

Características generales y factores pronósticos de la leishmaniasis visceral en el Departamento de Salud de Sagunto en el período 2007-2022



Trabajo de Fin de Máster
Máster en Enfermedades Infecciosas y Salud Internacional 2021-2022
Amparo Carmena de la Asunción
Tutor/a: María del Carmen Sáez Barberá
Tutor/a académico: Jara Llenas García

Visto bueno del Trabajo de Fin de Máster por parte de las tutoras

Las tutoras abajo firmantes, María del Carmen Sáez Barberá y Jara Llenas García, damos nuestro visto bueno del trabajo de fin de máster “Características generales y factores pronósticos de la leishmaniasis visceral en el Departamento de Salud de Sagunto en el período 2007-2022”.

Tutora: María del Carmen Sáez Barberá

Tutora Académica: Jara Llenas García



ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| ÍNDICE | 1 |
| 1. RESUMEN | 3 |
| 1.1. RESUMEN | 3 |
| 1.2. SUMMARY..... | 4 |
| 2. INTRODUCCIÓN | 5 |
| 2.1. LEISHMANIASIS VISCERAL..... | 5 |
| 2.2. JUSTIFICACIÓN | 6 |
| 3. OBJETIVOS | 7 |
| 3.1. OBJETIVOS PRINCIPALES | 7 |
| 3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS | 7 |
| 4. HIPÓTESIS | 7 |
| 5. ESTADO DE LA CUESTIÓN | 7 |
| 6. MATERIAL Y MÉTODOS | 9 |
| 6.1. DISEÑO..... | 9 |
| 6.2. POBLACIÓN, CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN | 9 |
| 6.3. VARIABLES A ESTUDIO | 10 |
| 6.4. MÉTODO ESTADÍSTICO..... | 11 |
| 6.5. TAMAÑO MUESTRAL..... | 13 |
| 6.6. DIFICULTADES Y LIMITACIONES. POSIBLES SESGOS | 13 |
| 6.7. ASPECTOS ÉTICOS | 13 |
| 7. RESULTADOS | 14 |
| 7.1. RESULTADOS SOCIODEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS Y ANALÍTICOS (TABLA 2 EN ANEXO I) | 14 |
| 7.2. CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES EN EL GRUPO DE RECAÍDA | 17 |
| 7.3. CARACTERÍSTICAS PREDICTIVAS DE RECAÍDA..... | 19 |
| 7.4. RESULTADOS DIAGNÓSTICOS MICROBIOLÓGICOS..... | 22 |
| 8. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS | 23 |
| 8.1. APLICABILIDAD Y UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS O PREVISIBLES | 25 |
| 9. CONCLUSIONES | 25 |
| BIBLIOGRAFÍA | 26 |
| ANEXO I: TABLAS | 29 |

1. RESUMEN

Objetivos: describir las características de los pacientes diagnosticados de leishmaniasis visceral (LV) en el Departamento de Salud de Sagunto, donde es una zoonosis endémica, y los factores que se asocian a recaída en éstos.

Métodos. Estudio observacional de cohortes retrospectivo desde 2007 hasta 2022 con análisis de los pacientes diagnosticados de LV y del evento combinado recaída-muerte por LV. Se realiza un análisis univariante y multivariante con regresión logística de Cox de los factores asociados a recaída, así como un análisis de validez de pruebas diagnósticas y de la efectividad del tratamiento.

Resultados. Se analizaron 41 pacientes, la mayoría fueron varones (78%), españoles (81%), con edad media de 44 años $\pm 24,3$ DS y residía en Sagunto (42%). El 22% fueron VIH+ y el 19,5% presentaron otros factores de inmunosupresión. Hubo mayor incidencia en los años 2015, de 4,5 por 100.000 habitantes/año, 2016, de 5,2, y 2019, de 3,9, $p < 0,001$. Se produjeron 7 recaídas y 1 muerte. Los pacientes con recaída fueron más frecuentemente mujeres (OR 7,7 IC95% 1,31, 45,5; $p = 0,014$), inmunodeprimidos (OR 2,9; IC95% 0,5, 16,67; $p = 0,03$) y VIH (OR 7,73; IC95% 1,31-45,51). Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron: fiebre (83%) con una media de 23 días, esplenomegalia (78%) y hepatomegalia (41%). Las recaídas se presentaron con mayor frecuencia en pacientes sin fiebre (OR 0,17; IC95% 0,03-1,10; $p = 0,04$), con dolor abdominal (OR 6,2; IC 1,1-35,36) y un bazo más grande (media 29 vs 15 cm; $p = 0,02$).

En el análisis multivariante, la recaída se asoció a plaquetopenia menor de 55.000/ml (aOR 17,9; IC95% 1,4-224, $p = 0,02$), inmunodepresión (aOR 17,6; IC95% 1,4-221; $p = 0,02$) y hepatomegalia (aOR 15,8; IC95% 1,1-222; $p = 0,04$).

En cuanto a los métodos diagnósticos, la PCR en sangre periférica presentó la mayor sensibilidad (87%) y especificidad (100%).

Todos fueron tratados con anfotericina B liposomal sin diferencias en los resultados entre diferentes pautas, presentando insuficiencia renal un 15%.

Conclusiones.

La inmunodepresión incluidos VIH, la trombocitopenia menor de 55.000 plaquetas y la hepatomegalia predicen el evento recaída-muerte de leishmaniasis visceral. La PCR en sangre periférica es la mejor prueba diagnóstica.

PALABRAS CLAVE: Leishmaniasis visceral, *Leishmania*, Recaída, Inmunosupresión, Pruebas diagnósticas, tratamiento, supervivencia.

1.1. SUMMARY

Objective. We aimed to analyse the characteristics visceral leishmaniasis (VL) diagnosed patients in the Department of Health of Sagunto, where it is an endemic zoonosis, and the factors that could be associated with VL relapse.

Methods. Retrospective observational cohort study from 2007 to 2022; an analysis of patients and relapses is made with logistic regression and, Cox's regression and a study of diagnostic tests accuracy and treatment effectivity.

Results. Forty-one patients were analyzed, 78% were male, 80,5% Spanish, with a mean age of 44 years \pm 24,3 SD and living in Sagunto. Twenty-two percent were HIV+ and 19.5% had other immunosuppression factors. There was a higher annual incidence in 2015 of 4.5 per 100,000 inhabitants/year, 2016 of 5.2 and 2019 of 3.9, $p < 0.001$. There were 7 relapses and 1 death, patients with relapse were more frequently women (OR 7,7; 95%CI 1,31, 45,5, $p = 0,014$); immunosuppressed (OR 2,9; 95%CI 0,5, 16,67; $p = 0,03$) and HIV (OR 7.73, CI 1.31). -45.51).

The most frequent clinical manifestations were: fever (83%) with a mean of 23 days, splenomegaly (78%) and hepatomegaly (41%). Relapses presented more frequently without fever (OR 0.17, 95%CI 0.03-1.10), with abdominal pain (OR 6.2, 95%CI 1.1-35.36), and with a larger spleen (mean 29cm vs. 15cm $p = 0, 02$).

In multivariate analysis, relapse was associated with platelets less than 55,000/ml (OR= 17.9; 95% CI 1.4-224, $p = 0.02$), immunosuppression (OR=17.6; 95% CI 1, 4-221; $p = 0.02$) and hepatomegaly (OR=15.8; 95% CI 1.1-222; $p = 0.04$).

Regarding diagnostic methods, peripheral blood PCR had the highest sensitivity (87%) and specificity (100%).

All patients were treated with liposomal amphotericin B with no differences in results between different regimens, with 15% presenting renal failure.

Conclusions.

Immunosuppression including HIV, thrombocytopenia below 55,000 platelets, and hepatomegaly predict relapse of visceral leishmaniasis patients. Peripheral blood PCR is the best diagnostic test.

KEY WORDS: Visceral Leishmaniasis, *Leishmania*, Relapse, Immunosuppression, Diagnostic tests, Treatment, Survival.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. LEISHMANIASIS VISCERAL

La leishmaniasis es una zoonosis de distribución mundial producida por el parásito *Leishmania*, cuyo vector en el viejo mundo es el mosquito *Phlebotomus*, que puede causar un amplio espectro de enfermedades clínicas, de las que la más grave es la leishmaniasis visceral (LV). A nivel mundial se dan anualmente entre 1 y 2 millones de casos nuevos de leishmaniasis visceral y entre 20.000 y 30.000 muertes por año (1,2). Incluida dentro de las 13 enfermedades tropicales olvidadas, la LV es endémica en zonas del norte de África, Oriente Medio, subcontinente indio, Centroamérica y Sudamérica, pero también en el sur de Europa, incluyendo España. Estos parásitos se pueden dividir taxonómica y geográficamente en dos grupos: *L.donovani* (sur de Asia y este de África) y *Leishmania infantum* (cuenca mediterránea, oeste de Asia desde el Medio Oriente hasta Pakistán, Brasil y otras partes del Nuevo Mundo) (3). La enfermedad sigue tres patrones: 1) una transmisión endémica generalmente periurbana y rural, en zonas residenciales en cuyos alrededores abundan los perros (principal reservorio) y material orgánico en descomposición que favorece el ciclo biológico del *Phlebotomus*; 2) brotes epidémicos, y 3) casos importados en áreas no endémicas.

La clínica y evolución dependen de las características del paciente, siendo claves la interacción entre la respuesta inmunitaria del huésped y el parásito. En huéspedes sanos e inmunocompetentes, los linfocitos Th-1 secretan citocinas (IL-2, INF gamma y TNF alfa) para reclutar y activar macrófagos que fagocitan las células con amastigotes de *Leishmania* (4). Si la respuesta Th es inadecuada, como ocurre en inmunodeprimidos, los pacientes tienen una mayor susceptibilidad de desarrollar enfermedad, experimentan un curso más grave de la enfermedad y tienen mayores tasas de recaída. La infección por VIH es un factor de riesgo establecido para desarrollar LV, aunque también se ha encontrado un riesgo aumentado en pacientes con estados inmunosupresores no relacionados con el VIH, principalmente dentro del ámbito de la medicina de trasplante, reumatología, hematología y oncología (4).

El curso habitual es un periodo de incubación de dos a seis meses con un inicio de los síntomas que suele ser insidioso o subagudo, con progresión lenta de malestar general, fiebre, pérdida de peso y esplenomegalia (con o sin hepatomegalia) durante un periodo de semanas a meses (3).

Los métodos diagnósticos empleados para el diagnóstico de LV son métodos parasitológicos, que se basan en la observación directa del parásito en el aspirado medular, tejido esplénico u otros tejidos; métodos serológicos, incluyendo el ensayo ligado a enzimas por inmunoabsorción (ELISA), el ensayo indirecto de hemaglutinación (IHA), el test indirecto de anticuerpos inmunofluorescentes (iFAT) y el inmunoblotting; y métodos moleculares de detección del ADN de *Leishmania* mediante PCR en muestras de médula ósea o sangre periférica. El mejor enfoque diagnóstico es la combinación de métodos parasitológicos y serológicos o moleculares, siendo el patrón oro la observación y búsqueda de amastigotes en frotis de aspirado de médula ósea (6).

Finalmente, el tratamiento de elección en Europa, América del Norte y América del Sur es la monoterapia con anfotericina B liposomal (dosis total de 20 a 21 mg/kg en inmunocompetentes y dosis total de 30 a 40 mg/kg en inmunodeprimidos), que es el fármaco con mayor eficacia terapéutica y perfil de seguridad más favorable, ya que, en ausencia de tratamiento, la tasa de letalidad de la LV es de >90% (3,7,8).

2.2. JUSTIFICACIÓN

La infección por *Leishmania* es una zoonosis de interés endémico en España con alta prevalencia en la zona mediterránea, siendo la Comunidad Valenciana el área con las mayores tasas de incidencia anuales en el período 2012-2018 según datos de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE), con 2,3 casos de LV por 100.000 habitantes/año en 2018 (9). El Departamento de Salud de Sagunto presenta un área rural amplia, con las condiciones apropiadas para la transmisión de *Leishmania* spp; en el periodo 2007-2017 la tasa de hospitalizaciones por leishmaniasis fue de 1,88 casos/100.000 habitantes/año (10).

Por un lado, dado que el diagnóstico se basa en un cuadro clínico, que es muchas veces inespecífico y de diversa presentación, es importante conocer las características clínico-demográficas distintivas de los pacientes en nuestro medio y tener analizadas las pruebas diagnósticas que empleamos, conociendo sus posibilidades y limitaciones para poder realizar un diagnóstico temprano y asegurar una buena evolución.

Por otro lado, hasta el 17 % de los pacientes con LV recaen dentro de los 6 a 12 meses posteriores al tratamiento (3), especialmente, en algunas situaciones clínicas determinadas como la coinfección con VIH y la inmunosupresión. Por lo que también es importante

conocer qué factores distintivos presentan los casos de LV que recaen para identificar de forma temprana al que tiene mayor riesgo y realizar un seguimiento más estrecho. El identificar estos factores es imprescindible para la selección de pacientes y el diseño de futuros estudios prospectivos que evalúen diferentes pautas de tratamientos o de profilaxis secundaria.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVOS PRINCIPALES

- Definir las características sociodemográficas, clínicas y analíticas de los pacientes diagnosticados de leishmaniasis visceral en el Departamento de Salud de Sagunto.
- Estudiar los factores asociados a recaída o muerte tras el tratamiento inicial de los pacientes con leishmaniasis visceral en el Departamento de Salud de Sagunto.

