

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LEPTOSPIROSIS HUMANA Y DENGUE
DE PACIENTES CON ENFERMEDAD FEBRIL REFERIDOS AL
LABORATORIO DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DEL ÁREA DE SALUD
DE ESCUINTLA

Pavela Miroslava Estrada Aplícano

Química Bióloga

Guatemala, Agosto del 2,004

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LEPTOSPIROSIS HUMANA Y DENGUE
DE PACIENTES CON ENFERMEDAD FEBRIL REFERIDOS AL
LABORATORIO DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DEL ÁREA DE SALUD
DE ESCUINTLA

Informe de Tesis

Presentado por:

Pavela Miroslava Estrada Aplícano

Para optar al título de

Química Bióloga

Guatemala, Agosto del 2,004

INDICE

I.	Resumen	1
II.	Introducción	3
III.	Antecedentes	5
	A. Leptospira	5
	1. Generalidades de Leptospirosis	5
	2. Agente Etiológico	6
	3. Distribución	7
	4. Reservorio	9
	5. Mecanismos de Transmisión	10
	6. Hallazgos Patológicos y Patogénicos	10
	7. Manifestaciones Clínicas	12
	8. Diagnóstico	17
	9. Tratamiento	21
	10. Inmunización	22
	B. Dengue	24
	1. Generalidades del Dengue	24
	2. Agente Etiológico	25
	3. Distribución	25
	4. Reservorio	27
	5. Mecanismos de Transmisión	27
	6. Hallazgos Patológicos y Patogénicos	30
	7. Manifestaciones Clínicas	35
	8. Diagnóstico	39
	9. Tratamiento	49
IV.	Justificación	53
V.	Objetivos	54
VI.	Hipótesis	55
VII.	Materiales y Métodos	56
VIII.	Resultados	70
IX.	Discusión de Resultados	81
X.	Conclusiones	87
XI.	Recomendaciones	88
XII.	Referencias	89
XIII.	Anexos	97

I. RESUMEN

El departamento de Escuintla está integrado por trece municipios (distritos), es irrigado por 13 ríos y cuenta con el canal de Chiquimulilla, por lo que geográficamente es una región vulnerable a los fenómenos naturales, además sus habitantes realizan actividades de riesgo, que favorecen la transmisión de enfermedades infecciosas como; el dengue, malaria, leptospirosis humana, etc. Este departamento presenta alta incidencia de enfermedad febril, y muchos de estos casos no se les determina su diagnóstico definitivo.

Por lo antes mencionado se realizó un estudio descriptivo, en el cual se incluyeron a 84 pacientes con enfermedad febril que refirieron sus muestras al Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica (LVE) del área de Salud de Escuintla, provenientes de 12 distritos durante mayo-julio 2,003, a excepción del municipio de San Vicente de Pacaya que en ese período no reportó ningún caso de enfermedad febril ya que en estos meses se inician las lluvias las cuales pueden provocar inundaciones, factor que favorece la transmisión de enfermedades por vectores y enfermedades bacterianas. El estudio tuvo por objetivo determinar el diagnóstico diferencial de leptospirosis humana y dengue, por medio de pruebas inmunológicas. Tanto para dengue como leptospira se utilizó la prueba de ELISA de detección de anticuerpos IgM, estas dos pruebas detectan la presencia del anticuerpo específico IgM anti-dengue e IgM anti-leptospira en el suero de los pacientes. Con estas pruebas realizadas se demostró que en el departamento de Escuintla la enfermedad febril es causada por leptospira además del virus del dengue, determinando el número de casos positivos de dengue y leptospira.

En el mes de julio 2,003 el distrito de Masagua, reportó mayor número de casos de enfermedad febril por inundaciones que se presentaron en esta región, las muestras referidas al LVE de este distrito, tenían indicación de efectuarles la prueba de detección de anticuerpos IgM anti-leptospira, medida que se acopló adecuadamente a este estudio. La información contenida en

cada una de las fichas de los casos de enfermedad febril, mostró características muy importantes, en los síntomas y signos ya que son muy similares en dengue y leptospirosis humana, lo que demostró la necesidad de efectuar el diagnóstico diferencial de estas enfermedades.

. Los resultados obtenidos indicaron que de las 84 muestras analizadas, 14 fueron positivas de dengue, las personas mayormente afectadas fueron las comprendidas de 35 y más años del sexo femenino provenientes del distrito de Masagua. Mientras que los 8 casos positivos de leptospirosis humana, indican que tanto el municipio de Masagua como, la cabecera departamental de Escuintla, presentaron 2 casos positivos de leptospirosis humana, los 8 casos positivos fueron confirmados por medio de la técnica de Microaglutinación (MAT), en la Facultad de Medicina Veterinaria de la USAC^T, los resultados que se obtuvieron muestran que la especie *L. interrogans* estuvo presente en los 8 casos así como el serovar *icterohaemorrhagiae*, y 6 de los casos presentan 2 y hasta 3 serovares juntos.

Esto demostró que los habitantes de Escuintla son vulnerables a presentar dengue y leptospirosis humana, por lo que se debe efectuar el diagnóstico diferencial de estas patologías a pacientes con enfermedad febril referidos al LVE, con el fin de asegurar el diagnóstico temprano de enfermedad, su adecuado tratamiento y el seguimiento de los casos; además en el caso de leptospira conocer las serovariedades que circulan en las diferentes regiones de Escuintla, lo cual permitirá en estudios posteriores identificar los posibles reservorios de la bacteria.

^T Con la colaboración del departamento de Microbiología, a cargo de la Dra. Blanca Zelaya de Romillo.

II. INTRODUCCION

El departamento de Escuintla cuenta con una extensión territorial de 4,384 km cuadrados, está integrado por trece municipios y es irrigado por la vertiente de varios ríos, entre los que sobresalen: el Michatoya, Guacalate, María Linda, Coyolate, Nahualate y el Madre Vieja, lo que lo convierte en un territorio muy húmedo con condiciones propicias para enfermedades de tipo tropical, como dengue, malaria, leptospirosis, etc (1).

El Area de Salud de Escuintla cuenta con el Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica (LVE) cuyo objetivo es poder brindar a la población de dicha área, un servicio de diagnóstico a nivel epidemiológico.

El dengue es una infección viral aguda y sistémica que se transmite de una persona a otra por medio de un mosquito hematófago del género *Aedes*, siendo un grave problema de salud que afecta el territorio nacional(2). En Guatemala se tiene conocimiento de su presencia desde 1,972(3). El departamento de Escuintla en el año 2,000 mostró índices elevados de casos positivos de dengue específicamente del serotipo 2. En el año 2,002, las áreas de Petén, Quiché y Escuintla notificaron las tasas de incidencia más elevadas(4). Debido a los síntomas que causa esta enfermedad produce un impacto socioeconómico importante por el ausentismo escolar y laboral(5).

El laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Area de Salud de Escuintla, en los resultados del año 2,002 muestran que un 16% fueron casos sospechosos de dengue, de los cuales solo el 5% fueron casos positivos a la prueba de ELISA IgM dengue, la cual es realizada en dicho laboratorio, cada uno de los casos presentaron la sintomatología característica. El dengue, manifiesta síntomas similares con otras patologías, principalmente con leptospirosis humana, que es una zoonosis de distribución mundial que tiene por reservorios a ratas, perros y otros animales que pueden infectarse. La

infección humana resulta de la exposición a la orina del animal infectado, ya sea por contacto directo o por aguas contaminadas⁽⁶⁾.

La leptospirosis humana se considera una enfermedad ocupacional, concentrada en los individuos que trabajan en campos de arroz, campos de caña de azúcar y mataderos⁽⁷⁾. Por lo que la población de Escuintla está expuesta a la leptospirosis humana, porque realizan actividades de riesgo o habitan zonas geográficas más vulnerables a los fenómenos naturales como las frecuentes inundaciones.

El primer caso de leptospirosis humana confirmado microbiológicamente en Guatemala, fue en 1,980 y el serogrupo fue confirmado en el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta (CDC) ⁽⁸⁾. A partir de 1998 el laboratorio Nacional de salud ha detectado serológicamente 31 casos a la fecha ⁽⁴⁾.

En el año 2,002 por medio de pruebas inmunológicas se detectaron cinco casos de leptospirosis humana, los cuales fueron documentados en las áreas de salud de Guatemala (1 caso), Escuintla (1 caso), San Marcos (1 caso) e Izabal (2 casos). Dichas áreas han presentado casos en años anteriores con excepción del año 2,001 en el que ninguna área documentó casos⁽⁴⁾.

Debido a la posibilidad de que la leptospirosis humana sea un problema importante para la salud de la población del departamento de Escuintla, se demostró a través de pruebas inmunológicas, la presencia de dicha enfermedad entre los casos de enfermedad febril, de esta forma se conoció la necesidad de implementar el diagnóstico diferencial entre leptospirosis y dengue en humanos, en el sistema de salud para la población mencionada, además se incorporó en los protocolos de manejo y tratamiento de pacientes con enfermedad febril en los servicios de salud del Area a la leptospirosis humana. Para ello se realizaron las pruebas inmunológicas; ELISA IgM anti-dengue e IgM anti-leptospira , además la técnica de Microaglutinación (MAT), para determinar las serovariedades de *Leptospira* en los sueros analizados.

III. ANTECEDENTES

Existen factores que favorecen la transmisión de enfermedades por vectores y enfermedades bacterianas, que por la variación estacional del tiempo, la situación socioeconómica, los cambios ambientales y la resistencia a los medicamentos, influyen en la epidemiología de estas enfermedades; tales como, malaria, dengue y leptospirosis, que se distribuyen y adaptan a la regiones tropicales y subtropicales, además de presentar sintomatologías similares.

A. LEPTOSPIRA

1. Generalidades de Leptospirosis

La leptospirosis, zoonosis de distribución mundial, tiene por reservorios, a algunos roedores salvajes y domésticos, ganado bovino, porcino, perros y algunos otros mamíferos ⁽⁹⁾.

La leptospirosis se conoce también con los nombres de Enfermedad de Weil, en homenaje al hombre que describió por primera vez la fiebre Ictero-hemorrágica en 1,886 ⁽¹⁰⁾. Constituye un grupo de enfermedades bacterianas, que determinan una infección aguda generalizada, caracterizada por vasculitis extensa ⁽¹¹⁾. La leptospirosis es una enfermedad ocupacional o accidental ⁽⁷⁾.

Las manifestaciones clínicas de la leptospirosis en humanos y animales son variables y van desde un aparente resfriado hasta una enfermedad icterica que afecta el riñón y el hígado ⁽⁹⁾.

El cuadro clínico es de comienzo brusco, anunciada por una fiebre de alto grado, cefaleas severas, malestar general y dolores musculares, también abarca dolor ocular, fotofobia, sufusión e incluso hemorragia conjuntival ⁽¹⁰⁾. A esto se agregan náuseas, vómitos, tos o faringitis, hepatomegalia, exantema, ictericia ^(11,12).

La muerte es ocasional por fallo renal, miocarditis, o hemorragia masiva con colapso cardiovascular y la hemorragia pulmonar es frecuentemente fatal (13).

La leptospirosis clásica es una enfermedad bifásica, que consiste en una fase septicémica inicial y otra inmune secundaria. Después de un intervalo asintomático de 1-3 días se desarrolla la fase inmune de la infección (9).

2. Agente Etiológico

Las leptospiras son bacterias filamentosas de 5 a 20 um de largo y muy delgadas, de 0.5 um de ancho; presentan espirales apretadas y regulares y ambos extremos se curvan en forma de gancho. Tienen movimientos de rotación rápida sobre su eje longitudinal y traslación en dirección axial (8). Son gramnegativo y se tiñen solo con debilidad con los colorantes con anilina; son miembros del orden *spirochetales*. Se reconocen dos especies del género *Leptospira*, *L. interrogans*, que incluye todos los patógenos humanos y la especie saprofita *L. biflexa*. *L. interrogans* contiene muchos serotipos individuales que causan enfermedad humana. Los serotipos relacionados de manera antigénica se reúnen en serogrupos con propósitos de clasificación (9).

Las serovariedades más frecuentes en infecciones humanas incluyen; *L. interrogans* serovar *canicola*, que es la especie asociada en forma principal con los perros. Se mantiene en ellos y se propaga fundamentalmente a través de la orina de los perros infectados a otros perros, al hombre, ganado bovino y gatos, *L. interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* asociado a las ratas.

Diferentes tipos de leptospiras pueden ser transportados por un solo género animal y un solo serotipo puede asociarse con más de un hospedero. En general, estos hospederos animales no están sintomáticos y no desarrollan anticuerpos a pesar de una infección abrumadora. *L. interrogans* serovar *pomona*, denominada así por el sector de Australia donde fue reconocida por

primera vez como una enfermedad febril de los lecheros, cerdos, y en leche cruda de ganado vacuno, entre otras serovariedades, también podemos mencionar: *L. interrogans* serovar *autoumnalis*, *L. interrogans* serovar *australis*, *L. interrogans* serovar *bataviae* (9,11).

3. Distribución

Se distribuye a nivel mundial. La infección es endémica y ocurre con mayor frecuencia en regiones tropicales y subtropicales (6). Las personas más expuestas al riesgo son aquellas que trabajan en arrozales, plantaciones de caña de azúcar, mataderos, así como granjeros, veterinarios y personas que participan en actividades militares (14), también trabajadores de alcantarillados, mineros, bañistas, deportistas y personas que acampan al aire libre en zonas afectadas (12). Se informó leptospirosis en asociación con la práctica de navegación con kayacks (9).

