) Organisation Mondiale de la Santé (OMS): "Les leishmaniosis". *Ser rap tech. n.º 701*, Gêneve (1984), pp. 153.
- (9) ACEDO, C., MARTÍN SÁNCHEZ, J., VÉLEZ BERNAL, I. D., SANCHÍS MARÍN, M. C., LOUASSINI, M., MALDONADO, J. A., MORILLAS MÁRQUEZ, F.: "Leishmaniasis



- eco-epidemiology in the Alpujarra region (Granada province, Southern Spain)". *Intern J Parasitol* (1996), **25**:303-10.
- (10) MORILLAS, F., SÁNCHEZ RABASCO, F., MARTÍN SÁNCHEZ, J., OCAÑA-WIHELMI, J., ACEDO, C., SANCHÍS MARÍN, M. C.: "The leishmaniosis in the focus of Axarquía region. A survey on man, dog and vector". *Parasitol Res* (1996), **82**:569-70.
- (11) RIOUX, J. A., GOLVAN, Y. J.: "Epidemiologie des leishmanioses dans le Sud de la France". Monogr. INSERM, n.º 37, Paris (1969), 220 pp.
- (12) RIOUX, J. A., GUILVARD, E., DEREURE, I., LANOTTE, G., DENIAL, M., PRATLONG, F., SERRES, E., BELMONTE, A.: "Infestation naturelle de *Phlebotomus papatasi* par *Leishmania major* MON-25. A propos de 28 souches isolées dans foyer du Sud Marocain". In: *Leishmania. Taxonomie et Phylogenes*. Edit. JA Rioux. IMEE-CNRS, Montpellier (1986), 471-80.
- (13) ALVAR, J., GUTIÉRREZ SOLER, B., PACHÓN, I., CALBACHO, E., RAMÍREZ, M., VALLES, R., GUILLÉN, J. L., CAÑAVATE, C., AMALA, C.: "- AIDS and *Leishmania infantum*. New approaches for a new epidemiological problem". *Clin Derm* (1996), **14**:541-46.
- (14) MARTÍNEZ ORTEGA, E.: "Los flebotomos Ibéricos (Diptera, Psychodidae)". *I Almería An Biol* (1985), **3**:107-11.
- (15) SANCHÍS MARÍN, M. C., VILLEGAS, G., MORILLAS, F.: "Flebotomos y leishmaniosis en la provincia de Almería". *Rev San Hig Publ* (1986), **60**:1131-39.