3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Estudio de la prevalencia en los distintos municipios del Departamento de Salud de Sagunto.
- Incidencia anual de leishmaniasis visceral.
- Comparación de pruebas: PCR en médula ósea, PCR en sangre periférica y serología, cada una con el *gold standard* que es la visualización de amastigotes en médula ósea.
- Evaluar los resultados de las distintas pautas de tratamiento con anfotericina B liposomal con evento definido como recaída-muerte.

4. HIPÓTESIS

Existen diferencias en las características de los pacientes con leishmaniasis visceral entre los que evolucionan a recaída y los que evolucionan a curación tras el tratamiento inicial en el Departamento de Salud de Sagunto.

5. ESTADO DE LA CUESTIÓN.

En cuanto a la descripción de pacientes diagnosticados de LV, en España, destacan dos estudios descriptivos publicados recientemente: el estudio de Horrillo et al donde se describen 111 pacientes con LV de un brote declarado en junio de 2009 en el suroeste de la Comunidad de Madrid (11) y otro que describe una cohorte de 97 pacientes con LV en la Comunidad de Murcia (13). Los pacientes suelen ser hombres de alrededor de 40 años, con

fiebre como manifestación más frecuentemente registrada y presencia de alguna citopenia. Ambos destacan y coinciden en el aumento de la porción de pacientes con inmunodepresión no VIH, que representan el 14% y el 12% frente al 10% y 44% de VIH. Respecto a la importancia de la inmigración y del carácter de la LV como enfermedad importada, en la cohorte de Madrid, los inmigrantes representaban el 53%, como en otros estudios a nivel europeo, con un 33% reportado por el Hospital de Enfermedades Tropicales de Londres (4), mientras que, en las zonas mediterráneas, la población inmigrante es menor (17,5%), subrayando el carácter endémico de la enfermedad en éstas.

En cuanto a evaluar la mortalidad y el riesgo de recaída, los estudios publicados sobre el tema corresponden en su mayoría a países con una incidencia mucho más alta, como India, Sudán o Brasil y no hay datos actuales publicados de pacientes en Europa tratados con Anfotericina B liposomal. Tanto la mortalidad como la recaída reportadas en la LV son variables y dependen de varios factores; en algunos trabajos la mortalidad es del 90% sin tratamiento y del 5 al 15% con tratamiento, mientras que la recaída se presenta en un 15% a un 25% (3). Un metaanálisis de una revisión sistemática de 48 estudios, recoge a 150.072 pacientes con LV, de los cuales 7.847 fallecieron, lo que representó una mortalidad del 5,2%, con recaída en el 16%, llegando en los pacientes VIH+ hasta un 50% (14). En España en 2017-2018 la mortalidad fue del 3,5% (9).

Los factores de riesgo de recaída parecen variar de un país a otro. En un programa de tratamiento de LV con cuatro dosis de 5mg/kg de Anfotericina B liposomal implementado por Médicos Sin Fronteras en Bihar India entre 2007 y 2012 en 8749 pacientes con LV, se identificaron como factores predictivos de recaída la edad <5 y ≥ 45 años, el sexo masculino, una disminución del tamaño del bazo de $\leq 0,5$ cm/día al alta y una corta duración de los síntomas antes de buscar tratamiento (15). En cambio, en Sao Paulo (Brasil) la recaída se asoció con la coinfección por VIH, la presencia de edema en miembros inferiores y recuento bajo de plaquetas al ingreso y la neumonía secundaria (16).

No se dispone de estudios en España ni a nivel europeo, que evalúen los factores que se asocian a recaída, por lo que, dado que hay diferencias entre áreas geográficas en éstos, éste es un área que precisa de mayor análisis.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. DISEÑO

Estudio observacional de cohortes retrospectivo de todos los casos de LV diagnosticados en el Departamento de Salud de Sagunto en el período comprendido entre el 1 de enero de 2007 y el 1 de enero de 2022.

Los pacientes seleccionados fueron aquellos registrados con los códigos CIE-9 085 y CIE-10 B55 en dos bases de datos del Departamento de Salud de Sagunto (Comunidad Valenciana): el sistema de información de pacientes hospitalizados ALUMBRA-CMBD y el sistema de información de procesos terapéuticos SICA. Se revisó la historia clínica completa de los pacientes desde el momento del diagnóstico de LV hasta el momento de la realización del estudio (febrero de 2022).

Para la recogida y análisis de los datos se empleó el programa SPSS versión 25, Ene 2 y el software OpenEpi.

6.2. POBLACIÓN, CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

La población estudiada corresponde al Departamento de Salud 4 de la Comunidad Valenciana, área asistencial cubierta por el Hospital de Sagunto. Se trata de un hospital primario que cuenta con 252 camas. Atiende a un área de población de 155.337 habitantes en 2020 (1), distribuidos en 50 municipios, pertenecientes a las comarcas del Camp de Morvedre (Valencia) y el Alto Palancia (Castellón), así como de los municipios de Puzol y El Puig (l'Horta Nord) y Almenara, Xilxes y La Llosa (La Plana Baixa), con una mayor parte (73.938 habitantes) concentrada en las Zonas de Salud 5 y 7 que corresponden a Canet d'en Berenguer y Sagunto (15).

Los criterios de inclusión fueron pacientes adultos, de 14 años o mayores, con diagnóstico de leishmaniasis visceral definida según los criterios de la OMS (16): presentar un cuadro clínico sugerente con fiebre prolongada irregular, esplenomegalia y pérdida de peso; y al menos uno de los siguientes criterios:

- a) Visualización del parásito en frotis teñidos de médula ósea, bazo, hígado, ganglio linfático, sangre o cultivo del mismo a partir de biopsia o material aspirado.
- b) Positividad de una técnica serológica (iIFAT, ELISA, rK39 o test de aglutinación directa).
- c) Detección de DNA del parásito por una técnica de PCR en sangre periférica o en médula ósea.

Se excluyeron los pacientes con leishmaniasis cutánea, mucocutánea, post-kala-azar y localizada.

6.3. VARIABLES A ESTUDIO

En el presente estudio se realiza un análisis descriptivo de las variables sociodemográficas, clínicas y de laboratorio y descripción también del diagnóstico y tratamiento y de la evolución a curación, recaída o muerte. Todas las variables estudiadas se encuentran definidas en la Tabla 1 (en el Anexo I).

Las variables epidemiológicas estudiadas fueron: edad, sexo, lugar de residencia, fecha del diagnóstico, profesión especialmente si eran agricultores, si presentaban contacto con perros, tabaquismo, estado de inmunodepresión y comorbilidades que se asocian a ésta: diabetes mellitus, VIH+, número de linfocitos CD4 al diagnóstico y TAR, trasplante, síndrome linfoproliferativo o mieloproliferativo o tumores sólidos, tratamiento con corticoides, quimioterapia o desnutrición.

Las variables clínicas fueron síntomas subjetivos como astenia, sudoración nocturna, dolor abdominal y pérdida de peso; y signos clínicos, como fiebre, ictericia, palidez cutánea, esplenomegalia, hepatomegalia, adenopatías cuando eran mayores de 1 cm y si presentaron síndrome de linfocitosis hemofagocítica (LHH). Se recogieron los resultados de la medición en centímetros del bazo por ecografía abdominal, definiendo esplenomegalia como un bazo >12 cm en su diámetro mayor. Los datos de laboratorio se recogieron en el momento del primer episodio diagnóstico, que en la mayoría de pacientes fue en la hospitalización.

Los métodos diagnósticos recogidos fueron la visualización por microscopía óptica de amastigotes de *Leishmania* en muestra de aspirado o biopsia de médula ósea teñida con Giemsa realizado por el servicio de Hematología del Hospital de Sagunto; la PCR de *Leishmania* en aspirado de médula ósea, la PCR de *Leishmania* en sangre periférica y la serología, éstas tres últimas pruebas realizadas por el servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario de Valencia. La serología se realizó por técnica de enzoinmunoensayo (ELISA) que permite cuantificar los niveles de anticuerpos específicos.

En cuanto al tratamiento, se recogen seis pautas diferentes de anfotericina B liposomal vía intravenosa y si el paciente recibió profilaxis secundaria. Se describe, también, la incidencia de efectos secundarios como hipopotasemia e insuficiencia renal.

El evento o variable independiente fue la recaída, incluyendo en ésta la muerte y las pérdidas pues no es posible saber si tendrían recaída y por esto se dan como tales; las variables explicativas fueron las anteriores definidas. La curación se definió como la ausencia de datos clínicos o analíticos sugestivos de reaparición de la infección por *Leishmania* en el momento de realización del estudio. Se consideró recaída la reaparición de clínica sugestiva no justificada por otra causa con o sin datos de confirmación microbiológica, pero con respuesta a nuevo curso de tratamiento. La muerte relacionada con LV se definió como aquella que ocurriera en un paciente con datos clínicos y microbiológicos de infección activa por *Leishmania*.

6.4. MÉTODO ESTADÍSTICO

Se realizó primero un análisis descriptivo de variables clínico-demográficas, datos de laboratorio, métodos diagnósticos y pautas de tratamiento. A continuación, se realizó un análisis univariante comparando cada una de las variables en el grupo de pacientes con evento combinado recaída-muerte y el grupo de pacientes que no lo presentaba en el período estudiado. Posteriormente, se realizó un análisis multivariante para identificar factores predictores del evento recaída-muerte entre los pacientes con LV.

Para las variables continuas se describieron la media y la desviación estándar (si seguían una distribución normal) o la mediana y rango intercuartílico (si no la seguían), y para las variables cualitativas se describieron las proporciones.

Análisis univariante

Para comparaciones entre variables cualitativas se empleó la prueba χ^2 , con test exacto de Fisher si en algún grupo había $n < 5$, se consideró significativo si $p < 0.05$ de forma bilateral. Para las variables cuantitativas se realizó test de Kolmogorov-Smirnov para ver distribución de probabilidad normal, rechazando ésta si era significativo (Anexo II). Posteriormente según procede se compararon las medias: si seguían una distribución de probabilidad normal usando el test t de Student y si no seguían una distribución de probabilidad normal, usando pruebas no paramétricas como el test de U de Mann-Whitney para dos medias independientes; y el test de Kruskal-Wallis para una muestra..

Tanto en comparación de medias como de proporciones, se rechazó la hipótesis nula H_0 de igualdad de las medias o de igualdad de las proporciones, si el estimador estadístico correspondiente era significativo, con $p < 0.05$ de forma bilateral, con una potencia del 80%, aceptando la hipótesis alternativa H_1 , de desigualdad de medias o proporciones.

Comparación de pruebas diagnósticas

En cuanto a las pruebas diagnósticas se tomó como *gold standard* la visualización de los amastigotes en medula ósea, comparándola con la detección de DNA por PCR en medula ósea, PCR en sangre periférica y con la serología, determinado su sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo (VPN), valor predictivo positivo (VPP), *likelihood* + y -, proporción de falsos positivos y negativos y exactitud. Se realizaron curvas ROC con evento la recidiva o muerte y con variables explicativas que se citan más arriba: cada variable explicativa tiene una hipótesis nula H_0 = igualdad de las áreas bajo la curva con respecto a la diagonal de sensibilidad y 1- especificidad, con el estimador estadístico de $p < 0,05$, si es significativo, aceptando la H_1 = Desigualdad de las áreas bajo la curva.

Análisis de supervivencia

Análisis de supervivencia no paramétrico de Kaplan-Meier, siendo el tiempo los días desde el comienzo de la fiebre hasta el evento, con evento la recaída y con variables explicativas las citadas más arriba: cada variable explicativa tiene una hipótesis nula H_0 = igualdad de las curvas de supervivencia, rechazada con el estimador estadístico de log-rank, si es significativo $p < 0,05$, aceptando la H_1 = Desigualdad de las curvas de supervivencia.

Análisis multivariante

Se utilizó tanto un modelo de regresión logística binaria como un modelo de Cox multivariable para identificar predictores del evento recaída entre los pacientes con LV, siendo el tiempo los días desde el comienzo de la fiebre hasta el evento, los predictores fueron las variables explicativas indicadas arriba. Se empleó $p \leq 0.05$ para declarar factores estadísticamente significativos, con una potencia del 80%. Se rechaza la hipótesis nula H_0 de coeficiente beta $\beta = 0$, al ser el estimador estadísticamente significativo de cada variable explicativa, aceptando la hipótesis alternativa H_1 de coeficiente β distinto de 0. Se estimó Odds Ratio ajustado (aOR) y Hazard Ratio (HR) y sus correspondientes intervalos de confianza del 95% (IC95%).