En Cuba, el clima, la orografía, la red fluvial natural y artificial, las extensas áreas agrícolas, y los regímenes lluviosos en determinadas épocas han favorecido la propagación de la leptospirosis, en el hombre y los animales, que se refleja en la tendencia al aumento de la morbilidad por esta enfermedad en todo el territorio nacional (15,16).

En la península de Yucatán, se presentó una epidemia de dengue en 1,994, se guardaron los sueros obtenidos durante la fase aguda y de convalecencia de la enfermedad, de éstos se estudiaron posteriormente 100 sueros pertenecientes a 50 pacientes que resultaron negativos a dengue; 7 (14 %) resultaron positivos a *Leptospira interrogans* serovares *canicola* (3 pacientes) y *pomona* (4 pacientes) (6).

Los factores epidemiológicos que se asociaron con la leptospirosis en Hawaii; incluyeron la presencia de agua estancada para uso doméstico, el contacto con bovinos y su orina o la manipulación de tejidos animales. En época reciente una epidemia transmitida por agua en Italia, en la cual se

sugirió que el brote estaba asociado por un erizo atrapado en un reservorio de agua ⁽⁹⁾.

Buenos Aires reportó durante los años 2000 - 2001 una epidemia de 47 casos en el área suburbana, de la localidad de Quilmes, 4 pacientes murieron con sospecha de leptospirosis febril, 3 de estos pacientes fueron confirmados, además se describieron 2 casos con hemorragia pulmonar letal ⁽¹³⁾.

En septiembre y octubre se registró una epidemia de leptospirosis en Khumuang, subdistrito de Burinam, provincia al noroeste de Tailandia, donde fueron infectados trabajadores que se dedicaban a la limpieza de estanques, fueron examinados 104 trabajadores de los cuales 43 (41.03%) presentaron positividad para anticuerpos IgM para *Leptospira*. Sólo 17 (39.50%) de 43 positivos presentaron enfermedad febril ⁽¹⁷⁾.

Según la Revista Panamericana de Salud en su vol. 6 en 1999. indica que “de todos los países Centroamericanos, Nicaragua fue el único afectado por la leptospirosis después del paso del huracán Mitch en octubre de 1,998. Es de destacar, sin embargo, que la experiencia adquirida por ese país en la epidemia de 1,995 le permitió implementar precozmente la vigilancia activa de los casos, de los cuales hubo un total de 868 después de Mitch, equivalente a un promedio semanal de 79 casos ⁽⁷⁾.

En Guatemala el primer caso humano, detectado y confirmado, fue efectuado por Torres M. en 1,980 y el serogrupo fue confirmado por Suizel en el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta (CDC) correspondiendo al serogrupo *copehaghensi*⁽⁸⁾.

Según los informes de Vigilancia Epidemiológica del Depto. De Epidemiología del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, en 1,998 en el departamento de Guatemala, se reportaron 7 casos de leptospirosis humana, El Progreso 1 (caso), Santa Rosa 3 (casos), Izabal 3 (casos). En el año 2,002

se detectaron 5 casos los cuales fueron positivos para prueba de ELISA IgM, documentados en las áreas de salud de Guatemala, Escuintla, San Marcos e Izabal. Dichas áreas en el año 1,999 no reportaron ningún caso ⁽⁴⁾.

4. Reservorio

La leptospira se encuentra en animales salvajes como: zebués, zarigüeyas, mapaches, musarañas, tlalcuaches y en animales domésticos como: cabras, ovejas, cerdos, vacas, perros, gatos, y otros, en los cuales la enfermedad puede ser sintomática y asintomática ⁽¹⁹⁾. Los casos notables son las ratas (*L. interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae*), los cerdos (*L. interrogans* serovar *pomona*) los bovinos(*L. interrogans* serovar *hardjo*), los perros (*L.interrogans* serovar *canicola*) y los mapaches (*L. interrogans* serovar *autumnalis*). En Australia los cerdos parecen ser reservorios de *L. interrogans* serovar *fainei*) ^(11,20). Los más importantes son las ratas y las vacas. Este hecho se explica por que el pH alcalino de la orina de estos animales favorece la sobrevivencia de la leptospira, de tal forma que se sabe p.e., que 1 mL de orina de vaca puede contener hasta 100 millones de microorganismos. Como el hombre tiene una orina relativamente ácida para la leptospira, se considera un mal reservorio ^(18,19).

El vehículo más común de transmisión de este microorganismo al ser humano es el agua dulce, contaminada con orina de animales infectados, siendo una fuente importante de epidemias en nadadores y campesinos. Las aguas estancadas con contaminación alta son desfavorables para que sobreviva la leptospira. Bajo condiciones favorables el microorganismo puede sobrevivir en el agua hasta 183 días. El suelo, es también un vehículo importante de transmisión. Algunos trabajos han demostrado que el microorganismo sobrevive hasta 15 días en suelos con orina ⁽¹⁹⁾.

5. Mecanismo de Infección

La infección en humanos ocurre a través del contacto de la piel o membranas mucosas con agua o suelo húmedo, contaminado con orina de animales infectados (20-22) (Ver anexo #1). Grietas en la piel facilitan la infección pero no existen estudios previos que hayan cuantificado la correlación entre heridas de la piel y leptospirosis (23,24). Las lluvias copiosas e inundaciones; caminar sin zapatos, lavar en ríos; y ocupaciones tales como granjeros, trabajar en rastros, alcantarillados, mineros, veterinarios y participar en actividades militares han sido implicadas en infecciones humanas (25, 26).

La transmisión de persona a persona es rara. Los enfermos suelen eliminar leptospira por la orina durante un mes, en algunos casos este período se prolonga hasta 11 meses (8,12).

6. Hallazgos Patológicos y Patogénicos

La patogenia de la leptospirosis en su mayor parte no se conoce. Esta claro que hay una vasculitis en casos severos. Se sugirió que la capacidad de la espiroquetas de avanzar a través de los tejidos por la corriente sanguínea les permite penetrar en sitios privilegiados, como el humor acuoso del ojo y fluidos cerebro-espinales. La hialuronidasa y la motilidad de la leptospira, junto con la realización de túneles, pueden ser mecanismos por los cuales la leptospira puede llegar a sitios normales, protegidos. Las espiroquetas producen una hemolisina que puede contribuir a la hiperbilirrubinemia, pero es probable que el daño hepático sea más importante. Las anomalías en el hígado varían de cordones hepáticos distorsionados a focos múltiples de necrosis. El daño renal se concentra en los túbulos contorneados, que experimentan una necrosis focal (10, 27).

Los infiltrados pulmonares son relativamente comunes, pero la enfermedad en general es leve. Se ha descrito leptospirosis como un síndrome de distrés respiratorio del adulto. En la enfermedad puede producirse una

pleocitosis en el líquido cefalorraquídeo en el 90% de los pacientes durante la segunda semana de la enfermedad, pero sólo la mitad de ellos tienen síntomas de una meningitis aséptica. La severidad varía de una infección subclínica a una enfermedad sistémica mortal conocida como enfermedad de Weil. Las características distintivas de la enfermedad de Weil son la ictericia y la insuficiencia renal aguda (10).

El fallo renal es un resultado primario del daño tubular, y las leptospiras son comúnmente vistas en el lumen tubular (28). La principal causa de lesión tubular parece ser por hipoxemia o por una toxina efecto de la leptospirosis. Los cambios inflamatorios en el riñón pueden ser vistos en los posteriores estados de desarrollo de la lesión renal; estos pueden relacionarse por complejos inmunes circulantes y depósitos de componentes del complemento y cuerpos con densidad electrónica en el glomérulo, similares a los complejos inmunes de la glomerulonefritis (27).

En un caso reportado de un paciente en Francia se le realizaron pruebas bioquímicas que indicaban una hipoalbuminemia, hipocalcemia, que se presenta causada por pérdida de potasio y debe tomarse en cuenta, para que en el tratamiento se reemplace tanto potasio como volumen necesario durante el tratamiento presentando hipovolemia e hipotensión causadas por pérdidas de volumen intravascular como resultado de daño endotelial, lo cual puede contribuir al desarrollo de fallo renal (20).

Durante la primera semana de infección la leptospira está presente en el líquido cefalorraquídeo (LCR), pero pueden estar ausentes los signos meníngeos. Después, cuando los anticuerpos séricos aparecen, la meningitis pueden desarrollarse, pero pueden no encontrarse leptospiras en LCR (27,29).

La leptospirosis puede persistir por meses en el humor acuoso, causando ocasionalmente uveítis crónica recurrente (27,29).

Aunque las mialgias pueden ser excesivas, la histología efectuada tempranamente muestra cambios en el músculo que son a menudo triviales.

Los cambios tempranos también incluyen también vacuolas citoplásmicas en las miofibrillas. La infiltración del músculo por leucocitos polimorfonucleares es un hallazgo tardío en algunos casos (27,29).

7. Manifestaciones Clínicas

La leptospirosis clásica es una enfermedad bifásica, que consiste en una fase septicémica inicial con una duración de 4-7 días y otra inmune secundaria 10-30 días. La severidad varía de una infección subclínica a una enfermedad sistémica mortal, conocida como enfermedad de Weil. En casos severos las dos fases se fusionan y puede no reconocerse un intervalo sintomático. Los estudios de trabajadores en una situación de riesgo laboral demostraron anticuerpos sin un episodio reconocido de leptospirosis en el 5% al 16% de los evaluados. En los pacientes en quienes se reconoce una infección por leptospirosis, la enfermedad de Weil ocurre en el 5 al 10% (10).

La fase septicémica inicial (4-7 días) de la enfermedad es de comienzo brusco, anunciada por una fiebre de alto grado, cefaleas severas, malestar general y dolores musculares. La presentación característica abarca dolor ocular, fotofobia y sufusión incluso hemorragia conjuntival. Los pacientes pueden presentar erupciones maculares, maculopapulares, urticarianas o hemorrágicas como petequias (10).

Después de un intervalo asintomático de 1 a 3 días, se desarrolla la fase inmune de la infección (10-30 días), la cual dura entre 4-30 días. Tempranamente en este estado la leptospirosis desaparece de la sangre y LCR, pero puede encontrarse en el riñón, en la orina y el humor acuoso. Esta fase se caracteriza por la presencia de anticuerpos circulantes y desarrollo de meningitis, uveítis, rash y en casos severos con daño renal y hepático. En

casos con leptospirosis icterica, pueden algunas veces ser aisladas de la sangre por 24-48 horas después de aparecer la ictericia (10,27).

a. Leptospirosis Anictérica o Benigna

Esta común forma de leptospirosis, (ocurre en el 85 - 90% casos); es caracterizada por abruptos episodios de fiebre, dolor de cabeza, severos dolores abdominales, malestar, decaimiento, y en raros casos, colapso circulatorio (30).

La fiebre es remitente y alta, con escalofríos, y dolor de cabeza persistente, severas mialgias, dolor abdominal, con náusea y vómitos persistentes por 4-7 días. La mortalidad es muy rara. En la segunda fase, o estado inmune (10-30 días) de la leptospirosis anictérica puede o no puede presentarse: la fiebre generalmente no está presente o es baja, con duración de 1-3 días, meningitis aséptica, infiltrados pulmonares y colescistitis (comúnmente en niños). El dolor de cabeza es intenso, frecuentemente palpitante, este es usualmente frontal o bitemporal y puede ser asociado con dolor retrobulbar (30).

Los hallazgos físicos más comúnmente encontrados en la segunda fase son problemas musculares, daño a nivel de conjuntiva, adenopatía, hepatoesplenomegalia y rash. Las manifestaciones incluyen sufusiones de la conjuntiva, fotofobia, dolor ocular y hemorragia conjuntival que son relativamente comunes y son sugestivos del diagnóstico (30).

Los infiltrados pulmonares son relativamente comunes, pero generalmente leves. Se ha descrito leptospirosis que se presenta como un síndrome de distrés respiratorio del adulto. La implicación respiratoria en la leptospirosis, puede ser clasificada como: a.) leve a moderada (20% al 70% de pacientes), con infiltración pulmonar comúnmente asociada con ictericia y mínima alteración de las funciones renales; b.) severa, con ictericia, nefropatía, hemorragias (síndrome de Weil severo) (31), y ocasionalmente muerte debido a

falla renal, miocarditis o hemorragias masivas con colapso cardiovascular; y c.) hemorragia pulmonar la cual es frecuentemente fatal sin ictericia, nefropatía u otras hemorragia ⁽³¹⁾. El conteo de glóbulos blancos es normal o levemente elevado, pero la mayoría de los casos presentan neutrofilia. La velocidad de sedimentación raramente está elevada ^(31,32).

En las dos décadas pasadas un número creciente de casos de hemorragias pulmonares por leptospira han sido reportados, especialmente del sudeste de Asia ⁽³²⁾. En un estudio de leptospirosis en Brasil, la muerte estuvo asociada con falla renal en un 76.2%, mientras el 3.5% estuvo relacionado con hemorragias pulmonares ⁽³³⁾. En la epidemia surgida en Nicaragua en 1,995 esta forma fue considerada la causa de muerte en los 40 casos reportados ⁽³⁴⁾.