6.5. TAMAÑO MUESTRAL

Basándome en un estudio previo (17), asumiendo que la proporción de trombocitopenia severa (<50.000 plaquetas/ml) en el grupo de pacientes que se curan es del 21,0% y que la proporción de trombocitopenia severa (<50.000 plaquetas/ml) en el grupo de pacientes que recae es del 72,0%, y que la proporción de unidades experimentales en el grupo de Referencia respecto al total es del 23,0%, será necesario incluir 9 pacientes con recaída y 29 pacientes con curación, totalizando 38 unidades experimentales en el estudio, para detectar diferencias en el contraste de la hipótesis nula $H_0:p_1=p_2$ mediante una prueba χ^2 bilateral para dos muestras independientes, con una potencia del 80,0% y un nivel de significación del 5% ($p=0,05$).

6.6. DIFICULTADES Y LIMITACIONES. POSIBLES SESGOS

Las limitaciones principales del trabajo son la recopilación de datos retrospectiva y el pequeño tamaño muestral al ser obtenidos de un Departamento de Salud con una población más reducida que otras cohortes, sin embargo, con una incidencia equiparable a otros.

Otra limitación es que no hubo un tiempo estandarizado de seguimiento tras el tratamiento para determinar el estado de recaída. Ésta suele acontecer entre los 6 meses y 12 meses del tratamiento, por lo que se debería haber excluido a los pacientes que no se siguieron durante este tiempo, como los incluidos en los últimos meses de 2021, que no han cumplido aún este periodo, lo puede resultar en una subestimación del número de recaídas.

Otro sesgo que puede aparecer es el de selección de la enfermedad, al estudiarse en su mayoría biopsias de médula ósea y no de otros tejidos, únicamente a un paciente se le practicó biopsia de bazo siendo ésta positiva. Una proporción de pacientes con leishmaniasis más localizadas digestivas o pulmonares, no se habrán incluido en el estudio.

Para minimizar el sesgo de información, no se buscó los pacientes únicamente con el código *Leishmaniasis visceral*, sino que también se revisaron las historias clínicas de los pacientes con el código común *Leishmania*, para identificar otros casos de LV mal clasificados.

6.7. ASPECTOS ÉTICOS

Tanto el Comité de Ética de la Investigación del Hospital de Sagunto como la Oficina de Investigación Responsable (OIR) de la UMH han revisado y aprobado el protocolo del estudio. Por otro lado, los datos de las historias clínicas se han incluido en la base de datos de forma anonimizada.

7. RESULTADOS

Desde enero de 2007 a enero de 2022, se valoraron inicialmente 84 pacientes con diagnóstico de LV, de los que 43 pacientes no se incluyeron en el estudio porque cumplían algún criterio de exclusión: 26 pacientes presentaban leishmaniasis cutánea, 3 pacientes presentaban leishmaniasis mucocutánea, 6 pacientes presentaron un cuadro clínico compatible con leishmaniasis visceral pero no presentaban positividad en ninguna de las pruebas diagnósticas recogidas en los criterios de inclusión y 8 pacientes se excluyeron por tener una edad menor de 14 años. Por tanto, fueron evaluables para el estudio 41 pacientes.

7.1. RESULTADOS SOCIODEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS Y ANALÍTICOS (Tabla 2 en Anexo I)

La edad media de los pacientes fue de 44 años (SD 24,3) y 32 fueron varones (78%). La mayoría, eran pacientes jubilados (29,3%) o estudiantes (22%) y de nacionalidad española (80,5%). Entre los pacientes extranjeros, la mitad procedía de África subsahariana (4 pacientes). Había tenido contacto habitual con perros el 50%.

Con respecto a la zona de residencia, hay una incidencia claramente mayor en el municipio de Sagunto donde se registran el 41,5% de los casos a lo largo de la serie. Hubo tres años que tuvieron más casos de LV: 2015 (17%), 2016 (19,5%) y 2019 (14,6%) $p < 0,001$ con una incidencia anual por 100.000 habitantes/año en 2015 de 4,5, en 2016 de 5,2 y en 2019 de 3,9; $p < 0,001$ (Gráfico 1), siendo en éstos mismos años, también el municipio de Sagunto donde más LV se registró, $p = 0,03$ (Gráfico 2 en Anexo II).

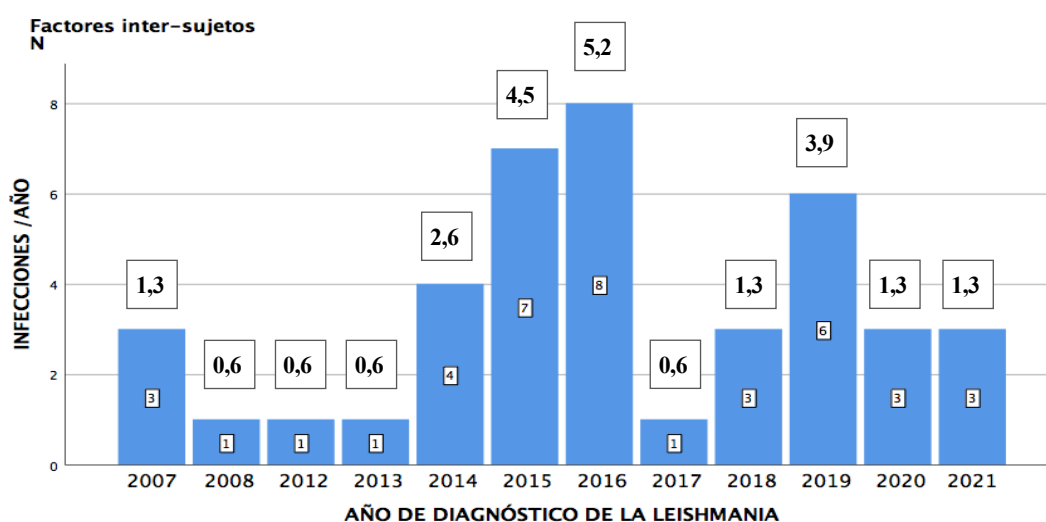


Gráfico 1. Infecciones/año de diagnóstico. $p = 0,001$. Sobre las barras, se presenta la incidencia anual por 100.000 habitantes/año.

En cuanto a factores de inmunodepresión, el 22% presentaba infección por VIH y el 19,5% otros factores de inmunosupresión como un 9,8% con terapia corticoidea o un 5% con tratamiento quimioterápico; destaca que la mayoría de pacientes, sin embargo, son inmunocompetentes (58,5%) (Tabla 2 en Anexo I).

La serología VIH se había realizado a todos los pacientes. En el grupo de pacientes VIH, el 88% presentaban al diagnóstico un valor absoluto de células CD4 menor de 200 cel/microL con una media de 93,45 a pesar de que el 55% estaba en tratamiento con TAR. Sin embargo, probablemente se explique porque un 77,7% no era adherente al mismo.

Las manifestaciones clínicas con mayor frecuencia fueron la fiebre (83%) (Gráfico 3), con una duración media de 23 días (SD 6), la esplenomegalia (78%) medida por ecografía abdominal con una media de 17 cm (SD 2), astenia (66%), sudoración nocturna (46%) y hepatomegalia (41%) y, con menor frecuencia (<30%): pérdida de peso, dolor abdominal o adenopatías.

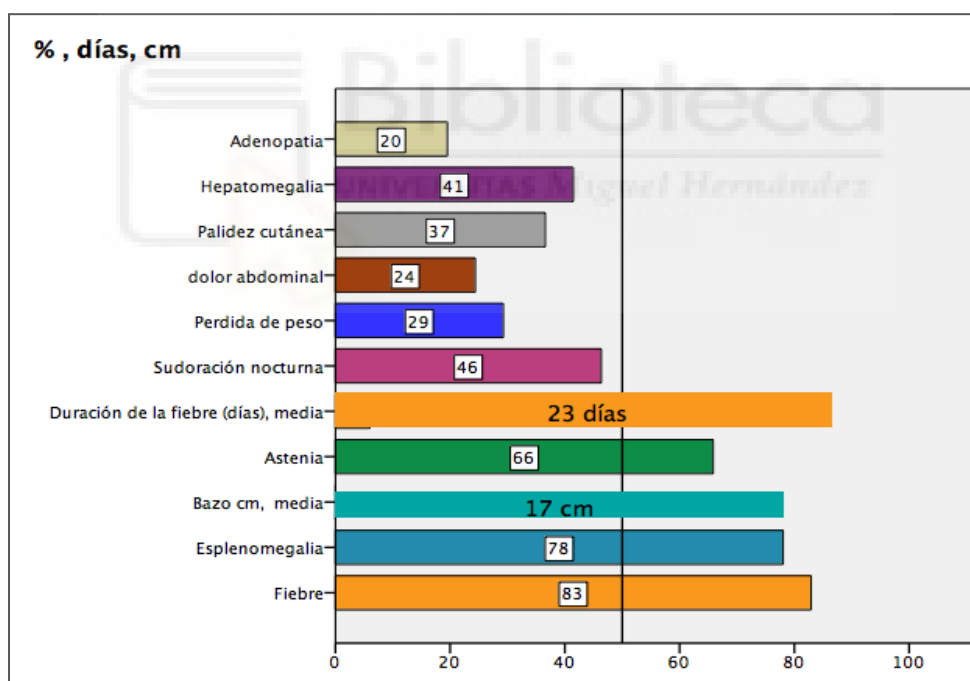


Gráfico 3. Síntomas y signos clínicos.

Los pacientes presentaban una mediana de hemoglobina de 14 g/dl, leucopenia de 3600 cel/ml de media, trombocitopenia con una mediana de 75000 cel/ml, una elevación de VSG (media 86, SD 4) y aumento de las transaminasas (GOT mediana 46 UI/L, RI 20-76; GPT 26 UI/L, RI 16-65) (Tabla 3). Destacó la elevación de la ferritina con una mediana de 857 ng/ml (RI 570-1928,5 ng/ml), más marcada en parte por seis pacientes que presentaron un síndrome hemofagocítico con hemofagocitosis en médula ósea y ferritina mayor o igual a

500 mg/L. De éstos, cinco se resolvieron con corticoides y uno con la administración de inmunoglobulinas intravenosas.

| | Media | Mediana | Desviación típica | Error típico de la media | Rango intercuartílico |
|----------------------------------|-------|---------|-------------------|--------------------------|-----------------------|
| Hemoglobina (g/dL) ^a | | 14,0 | | ,4 | 11-14 |
| Leucocitos (/ml) | 3600 | | 1731,5 | 270 | |
| Neutrófilos (/ml) | 2147 | | 1573,5 | 246 | |
| Linfocitos (/ml) | 1290 | | 888,7 | 139 | |
| Plaquetas (/ml) ^a | | 75000 | | 12249 | 30000-99500 |
| VSG | 60 | | 27,5 | 4 | |
| GOT (UI/L) ^a | | 46 | | 12 | 20-76 |
| GPT (UI/L) ^a | | 26 | | 13 | 16-65 |
| Triglicéridos (mg/mL) | 195 | | 85,86 | 14 | |
| Fibrinógeno (mg/mL) ^a | | 320 | | 28 | 300-384,5 |
| Ferritina (ng/mL) ^a | | 857 | | 521 | 570-1928,5 |
| Inmunoglobulina G (mg/mL) | 1788 | | 1161 | 209 | |
| Albúmina (g/dL) | 3,3 | | 1,03 | ,3 | |

Tabla 3. Datos de laboratorio. Media/ES. ^a distribución no normal, se ha realizado el test de Kruskal Wallis.

Todos los pacientes se trataron con anfotericina B liposomal intravenosa 3 mg/kg/dosis pero con diferentes pautas y dosis totales. La pauta más empleada en el Departamento de Salud de Sagunto fue anfotericina B liposomal a dosis de 3 mg/kg/día los días 1–5, 14 y 21, empleada en 23 pacientes, de los que 2 recayeron. Sólo un paciente fue tratado con una dosis <18mg/kg y no presentó recaída. El resto de pacientes recibieron dosis >30 mg/kg atendiendo a las recomendaciones de la mayoría de las guías de dar una dosis más alta (30 o 40 mg/kg) para pacientes coinfectados con *Leishmania* y VIH y para pacientes inmunodeprimidos (8-10), de éstos, 5 pacientes evolucionaron a la curación y 3 pacientes recayeron. La mayoría mostró buena tolerancia al tratamiento, presentando insuficiencia renal un 15% e hipopotasemia un 2%, como efectos adversos. Con el tratamiento remitió la fiebre en una media de 5 días y la estancia hospitalaria fue de 15 días de media (Tabla 4 en Anexo I).

En cuanto a la evolución de los pacientes tras el tratamiento, 33 pacientes del total se consideraron curados, un paciente falleció como consecuencia de la infección y se objetivaron 7 recaídas. Los pacientes que recayeron presentaron una mediana de 2 recaídas (RI 1-4) con un tiempo hasta ésta de 10,14 meses. La mayoría de ellos no se encontraba en tratamiento con profilaxis secundaria cuando tuvo lugar la recaída (62,5%). Del total de pacientes evaluados en el trabajo, solo un 19,5% cumplían criterios de profilaxis secundaria por ser todos VIH con cifras de CD4 menores de 200 cel/μL y se les pautó profilaxis secundaria con dosis de 4mg/kg de anfotericina B liposomal cada 21 días, hasta que los linfocitos CD4 fueron mayores de 200 cel/mL. La paciente que falleció fue una mujer de 84

años, sin infección VIH con caquexia, anemia, cardiopatía isquémica, HTA, hipocalcemia, hipopotasemia, que ingresó con fiebre, dolor abdominal, hemoglobina de 14g/dl, 2000/ml leucocitos, 21000/ml plaquetas, con una esplenomegalia de 15 cm, VSG 52, ferritina 570 ng/ml y IgG 600 mg/ml. Se le realizó aspirado de MO con visualización de amastigotes y se trató con anfotericina B liposomal IV 3-4 mg/kg/dosis los días 1º a 5º y 10º. La fiebre remitió al cuarto día, estuvo ingresada durante 29 días y finalmente, falleció.

7.2. CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES EN EL GRUPO DE RECAÍDA-MUERTE

Diversas características recogidas en el estudio resultaron significativamente diferentes en el grupo de pacientes que presentó el evento combinado de recaída-muerte tras el tratamiento inicial comparándolas con las del grupo de LV con buena evolución.

En el análisis univariante, los pacientes con recaída-muerte fueron de forma significativa más frecuentemente mujeres (OR 7,73; IC95% 1,31, 45,5, p=0,014), inmunodeprimidos (OR 2,9; IC95% 0,50, 16,67, p=0,03) y VIH (OR 7,73; IC95% 1,31-45,51, p=0,01) (Tabla 5).

| | | Recaída | | | | | | | |
|--------------------------------|-------------------|----------|--------------|----------|--------------|---------------|----------|----------|-----------|
| | | No | | Sí | | IC 95% | | | |
| | | Recuento | % de columna | Recuento | % de columna | OR | Inferior | Superior | p |
| Sexo | Mujer | 5 | 14,7% | 4 | 57,1% | 7,7 | 1,31 | 45,5 | 0,014 |
| | Varón | 29 | 85,3% | 3 | 42,9% | | | | |
| Edad media (desviación típica) | | 42,9 | 23,7 | 48,2 | 28,6 | | | | 0,65 b |
| Área de residencia | Otras | 27 | 58,8% | 5 | 53,1% | 1,16 | 0,24 | 5,56 | 0,47 |
| | SAGUNTO | 14 | 41,2% | 3 | 42,9% | | | | |
| Fecha de diagnóstico | 2007 | 2 | 5,9% | 1 | 14,3% | No calculable | | | 0,9 |
| | 2015 | 6 | 17,6% | 1 | 14,3% | | | | |
| | 2016 | 6 | 17,6% | 2 | 28,6% | | | | |
| | 2018 | 2 | 5,9% | 1 | 14,3% | | | | |
| | 2020 | 2 | 5,9% | 1 | 14,3% | | | | |
| | 2021 | 2 | 5,9% | 1 | 14,3% | | | | |
| Nacionalidad | Española | 26 | 76,5% | 7 | 100,0% | No calculable | | | 0,15 |
| | Otras | 8 | 23,5% | 0 | 0,0% | | | | |
| Contacto habitual con perros | No | 11 | 42,3% | 5 | 83,3% | 0,13 | 0,02 | 1,1 | 0,07 |
| | Sí | 15 | 57,7% | 1 | 16,7% | | | | |
| Fumador | No | 17 | 50,0% | 3 | 42,9% | 0,75 | 0,14 | 3,87 | 0,7 |
| | Sí | 17 | 50,0% | 4 | 57,1% | | | | |
| Diabetes Mellitus | No | 28 | 87,5% | 7 | 100,0% | 0 | | | 0,32 |
| | Sí | 4 | 12,5% | 0 | 0,0% | | | | |
| VIH+ | No | 29 | 85,3% | 3 | 42,9% | 7,73 | 1,31 | 45,51 | 0,014 |
| | Sí | 5 | 14,7% | 4 | 57,1% | | | | |
| Inmunodepresión | NINGUNA | 22 | 64,7% | 2 | 28,6% | 2,9 | 0,50 | 16,67 | 0,03 |
| | CIRROSIS HEPÁTICA | 1 | 2,9% | 0 | 0,0% | | | | |
| | CORTICOIDES | 3 | 8,8% | 1 | 14,3% | | | | |
| | LNH | 1 | 2,9% | 0 | 0,0% | | | | |
| | QUIMIOTERAPIA | 2 | 5,9% | 0 | 0,0% | | | | |
| | VIH | 5 | 14,7% | 4 | 57,1% | | | | |

Tabla 5. Características basales de leishmaniasis visceral.

a. X² para proporciones; b. T de Student para medias

Cuando se realizó la comparación de la clínica entre el grupo de recaída y el que no la presentaba (Tabla 6), se encontró que era más probable de forma significativa en los pacientes del primer grupo, el no presentar fiebre (OR 0,17; IC 0,03-1,10) y presentar dolor abdominal (OR 6,2; IC 1,1-35,36). También se encontraron diferencias en el tamaño del bazo, con un tamaño de bazo mayor en el grupo de recaída. En éstos, el bazo medía una media de 29 cm (SD 13) frente a una media de 15 cm en el grupo que no recaer (SD 0); $p=0,02$.

Se compararon también los parámetros analíticos al diagnóstico entre el grupo de recaída-muerte y el grupo que no la presentaba (Tabla 7 en Anexo I). Se encontraron diferencias significativas en la elevación de transaminasas, con mayor aumento en el grupo de recaída ($p=0,004$), y en la albúmina, con menores cifras de albúmina en este grupo ($p=0,012$). La hipoalbuminemia en este caso se podría explicar por un paciente VIH que presentaba un síndrome nefrótico por amiloidosis secundaria.

| | | Recaída | | | | | | | |
|--|----|----------|-----------------|----------|-----------------|------------|------------|--------------|-------------------------|
| | | No | | Sí | | IC 95% | | | |
| | | Recuento | % de la columna | Recuento | % de la columna | OR | Inferior | Superior | p (a) |
| Fiebre | No | 4 | 11,8% | 3 | 42,9% | 0,17 | 0,03 | 1,10 | 0,04 |
| | Sí | 30 | 88,2% | 4 | 57,1% | | | | |
| Duración de la fiebre (días), media (error standard) | | 26 | 7 | 13 | 4 | | | | 0,39 |
| Astenia | No | 13 | 38,2% | 1 | 14,3% | 3,71 | 0,40 | 34,4 | 0,22 |
| | Sí | 21 | 61,8% | 6 | 85,7% | | | | |
| Sudoración nocturna | No | 18 | 52,9% | 4 | 57,1% | 1,18 | 0,23 | 6,11 | 0,8 |
| | Sí | 16 | 47,1% | 3 | 42,9% | | | | |
| Pérdida de peso | No | 25 | 73,5% | 4 | 57,1% | 2,08 | 0,39 | 11,18 | 0,3 |
| | Sí | 9 | 26,5% | 3 | 42,9% | | | | |
| Dolor abdominal | No | 28 | 82,4% | 3 | 42,9% | 6,2 | 1,1 | 35,36 | 0,02^a |
| | Sí | 6 | 17,6% | 4 | 57,1% | | | | |
| Palidez cutánea | No | 23 | 67,6% | 3 | 42,9% | 2,8 | 0,53 | 14,67 | 0,21 |
| | Sí | 11 | 32,4% | 4 | 57,1% | | | | |
| Esplenomegalia | No | 7 | 20,6% | 2 | 28,6% | 1,54 | 0,24 | 9,7 | 0,6 |
| | Sí | 27 | 79,4% | 5 | 71,4% | | | | |
| Bazo cm, media (error standard) | | 15 | 0 | 29 | 13 | | | | 0,02 |
| Hepatomegalia | No | 22 | 64,7% | 2 | 28,6% | 4,58 | 0,77 | 27,3 | 0,07 |
| | Sí | 12 | 35,3% | 5 | 71,4% | | | | |
| Adenopatía | No | 27 | 79,4% | 6 | 85,7% | 1,55 | 0,16 | 15,12 | 0,7 |
| | Sí | 7 | 20,6% | 1 | 14,3% | | | | |

Tabla 6. Síntomas y signos sin y con recaídas de leishmaniasis visceral.

a. chi cuadrado en proporciones y T de Student en medias.

Evaluando las diferentes pautas de tratamiento empleadas, se observó que la pauta de tratamiento no influyó en el evento recaída-muerte, pero sí lo hizo de forma estadísticamente significativa la insuficiencia renal producida por la anfotericina B liposomal (37,5% vs. 9%; $p=0,01$) con una OR de 7,5 (IC95%:1,11-50,7, $p=0,01$) (Tabla 8).

| | | Recaída | | | | |
|---|---|------------------|---------------|--------------------|----------------|---|
| | | No | | Si | | |
| | | Recuento | % columna | Recuento | % columna | p |
| Tratamiento antiparasitario con diferentes dosis de Anfotericina B liposomal IV 3-4 mg/kg/dosis | Diaria 10 días | 0 | 0,0% | 1 | 12,5% | 0,11 |
| | Semanal hasta completar 30mg/kg | 1 | 3,0% | 0 | 0,0% | |
| | Diaria 5 días. | 1 | 3,0% | 0 | 0,0% | |
| | Pauta: días 1°-5°, 10°, 17°, 24°, 31° y 38° | 4 | 12,1% | 3 | 37,5% | |
| | Pauta: días 1°-5°, 10°. Pauta: días 1°-5°, 14°, 21° | 6 | 18,2% | 2 | 25,0% | |
| | | 21 | 63,6% | 2 | 25,0% | |
| Efectos secundarios atribuidos al tratamiento | No | 30 | 90,9% | 4 | 50,0% | OR 7,5, (IC95%: 1,11-50,67) 0,01 |
| | Insuficiencia renal | 3 | 9,1% | 3 | 37,5% | |
| | Hipopotasemia | 0 | 0,0% | 1 | 12,5% | |
| Evolución | Curación | 33 | 100,0% | 7 | 87,5% | OR 0 |
| | Muerte | 0 | 0,0% | 1 | 12,5% | 0,04 |
| | Pérdidas | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% | |
| N° Días hasta la primera recaída, Media DS | | 0 | | Media 5,6 | DS 3,5 | |
| N° Días hasta remisión de fiebre desde inicio de tratamiento antiparasitario, media DS | | Mediana 2 | RI 1-2 | Mediana 3,0 | RI 0-21 | 0,002 |
| Días de ingreso (media, DS) | | Media 14,9 | DS 9,8 | Media 14,9 | DS 9,8 | 0,4 |

Tabla 8. Tratamiento y resultados en pacientes con y sin recaída o muerte.

7.3. CARACTERÍSTICAS PREDICTIVAS DE RECAÍDA-MUERTE

Se realizaron curvas ROC para valorar si alguna de estas características tenía capacidad predictiva para detectar pacientes con mayor probabilidad de recaída, seleccionando la cifra de plaquetas, la cifra de hemoglobina, la fiebre y el tamaño del bazo en centímetros (Gráfico 4). Como resultado, en el caso de las plaquetas el área bajo la curva es de 0,75 de forma significativa ($p=0,04$), no siendo significativas las áreas bajo la curva de la fiebre, la hemoglobina, ni del tamaño del bazo (Tabla 9).

| Variables resultado de contraste | Área | Error típ. ^a | Sig. asintótica ^b | Intervalo de confianza asintótico al 95% | |
|----------------------------------|-------------|-------------------------|------------------------------|--|-----------------|
| | | | | Límite inferior | Límite superior |
| Hemoglobina (g/dL) | ,606 | ,121 | ,357 | ,369 | ,843 |
| Fiebre | ,688 | ,123 | ,103 | ,447 | ,928 |
| Bazo cm | ,383 | ,130 | ,308 | ,127 | ,638 |
| Plaquetas (/ml) | ,735 | ,108 | ,041 | ,523 | ,947 |

Tabla 9. Área bajo la curva de recaídas y muerte de LV por hemoglobina, fiebre, bazo en cm y plaquetas.

b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

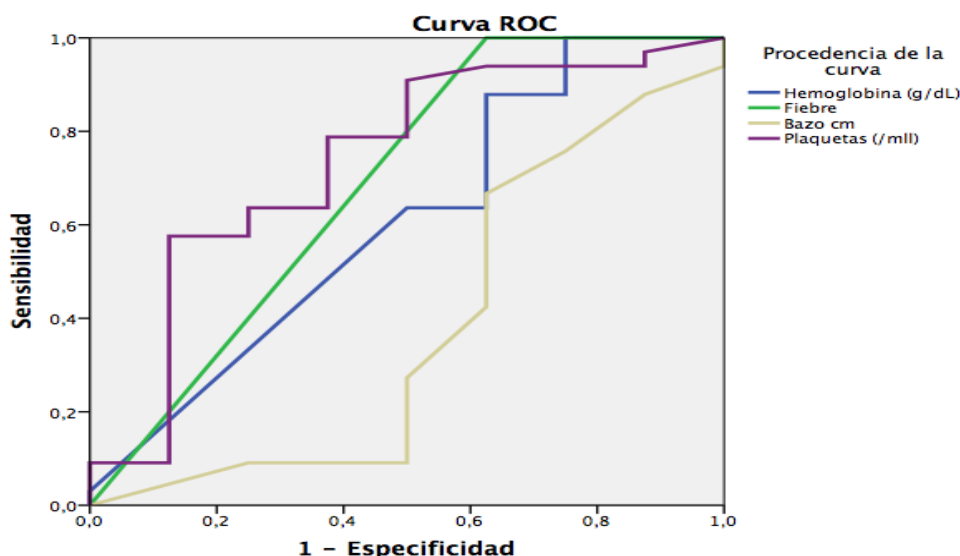


Gráfico 4. Representación de curvas ROC de recaídas y muerte de LV por hemoglobina, fiebre, bazo en cm y plaquetas.