En 1,998, en México en el estado de Yucatán, varios casos de leptospirosis anictérica fueron erróneamente diagnosticados como dengue, ya que en este tiempo se reportó una epidemia de esta virosis, pero luego se determinaron aislamientos de esta zoonosis en estos pacientes ⁽⁶⁾.

Las leptospiras pueden ser encontradas en el LCR durante el primer estado de la enfermedad, estas desaparecen durante la segunda semana con la aparición de anticuerpos séricos. Puede producirse una pleocitosis en el LCR, en el 90% de los pacientes durante la segunda semana de la enfermedad, pero solo la mitad de ellos tienen síntomas de una meningitis aséptica ^(10,27). El LCR muestra una pleocitosis moderada de 50-200 células/ml y por rareza cifras más altas. Al principio puede haber predominio de segmentados, pero rápidamente pasa a células mononucleares. Las proteínas por lo general son menores de 120 mg/dl. La glucosa es normal, pero puede estar disminuida ⁽³²⁾.

b. Leptospirosis Ictérica (Síndrome de Weil)

La severidad de la leptospirosis clásica varía de una infección subclínica a una enfermedad sistémica mortal, conocida como enfermedad de Weil, en

homenaje al hombre que describió por primera vez la fiebre icterohemorrágica en 1886 ⁽¹⁰⁾. Esta forma severa fue originalmente descrita en infecciones que fueron por serovares icterohemorrágicos ^(27, 29).

En la fase septicémica (3-7 días) los síntomas son similares a la forma anictérica. En la fase inmune (10-30 días) se presenta ictericia "Reddish" o ictericia "Rojiza" por presentar (ictericia+conjuntivitis+vasculitis cutánea), además existe daño renal, oliguria o anuria en casos muy raros, incremento en nitrógeno de urea (BUN) y Creatinina en suero, con niveles normales o disminuidos de potasio en suero, los niveles de bilirrubina sérica (directa) es usualmente debajo de 20 mg/100mL. Los niveles de fosfatasa alcalina son moderadamente elevados la transaminasa glutámica oxaloacética (TGO) sérica y la transaminasa glutámica pirúvica sérica (TGP) raramente exceden a 100-200 unidades ^(19,22). La combinación de la elevación de marcadores séricos de CK con leve elevación de las transaminasas en pacientes con ictericia pueden ser de ayuda en la diferenciación de la leptospirosis de otras formas de hepatitis aguda. La hepatomegalia ocurre en aproximadamente 25% de los casos. Una rara complicación es la colecistitis aguda la cual requiere cirugía ^(28,31,32).

Pueden presentarse manifestaciones hemorrágicas como: epistaxis, petequias, rash, hemorragia pulmonar y gastrointestinal ⁽²⁷⁾. Los pacientes con ictericia severa, son los que mayormente se relacionan con presentaciones de fallo renal, hemorragias y colapsos cardiovascular. El análisis de orina es anormal, con proteinuria y hematuria. La azotemia usualmente aparece durante la segunda semana. El nitrógeno de urea (BUN), sus niveles raramente exceden a 100 mg/100mL, y la Creatinina sérica a 8 mg/100 mL^(28,29). Además hay sangrado a nivel de las glándulas suprarrenales, el SNC, etc. Esta tendencia hemorrágica se puede explicar por la vasculitis generalizada, la trombocitopenia presente hasta en 50% de los casos y en menor grado por la hipotrombinemia. El compromiso de la función renal debido principalmente a una necrosis tubular aguda y a otros mecanismos ya

discutidos pueden llevar al paciente a azotemia severa, recurriéndose en la mayoría de estos casos a diálisis peritoneal o hemodiálisis (28). El colapso cardiovascular por lo general es la causa de muerte en estos pacientes. En el desarrollo de esta complicación se han implicado factores tipo endotoxinas aún no estudiados (28,29).

Los primeros casos de leptospirosis en México en 1920, por Noguchi y Klieger, reportaron 6 casos positivos para leptospirosis icterica en 56 pacientes con ictericia, aislando el serotipo *pomona*. Un número de casos severos (síndrome de Weil) en el año 1,977 fueron reportados con un desenlace fatal (6).

En un estudio en Buenos Aires Argentina en marzo del 2,001, notificó casos de pacientes con ictericia severa, nefropatía y hemorragias (Síndrome de Weil), que ocasionalmente produjeron la muerte por insuficiencia renal, miocarditis, y hemorragias masivas con colapso cardiovascular; y hemorragia pulmonar (13, 33).

El compromiso pulmonar en leptospirosis humana frecuentemente se manifiesta por síntomas respiratorios, pero la neumonía comúnmente no es una manifestación clínica frecuente, ni fulminante; en el estudio en Quilmes, Buenos Aires, Argentina se reportó una epidemia de leptospirosis de 47 casos, cuatro pacientes murieron con sospecha de leptospirosis icterica, de estos pacientes, 3 casos fueron confirmados, dos casos por hemorragia pulmonar letal (31, 35).

En leptospirosis graves la miocarditis y/o pericarditis son causadas por la vasculitis o bien responden a los trastornos metabólicos propias (36).

8. Diagnóstico de Laboratorio

El diagnóstico del laboratorio de la leptospirosis puede hacerse por medio del cultivo de la espiroqueta, de la demostración del microorganismo en muestras o por pruebas serológicas.

Puede intentarse la demostración directa de leptospira por medio del examen de campo obscuro, de la sangre, el líquido cefalorraquídeo o la orina. Desafortunadamente el examen directo da como resultado diagnósticos rápidos pero erróneos, porque fibrillas o protuberancias de los eritrocitos se interpretan en forma equivocada como espiroquetas⁽¹⁰⁾.

El diagnóstico de leptospirosis puede ser erróneamente confundido, en pacientes de climas tropicales, ya que depende de las enfermedades infecciosas que prevalecen en la localidad, como fiebre amarilla, dengue, malaria, fiebre tifoidea ⁽³⁶⁾. El diagnóstico de leptospirosis debe ser investigado en todo paciente con fiebres y mialgias, toda vez que las manifestaciones clínicas son superponibles con otras enfermedades (Ver anexo #2), como en la fiebre amarilla el período virémico puede confundirse con el mismo período de la leptospirosis, los fenómenos son esencialmente los mismos pero en la fiebre amarilla la duración de esta fase es mucho más corta y la intensidad mucho mayor. En la fase toxémica de la fiebre amarilla podría haber también confusión con el período en el cual la leptospirosis se localiza en los tejidos (fase inmune) sin embargo la intensidad y la presencia del vómito negro ayudará a la diferenciación con la fiebre amarilla ^(35,37).

De cualquier manera algunas veces sólo pruebas diagnósticas específicas de ambas enfermedades serán capaces de hacer el diagnóstico diferencial. Esta es una de las razones por lo que ambas han sido incluídas dentro de la vigilancia del síndrome icterohemorrágico ^(35,37).

La diferenciación de leptospirosis con dengue, básicamente será por la procedencia del paciente y los datos epidemiológicos en general, además por

las pruebas de laboratorio específicas de cada enfermedad. Clínicamente las características son similares aunque la intensidad de los dolores musculares son mayores en el dengue (35,37).

La leptospirosis puede incluso ser confundida con un cuadro de hepatitis viral, aunque estas son de inicio menos brusco con fiebre de menor intensidad y que desaparece al iniciarse la ictericia. Frecuentemente no hay mialgias y compromiso renal. Los diferentes tipos de hepatitis viral necesitarán de pruebas específicas de laboratorio para su diferenciación (35,37).

El diagnóstico diferencial de las formas meníngeas de la leptospirosis es generalmente establecido por el examen del LCR y la evolución del cuadro. El LCR de las meningitis bacterianas presenta leucocitosis con hipoglucoorraquia lo que no ocurre en la leptospirosis (35,37).

La diferenciación de leptospirosis con malaria por *P. vivax* o *P. falciparum* (en caso de ictericia o hemorragia) se determina por la curva térmica característica que se observa en la malaria, además de la hepatoesplenomegalia, anemia de rápida progresión y no es frecuente la leucocitosis con neutrofilia así como la presencia de congestión cutáneo mucosa (35,37).

Otras enfermedades no tropicales pueden eventualmente ser confundidas con la leptospirosis tales como colecistitis, infecciones respiratorias, sarampión rubéola, pielonefritis, brucelosis con ictericia. Por lo que el examen clínico epidemiológico será de gran utilidad en el diagnóstico diferencial de esta enfermedad (35,37).

Como lo muestra un estudio realizado en 1,998, en el estado de Yucatán (México) donde casos de leptospirosis anictérica fueron diagnosticados como dengue, ya que en ese período se produjo una epidemia por este virus (6).

La leptospirosis con manifestaciones hemorrágicas es fácilmente mal diagnóstico en confusión con dengue que fue el primer diagnóstico considerado en el brote de Nicaragua en 1,995 ⁽³⁶⁾.

La mayoría de los casos de leptospirosis son diagnosticados por serología. Los anticuerpos son detectables en sangre aproximadamente de 5 a 7 días después de la aparición de los síntomas (Ver anexo #3) ⁽³⁷⁾.

a. Microaglutinación

El método de referencia para el diagnóstico de leptospirosis es el MAT (Microaglutinación) en el cual el suero del paciente reacciona con una suspensión de antígenos vivos de serovares leptospíricos. El MAT es una prueba muy compleja de controlar, ejecutar e interpretar. Se deben mantener cultivos vivos, de todos los serovares que se requieren para la realización de la prueba.

El MAT es leído en microscopio de campo oscuro. El punto final es la dilución más alta del suero donde el 50% de la aglutinación ocurre. Debido a la dificultad de detectar que el 50% de la leptospiras están aglutinadas, el punto final es determinado por la presencia de aproximadamente el 50% libre de leptospiras no aglutinadas comparado con una suspensión control.

La interpretación del MAT es complicada por la alta relación de reacciones cruzadas que ocurren entre los diferentes serogrupos, especialmente en muestras recolectadas durante la fase aguda. Las reacciones cruzadas en la fase aguda, seguido por un serogrupo específico en las muestras durante la fase convaleciente, resulta de la detección por MAT de anticuerpos IgM e IgG y la presencia de los diferentes antígenos comunes de leptospiras (Ver anexo #3). Se requieren de sueros pareados para confirmar el diagnóstico con certeza ⁽³⁷⁾.

b. Inmunoensayo enzimático (ELISA)

El método de ELISA se basa en que un antígeno de *Leptospira interrogans* variedad *grippotyphosa*. En un pozo se incuba con el suero del paciente o con el suero control, cualquier anticuerpo se une al antígeno. El material que no está unido es removido por medio de lavados. Después se le agrega el conjugado que es una enzima, ligada a anticuerpos anti IgG, IgM o IgA. Esto permite que la enzima conjugada se una a cualquier anticuerpo de IgM o IgG. Esta enzima actúa sobre un sustrato dando una reacción de color que se mide en el espectrofotómetro ⁽³⁷⁾.

En un estudio realizado en 1996, en el norte de India, se utilizó el método de ELISA y el MAT a 75 sueros de pacientes sospechosos de leptospirosis humana, de los cuales 32 pacientes (42.6%) fueron positivos para la prueba de ELISA, de estos 21 pacientes mostraron resultado positivo por MAT, identificándose (7 de 21) el serovar *L. sejroe*; (6 de 21) para *L. icterohaemorrhagiae*, (4 de 21) *L. tarassovi*, y (3 de 21) *L. autumnalis*. La probabilidad de conseguir una prueba serológica positiva se incrementó con la duración de la enfermedad y se demostró una buena correlación entre los resultados de MAT y ELISA ⁽³⁸⁾.

Otras técnicas aplicadas para la detección de anticuerpos incluyen Inmunofluorescencia (IFA), RIA, inmunolectroforesis ^(37,39).

La presencia de leptospirosis ha sido demostrada por PCR en pacientes con la enfermedad en estadio temprano, es decir antes del desarrollo de anticuerpos, así como de pacientes que fueron seronegativos y de autopsias. Las muestras que se han utilizado son: Sangre total con EDTA (plasma) o suero, LCR o tejidos, el ADN se detecta hasta 7-10 días después del inicio de los síntomas. Orina: permite la detección de ADN después de 10 días del inicio de los síntomas pero la excreción en orina suele ser intermitente debe repetirse la muestra en caso de resultado de PCR negativo cuando hay una sospecha clínica ⁽³⁷⁾.

9. Tratamiento

El tratamiento antibiótico específico utilizado es la penicilina, oxitetraciclina. Existe una mayor dificultad del tratamiento con antibiótico cuando los pacientes se presentan muy tarde, con una enfermedad severa, y cuando las leptospiras se encuentran en los tejidos ⁽³⁷⁾. El tratamiento de la leptospirosis difiere ya que depende de la severidad y duración de los síntomas en el tiempo en que se presentan.

Pacientes con síntomas leves requieren solamente tratamiento sintomático pero debería tenerse cuidado para solicitar posteriormente ayuda médica si ellos desarrollan ictericia. Para pacientes que se presentan con leptospirosis anictérica requieren que se ingresen a un hospital bajo observación. Si el dolor de cabeza es particularmente severo, una punción lumbar produce un mejoramiento significativo. El manejo de una leptospirosis icterica requiere la admisión del paciente a cuidados intensivos. Pacientes con azotemia prerrenal pueden ser rehidratados inicialmente mientras su función renal es observada, pero pacientes con fallo renal agudo requieren diálisis con motivo de urgencia ⁽³⁷⁾.