Analizando la cifra de plaquetas que más explique las recaídas, se observa que 54.500 pl/ml es coordinada mayor de la curva ROC con una sensibilidad de 79% y una especificidad del 63% (Tabla 10 en Anexo I); por lo que se categoriza a los pacientes en aquellos con plaquetas mayores de 55.000 pl/ml y aquellos con plaquetas menores de 55.000 pl/ml.

| X ² p=0,04 | Recaída | | | | ORc (IC 95%) |
|-----------------------|----------|-----------------------|----------|-----------------------|-------------------------|
| | No | | Si | | |
| | Recuento | % del N de la columna | Recuento | % del N de la columna | |
| Plaquetas >55.000/ml | 25 | 75,8% | 3 | 37,5% | 1,00 |
| Plaquetas <55.000 ml | 8 | 24,2% | 5 | 62,5% | 5,2 (1,01-26,79) |

Tabla 11. Plaquetas mayores o menores de 55.000 pl/ml.

Los pacientes con plaquetas menores de 55.000 pl/ml presentaron 4 recaídas y una muerte (63%), mientras que entre los pacientes con una trombocitopenia >55.000 pl/ml hubo únicamente 3 recaídas (37%). Por lo tanto, la trombocitopenia menor de 55.000 presenta tiene más probabilidades de recaída que la trombocitopenia menos marcada (OR 5,2 IC95% 1,01-26,79, Tabla 11). Además, los pacientes con plaquetas mayores de 55.000 pl/ml tienen una media de duración de la enfermedad desde el primer día de fiebre de 73 días (DS 9,3) presentando una clínica más lenta hasta la recaída; y las plaquetas menores de 55.000 pl/ml, de 35 días (DS 8,5) presentando mucho antes la recaída, log Rank p=0,01, en las curvas de Kaplan-Meier (Gráfico 5), con una media de seguimiento hasta la primera recaída de 6 meses (DS 3,5 meses).

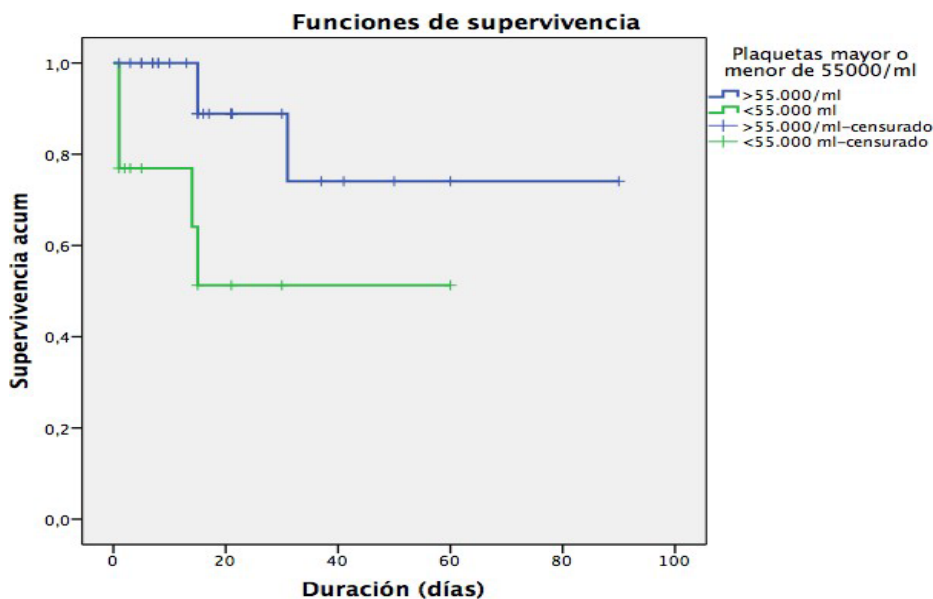


Gráfico 5. Recaídas y plaquetas mayores de 55.000 pl/ml y menores de 55.000 pl/ml.

Realizando un modelo de regresión logística binaria multivariable (Anexo IV) para estimar la asociación de la presencia de recaída en los pacientes con LV del estudio y las variables estudiadas, los resultados fueron los siguientes:

- Trombocitopenia menor de 55.000 plaquetas/ml: la probabilidad de recaída de los pacientes con menores cifras de plaquetas es de 17,9 veces mayor que el de los pacientes con plaquetas >55.000 pl/ml (aOR 17,9; IC95% 1,4-224, p=0,02).
- Inmunodepresión: la probabilidad de recaída fue significativamente mayor en pacientes con inmunodepresión (aOR=17,6; IC95% 1,4-221; p=0,02).
- Hepatomegalia: los pacientes con hepatomegalia también presentan mayor odd de recaída que los pacientes con bazo de tamaño normal (aOR=15,8; IC95% 1,1-222; p=0,04).

En un modelo de regresión de Cox multivariable (Anexo IV), cuyas covariables son las variables estudiadas, se han estudiado los efectos de cada una sobre el tiempo en días desde el inicio de la fiebre hasta el momento de la aparición de recaída, con una media de seguimiento hasta la primera recaída de 6 meses (DS 3,5 meses):

- Los pacientes con plaquetas menores de 55.000 pl/ml tienen un Hazard ratio (HR) de 22,7 (IC95% 2,1-241,6, p=0,01).
- Los pacientes inmunocompetentes tienen un 94% menos recaída que los pacientes inmunodeprimidos (HR 0,06; IC95% 0,006-0,66; p=0,02).

En ambos modelos, no presentaban factor de interacción ni factor de confusión tampoco en este caso, la trombocitopenia > o <50.000/ml y la inmunosupresión; no siendo explicadas y

no entrando en la ecuación: la edad, ser fumador, tener diabetes mellitus, presentar pérdida de peso, esplenomegalia, hepatomegalia, o adenopatías, tampoco las cifras de hemoglobina, leucocitos, linfocitos, VSG, GOT, GPT, ferritina o Inmunoglobulina G, ni días de ingreso.

7.4. ESTUDIO DE VALIDEZ DE TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS MICROBIOLÓGICAS

La sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas utilizadas se recogen en la Tabla 12 (Anexo I), utilizando como estándar de referencia la visualización de amastigotes en médula ósea. Se realizó PCR en 16 pacientes en médula ósea y en un paciente en tejido de biopsia esplénica. La sensibilidad diagnóstica de la PCR en médula ósea o en tejido alcanzó un 55% en esta serie, con una especificidad del 60% (Tabla 12 en Anexo I), siendo el área bajo la curva muy buena pero no estadísticamente significativa (Gráfico 5, Tabla 13 en Anexo I). La serología, realizada a 26 pacientes, presentó también una muy baja sensibilidad (40%) y especificidad (17%).

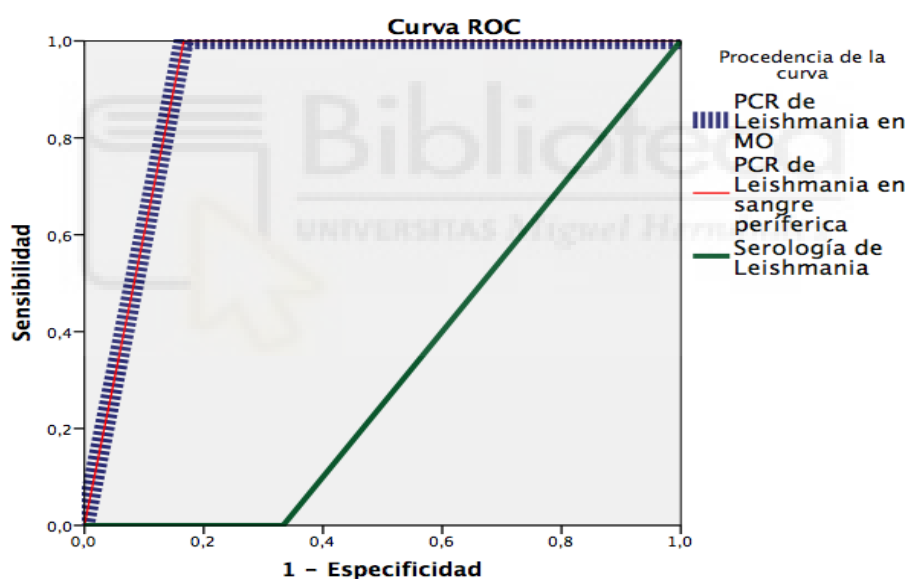


Gráfico 5. Representación de curvas ROC de las pruebas diagnósticas en comparación con el *gold standart* visualización de amastigotes en médula ósea.

En cambio, la PCR en sangre periférica, aunque sólo se ha realizado en 7 pacientes, sí que presentó una sensibilidad y especificidad elevadas (87% y 100%, respectivamente), pero un valor predictivo negativo del 50%; de nuevo el área bajo la curva es buena, pero no estadísticamente significativo (Tabla 13 en Anexo I, Gráfico 5). Se objetiva la tendencia en el periodo del inicio de la serie, que en muchos pacientes al observar amastigotes en MO no se realizaron más pruebas diagnósticas, al contrario, en los últimos años si el paciente presentaba PCR+ en sangre periférica no se realizó aspirado de MO.

8. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La incidencia de LV en el Departamento de Salud de Sagunto fue en los años 2015, 2016 y 2019, comparable a las más altas de España. En 2015, considerado como año de interés endémico, la incidencia más alta por 100.000 habitantes en España según RENAVE (9) se registró en Baleares, siendo de 3,28 casos por 100.000 habitantes, seguida por Madrid (1,03) y La Rioja (0,64); siendo de 4,5 en el Departamento de Sagunto. En 2016, fue similar en Baleares (3,15 casos por 100.000 habitantes), seguida de Madrid (1,02) y Castilla La Mancha (0,88), siendo en Sagunto, de 5,2, de nuevo una de las de más altas de España.

Los pacientes de esta serie fueron la mayoría varones, españoles, con una edad media de 44 años y residían la mayoría en el municipio de Sagunto. Fueron un 22% VIH, un 19,5% inmunodeprimidos no VIH y un 58,5% inmunocompetentes.

Como en la mayoría de cohortes publicadas a nivel mundial (4,11-15), nuestra serie presenta una dominancia de varones jóvenes. Destaca el aumento de la proporción de pacientes con LV e inmunodepresión, en particular, el mayor incremento de los pacientes no VIH; hubo casi la misma proporción de inmunodeprimidos no VIH (19,5%) que de VIH (22%). Esta tendencia también está presente en otras series actuales, como las antes mencionadas de cohortes de Madrid (11) y Murcia (13). Los pacientes inmigrantes representaron en nuestra serie el 19,5%, lo que concuerda con las series publicadas de otras zonas de la cuenca mediterránea (17,5% en la cohorte murciana) y subraya el carácter endémico de la LV en estas zonas.

La presentación clínica y las alteraciones analíticas en nuestros pacientes fueron las habituales: fiebre con una duración media de 23 días, astenia, sudoración nocturna, esplenomegalia, con una medida media de 17 cm, y hepatomegalia; citopenias, aumento de VSG, aumento de transaminasas y elevación de ferritina. Seis pacientes cumplieron criterios de síndrome de linfocitosis hemofagocítica, asociado con una alta mortalidad, sin embargo, en este trabajo no se observó mayor riesgo de recaída en éstos, con buena respuesta al tratamiento de LV. Realizando una revisión de la literatura se ha encontrado 23 casos de informes de LHH relacionado con Leishmaniasis en adultos durante el período de 7 años (2014-2020) (23) y en el brote registrado en Madrid cumplía criterios de LHH un 38% (11).

El tratamiento de elección aprobado por la OMS y la FDA para LV inducida por *L. infantum* en pacientes adultos inmunocompetentes es anfotericina B liposomal a dosis de 3 mg/kg/día los días 1–5, 14 y 21 (18–21 mg/kg en total) (1,3,7). Esta pauta fue la más empleada en nuestro Departamento de Salud (31 pacientes, de los que 4 recayeron), solo un paciente recibió una dosis menor de 18 mg/kg y el resto de pacientes recibieron dosis superiores a 30 mg/kg. En este estudio las diferentes pautas y dosis empleadas no influyeron en la evolución a recaída, sin embargo, sí que se observó una tasa alta de insuficiencia renal secundaria al tratamiento, que fue del 15%. Por lo tanto, dado que la nefrotoxicidad de la anfotericina B liposomal es más frecuente con dosis más altas, debería evaluarse en futuros estudios si en pacientes que no presenten factores predictivos de recaída, el tratamiento con menores dosis es más apropiado.

En cuanto a pruebas diagnósticas, la PCR en otros trabajos es más sensible y específica que en esta serie tanto en aspirado de MO como en sangre periférica; se ha reportado una sensibilidad del 96% para el aspirado de MO y del 98% para muestras de sangre periférica, con una especificidad del 100%. En este trabajo, si bien la PCR en sangre periférica sí que ha obtenido datos semejantes con una sensibilidad del 83% y una especificidad del 100%, la PCR en el aspirado de MO no se puede equiparar y no sería una buena prueba diagnóstica, ya que presentó una sensibilidad del 55% y una especificidad del 60%. La serología sí que coincide con la literatura publicada en su poca sensibilidad diagnóstica, que en nuestro medio fue especialmente baja, del 40%, y una especificidad del 17%. Esto podría estar en relación con el porcentaje de pacientes inmunodeprimido y de pacientes VIH en la muestra. Las pruebas serológicas son claramente menos fiables en estos pacientes, más de un 40% de los pacientes coinfectados con LV-VIH pueden ser negativos por serología (23).

La mortalidad suele ser del 5 al 15% con tratamiento y la recaída, suele darse en el 16% al 25% de los pacientes con LV (6). En este trabajo la mortalidad es mucho más baja, del 2,4%, mientras que la recaída es similar a lo publicado, en el 17%, siendo más frecuente en este grupo: el sexo femenino, la inmunodepresión incluyendo el VIH, la presencia de fiebre, el dolor abdominal, la esplenomegalia superior a 17 cm, y la trombocitopenia.

Los factores de riesgo de recaída parecen variar de un país a otro, anteriormente se han expuesto algunos de los reportados en series de India o Brasil, ya que no se dispone de datos para comparar en España o a nivel europeo. En nuestros resultados, los factores predictivos de recaída son la trombocitopenia menor de 55.000 plaquetas/ml, la inmunodepresión y la hepatomegalia. Con las limitaciones que supone el carácter retrospectivo del estudio, se

podrían emplear estos resultados para la identificación de los pacientes que tienen mayor riesgo de recaída y ofrecerles un seguimiento más estrecho tras el tratamiento inicial y, de forma individualizada, valorar la necesidad de profilaxis secundaria en pacientes seleccionados.

8.1. APLICABILIDAD Y UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS O PREVISIBLES

Los resultados obtenidos son útiles en el Departamento de Salud de Sagunto para sospechar e incluir la LV en el diagnóstico diferencial de aquellos pacientes que se presenten con un cuadro clínico inespecífico de fiebre, pérdida de peso y citopenias. Para confirmar el diagnóstico, debemos conocer la sensibilidad, especificidad, VPN y VPP de las pruebas en nuestro medio, y saberlas interpretar mejor, pues los falsos negativos nos pueden llevar a no tratar enfermos, y los falsos positivos pueden aumentar los riesgos de un tratamiento innecesario, como la insuficiencia renal por anfotericina B liposomal. La prueba de PCR en SP tiene una exactitud muy buena y podría sustituir a la aspiración o biopsia de MO.

Una vez realizado el diagnóstico, serán útiles para saber qué pronóstico tienen aquellos pacientes tratados y si tienen mayor probabilidad de recaída. Con ellos, podrían realizarse futuros estudios prospectivos aleatorizados en los que se evalúe si es efectivo pautar profilaxis secundaria, no sólo en las indicaciones actuales (VIH con CD4 <200 cel/microL) sino también en los pacientes que presenten estos factores, para reducir la recaída.

9. CONCLUSIONES

Los pacientes con leishmaniasis visceral en el Departamento de Salud de Sagunto en el periodo 2007-2022 coinciden de forma global en sus características clínicas y analíticas con las de otras series publicadas en España, donde destaca un aumento de pacientes inmunodeprimidos, en concreto, no VIH. Hubo mayor incidencia anual de LV en los años 2015, 2016 y 2019. En cuanto al diagnóstico, la PCR en sangre periférica es la prueba diagnóstica que mejores datos de sensibilidad y especificidad tiene en nuestro medio; no sucede lo mismo con la PCR en médula ósea o la serología. La mortalidad fue baja, pero tenemos que evitar la recaída tras el tratamiento inicial, que se dio en el 17% y para ello, es importante reconocer que la trombocitopenia menor de 55.000 plaquetas/ml, la inmunodepresión incluido el VIH y la hepatomegalia son factores que se asocian a mayor probabilidad de recaída.

BIBLIOGRAFÍA

1. Global leishmaniasis surveillance: 2019–2020, a baseline for the 2030 roadmap. Geneva: World Health Organization. 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/who-wer9635-401-419>.
2. GBD 2015 DALYs and HALE Collaborators. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 315 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE), 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 388:1603.
3. Bern C. Visceral leishmaniasis: Clinical manifestations and diagnosis. Visceral leishmaniasis: Treatment. 2022. UpToDate.
4. Fletcher K, Issa R, Lockwood DNJ. Visceral Leishmaniasis and Immunocompromise as a Risk Factor for the Development of Visceral Leishmaniasis: A Changing Pattern at The Hospital for Tropical Diseases, London. *PLOS ONE*. 2015; 0(4):e0121418.
5. van Griensven J, Carrillo E, López-Vélez R, Lynen L, Moreno J. Leishmaniasis in immunosuppressed individuals. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20(4):286-299.
6. Álvarez-Martínez M J, Belhassen-García M, Flores-Chavez MD, Pérez de Ayala A, Sulleiro E. 2020. 69. Diagnóstico de parasitosis importadas en España. Álvarez-Martínez M J (coordinadora). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2020.
7. Aronson N, Herwaldt BL, Libman M, Pearson R, Lopez-Velez R, Weina P, et al. Diagnosis and treatment of leishmaniasis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). *Am J Trop Med Hyg*. 2017;96:24–45.
8. Ficha técnica ambisome liposomal 50 mg polvo para dispersión para perfusión. Agencia española del medicamento. <https://cima.aemps.es/cima/dochtml>.
9. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica Instituto de Salud Carlos III Ministerio de Ciencia e Innovación. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. informe anual. años 2017-2018.
10. M. Sáez Barberá, M. Catalán Ortega, Z. Karroud, Á. Nicolás, M. Fernández, S. Morro y A. Belda. Incidencia de leishmaniasis visceral en un hospital comarcal del levante español en los últimos once años: 2007-2017. *Rev Clin Esp*. 2020;220(Espec Congr):304; I-013

11. Horrillo L, Castro A, Matía B. *et al.* Clinical aspects of visceral leishmaniasis caused by *L. infantum* in adults. Ten years of experience of the largest outbreak in Europe: what have we learned?. *Parasites Vectors* 12, 359 (2019).
12. Arce A, Estirado A, Ordobas M, Sevilla S, García N, Moratilla L, et al. Reemergence of leishmaniasis in Spain: Community outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill.*, 18 (2013), pp. 20546
13. Hernández-Torres A, García-Vázquez E, Bravo-Urbieta J, Bernal Morell E, Alcaraz-Vidal B, Sánchez-Serrano A et al. La leishmaniasis visceral en la región de Murcia: estudio multicéntrico 1997-2013. *Infectio.* 2015;19(1):24-30.
14. Abongomera C, van Henten S, et als. Prognostic factors for mortality among patients with visceral leishmaniasis in East Africa: Systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020;14(5):e0008319.
15. Burza S, Sinha PK, Mahajan R, Lima MA, Mitra G, et al. (2014) Risk Factors for Visceral Leishmaniasis Relapse in Immunocompetent Patients following Treatment with 20 mg/kg Liposomal Amphotericin B (Ambisome) in Bihar, India. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 8(1): e2536.
16. Simão JC, Victória C, Fortaleza C. Predictors of relapse of visceral leishmaniasis in inner São Paulo State, Brazil. *International Journal of Infectious Diseases*, 2020; 95: 44-49. ISSN 1201-9712.
17. Thais Almeida Marques da Silvaa, Maria Helena Franco Moraisc, Helen Maria de Oliveira Ramos Lopesc et als. Prognostic factors associated with death from visceral leishmaniasis: a case-control study in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2020; 00: 1–9.
18. Memoria 2020. Departamento de Salud de Sagunto. Gerencia. <https://sagunto.san.gva.es/documents/7967159/7992982/Memoria+2020.pdf>
19. WHO/Regional Office for Europe. Manual on case management and surveillance of the leishmaniases in the WHO European Region. 2017.
20. Jeronimo SMB, de Queiroz Sousa A, Pearson RD. Leishmaniasis. In: *Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice*, 3rd ed, Guerrant RL, Walker DH, Weller PF (Eds), Saunders Elsevier, Philadelphia 2011. p.696.
21. Ramos JM, Clavijo A, Moral L, Gavilan C, Salvador T, González de Dios J. Características clínicas y epidemiológicas de la leishmaniasis visceral en niños de la provincia de Alicante, España. *Pediatr Int Child Health.* 2018;38:203–8.

22. Davidson RN, Di Martino L, Gradoni L, Giacchino R, Gaeta GB, Pempinello R, et al. Short-course treatment of visceral leishmaniasis with liposomal amphotericin B (AmBisome). *Clin Infect Dis*. 1996;22:938–43.
23. Neycheva S., Oparanov B., Kamburova A., et al. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Triggered by Leishmaniasis: A Case Report and Literature Review *Am J Case Rep*. 2021; 22: e933012-1–e933012-6.
24. Raman Mahajan, Pradeep Das, Petros Isaakidis, Combination Treatment for Visceral Leishmaniasis Patients Coinfected with Human Immunodeficiency Virus in India. *Clin Infect Dis*. 2015; 61(8): 1255–1262.
25. Mary C Lamouroux D, Dunan S, Quilici M. Western blot analysis of antibodies to *Leishmania infantum* antigens: potential of the 14-kD and 16-kD antigens for diagnosis and epidemiologic purposes. *Am J Trop Med Hyg*. 1992; 47: 764-771.
26. Davidson RN. Leishmaniasis. In: Cohen J MB, FRCP, FRCPE, FRCPath, FMedSci, PowderlyWG MD, FRCPI, Opal SM MD, editors. *Infectious Diseases* [Internet]. 2017. p. 1059-1064.e1. Available from: <https://www.clinicalkey.es/#!/content/3-s2.0-B9780702062858001234>
27. van Griensven J, Diro E. Visceral Leishmaniasis: Recent Advances in Diagnostics and Treatment Regimens. *Infect Dis Clin North Am*. 2019;33(1):79–99.

ANEXO I: TABLAS

TABLA 1. Variables estudiadas

| | VARIABLE | DEFINICIÓN | TIPO DE VARIABLE | INDICADOR | UNIDAD DE MEDICIÓN |
|-----------------------------------|------------------------------------|---|------------------------|-------------------|--------------------|
| Características sociodemográficas | Sexo | | Cualitativa dicotómica | Hombre Mujer | |
| | Edad | Edad al diagnóstico | Cuantitativa | | años |
| | Área de residencia | Residencia registrada en SIP en los 50 municipios del área de Salud 4 | Cualitativa | | |
| | Fecha de diagnóstico | Fecha del primer diagnóstico desde 2007 a 2022 | Cuantitativa discreta | | años |
| | Profesión | Reportada en historia clínica | Cualitativa | | |
| | Nacionalidad española | Reportada en SIP | Cualitativa categórica | Española Otras | |
| | Nacionalidad diferente de española | Reportada en SIP | Cualitativa | | |
| | Contacto habitual con perros | Reportado en historia clínica, siendo dueño de perro o contacto habitual (de familiares, etc) tanto domésticos como no. | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | Fumador | Independientemente del número de cigarrillos | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | Diabetes Mellitus | Definida según criterios diagnósticos ADA 2021. | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | VIH+ | Diagnosticado por ELISA y confirmado por Western-blot. | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | VIH CD4+ | Número absoluto de linfocitos T CD4+ al diagnóstico | Cuantitativa | | |
| | VIH TAR | Si estaban siendo tratados con cualquier régimen de terapia antirretroviral | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | Adherencia a TAR | Adherencia en el momento del | Cualitativa dicotómica | Si No | |

| | | | | | |
|--------------------------|---------------------------------|---|------------------------|---|-------------|
| Características clínicas | | diagnóstico de LV | | | |
| | Serología VIH | | Cualitativa | Positiva Negativa No realizada | |
| | Inmunodepresión | Cualquier antecedente en la historia clínica que implique inmunodepresión. Se consideró la terapia corticoidea cuando más de 5 mg al día de prednisona o equivalente más de 30 días. Se consideró desnutrición como la pérdida del 30% del índice de masa corporal (IMC). | Cualitativa | Ninguna VIH Quimioterapia Corticoides Cirrosis hepática Tumor sólido Neoplasias hematológicas etc | |
| | Astenia | | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | Sudoración nocturna | | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | Pérdida de peso | Cualquier pérdida de peso notificada en la historia clínica. | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | Dolor abdominal | | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | | | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | Fiebre | Definida como T>37,5°C. | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | Duración de la fiebre | | Cuantitativa | | días |
| | Esplenomegalia | Definida como palpación del bazo por debajo del borde costal izquierdo. | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| | Medida de la esplenomegalia | Bazo medido por ecografía en su diámetro mayor, cuando había esplenomegalia considerada >12 cm. | Cuantitativa | | Centímetros |
| | Hepatomegalia | Definida como palpación del hígado por debajo del borde costal derecho | Cualitativa dicotómica | Si No | |
| Adenopatías | Consideradas cuando medían >1cm | Cualitativa dicotómica | Si No | | |