La doxaciolina (100 mg dos veces al día por 7 días) ha mostrado reducir la duración y severidad del malestar en pacientes con leptospirosis anictérica severa en un par de días ⁽³⁷⁾.

En febrero de 2,001, en Francia un paciente fue diagnosticado con leptospirosis humana, presentaba síntomas; dolor de cabeza intenso, hepatomegalia, confusión y conjuntivitis. El examen neurológico determinó signos de irritación meníngea, incluida rigidez cervical y fotofobia. El paciente recibió como tratamiento amoxicilina 12g/día por vía intravenosa, por 10 días. Mostrando una gran mejoría, la fiebre disminuyó el 4º día y el paciente se mostró recuperado el séptimo día ^(11,20).

En un estudio realizado en Buenos Aires, Argentina 2,001, se reportaron 47 casos de leptospirosis humana, dos pacientes de sexo femenino, mostraron enfermedad febril, neumonía severa, sin ictericia y trombocitopenia. Por las características sintomatológicas para una de ellas el tratamiento fue de 4 g de ceftriaxona más un gramo de eritromicina diario, en el otro caso la dosis de antibióticos fue de ciprofloxacina 800 mg/7días. El tratamiento administrado a cada una de ellas no mejoró su cuadro, al realizarles un examen de endoscopía mostró lesiones en el lumen bronquial y el aspirado abundantes secreciones hemorrágicas. Las dos pacientes fallecieron por colapso cardiovascular, después de 10 -11 días de iniciada la enfermedad ⁽³⁴⁾.

10. Inmunización

La inmunidad hacia la leptospirosis es mayormente humoral y esta relacionado a un serovar específico. De este modo, la inmunización ataca la causa de la enfermedad por un serovar homólogo o serovares antigénicamente similares. Las vacunas deberían contener serovares representativos presentes en la población que va a ser inmunizada.

Una de las medidas importantes de prevención de la leptospirosis humana, además de la utilización de medios de protección para los trabajadores expuestos, es la inmunización, con una vacuna que contenga las serovariedades circulantes en la región; dicha vacuna, aunque no se ha aplicado ampliamente en el mundo, se ha utilizado con buenos resultados en algunos países como China, Israel, Polonia y Rusia ^(40,41).

En Cuba, desde 1,983 hasta 1,991, fecha en que se abandonó la vacunación, fueron inmunizados con una vacuna de procedencia rusa todos los trabajadores expuestos al riesgo de enfermar ⁽⁴²⁾. Con el objetivo de continuar la inmunización de los grupos en riesgo del país, en el Instituto Carlos Finlay, centro de investigación, producción de vacunas y sueros, se desarrolló una

vacuna coadyuvada con cepas autóctonas, de gran importancia epidemiológica por ser las de mayor circulación. En los ensayos preclínicos se obtuvieron resultados favorables en las pruebas de toxicidad e inmunogenicidad, lo que permitió iniciar los ensayos clínicos en humanos ⁽⁴³⁾.

La morbilidad por leptospirosis humana en la provincia de Holguín (Cuba), ha presentado una tendencia ascendente, y a partir de 1,992 hasta 1,995 se ha observado un aumento marcado de la notificación de casos. La eficacia de la vacuna puede comprobarse epidemiológicamente comparando el riesgo relativo de adquirir la enfermedad de individuos vacunados y no vacunados. El desarrollo de la vacuna cubana contra la leptospirosis humana respondió a una necesidad epidemiológica del país, dada la elevada incidencia de la enfermedad ⁽⁴⁴⁾.

.B. DENGUE

1. Generalidades de Dengue

El dengue es una infección viral aguda y sistémica que se transmite de una persona a otra por medio del piquete de la hembra del mosquito hematófago del género *Aedes* y de la especie *aegypti* principalmente ⁽²⁾.

Aedes aegypti (Linneo) es una de las principales especies de mosquito en el ecosistema urbano. Originario del África, se encuentra distribuido y adaptado a las regiones tropicales y subtropicales del mundo, es vector del virus del dengue ⁽⁴⁵⁾.

El virus pertenece al grupo de los Arbovirus, del grupo de los Flavivirus. El virus fue aislado por Sabin en Hawai en 1,944 a partir de sangre humana y se llamó dengue 1. Ese mismo año, Sabin aisló el tipo 2 en Nueva Guinea. Los tipos 3 y 4 fueron aislados durante la fiebre hemorrágica en Manila en 1,956. En Guatemala se tiene conocimiento de su presencia desde 1,972 ⁽³⁾.

La enfermedad en su forma clásica presenta altas tasas de morbilidad. La forma hemorrágica causa mayor mortalidad ⁽⁴⁾.

El cuadro clínico se caracteriza por comienzo brusco, fiebre alta (40° C), mialgias y artralgias intensas, exantema y ataque al estado general. El período de incubación oscila entre 3 y 8 días, con una variación de 2.5 a 15 días, seguida de síntomas prodrómicos generales. El inicio clínico es brusco que persiste por 5 ó 6 días y habitualmente culmina en crisis, por lo que se le ha conocido como “fiebre de los 5 días”. La hipertermia se acompaña de cefalea intensa, dolor retrocular, dolor de músculos y articulaciones con calorfrío moderado, la alteración del sentido del gusto es frecuente al inicio de la enfermedad. Puede haber astenia, mareos, fotofobia, diaforesis, ardor de

garganta, tos, epistaxis, hiperestenia, dolor inguinal, testicular y ocasionalmente delirio ⁽³⁾.

Las infecciones virales por dengue causan un aspecto de enfermedades que varía desde el proceso asintomático a la fiebre indiferenciada o al dengue clásico, y de esta a la fiebre hemorrágica. El periodo de incubación es de 3-8 días (3 como mínimo y 14 máximo) ⁽³⁾.

2. Agente Etiológico

El virus del dengue pertenece a la familia Flaviviridae. Con métodos serológicos se pueden distinguir cuatro serotipos, que se designan como dengue 1, dengue 2, dengue 3 y dengue 4. La infección en el hombre por ser un serotipo produce inmunidad para toda la vida contra la reinfección con ese serotipo, pero sólo protección temporal y parcial contra los otros. Todos los serotipos han sido aislados de casos autóctonos de la Américas ⁽³⁾.

3. Distribución del Vector

Aedes aegypti es una especie tropical y que se encuentra en todo el mundo, por lo general limitada a las latitudes comprendidas entre 35° norte y 35° sur, correspondientes a una isoterma de invierno de 10° C. La distribución de *Aedes aegypti* también está limitada por la altitud. Aunque generalmente no se encuentra por encima de los 1,000 metros SNM ⁽³⁾.

La aparición del dengue y del dengue hemorrágico en América Latina siguió a la reinfestación por *Aedes aegypti* en la mayoría de los países de donde este vector había sido erradicado ⁽³⁾.

Si bien desde 1,981 en adelante, 25 países de las Américas habían notificado experiencias con el dengue hemorrágico, hasta febrero del 1,998 la

mayoría de casos (52.5%) y las muertes (36%) se habían registrado solamente en Venezuela ⁽⁴⁶⁾.

En 1,990 hubo un significativo incremento en la ocurrencia de epidemias de dengue en Brasil – 560 mil casos en 1,998. Actualmente, las notificaciones permanecen en más de 200 mil casos, con la circulación de serotipos 1 y 2 en 18 estados y el aislamiento de un tercer serotipo –DEN3- en la Ciudad de Río de Janeiro en enero de 2,001 ⁽⁶⁾.

El primer caso reconocido de dengue hemorrágico en la Guyana Francesa ocurrió en 1,992 ⁽⁷⁾.

En enero de 1,997, Cuba notificó un brote de dengue 2 en el municipio de Santiago de Cuba ⁽⁸⁾.

Colombia, en el año de 1,997 presentó una epidemia de 330 casos que se extendió a 1,998 con 284 casos. Las poblaciones más afectadas fueron las de los niños y adolescentes ^(9,10).

En 1,999, se investigó una epidemia de la enfermedad que afectó Nuevo Laredo, Tamaulipas, México y Laredo, Texas, Estados Unidos, así como ciudades contiguas que comparten la línea fronteriza ^(11,12).

En Guatemala se tiene conocimiento de la presencia del dengue desde 1,972 ⁽³⁾. Las áreas de salud de Guatemala en el año 2,002 reportaron 7,599 casos de dengue clásico. Presentando mayor incidencia los departamentos de Petén, Quiché, Escuintla y El Progreso ⁽⁴⁾.

4. Reservorio

Aedes aegypti, una especie del subgénero *stegomyia*, se originó probablemente en África, donde existen formas selváticas y domésticas, mientras que en las Américas sólo se encuentran las formas domésticas.

Parece probable que fuera transportado por buques del Viejo al Nuevo Mundo en barriles de agua durante las primeras exploraciones y colonizaciones europeas. *Aedes aegypti* se conoce comúnmente como el mosquito de la “fiebre amarilla” porque durante siglos esta especie transmitió la fiebre amarilla urbana, un grave problema de salud pública en África y las Américas (3).

En el Nuevo Mundo, *Aedes aegypti* es ante todo una especie “doméstica” que infesta los recipientes naturales o artificiales encontrados en las viviendas humanas o en sus cercanías. La hembra se alimenta sobre todo de sangre humana y de la de los animales domésticos. Este mosquito raras veces se encuentra a más de 100 metros de las casas, aunque se han notificado excepciones en las Indias occidentales y en la parte meridional de los Estados Unidos (4). Se pueden distinguir cuatro serotipos, que se designan como dengue 1, dengue 2, dengue 3 y dengue 4 (3).

5. Mecanismos de Transmisión

La enfermedad se propaga por la picadura de la hembra de *Aedes aegypti* infectada, que ha adquirido el virus al ingerir la sangre de una persona con dengue. El zancudo infectado transmite la enfermedad al picar a otras personas, que a su vez caen enfermas (54,55).

a. Macrofactores determinantes de la transmisión del dengue :
factores de riesgo ambientales y sociales.

- i. Ambientales
 - o Latitud: 35° N a 35° S

- Altitud < 2,200 mts
- Gama de temperatura ambiente: 15° C – 40° C
- Humedad relativa : de moderada a alta

ii. Sociales

- Densidad de la población : de moderada a alta
- Patrones de asentamiento : Urbanización no planificada y densidad de asentamiento elevada.
- Vivienda : Tejidos de alambre inadecuados o inexistentes, y desagües obstruidos con desechos.
- Aprovechamiento de agua : agua almacenada en la casa por más de 7 días, ausencia de abastecimiento de agua corriente individual, disponibilidad intermitente y uso de toneles o tanques destapados.
- Recolección de desechos sólidos: envases de almacenamiento inadecuados, recolección inadecuada o inexistente, recipientes pequeños en desuso de menos de 50 litros, neumáticos o pilas de neumáticos desechados, y automóviles abandonados.
- Estado socioeconómico
- Períodos inactivos en la casa durante el día
- Creencias y conocimientos sobre el dengue (56,57).

b. Microfactores determinantes de la transmisión del dengue: factores de riesgo de hospederos, agentes y vectores.

i. Factores individuales del hospedero

- Sexo
- Edad
- Grado de inmunidad
- Condiciones de salud específicas
- Ocupación

ii. Factores del agente de la enfermedad

- Nivel de viremia
- Factores de los vectores
- Abundancia y focos de proliferación de mosquitos
- Densidad de hembras adultas
- Edad de las hembras
- Frecuencia de la alimentación
- Preferencia de hospederos
- Disponibilidad de hospederos
- Susceptibilidad innata a la infección

Luego de una ingestión de sangre infectante, el mosquito puede transmitir el agente después de un período de 8-12 días de incubación extrínseca (56,57).

El zancudo del dengue es el *Aedes aegypti*, es un pequeño insecto blanquinegro, con rayas en el dorso y patas. Los zancudos transmiten la enfermedad a la persona que pican (3).

Como no hay manera de saber si un zancudo transporta o no el virus del dengue, las personas deben de tratar de evitar toda clase de picaduras y sobre todo evitar la proliferación de zancudos, controlando sus criaderos (54,55).

Pican de preferencia en las primeras horas de la mañana y al final de la tarde. La hembra se alimenta sobre todo de sangre humana o de animales domésticos. Debido a su estrecha asociación con el hombre, *Aedes aegypti* es un zancudo urbano. La ingestión de sangre proporciona una fuente de proteínas para el desarrollo de los huevos (54,55).

Las superficies de reposo preferidas por el zancudo son las paredes, los muebles y objetos colgantes como ropa, toallas y cortinas.

Los huevos de *Aedes aegypti*, se adhieren a la superficie interna de los recipientes en la parte húmeda, apenas por encima del nivel del agua. El desarrollo embrionario normal se completa en 48 horas (54,55).

Una vez que el desarrollo embrionario se completa, los huevos pueden resistir largos períodos de sequedad, a veces durante más de un año. Cuando se vuelven a mojar los huevos la mayoría eclosionan. Los recipientes preferidos por las hembras para poner sus huevos son toneles, tanques, pilas, tinajas, botes, floreros y llantas (54,55).

Las larvas pasan por cuatro estadios cuya duración depende de la temperatura, la disponibilidad de alimento y densidad larvaria del recipiente, variando entre 6 y 12 días, dependiendo de las condiciones ambientales (3,54,55).