| | Síndrome hemofagocítico | | Cualitativa | Si No | |
|-----------------------------------|---|--|------------------------|---|-------------|
| Características analíticas | Hemoglobina | VN: >12g/dl en mujeres >13 g/dl en hombres | Cuantitativa | | g/dl |
| | Leucocitos | VN: 4500-11000 cél/μL | Cuantitativa | | Células/ μL |
| | Neutrófilos | VN: 2000-7500cél/μL | Cuantitativa | | Células/ μL |
| | Linfocitos | VN: 1000-4800 cél/μL | Cuantitativa | | Células/ μL |
| | Plaquetas | VN: 150.0000-400.000 cél/μL | Cuantitativa | | Células/ μL |
| | VSG | VN: <20 mm/h en mujeres <15 mm/h en hombres | Cuantitativa | | mm/h |
| | GOT | VN: 0-37 UI/L | Cuantitativa | | UI/L |
| | GPT | VN: 0-41 UI/L | Cuantitativa | | UI/L |
| | Triglicéridos | VN: <150 mg/dl | Cuantitativa | | mg/mL |
| | Fibrinógeno | VN: 150-450 mg/mL | Cuantitativa | | mg/mL |
| | Ferritina | VN: 12-300 ng/mL | Cuantitativa | | ng/mL |
| | Inmunoglobulina G | VN: 650-1600 mg/mL | Cuantitativa | | mg/mL |
| | Albúmina | VN: 3,4-5,4 g/dL | Cuantitativa | | g/dL |
| Métodos diagnósticos | Visualización de amastigotes en médula ósea | | Cualitativa dicotómica | Positivo Negativo | |
| | PCR en médula ósea | | Cualitativa dicotómica | Positivo Negativo | |
| | PCR en sangre periférica | | Cualitativa dicotómica | Positivo Negativo | |
| | Serología de Leishmania | | Cualitativa dicotómica | Positivo Negativo | |
| Tratamiento y respuesta | Pautas de tratamiento con amfotericina B liposomal intravenosa. | | Cualitativa | 3-4 mg/kg/dosis 10 días 3-4 mg/kg/dosis semanal hasta completar 30mg/kg 3-4 mg/kg/dosis. Pauta: 5 días 3-4 mg/kg/dosis. Pauta: días 1º-5º, 10º. 3-4 mg/kg/dosis. Pauta: días 1º- | |

| | | | | | |
|---|---|------------------------|--|--|-------|
| | | | | 5º, 14º, 21º 3-4 mg/kg/dosis. Pauta: días 1-5, 10, 17,24 ,31 y 38 | |
| Efectos secundarios atribuidos al tratamiento | | Cualitativa | No Hipopotasemia Insuficiencia renal | | |
| Duración hasta remisión de fiebre | Días desde el inicio del tratamiento antiparasitario | Cuantitativa | | | días |
| Días de ingreso | | Cuantitativa | | | días |
| Recaída | Reaparición de clínica sugestiva no justificada por otra causa con o sin datos de confirmación microbiológica, pero con respuesta a nuevo curso de tratamiento. | Cualitativa dicotómica | Si No | | |
| Número de recaídas | | Cuantitativa | | | |
| Tiempo hasta la recaída | Tiempo desde el final del tratamiento hasta el diagnóstico de recaída | Cuantitativa | | | meses |
| Profilaxis secundaria | Si estaban siendo tratados de forma profiláctica cuando presentaron la recaída | Cualitativa dicotómica | Si No | | |
| Muerte | Aquella que ocurra en un paciente con datos clínicos y microbiológicos de infección activa por Leishmania. | Cualitativa dicotómica | Si No | | |

*VN: valores normales

TABLA 2. Características basales de los pacientes con leishmaniasis visceral.

| | | Recuento | % del N de la columna |
|------------------------------------|------------------------|--------------|-----------------------|
| Sexo | Mujer | 9 | 22,0% |
| | Varón | 32 | 78,0% |
| Edad media (desviación estándar) | | 43,8 | 24,3 |
| Área de residencia | ALFARA | 1 | 2,4% |
| | ALMENARA | 1 | 2,4% |
| | BENIFAIRO DE LES VALLS | 2 | 4,9% |
| | CANET | 1 | 2,4% |
| | CASTELLNOVO | 1 | 2,4% |
| | ESTIVELLA | 1 | 2,4% |
| | FAURA | 3 | 7,3% |
| | GILET | 2 | 4,9% |
| | JERICA | 1 | 2,4% |
| | MONCADA | 1 | 2,4% |
| | MONTAN | 1 | 2,4% |
| | PETRES | 1 | 2,4% |
| | PUERTO SAGUNTO | 4 | 9,8% |
| | PUZOL | 2 | 4,9% |
| | QUARTELL | 2 | 4,9% |
| SAGUNTO | 17 | 41,5% | |
| Fecha de diagnóstico | 2007 | 3 | 7,3% |
| | 2008 | 1 | 2,4% |
| | 2012 | 1 | 2,4% |
| | 2013 | 1 | 2,4% |
| | 2014 | 4 | 9,8% |
| | 2015 | 7 | 17,1% |
| | 2016 | 8 | 19,5% |
| | 2017 | 1 | 2,4% |
| | 2018 | 3 | 7,3% |
| | 2019 | 6 | 14,6% |
| | 2020 | 3 | 7,3% |
| 2021 | 3 | 7,3% | |
| Profesión | ADMINISTRATIVO | 1 | 2,4% |
| | AEROPUERTO | 1 | 2,4% |
| | AGRICULTOR/TEMPORERO | 4 | 9,7% |
| | ALMACEN | 1 | 2,4% |
| | CAMARERO | 4 | 9,7% |
| | CAMIONERO | 1 | 2,4% |
| | DESEMPLEADO | 5 | 12,2% |
| | ESTUDIANTE | 9 | 22,0% |
| | JUBILADO | 12 | 29,3% |
| | MECANICO | 3 | 7,3% |
| Nacionalidad española | Española | 33 | 80,5% |
| | Otras | 8 | 19,5% |
| Nacionalidad diferente de española | COLOMBIA | 1 | 2,4% |
| | GHANA | 1 | 2,4% |
| | LITUANIA | 1 | 2,4% |
| | MALI | 1 | 2,4% |
| | MAURITANIA | 1 | 2,4% |
| | RUMANIA | 2 | 4,8% |
| | SENEGAL | 1 | 2,4% |
| Contacto habitual con perros | No | 16 | 50,0% |
| | Sí | 16 | 50,0% |
| Fumador | No | 20 | 48,8% |
| | Sí | 21 | 51,2% |
| Diabetes Mellitus | No | 35 | 89,7% |
| | Sí | 4 | 10,3% |
| VIH+ | No | 32 | 78,0% |

| | | | |
|------------------|---------------------------|-----------|--------------|
| | Sí | 9 | 22,0% |
| VIH CD4+ | <200 cél/microL | 8 | 88,8% |
| | >200 cél(microL | 1 | 11,1% |
| | Media (desviación típica) | 93,45 | 110,78 |
| VIH TAR | No | 4 | 55,5% |
| | Sí | 4 | 44,4% |
| Adherencia a TAR | No | 7 | 77,7% |
| | Sí | 2 | 22,2% |
| Serología VIH | No | 3 | 7,3% |
| | Sí | 38 | 92,7% |
| Inmunodepresión | NINGUNA | 24 | 58,5% |
| | CIRROSIS HEPÁTICA | 1 | 2,4% |
| | CORTICOIDES | 4 | 9,8% |
| | LNH | 1 | 2,4% |
| | QUIMIOTERAPIA | 2 | 4,9% |
| | VIH | 9 | 22,0% |

TABLA 4. Tratamiento y evolución de los pacientes con LV.

| | Recuento | % del N de la columna | Media o mediana | DS o RI |
|--|-------------------------------------|-----------------------|-----------------|---------|
| Tratamiento antiparasitario con Anfotericina B liposomal IV 3-4 mg/kg/dosis | Durante 10 días | 1 | 2,4% | |
| | Semanal hasta completar 30mg/kg | 1 | 2,4% | |
| | Durante 5 días | 1 | 2,4% | |
| | Pauta: días 1-5, 10, 17,24 ,31 y 38 | 7 | 17,1% | |
| | Pauta: días 1º-5º, 10º. | 8 | 19,5% | |
| | Pauta: días 1º-5º, 14º, 21º | 23 | 56,1% | |
| Efectos secundarios atribuidos al tratamiento | No | 34 | 82,9% | |
| | Insuficiencia renal | 6 | 14,6% | |
| | Hipopotasemia | 1 | 2,4% | |
| Evolución | Curación | 33 | 80,5% | |
| | Recaídas | 7 | 17,1% | |
| | Muerte | 1 | 2,4% | |
| | Pérdidas | 0 | 0% | |
| Nº Días hasta remisión de fiebre desde inicio de tratamiento antiparasitario, mediana, RI. | | | 2,0 | 1-6 |
| Nº Días de ingreso, media ES | | | 15 | 1 |
| Recaídas | No | 34 | 82,9% | |
| | Sí | 7 | 17,1% | |
| Número de recaídas, mediana, RI | | | 2,0 | 1-4 |
| Tiempo hasta la recaída (meses), media, DS | | | 10,14 | 3,23 |
| Profilaxis secundaria en todos | No | 33 | 80,49% | |
| | Sí | 8 | 19,51% | |

| | | | | | |
|----------------------------------|----|---|-------|--|--|
| Profilaxis secundaria en recaída | No | 5 | 62,5% | | |
| | Sí | 3 | 37,5% | | |

TABLA 7. Datos de laboratorio.

| | Recaída | N | Media | Error típ. de la media | Sig. (bilateral) |
|---------------------------|---------|----|---------|------------------------|------------------|
| Hemoglobina (g/dL) | No | 34 | 12,7 | ,3 | 0,09 |
| | Sí | 7 | 11,1 | 1,3 | |
| Leucocitos (/mll) | No | 34 | 3679,4 | 301,1 | 0,52 |
| | Sí | 7 | 3214,3 | 635,6 | |
| Neutrófilos (/mll) | No | 34 | 2276,8 | 281,0 | 0,24 |
| | Sí | 7 | 1514,3 | 409,7 | |
| Linfocitos (/mll) | No | 34 | 1364,7 | 154,6 | 0,24 |
| | Sí | 7 | 928,6 | 295,8 | |
| Plaquetas (/mll) | No | 34 | 97676,5 | 13985,4 | 0,29 |
| | Sí | 7 | 63000,0 | 21627,8 | |
| VSG | No | 32 | 60,2 | 4,6 | 0,9 |
| | Sí | 7 | 61,1 | 13,1 | |
| GOT (UI/L) | No | 34 | 77,9 | 13,8 | 0,004 |
| | Sí | 7 | 29,9 | 7,8 | |
| GPT (UI/L) | No | 34 | 63,5 | 15,1 | 0,014 |
| | Sí | 7 | 20,3 | 7,6 | |
| Triglicéridos (mg/mL) | No | 32 | 194,3 | 14,8 | 0,9 |
| | Sí | 7 | 199,0 | 42,2 | |
| Fibrinógeno (mg/mL) | No | 30 | 395,6 | 31,8 | 0,3 |
| | Sí | 6 | 317,7 | 49,9 | |
| Ferritina (ng/mL) | No | 33 | 2316,8 | 624,5 | 0,3 |
| | Sí | 7 | 1087,9 | 260,5 | |
| Inmunoglobulina G (mg/mL) | No | 29 | 1800,0 | 224,9 | 0,9 |
| | Sí | 6 | 1731,8 | 606,9 | |
| Albumina (g/dL) | No | 9 | 3,6 | ,2 | 0,012 |
| | Sí | 1 | 1,1 | . | |

TABLA 10. Sensibilidad y Especificidad en las coordenadas de la curva de ROC de la hemoglobina, medida del bazo en cm y plaquetas.