6. Hallazgos Patológicos y Patogénicos

La fiebre por dengue y sus principales manifestaciones clínicas, como fiebre, dolores osteo-mio-articulares, vómitos y exantema, responde a mecanismos fisiopatológicos comunes a otras enfermedades agudas causadas por virus. La forma clínica fiebre hemorrágica dengue/síndrome de choque por dengue (FHD/SCD) tiene como característica diferencial la extravasación de líquidos a través de los endotelios, expresada en derrames en cavidades serosas, edema, hemoconcentración y choque; también están presentes los sangramientos, la trombocitopenia y otras alteraciones de la sangre, así como la afectación visceral (hígado, corazón, encéfalo) y de los linfocitos y órganos linfoides (58).

Estas alteraciones se deben no a un mecanismo único, sino diverso, no totalmente aclarado, cuyos componentes coinciden en el tiempo y se expresan

como un todo en cada paciente, pero con particularidades en cuanto a su intensidad y localización ⁽⁵⁸⁾.

En general, estos mecanismos fisiopatológicos pueden resumirse en:

a. Acción directa del virus sobre las células

La unión de virus a células depende de diferentes receptores a la superficie celular ⁽⁵⁹⁾. Cuando se trata de un dengue secundario, la infección de algunas células se facilita por adherencia inmune mediada por anticuerpos antidengue en células con receptores FC para las inmunoglobulinas; ya dentro del monocito, se produce una elevada replicación viral y después la subsecuente liberación de gran cantidad de virus, lo que determina la viremia aumentada que infecta muchas células en hígado, médula ósea, bazo, y demás órganos y tejidos ⁽⁵⁹⁾.

b. Acción de anticuerpos específicos, directamente o mediante la activación del sistema del complemento.

En la fiebre amarilla, los anticuerpos contra proteínas NS1 hace que las células hepáticas infectadas queden sensibilizadas para la acción citolítica mediada por el complemento. Probablemente esto también ocurra en el dengue. En el suero de pacientes con FHD y SCD, tomados durante la fase aguda de la enfermedad, se han encontrado niveles aumentados de IgG-1 fijadora de complemento, en comparación con los existentes en pacientes con fiebre por dengue 3. Algunos componentes del complemento, como C3a y C5a son potentes anafilatoxinas que pueden causar o contribuir al choque⁽⁵⁹⁾.

c. Acción de Linfocitos T citotóxicos

La respuesta inmunológica estudiada en voluntarios humanos infectados por virus dengue permitió constatar la elevación de interferón gamma (INF-gamma), del receptor soluble de Interleuquina 2, CD4 soluble e inteleuquina 2 durante el periodo de viremia. Posteriormente se apreció la elevación de linfocitos CD8. Todo lo cual ratifica que las células T son activadas in vivo por la infección del dengue. Los linfocitos T citotóxicos pueden provocar la lisis de células diana mediante un periodo de apoptosis ⁽⁶⁰⁾.

d. Acción de citoquinas y otros mediadores

Las funciones de los linfocitos T citotóxicos son moduladas por la (IL-2 e IL-7) y por el IFN-gamma. También la interleucina 8 participa en estos mecanismos, así como la interleucina 1 y un inhibidor de la misma que pueden causar inmunosupresión y participar en el proceso de la infección por virus dengue ⁽⁶⁰⁾.

Todos estos mecanismos de acción van a hacer influidos por algunos factores del virus, como son el tipo de cepa infectante, las diferencias en su estructura genómica y la dosis infectante o multiplicidad de la infección; y por factores del hospedero, como son las particularidades de restricción del antígeno leucocitario humano (HLA), o antígeno mayor de histocompatibilidad propias de cada ser humano, las diferencias individuales (polimorfismo) para un número de receptores Fc gamma, la respuesta anamnésica a la infección por otro serotipo del virus dengue, así como la edad, y la estructura genética del hospedero que influye en la producción de Citoquinas ⁽⁶⁰⁾.

e. Extravasación capilar, choque y edema pulmonar

En los enfermos con dengue hemorrágico se ha demostrado el aumento de impermeabilidad intravascular, utilizando métodos no invasivos (Pletismografía). Los virus dengue son capaces de infectar y replicarse en cultivos de células endoteliales, siendo la infección viral dependiente de la multiplicidad de la infección ⁽⁶¹⁾.

Los monocitos y macrófagos tisulares producen moléculas bioactivas capaces de influir en el funcionamiento de muchos tejidos entre estas moléculas están el factor de Necrosis tumoral (TNF alfa o Caquectina) y la IL-1, cada una de las cuales va a actuar a nivel de receptores específicos en hígado, riñones, pulmones y otros órganos induciendo respuesta a nivel celular caracterizadas por una despolarización de los potenciales de la membrana de las mismas, que se traducen, entre otros efectos, en un escape de líquidos, hemoconcentración, choque, acidosis y daño multivisceral ⁽⁶¹⁾.

f. Hemorragias, trombocitopenias y otras alteraciones en la sangre

Las hemorragias en el dengue son un fenómeno multicasual: diapedesis, trombocitopenia, alteración de los mecanismos de la coagulación y otros.

Hoy se acepta que los mecanismos que determinan trombocitopenia en el curso de infecciones virales también pueden ser multifactoriales entre ellos: a) La penetración del virus en las plaquetas o sus precursores los megacariocitos, los cuales ofrecen un medio adecuado para la replicación viral; este mecanismo fue propuesto para el dengue en la década de 1,960; b) los virus pueden fijarse o adsorberse a las plaquetas provocando su agregación o degranulación, lo cual puede conducir a trombosis intravascular con depleción de las plaquetas y factores de coagulación; y c) mecanismos de tipo inmunológico ⁽⁶²⁾.

g. Daño hepático

El hígado es uno de los órganos más frecuentemente afectados durante la FHD y donde se aprecia alteraciones más importantes. No obstante, aún no se conoce con exactitud el mecanismo patogénico del daño hepático y, más aún se desconoce la participación del hígado en la cascada patogénica de la FHD/SCD ⁽⁵⁹⁾.

h. Afectación del Sistema nervioso Central

Se ha hablado indistintamente de encefalitis o encefalopatía por dengue para referirse a paciente con síntomas y signos neurológicos muy variados en el curso de esta enfermedad. Algunos de estos casos cumplen los criterios para la FHD, otros no. La afectación de la conciencia ha variado desde la somnolencia y confusión hasta el coma. Se ha referido convulsiones, espasticidad, parálisis, signos extrapiramidales. A veces el paciente ha sido hospitalizado con el diagnóstico inicial de meningitis aséptica y diagnosticado después como dengue ⁽⁶¹⁾.

i. Daño a linfocitos y órganos linfoides

La activación de endonucleasas que resultan en formación de fragmentos de ADN de aproximadamente 180bp constituyen los cambios a nivel molecular que evidencian que la apoptosis, a diferencia de la necrosis, es un modo activo de muerte celular, que requiere de síntesis de ARN y proteínas. La apoptosis puede presentarse en distintos tipos de condiciones. Una de ellas es cuando ocurre muerte celular a partir de estímulos patológicos de naturaleza química, física o biológica ⁽⁶¹⁾.

j. Daño Miocárdico

En el curso del dengue la lesión cardíaca se hace evidente por la frecuencia con que encuentran alteraciones electrocardiográficas en los pacientes graves. Existen informaciones sobre enfermedad cardíaca producida por arbovirus (miocarditis y miocardiopatía) incluidos pacientes que tuvieron dengue ⁽⁶³⁾.

Actualmente, se reconoce un componente inmunológico en casi todas las miocarditis producidas por virus, lo cual podría ser el caso de las encontradas en el dengue. Tempranamente durante la fase aguda, los antígenos virales se expresan en la superficie de la célula miocárdica y se convierten en dianas de monocitos y macrófagos, los cuales se adhieren y liberan mediadores, así como de linfocitos T citotóxicos que producen daño miocárdico. También se produce activación del complemento a partir de los complejos virus-anticuerpos, que contribuyen a la destrucción celular ⁽⁶¹⁾.

7. Manifestaciones Clínicas.

El cuadro clínico se caracteriza por comienzo brusco, fiebre alta (40° C), mialgias y artralgias intensas, exantema y ataque al estado general. El período de incubación oscila entre 3 y 8 días, con una variación de 2.5 a 15 días, seguida de síntomas prodrómicos generales. El inicio clínico es brusco que persiste por 5 ó 6 días y habitualmente culmina en crisis, por lo que se le ha conocido como “fiebre de los cinco días”. La hipertermia se acompaña de cefalea intensa, dolor retrocular, dolor de músculos y articulaciones con escalofrío moderado, la alteración del sentido del gusto es frecuente al inicio de la enfermedad. Puede haber astenia, mareos, fotofobia, diaforesis, ardor de garganta, tos, epistaxis, hiperestenia, dolor inguinal, testicular y ocasionalmente delirio ⁽³⁾.

a. Dengue clásico

Las características clínicas de la fiebre del dengue dependen a menudo de la edad del paciente. Los lactantes y preescolares pueden sufrir una enfermedad febril indiferenciada con erupción maculopapular. Los niños mayores y los adultos pueden tener una enfermedad febril leve o bien la clásica enfermedad incapacitante de inicio abrupto, fiebre alta, cefalea intensa, dolor retroorbital dolores musculares y articulares y erupción cutánea. Las hemorragias de la piel (con prueba del torniquete positiva, petequias o ambas) no son raras. Es frecuente la leucopenia y en ocasiones se observa trombocitopenia. La tasa de mortalidad es sumamente baja ⁽⁴⁾.

Muchas epidemias de fiebre del dengue se asocian a complicaciones hemorrágicas tales como epistaxis, hemorragia gingival, hemorragia gastrointestinal, hematuria e hipermenorrea. ES IMPORTANTE DIFERENCIAR LOS CASOS DE DENGUE CON HEMORRAGIA INUSUAL DE LOS DE DENGUE HEMORRÁGICO ^(3,55).

b. Dengue Hemorrágico

Los casos típicos de DH observados en Asia se caracterizan por cuatro manifestaciones clínicas fundamentales; Fiebre alta, fenómenos hemorrágicos, hepatomegalia y, a menudo, insuficiencia circulatoria. La trombocitopenia de moderada a intensa con hemoconcentración simultánea es un hallazgo de laboratorio característico. El cambio fisiopatológico principal que determina la gravedad de la enfermedad en el DH y lo distingue del dengue clásico es la extravasación de plasma, puesta de manifiesto por un incremento del hematocrito y una hemoconcentración ascendente ^(3,55,56).

La trombocitopenia y la hemoconcentración son hallazgos constantes en el DH. Por lo general, de 3 a 8 días después del inicio de la enfermedad el recuento de plaquetas es inferior a 100,000/mm³. La hemoconcentración, que indica extravasación de plasma, se encuentra siempre, incluso en casos sin

choque; sin embargo, es invariablemente más grave en casos de choque. El hallazgo de hemoconcentración con elevación del hematocrito en un 20% o más se considera prueba del aumento de la permeabilidad capilar y de la extravasación de plasma. Conviene observar que el valor del hematocrito puede verse modificado por la reposición precoz de líquidos, o por las hemorragias. En la mayoría de los casos, los estudios de coagulación y los factores fibrinolíticos muestran descenso del fibrinógeno, protrombina, factor VII, factor XII y antitrombina III ⁽⁵⁸⁾.

Otros resultados comunes son hipoproteinemia, hiponatremia y niveles ligeramente elevados de aspartato aminotransferasa sérica. En los pacientes con choque prolongado es frecuente la acidosis metabólica, mientras que en la fase terminal de estos casos suele encontrarse un aumento del nitrógeno ureico en sangre. Las radiografías de tórax muestran derrames pleurales, por lo general del lado derecho, como hallazgos frecuentes ^(3,55).

Clasificación de la gravedad del dengue hemorrágico (DH).

La gravedad del DH se clasifica en cuatro grados :

Grado I : Fiebre acompañada de síntomas generales no específicos, la única manifestación hemorrágica es una prueba de torniquete positivo.

Grado II : Hemorragia espontánea, además de las manifestaciones de los pacientes de grado I, generalmente en forma de hemorragia cutánea, de otras localización, o ambas.

Grado III : Insuficiencia circulatoria, que se manifiesta por pulso rápido y débil, tensión diferencial disminuida (20mm Hg o menos) o hipotensión, con piel fría y húmeda y agitación.

Grado IV : Choque profundo con presión arterial y pulso imperceptibles.

La presencia de trombocitopenia con hemoconcentración simultánea diferencia el dengue simple de los grados I y II del dengue hemorrágico (3).

i. Dengue Hemorrágico sin Choque

La enfermedad suele comenzar con un aumento súbito de temperatura, que viene acompañada por rubor facial y otros síntomas constitucionales no específicos, que se asemejan al dengue, como anorexia, vómitos, cefalea y dolores musculares o de las articulaciones. El malestar epigástrico, la sensibilidad en el reborde costal derechos y el dolor abdominal generalizado son comunes. La temperatura es típicamente alta durante 2 a 7 días y luego baja al nivel normal o subnormal; ocasionalmente puede subir hasta 40° C – 41° C y pueden presentarse convulsiones febriles (3, 54).

La manifestación hemorrágica más común es una prueba del torniquete positiva; en la mayoría de los casos se encuentran moretones y hemorragias en los sitios de venipuntura. Durante la fase febril inicial pueden observarse petequias finas diseminadas en las extremidades, las axilas, la cara y el paladar blando. La epistaxis y la hemorragia gingival son menos comunes. En ocasiones se produce una hemorragia gastrointestinal leve (3,54).

ii. Síndrome de Choque del Dengue

En casos graves, el estado del paciente se deteriora en forma súbita luego de una fiebre de pocos días de duración. En el momento en que se baja la temperatura o poco más tarde, entre 3 y 7 días después del inicio, aparecen los signos de insuficiencia circulatoria; la piel se torna fría y congestionada a menudo se observa cianosis circunoral y el pulso se debilita y acelera. El dolor abdominal agudo es una molestia frecuente poco antes de sobrevenir el choque. El choque se caracteriza por un pulso acelerado y débil con reducción de la presión del pulso ó hipotensión con piel fría y húmeda y agitación. Los

pacientes en choque están en peligro de muerte si no se les administra en seguida el tratamiento apropiado. Pueden pasar a una etapa de choque profundo, haciéndose imperceptibles la presión arterial y el pulso. La duración del choque es corta; es paciente puede morir en 12-24 horas o recuperarse con rapidez después de recibir el tratamiento de reposición de líquidos apropiado (3,55-58).

En enero de 1,997, Cuba notificó un brote de dengue 2 en el municipio de Santiago de Cuba (8). Doscientos cinco pacientes se clasificaron como fiebre hemorrágica del dengue y síndrome de choque del dengue FHD/SCD, de los cuales fallecieron doce (todos adultos). La tasa de letalidad fue de 5.8 por cada 100 casos de FHD/SCD y de 0.4 por cada 100 casos FD (64).

8. Diagnóstico de Laboratorio

El diagnóstico del dengue se puede realizar por medio de aislamiento viral y por pruebas serológicas.

Las muestras para aislamiento viral deben ser colectadas en los tres primeros días del inicio de la enfermedad. Deben recolectarse asépticamente 10 ml de sangre total, la cual será transferida a tubos estériles libres de aditivos o preservantes. Los tubos conteniendo la sangre se colocan en hielo o en el refrigerador (4° C) lo más pronto posible (65).

Para asegurar óptimas condiciones para el aislamiento viral la separación del suero se realiza el mismo día de la toma de la muestra y, en forma aséptica. Los tubos con el suero se congelan y almacenan a temperaturas entre -20 y -70° C. El suero debe enviarse lo antes posible al laboratorio transportándolo siempre congelado (65).

Usualmente se toman dos muestras de suero para el diagnóstico serológico: una en la fase aguda y otra en la fase convaleciente. El suero de fase aguda se extrae durante los primeros cinco días de la enfermedad y el de fase convaleciente dos a tres semanas más tarde. Para lograr el máximo rendimiento del suero, la sangre recolectada se deja a temperatura ambiente por una hora y a 4° (en refrigeración) el suero se transfiere a un tubo previamente rotulado y se congela a -20°C. El envío al laboratorio debe realizarse preferiblemente en congelación (-20° C) o a 4°C ⁽⁶⁵⁾.

a. Aislamiento del Virus del Dengue

Uno de los sistemas biológicos más empleados en el aislamiento del virus del dengue, a pesar de su baja sensibilidad, ha sido el ratón lactante inoculado por vía intracerebral. También se han utilizado diferentes sistemas celulares de mamíferos incluyendo: células BSC1, *VERO*, BHK-21, LLCMK2.

En los últimos años se han desarrollado una serie de líneas de mosquitos que han resultado ser mucho más sensibles a la infección por el virus en comparación con los sistemas anteriores. Dentro de las más utilizadas se encuentran las células AP-61, C636, TRA-284. La elevada sensibilidad de estos sistemas ha permitido alcanzar un alto índice de aislamiento.

Actualmente se emplea con éxito la inoculación intratorácica de mosquitos sistema que ha demostrado ser el más sensible ^(65,66).

i. Inoculación Intratorácica de Mosquitos

Dada su elevada sensibilidad, la inoculación de mosquitos es el método de elección en el aislamiento del dengue, principalmente en aquellos casos de FHD/SSD. Es conveniente utilizar los anticuerpos monoclonales en la identificación a partir del cerebro del mosquito infectado. En algunos casos puede haber fluorescencia inespecífica, lo que conlleva a resultados erróneos.

Es conveniente confirmar los resultados por otro método como la fijación de complemento (FC).

Entre las especies de mosquitos utilizadas en el aislamiento se encuentran: *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* y *T. amboinensis*. El dengue no se replica en *Culex quinquefasciatus*. Como vías de inoculación se utilizan la intracerebral y la intratorácica.

Los mosquitos a utilizar en esta técnica se inmovilizan usando bajas temperaturas pero en algunas ocasiones, si son resistentes al frío, se deben tomar medidas adicionales, principalmente si estamos utilizando hembras, que de escaparse, crearían el riesgo de transmisión. Entre las medidas a tomar se encuentran el uso de CO₂ u otros anestésicos, aunque estos pueden crear efectos letales en los mosquitos (65,66).

Las principales ventajas del uso de este método son:

- Los mosquitos vivos son más sensibles a la infección que ningún otro método de ensayo.
- No se necesitan grandes recursos ni equipos sofisticados para su empleo.
- La replicación de virus en mosquitos vivos se puede mantener en un rango más amplio de temperatura a diferencia del uso de cultivos celulares.

ii. Cultivos de Mosquitos

Son las células más sensibles para el aislamiento de] dengue. Pueden utilizarse las C636, AP61 y las TRA-284 en este orden creciente de sensibilidad. Cabe señalar que algunas líneas del clono celular C636 se han vuelto menos sensibles a los virus del dengue, sugiriendo que el mismo no es homogéneo. Aún cuando algunas pocas células se infectan, varias cepas no se replican y diseminan al resto de las células lo que influye en la identificación de

los virus utilizando anticuerpos monoclonales. Las ventajas de esta línea celular es su facilidad de manipulación y rapidez de crecimiento (65,66).

La línea celular AP61 es altamente sensible a los virus del dengue mostrando frecuentemente ECP (efecto citopático) de tipo sincitial. Aunque algunos autores plantean la dificultad de identificar los aislamientos en estas células utilizando la inmunofluorescencia indirecta (IFI), dicha técnica es útil si se dispersan bien las células al realizar el frotis.

La línea celular TRA-284 es la RNAs sensible en el aislamiento del dengue. Son fáciles de manipular y muy económicas ya que crecen en medio libre de suero de ternero fetal aunque su velocidad de crecimiento y *split* no son grandes. Son mayores que las C636 y el tamizaje mediante la IFI es relativamente fácil (65).

Como método general se inocula la muestra, se espera de 10 a 14 días (observando la posible aparición de ECP y se realiza la IFI. Esta última se realiza primero como tamizaje utilizando un pool de sueros humanos positivos o líquido ascítico hiperinmune (LAH). En los casos positivos se realiza una IFI utilizando anticuerpos monoclonales (AcM) específicos a los cuatro tipos de dengue (65).

En ocasiones, dada la alta especificidad de los AcM, no se puede identificar el virus del dengue, por lo que deben utilizarse diluciones de los LAH a cada uno de los virus del dengue y encontrar el que produce fluorescencia específica a la mayor dilución.

La confirmación puede realizarse por neutralización por reducción de placas previo título del virus aislado (65,66).

b. Hemaglutinación

Ciertos virus aglutinan los glóbulos rojos. La Hemaglutinación (HA) es la unión de los eritrocitos producida por el virus o por alguna estructura de] mismo. El resultado visible de la HA viral es un patrón formado en el fondo del pozuelo por los eritrocitos unidos por la hemaglutinina viral.

En la hemaglutinación directa, el virus actúa directamente sobre las células y esta propiedad puede ser inhibida por anticuerpos específicos contra virus. En el caso de los Arbovirus, la propia partícula viral es la hemaglutinina, no existiendo enzima destructora del receptor como en los Orthomyxovirus.

Los anticuerpos a los Arbovirus poseen una amplia reactividad de grupo por lo que la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH) se utiliza para clasificar a los mismos en grupos antigénicos ^(65,66).

c. Fijación del Complemento

La técnica de Fijación del Complemento (FC), se fundamenta en la reacción antígeno-anticuerpo específicos donde además interviene un tercer elemento el complemento que normalmente se encuentra en el suero sanguíneo. Para que el sistema antígeno-anticuerpo-complemento se encuentre asociado, debe presentar la homología antígeno-anticuerpo correspondiente y además poseer la propiedad de fijar el complemento presente en el medio donde se encuentran las cantidades apropiadas de cada componente. Para detectar la presencia de complemento libre se emplea un sistema indicador formado por glóbulos rojos de carnero y hemolisina (anticuerpos anti-hematíes de carnero). Este sistema hemolítico fija el complemento libre y produce lisis de los eritrocitos de carnero lo que se hace visible a simple vista ⁽⁶⁵⁾.

Todos los reactivos utilizados (complemento, hemolisina, antígenos), deben ser titulados para determinar las condiciones óptimas de fijación y se emplean en las proporciones correspondientes. Un exceso de complemento puede dar falsos negativos; por el contrario si hay defecto puede dar falsos positivos.

Los glóbulos de carnero deben ser sensibilizados con las cantidades óptimas de hemolisina. Otros factores que pueden afectar la prueba y deben ser controlados son la concentración iónica, pH, volumen total de los reactivos, cantidad de glóbulos rojos, concentración de calcio y magnesio (sin los cuales el complemento es inactivo), temperatura y tiempo de incubación ⁽⁶⁵⁾.

Para que la prueba sea válida deben incluirse los controles necesarios:
Control de suero: Algunos sueros son anticomplementarios es decir, fijan el complemento inespecíficamente. La causa puede ser por contaminación bacteriana, presencia de lípidos o de agregados de gamma globulina almacenamiento prolongado, adición de compuestos que contengan calcio y magnesio, entre otros
Control de antígeno Algunos antígenos son anti-complementarios, particularmente aquellos obtenidos de órganos infectados. Por lo tanto, debe utilizarse un control de antígeno normal obtenido en igual forma
Control de complemento y de glóbulos rojos: Todos los sueros deben ser inactivados ya que pueden contener complemento, lo que alteraría los resultados ⁽⁶⁵⁾.

d. Inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia (IF) o técnica de anticuerpos fluorescentes se basa en la unión inmunológica de un anticuerpo marcado con un fluorocromo a su antígeno homólogo.

Se considera un fluorocromo a una sustancia que al ser excitada por una onda luminosa es capaz de emitir luz de menor energía (mayor longitud de

onda) que la de la onda que provoca la excitación. El fluorocromo de más amplia aplicación en esta técnica es el isotiocianato de fluoresceína (65,66).

En 1941, Coons y colaboradores, introdujeron la técnica de IF, empleando isocianato de fluoresceína para el marcaje de antígenos y anticuerpos. Posteriormente Riggs y colaboradores modificaron las técnicas de conjugación reemplazando el isocianato por el isotiocianato, este último más estable, más fácil de conjugar y de obtener comercialmente.

A partir de 1,950 la IF ha sido ampliamente utilizada para la identificación de parásitos, bacterias y numerosos virus así como para la detección de anticuerpos dirigidos contra ellos (65).

i. Principio de la técnica

Las moléculas proteicas de los anticuerpos se unen al marcador fluorescente (fluorocromo) por medio de enlaces químicos firmes que esencialmente no alteran la actividad inmunológica de estos anticuerpos, manteniendo íntegramente su capacidad de unirse a los antígenos homólogos(65,66).

Debido a la alta especificidad de la reacción Ag-Ac, la IF se ha convertido en un método muy útil para el diagnóstico así como también el tiempo relativamente corto que se requiere para el procesamiento de la muestra hasta llegar al resultado final (65,66).

La IF es aplicable a cualquier sustancia antigénica que se localice dentro o fuera de las células, ya sean protozoarios, bacterias, rickettsias, virus, hormonas enzimas, antígenos tisulares y otros.

La extensa variedad de estructuras y propiedades físicoquímicas de los antígenos implica que los requerimientos para el marcaje del antígeno con el

fluorocromo variarán para cada caso en específico, de allí que se haya generalizado el marcaje de los anticuerpos (todos los anticuerpos son proteínas). Es por ello que la se conoce también con el nombre de técnica de anticuerpos fluorescentes ⁽⁶⁵⁾.

e. Inmunoensayo Enzimático

En los últimos años se han desarrollado métodos inmunológicos que han tenido una aplicación creciente en el campo de la virología. Algunos de estos métodos se han agrupado bajo el nombre de "métodos rápidos para el diagnóstico virológico", entre los cuales destaca el inmunoensayo enzimático sobre fase sólida conocido como ELISA, que por reunir características que lo hacen muy útil para la detección de anticuerpos y antígenos ha reforzado o remplazado algunos de los métodos clásicos^(65,66).

Uno de los componentes principales de este sistema lo constituyen los conjugados, que están formados por una enzima ligada a un antígeno o anticuerpo determinado ⁽⁶⁵⁾.

Existe una gran variedad de enzimas que por ser estables, altamente reactivas y puras han sido utilizadas como marcadores. Entre ellas se encuentran la acetil-colinesterasa citocromo C, B-D-galactosidasa y otras. Sin embargo, la fosfatasa alcalina y la peroxidasa han sido las más utilizadas por su bajo costo, fácil conjugación y su amplia variedad de sustrato.