Coordenadas de la curva

| Variables resultado de contraste | Positivo si es mayor o igual que ^a | Sensibilidad | 1 - Especificidad |
|----------------------------------|---|--------------|-------------------|
| Hemoglobina (g/dL) | 5,000 | 1,000 | 1,000 |
| | 6,550 | 1,000 | ,875 |
| | 7,650 | 1,000 | ,750 |
| | 8,600 | ,939 | ,750 |
| | 9,200 | ,879 | ,750 |
| | 9,700 | ,879 | ,625 |
| | 10,500 | ,818 | ,625 |
| | 11,500 | ,727 | ,625 |
| | 12,100 | ,667 | ,625 |
| | 12,600 | ,636 | ,625 |
| | 13,500 | ,636 | ,500 |
| | 14,500 | ,030 | ,000 |

| | | | |
|------------------|-----------------|-------------|-------------|
| | 16,000 | ,000 | ,000 |
| Bazo cm | 9,00 | 1,000 | 1,000 |
| | 10,50 | ,939 | 1,000 |
| | 11,50 | ,879 | ,875 |
| | 12,50 | ,758 | ,750 |
| | 13,50 | ,667 | ,625 |
| | 14,50 | ,515 | ,625 |
| | 15,50 | ,424 | ,625 |
| | 16,50 | ,273 | ,500 |
| | 17,50 | ,212 | ,500 |
| | 18,50 | ,091 | ,500 |
| | 19,50 | ,091 | ,250 |
| | 21,00 | ,000 | ,000 |
| Plaquetas (/mll) | 10999,00 | 1,000 | 1,000 |
| | 12500,00 | ,970 | ,875 |
| | 17000,00 | ,939 | ,875 |
| | 23500,00 | ,939 | ,750 |
| | 30000,00 | ,939 | ,625 |
| | 35500,00 | ,909 | ,500 |
| | 40500,00 | ,879 | ,500 |
| | 46500,00 | ,848 | ,500 |
| | 51500,00 | ,788 | ,500 |
| | 54500,00 | ,788 | ,375 |
| | 58000,00 | ,727 | ,375 |
| | 60500,00 | ,697 | ,375 |
| | 62500,00 | ,667 | ,375 |
| | 66000,00 | ,636 | ,375 |
| | 69000,00 | ,636 | ,250 |
| | 72500,00 | ,576 | ,250 |
| | 76000,00 | ,576 | ,125 |
| | 81000,00 | ,545 | ,125 |
| | 86000,00 | ,485 | ,125 |
| | 88500,00 | ,424 | ,125 |
| | 94000,00 | ,394 | ,125 |
| | 98500,00 | ,333 | ,125 |
| | 99500,00 | ,273 | ,125 |
| | 102500,00 | ,242 | ,125 |
| | 122000,00 | ,212 | ,125 |
| | 141000,00 | ,182 | ,125 |
| 162000,00 | ,091 | ,125 | |

| | | | |
|--|-----------|------|------|
| | 195500,00 | ,091 | ,000 |
| | 250000,00 | ,061 | ,000 |
| | 365000,00 | ,030 | ,000 |
| | 440001,00 | ,000 | ,000 |

La variable (o variables) de resultado de contraste: Hemoglobina (g/dL), Bazo cm, Plaquetas (/ml) tiene al menos un empate entre el grupo de estado real positivo y el grupo de estado real negativo.

a. El menor valor de corte es el valor de contraste observado mínimo menos 1, mientras que el mayor valor de corte es el valor de contraste observado máximo más 1. Todos los demás valores de corte son la media de dos valores de contraste observados ordenados y consecutivos.

Tabla 12. Técnicas diagnósticas comparadas con el *gold standard* visualización de amastigotes en MO.

| | PCR DE MÉDULO ÓSEA O TEJIDO | | PCR EN SANGRE PERIFÉRICA | | SEROLOGÍA | |
|---------------------------------------|-----------------------------|---------------|--------------------------|----------------|--------------|---------------|
| | IC 95% | | IC 95% | | IC 95% | |
| Sensibilidad | 54,5% | 28,0% a 78,7% | 83,3% | 43,6% a 97,0% | 40,0% | 21,9% a 61,3% |
| Especificidad | 60,0% | 23,1% a 88,2% | 100,0% | 20,7% a 100,0% | 16,7% | 3,0% a 56,4% |
| Valor predictivo positivo | 75,0% | 40,9% a 92,9% | 100,0% | 56,6% a 100,0% | 61,5% | 35,5% a 82,3% |
| Valor predictivo negativo | 37,5% | 13,7% a 69,4% | 50,0% | 9,5% a 90,5% | 7,7% | 1,4% a 33,3% |
| Proporción de falsos positivos | 40,0% | 11,8% a 76,9% | 0,0% | 0,0% a 79,3% | 83,3% | 43,6% a 97,0% |
| Proporción de falsos negativos | 45,5% | 21,3% a 72,0% | 16,7% | 3,0% a 56,4% | 60,0% | 38,7% a 78,1% |
| Exactitud | 56,3% | 33,2% a 76,9% | 85,7% | 48,7% a 97,4% | 34,6% | 19,4% a 53,8% |
| Odds ratio diagnóstica | 1,80 | 0,21 a 15,41 | | | 0,13 | 0,01 a 1,36 |
| Índice J de Youden | 0,1 | | 0,8 | | -0,4 | |
| CPP o LR(+) | 1,36 | 0,41 a 4,53 | | | 0,48 | 0,25 a 0,91 |
| CPN o LR(-) | 0,76 | 0,32 a 1,79 | 0,17 | 0,03 a 1,00 | 3,60 | 1,01 a 12,78 |
| Probabilidad pre-prueba (Prevalencia) | 68,8% | | 85,7% | | 76,9% | |

TABLA 13. Área bajo la curva de PCR en MO, PCR en sangre periférica (SP) y serología comparada con amastigotes en MO.

| Variables resultado de contraste | Área | Error típ. ^a | Sig. asintótica ^b | Intervalo de confianza asintótico al 95% | |
|----------------------------------|------|-------------------------|------------------------------|--|-----------------|
| | | | | Límite inferior | Límite superior |
| PCR de Leishmania en MO | ,917 | ,121 | ,211 | ,679 | 1,000 |
| PCR de Leishmania en SP | ,917 | ,121 | ,211 | ,679 | 1,000 |
| Serología de Leishmania | ,333 | ,261 | ,617 | ,000 | ,844 |

b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

ANEXO II: Pruebas de normalidad de Kolmogorov- Smirnov.

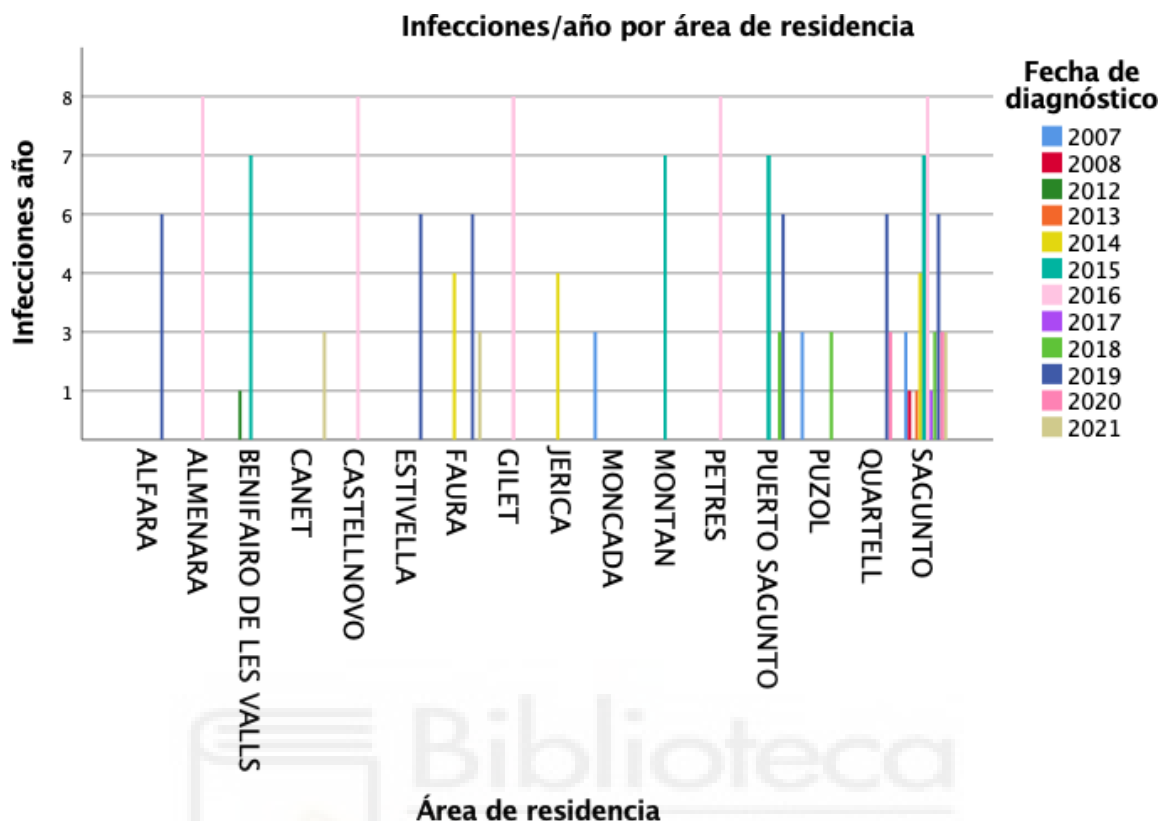
Resumen de prueba de hipótesis

| | Hipótesis nula | Test | Sig. | Decisión |
|----|---|--|------|-----------------------------|
| 1 | La distribución de N° de recaídas es normal con la media 0,34 y la desviación típica 0,85. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,000 | Rechazar la hipótesis nula. |
| 2 | La distribución de Edad es normal con la media 43,84 y la desviación típica 24,27. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,895 | Retener la hipótesis nula. |
| 3 | La distribución de Bazo cm es normal con la media 15,12 y la desviación típica 3,04. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,733 | Retener la hipótesis nula. |
| 4 | La distribución de Hemoglobina (g/dL) es normal con la media 12,44 y la desviación típica 2,36. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,000 | Rechazar la hipótesis nula. |
| 5 | La distribución de Leucocitos (/ml) es normal con la media 3.600,00 y la desviación típica 1.731,47. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,063 | Retener la hipótesis nula. |
| 6 | La distribución de Neutrófilos (/ml) es normal con la media 2.146,61 y la desviación típica 1.573,52. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,177 | Retener la hipótesis nula. |
| 7 | La distribución de Linfocitos (/ml) es normal con la media 1.290,24 y la desviación típica 888,76. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,149 | Retener la hipótesis nula. |
| 8 | La distribución de Plaquetas (/ml) es normal con la media 91.756,10 y la desviación típica 78.434,62. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,019 | Rechazar la hipótesis nula. |
| 9 | La distribución de VSG es normal con la media 58,95 y la desviación típica 27,53. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,220 | Retener la hipótesis nula. |
| 10 | La distribución de GOT (UI/L) es normal con la media 69,68 y la desviación típica 75,68. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,009 | Rechazar la hipótesis nula. |
| 11 | La distribución de GPT (UI/L) es normal con la media 56,10 y la desviación típica 81,77. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,004 | Rechazar la hipótesis nula. |
| 12 | La distribución de Triglicéridos (mg/mL) es normal con la media 192,95 y la desviación típica 85,86. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,186 | Retener la hipótesis nula. |
| 13 | La distribución de Fibrinógeno (mg/mL) es normal con la media 374,46 y la desviación típica 158,50. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,010 | Rechazar la hipótesis nula. |
| 14 | La distribución de Ferritina (ng/mL) es normal con la media 2.055,34 y la desviación típica 3.266,98. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,002 | Rechazar la hipótesis nula. |
| 15 | La distribución de Inmunoglobulina G (mg/mL) es normal con la media 1.702,24 y la desviación típica 1.161,13. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,142 | Retener la hipótesis nula. |
| 16 | La distribución de Albúmina (g/dL) es normal con la media 3,31 y la desviación típica 1,03. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,896 | Retener la hipótesis nula. |
| 17 | La distribución de Días de ingreso es normal con la media 15,20 y la desviación típica 9,36. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,069 | Retener la hipótesis nula. |
| 18 | La distribución de Días hasta remisión de fiebre desde inicio de tratamiento antiprotozoario es normal con la media 4,66 y la desviación típica 5,37. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,012 | Rechazar la hipótesis nula. |
| 19 | La distribución de Tiempo en meses hasta la primera recaída es normal con la media 5,57 y la desviación típica 3,51. | Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra | ,945 | Retener la hipótesis nula. |

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

ANEXO III: GRÁFICOS

GRÁFICO 2. Infecciones año por área de residencia



ANEXO IV: Modelos de regresión.

Regresión logística binaria. Variables en la ecuación

| | B | E.T. | Wald | gl | Sig. | Exp(B) OR | I.C. 95% para EXP(B)OR | |
|-----------------------|-------|-------|-------|----|------|--------------|---------------------------|----------|
| | | | | | | | Inferior | Superior |
| Hepatomegalia | 2,760 | 1,349 | 4,188 | 1 | ,041 | 15,806 | 1,124 | 222,324 |
| Inmunodeprimido | 2,867 | 1,292 | 4,923 | 1 | ,026 | 17,581 | 1,397 | 221,222 |
| Plaquetas<50.000pl/ml | 2,889 | 1,289 | 5,022 | 1 | ,025 | 17,978 | 1,437 | 224,944 |
| Constante | 5,790 | 2,032 | 8,116 | 1 | ,004 | ,003 | | |

Regresión de Cox. Variables en la ecuación

| | B | ET | Wald | gl | Sig. | Exp(B) RH | 95,0% IC para Exp B RH | |
|------------------|--------|-------|-------|----|------|--------------|---------------------------|----------|
| | | | | | | | Inferior | Superior |
| inmunocompetente | -2,804 | 1,223 | 5,253 | 1 | ,022 | ,061 | ,006 | ,666 |
| plaquetas | 3,123 | 1,207 | 6,698 | 1 | ,010 | 22,709 | 2,134 | 241,684 |