En el proceso de conjugación es importante que la enzima y el anticuerpo o antígeno mantengan al máximo su actividad, así como lograr un óptimo acoplamiento de ambos componentes. Entre los métodos de conjugación más utilizados se encuentran el del glutaraldehído de dos pasos y el del peryodato, siendo este último el que brinda mejores resultados cuando se trabaja con peroxidasa ^(65,66).

i. ELISA de Captura de IgM

En la infección primaria por cualquier virus del complejo dengue se produce una respuesta de anticuerpos de la clase IgM, los cuales aparecen en niveles detectables una vez finalizada la fiebre y la viremia, por lo que se recomienda que las muestras utilizadas para la determinación de este anticuerpo sean extraídas después del quinto día del establecimiento de la enfermedad ^(65,66).

El inmunoensayo enzimático sobre fase sólida (ELISA) ha sido utilizado como método para el diagnóstico serológico en un gran número de enfermedades virales. Uno de los métodos aplicados es el de captura de IgM utilizado para demostrar infecciones actuales o recientes. Para ello se emplea Inmunoglobulinas humanas anti-IgM fijadas a una placa.

La detección de anticuerpos IgM al virus Dengue resulta de extrema utilidad tanto en el diagnóstico de casos clínicamente sospechosos como en los sistemas de vigilancia epidemiológica para esta enfermedad ^(65,66).

Gubler describió un método ELISA de captura de IgM para la vigilancia del dengue hemorrágico. Comparó los resultados del estudio con la IH y encontró buena sensibilidad y una especificidad muy semejante a la de esta última técnica. Además, es un método rápido para determinar infecciones de dengue en casos hospitalizados de áreas endémicas. Es muy útil en la vigilancia de áreas no endémicas, ya que con seguridad cualquier caso positivo indica infección reciente. Por otra parte, es importante señalar que para el diagnóstico solamente se requiere de una muestra ⁽⁶⁶⁾.

ii. Sistema Ultra-Micro-ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti-dengue (UMELISA-Dengue)

El UMELISA-DENGUE es un análisis inmunoenzimático heterogéneo en su variante de captura, en el cual se utiliza como fase sólida una placa de ultra-micro-ELISA (10 microlitros por pocillo) revestida previamente con anticuerpos contra IgM humana.

Las muestras se incuban por duplicado en los pocillos de la placa y la IgM presente en el suero se fija a los anticuerpos de recubrimiento. A continuación, previo lavado que elimina los componentes no fijados, se añade el antígeno específico de dengue (los cuatro serotipos); seguido nuevamente de incubación y lavado. Posteriormente se añade un anticuerpo monoclonal de ratón contra virus del dengue conjugado con fosfatasa alcalina. En caso de reacción positiva, este anticuerpo marcado se une al complejo formado previamente sobre la fase sólida. Un nuevo lavado de la placa elimina el exceso de conjugado. Al añadir un sustrato fluorogénico, este se hidroliza y la fluorescencia que emite permite detectar la presencia de anticuerpos IgM específicos contra el virus del dengue ^(65,66).

Las técnicas serológicas constituyen un auxiliar imprescindible, en el diagnóstico virológico y se les confiere esta importancia por lo difícil que resulta en la mayoría de los casos lograr el diagnóstico por aislamiento viral ⁽⁶⁵⁾.

iii. ELISA de Inhibición

Para el diagnóstico de los Arbovirus se han aplicado pruebas serológicas que por su amplio uso se consideran como técnicas clásicas, tal es el caso de la inhibición de la hemaglutinación (IH) la fijación del complemento (FC) y la neutralización (Nt). Sin embargo en años recientes se han introducido técnicas de mayor sensibilidad y facilidad de ejecución que han ido ganando

terreno en el campo del diagnóstico virológico, sobre todo por la rapidez de los resultados. Entre ellas se encuentran los inmunoensayos enzimáticos y de estos el Inmunoensayo enzimático sobre fase sólida (ELISA) que ha alcanzado una gran utilización en el diagnóstico de otros virus como hepatitis, rubéola, encefalitis B japonesa citomegalovirus y otros (65,66).

9. Tratamiento

Un oportuno y efectivo reemplazo de pérdidas de plasma o un expansor de plasma o fluidos o soluciones electrolíticas resultan en una favorable recuperación en la mayoría de los casos. Con una adecuada y apropiada administración de fluidos, el DSS (dodecilsulfato de sodio) es rápidamente irreversible en una rápida y oportuna resucitación de choque y la corrección de alteraciones metabólicas y electrolíticas prevendrá la diseminación de coagulación intravascular. La prognosis depende principalmente del pronto reconocimiento y tratamiento del choque, el cual depende de un cuidadoso monitoreo y pronta acción. No es necesario hospitalizar a todos los pacientes sospechosos de DHF, aunque el choque se desarrolla en solamente un tercio. El encuentro de un descenso continuo en el conteo de plaquetas, concurrente en un aumento del hematocrito es un indicador importante del principio del choque. De esta forma los signos tempranos del choque pueden ser reconocidos, los pacientes deberán de tener repeticiones continuas de conteo de plaquetas y hematocrito. Parientes y otras personas cercanas a los pacientes deberán ser aconsejadas de observar signos de deterioro o signos de alerta de choque tales como desasosiego o letargo, dolor abdominal agudo, extremidades frías, congestión de la piel y oliguria. El período crítico es usualmente en el día del término del choque, típicamente después del tercer día de enfermedad (66).

En la fiebre del dengue hemorrágico la sed y la deshidratación es resultado de la fiebre alta, anorexia y vómitos por lo tanto la ingestión oral de fluidos debe ser adecuado. Una solución de reemplazo electrolítica o jugo de

fruta es preferible sobre el agua pura. Soluciones de hidratación oral como en el tratamiento de enfermedades diarreicas, es recomendada (66).

Durante la fase febril aguda, existen algunos riesgos de convulsión. Los antipiréticos pueden ser indicados en pacientes con hiperpirexia, particularmente con aquellos pacientes con historia de convulsiones febriles.

Los salicilatos no son recomendados, pues pueden causar sangrados y acidosis o síndrome Reye. El paracetamol es preferible para reducir la fiebre pero debe ser usado con precaución (66).

Una dosis deberá ser administrada cuando la temperatura corporal es mayor a 39° C, pero no más de seis dosis deberá ser administrada en un periodo de 24 horas. Los pacientes deberán ser observados de cerca para signos de choque.

El periodo crítico es la transición desde la febril a la fase afebril de la enfermedad, lo cual usualmente ocurre después del tercer día. Las determinaciones del hematocrito son una guía esencial para la terapia de este cuadro; puesto que ellas indican indirectamente el grado de fuga de plasma y la correspondiente necesidad de fluidos intravenosos. Un hematocrito alto usualmente precede a cambios en la presión sanguínea y pulso. El hematocrito deberá ser determinado diariamente desde el tercer día de la enfermedad hasta que la fiebre del paciente ha subsistido por uno o dos días. Si la determinación de hematocrito no es posible, la determinación de hemoglobina puede ser usada aunque es menos sensible (66).

Terapia parenteral de fluidos puede ser dada en una unidad de rehidratación de pacientes para aquellos con fiebre, vómitos y anorexia que producen deshidratación. El fluido usado para corregir la deshidratación se elige de acuerdo a la naturaleza de la pérdida de fluidos. En caso de

deshidratación isotónica, 5% de glucosa (50 g/L) diluida 1:2 o 1:1 en solución salina fisiológica puede ser usada.

La terapia de hospitalización de fluidos intravenosos puede ser necesaria cuando existe una deshidratación significativa (>mayor del 10% del peso corporal) y se necesita una rápida expansión de volúmen. Los signos significativos de deshidratación incluyen: taquicardia, incremento de la capilaridad, frío, piel manchada o pálida, disminución del pulso, oliguria e hipotensión ⁽⁶⁶⁾.

En el síndrome de choque del dengue se considera una emergencia médica. La inmediata administración de fluido intravenoso es esencial para expandir el volúmen del plasma. Cuando el choque persiste, el hematocrito y el oxígeno deben ser monitoreados. Si el hematocrito esta en aumento, el plasma es sustituido por 5% de albúmina (10-20mL/kg) esto puede ser administrado rápidamente, se puede repetir si es necesario hasta un total de dosis de 20 a 30 mL por kg de una solución coloidal. Si el choque aun persiste, el hematocrito debe ser evaluado para evidenciar su declinación, ya que este podría indicar una hemorragia interna. La transfusión de sangre completa fresca (10 mL/kg si el hematocrito esta por arriba del 35%).

La hiponatremia y la acidosis metabólica puede ocurrir en casos severos. Los niveles de electrolitos y la presión de los gases arteriales puede ser determinada periódicamente en los pacientes severos y en paciente que no respondan prontamente a lo esperado ⁽⁶⁶⁾.

La terapia sedativa es necesaria en algunos casos, pero debe ser restringida en niños agitados. La agitación puede estar asociada con perfusión en el tejido, por lo que es requerido el rápido reemplazamiento de volúmen, la agitación puede ser un signo temprano de insuficiencia hepática. Las drogas hepatotóxicas y sedantes de acción prolongadas pueden ser utilizadas. Una

simple dosis de hidrato cloral (12.5 -50 mg/kg), oral o rectal es recomendado (66).

La terapia con oxígeno, puede ser administrada a todos los pacientes con choque, pero el personal de enfermería debe estar preparado en el control de la mascarilla y en el manejo de cualquier eventualidad.

La transfusión sanguínea es solo recomendada en pacientes con choque en los cuales exista hemorragia clínica significativa.

Los exámenes de laboratorio esenciales para el control de estos pacientes son: Hematocrito, gases arteriales y electrolitos en suero, conteo de plaquetas, tiempo de protombina, tiempo de tromboplastina parcial, ALAT, ASAT y proteínas (66).

IV. JUSTIFICACION

La población del departamento de Escuintla está expuesta a la proliferación de numerosas enfermedades infecciosas como el dengue, malaria y leptospirosis por sus condiciones sociales y ambientales; especialmente después del paso del huracán Mitch en octubre de 1,998. En el año 2002 Escuintla alcanzó altas tasas de incidencia de dengue. Asimismo la población está expuesta a infecciones de leptospirosis humana ya que sus habitantes realizan actividades de riesgo o habitan zonas geográficas más vulnerables a los fenómenos naturales como las inundaciones. A la fecha no se cuenta con ningún estudio documentado de esta enfermedad por lo que esta investigación, permitió generar información de mucho valor a la Jefatura del Area, ayudando a conocer la procedencia de los casos positivos a leptospirosis humana y como circula esta bacteria en el departamento de Escuintla.

En el año 2,003 el municipio de Masagua sufrió una inundación, en el mes de junio, por lo que algunos habitantes del municipio, que en ese período presentaron síntomas característicos de dengue clásico, fueron referidos al laboratorio de Vigilancia Epidemiológica con indicación de posible infección por leptospira.

En este estudio se realizaron pruebas inmunológicas para detectar anticuerpos IgM; anti-dengue e IgM anti-leptospira en el LVE a cada muestra recolectada durante mayo-julio 2,003. Por medio de los resultados obtenidos se diferenciaron los casos de leptospirosis humana de los casos de dengue en pacientes con sintomatología similar. Al demostrar que existen infecciones producidas por leptospira en la población estudiada se propuso que esta enfermedad fuera incluida entre los protocolos de manejo y tratamiento de los pacientes que asisten con enfermedad febril a los servicios de salud del Area además de implementarse de rutina la prueba para esta enfermedad en el LVE para apoyar en el diagnóstico de los brotes epidémicos que se detecten.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo General

1. Establecer el diagnóstico diferencial de dengue y leptospirosis humana, en pacientes con enfermedad febril referidos al Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica que asisten a los Servicios de Salud del Area de Escuintla, durante mayo-julio 2,003.

B. Objetivos Específicos

1. Determinar el número de casos positivos de leptospirosis humana en muestras de pacientes febriles atendidos en los Servicios de Salud estatales del departamento de Escuintla.
2. Determinar el número de casos positivos de dengue en muestras de pacientes febriles atendidos en los Servicios de Salud estatales del departamento de Escuintla.
3. Demostrar que en el departamento de Escuintla la enfermedad febril de los casos referidos al LVE, es causada por leptospirosis además del Virus del dengue.
4. Demostrar la necesidad de incluir pruebas específicas para dengue-leptospirosis en la rutina del LVE, para su vigilancia epidemiológica.

VI. HIPOTESIS

Este estudio no presenta Hipótesis por ser de tipo Descriptivo

VII. MATERIALES Y METODOS

A. Universo

165 pacientes con enfermedad febril que asistieron a los servicios de Salud del Area de Escuintla (casos sospechosos de dengue, provenientes de los trece distritos de Escuintla, Ver anexo #4).

1. Muestra

84 muestras (sueros) de pacientes con enfermedad febril referidos al LVE durante mayo-julio 2,003 (pacientes que son clasificados por el LVE como casos sospechosos de dengue).

B. Recursos

1. Humanos

Investigadora: Br. Pavela Miroslava Estrada Aplícano.

Asesor: Lic. Emilio García.

Colaboración :Dra. Liliana Roche,Epidemióloga, Area de Salud Escuintla.

Dra. Blanca de Romillo.Veterinaria, USAC.

Personal de enfermería de los municipios de Escuintla, que tienen a cargo la toma, manejo y envío de muestras al LVE de Escuintla.

2. Institucionales

-Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Dirección Area de Salud de Escuintla.

-Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica de Escuintla (LVE).

-Facultad de Medicina Veterinaria de USAC.

3. Equipo.

- Microscopio de campo oscuro
- Microscopio de luz
- Centrífuga
- Pipetas semiautomáticas
- Lector de ELISA
- Lavador
- Refrigeradora (2-8°C)
- Congelador (-20°C)

4. Reactivos

- Juego de reactivos comerciales. Prueba de ELISA de detección de anticuerpos IgM anti-leptospira.
- Juego de reactivos comerciales, anticuerpos IgM anti-dengue.
- Hipoclorito de sodio al 5%
- Alcohol al 70%

5. Materiales

- Algodón
- Baterías para hielera
- Viales tipo Eppendorff
- Guantes descartables
- Hieleras

- Jeringas (5 y 10 mL).
- Láminas portaobjetos
- Láminas cubreobjetos
- Papel absorbente
- Papel limpia lentes
- Puntas plásticas para pipetas semiautomáticas
- Tubos vacutainer
- Tubos de ensayo para diluciones
- Recipiente para descarte de sangre
- Recipiente para descarte de agujas y jeringas
- Desinfectante
- Agua desmineralizada
- Vaso de precipitados 250 mL
- Probeta 500 mL
- Masking-tape

C. Pruebas inmunológicas

- Prueba de ELISA para dengue.
- Prueba de ELISA para leptospira.
- Confirmación de casos positivos de leptospira por medio de la técnica de Microaglutinación (MAT).

D. Procedimientos

1. Prueba de ELISA de Detección de Anticuerpos IgM Contra Virus del Dengue

a. Principio

El suero del paciente es diluido (el diluyente de suero contiene un removedor de factor reumatoide e IgG humana) y se agrega a pozos cubiertos con antígeno purificado. El anticuerpo específico (IgM), si está presente, se une al antígeno. Todos los materiales no unidos se lavan y el conjugado enzimático se agrega para ligarse al complejo anticuerpo-antígeno, si está presente. La enzima no conjugada en exceso se elimina mediante el lavado y se adiciona el sustrato. La intensidad del color generada es proporcional a la cantidad de IgM específica en la muestra.

b. Indicaciones Preliminares:

- El suero es la mejor muestra para llevar a cabo la prueba. Una muestra hiperlipémica, hemolizada o contaminada puede causar resultados erróneos.
- Duración de la prueba: 1 hora aproximadamente.
- Almacenamiento 2-8 °C.
- Antes de usar se deben llevar todas las muestras y el juego de reactivos a temperatura ambiente (20-25 °C).
- Sacar el número de pozos que se utilizarán en el ensayo y guardar los demás en la bolsa que contiene el desecante a 2-8 °C.
- Evitar el contacto de los tips con las paredes de los pocitos, para no contaminar, crear u obtener resultados falsos positivos.
- No se deben mezclar reactivos de diferentes lotes.
- La lectura se realiza a 450 nm.

c. Preparación de reactivos:

Solución Buffer:

Se removió la tapa y se agregó el contenido del frasco de 475 mL de reactivo. Se agregó la solución diluída de buffer lavador en un frasco de boca angosta.

Nota: El lavado consistió en llenar cada pozo totalmente, moviendo el contenido, y volviéndolo a llenar. Se debió evitar generar burbujas en los pozos durante los lavados.

Muestras:

Se preparó una dilución 1:21 mediante adición de 10 uL de muestra a 200 uL de diluyente de muestra.

Controles y Calibrador:

Listos para su uso.

Solución de parada

Se manejó con cuidado por ser una sustancia cáustica.

d. Procedimiento:

- Se sacó el juego de reactivos comerciales el número de pozos a utilizar.
- Se diluyeron las muestras (10 uL de muestra + 200 uL diluyente). Homogenizando adecuadamente cada tubo y luego se dispensaron controles, calibrador y muestras dentro de los pocitos acorde a la siguiente tabla:

Posición	Muestra	Cantidad (uL)
A1	Blanco	100 ¹
B1	Control Negativo	100
C1	Control Positivo	100
D1 + E1	Calibrador	100
F1.....	Muestras Diluidas	100

¹ Pozo del blanco: 100 uL de diluyente de muestra

- Se mezcló bien, se cubrió la placa e incubó 20 minutos a temperatura ambiente.
- Se realizó el procedimiento de lavado, utilizando el programa número 1 (lavado 3 veces con 300 uL a un tiempo de 10 segundos entre cada lavado).
- Se removió la solución de lavado remanente invirtiendo los pozos sobre un papel absorbente.
- Se dispensaron 100 uL de conjugado enzimático a cada pozo excepto A1, se mezcló, cubrió e incubó por 20 minutos a temperatura ambiente.
- Se realizó procedimiento de lavado de la misma manera que en el numeral 4.
- Se dispensaron 100 uL de TMB sustrato a cada pozo incluyendo A1, se mezcló, cubrió e incubó 10 minutos a temperatura ambiente.
- Se agregó 100 uL de solución de parada (H_2SO_4 1N).
- Se leyó a 450 nm (menú 2 del lector) dentro de los 30 minutos siguientes a la adición de la solución de parada.

Nota: Las muestras positivas tuvieron un cambio de color de azul a amarillo.

e. Cálculo de resultados:

- Se chequeó el valor del **Factor del Calibrador (CF)** en el bote. Este valor puede variar de un lote a otro.
- Se calculó el valor del **Punto de Corte (CUT-OFF)**:

Media de la absorbancia del calibrador X Factor del Calibrador.

- Se calculó el **Índice de Anticuerpo** para cada muestra:

Absorbancia de la muestra / Punto de corte

f. Control de calidad:

La prueba se considera válida si cumple con los siguientes criterios:

- i. Absorbancia del calibrador >0.250
- ii. Índice de Anticuerpo Control Negativo < 0.9
- iii. Índice de Anticuerpo Control Positivo > 1.2

g. Interpretación del Índice de Anticuerpo:

<0.900	Anticuerpos IgM a dengue virus no detectados. (Negativo)
0.900 – 1.100	Zona Gris. Se recomienda una nueva muestra para seguimiento. (Indeterminado)
> 1.100	Indicativo de una infección primaria o secundaria por dengue virus. (Positivo)

2. Prueba de ELISA de Detección de Anticuerpos IgM Leptospira.

a. Principio:

Los pozos están cubiertos de antígeno purificado de leptospira patoc 1. Durante la primera incubación con el suero del paciente diluido, ningún anticuerpo puede reaccionar con el antígeno si los pozos no se encuentran recubiertos. Después de lavar se remueve el resto de la muestra, se agrega el conjugado enzimático. El anticuerpo específico (IgM), si está presente, se une al antígeno. Todos los materiales no unidos se lavan y el conjugado enzimático se agrega para ligarse al complejo anticuerpo-antígeno, si está presente. La enzima no conjugada en exceso

se elimina mediante el lavado y se adiciona el cromógeno y sustrato. Si el conjugado enzimático está presente, la peroxidasa puede catalizar la reacción y consume el peróxido y vira el cromógeno de color claro a azul. La adición de la solución de parada al final de la reacción hace que vire el color azul a color amarillo. La intensidad del color generada es proporcional a la cantidad de IgM específica en la muestra.

La reacción puede ser leída visualmente o con ayuda de un lector de Elisa.

b. Indicaciones Preliminares:

- El suero es la mejor muestra para llevar a cabo la prueba. Una muestra hiperlipémica, hemolizada o contaminada puede causar resultados erróneos.
- Duración de la prueba: 1 hora 40 minutos aproximadamente.
- Almacenamiento 2-8 °C.
- Antes de usar se deben llevar todas las muestras y el juego de reactivos comerciales a temperatura ambiente (20-25 °C).
- Sacar el número de pozos que se utilizarán en el ensayo y se guardaran los demás en la bolsa que contiene el desecante a 2-8 °C.
- Evitar el contacto de los tips con las paredes de los pocitos, para no contaminar, crear u obtener resultados falsos positivos.
- No mezclar reactivos de diferentes lotes.
- La lectura se realizará a 450 nm.

c. Procedimiento

- A las muestras se les debió hacer una dilución 1:40 usando la dilución buffer (10 uL de suero en 390 uL de dilución buffer).
- Se tomó el número de pozos a utilizar (2 para los controles más el número de muestras).
- Los controles estaban listos para su uso por lo que no se les diluyó.

■ Se agregaron 40 uL de absorbente en un tubo y se adicionó a este 100 uL de control positivo y control negativo a cada tubo respectivamente (#1,#2). Se transfirió toda la mezcla los 140 uL a los pozos (#1,#2) después de 10 minutos de incubación.

■ Se diluyó el suero de los pacientes 1:40 con dilución buffer. A los 100 uL de suero diluido se le agregó 40 uL de adsorbente. Se mezcló bien, se incubaron los tubos durante 10 minutos. Se transfirieron 140 uL de las muestras en cada uno de los pozos (#3,#96).

■ Se incubó a temperatura ambiente (16-25°C) por 10 minutos.

■ Se lavó tres veces con la solución lavadora de buffer.

■ Se agregaron dos gotas de conjugado a cada pozo.

■ Se incubó a temperatura ambiente por 10 minutos.

■ Se lavó tres veces con la solución lavadora de buffer.

■ Se quitó el exceso de sol. lavadora, y lavó con agua destilada.

■ Se quitó el exceso de agua con papel absorbente, golpeando los pozos sobre el mismo.

■ Se agregó una gota de cromógeno y una gota de substrato a cada pozo.

■ Se mezcló suavemente. Se incubó a temperatura ambiente por 5 minutos.

■ Se agregaron dos gotas de solución de parada y mezcló tapando los pozos.

■ Se leyó en un período de una hora después de agregada la solución de parada.

d. Resultados

Se leyó en el lector de Elisa. Lectura bicromática con una absorbancia de 450/620-650 nm.

e. Control de calidad

Negativo 0.0 a 0.3

Indeterminado 0.3 a 0.5

Positivo 0.5 y más de absorbancia.

3. Técnica de Microaglutinación**a. Principio:**

El método de referencia para el diagnóstico de leptospirosis es el MAT (Microaglutinación) en el cual el suero del paciente reacciona con una suspensión de antígenos vivos de serovares leptospíricos ⁽⁶⁷⁾.

b. Condiciones generales:

■ La prueba MAT, es el método de diagnóstico estándar de referencia internacional para la confirmación serológica de una infección reciente y pasada de leptospirosis. Usa antígenos vivos y, es de alta sensibilidad y especificidad al serovar infectante.

■ Esta técnica se emplea para detectar anticuerpos anti-leptospiras en el suero, identificar los aislamientos, clasificar cepas y servir de base para evaluar cualquier otro método serológico para el diagnóstico de esta enfermedad.

■ La batería que se usa como antígeno está representada por los serovares más prevalentes del área. Sin embargo, en aquellas regiones en donde no se conoce los serovares circulantes, la OMS recomienda por lo menos una cepa de referencia de los serovares más representativos de las especies más frecuentes.

■ En la estandarización del MAT, es muy importante considerar:

- a. La densidad correcta del cultivo usado como antígeno.
- b. Esta densidad debe ser aproximadamente de $1,5$ a 2×10^8 leptospiras.
- c. La determinación del título final de la aglutinación.

■ Se emplean como antígeno las cepas de referencia que deben ser replicados semanalmente para realizar la prueba. Una vez revisados los

cultivos, se eligen aquellos que tengan buen crecimiento y no formen aglutinaciones entre ellas.

- Para que el antígeno sea óptimo para la prueba tiene que observarse en el microscopio de campo oscuro entre 150-200 leptospiras por campo o hasta lograr una opalescencia de 0.5 de la escala de Mac Farland.

- La prueba se basa en enfrentar diluciones seriadas de suero con igual volumen de una suspensión de leptospiras (antígeno) para luego observarse en microscopio de campo oscuro para estimar el 50% de aglutinación como el punto final de la reacción antígeno-anticuerpo (67).

D. Procedimiento.

a. Tamizaje:

- Se prepararon diluciones separadamente del suero 1:50, 1:100, 1:200 en un volumen final de 1.5 mL con PBS o SSF en un tubo de dilución.

- Se distribuyó la microplaca en 8 columnas para la dilución de suero y 24 filas para los antígenos.

- Se agregó 50 uL a cada pocillo de la dilución del suero 1:50 en la primera y quinta columna.

- Se agregó 50 uL a cada pocillo de la dilución de suero 1:100 en la segunda y sexta columna.

- Se agregó 50 uL a cada pocillo de la dilución de suero 1:200 en la tercera y séptima columna.

- Se agregó 50 uL a cada pocillo de PBS o SSF en la cuarta y octava columna para el control del antígeno.

- A cada pocillo de la primera fila (columna 1,2,3 y 4), se agregó el antígeno correspondiente al primer serogrupo. La dilución de suero fue el doble,

Se realizó este procedimiento sucesivamente de la segunda hasta la veinticuatroava fila.

- Posterior a la adición de los antígenos, se puso la microplaca sobre el shaker y rotó a una revolución 500rpm durante cuatro segundos para que la muestra de suero y antígeno se mezclaran.

- Se cubrió la microplaca con papel platino e incubó por 2 hrs a 30°C.

b. Titulación :

- Después se realizó el tamizaje de las muestras y si se observaba que en la dilución 1:400 presentaba aglutinación igual o menor a 2+ con uno o más serogrupos, se tituló el suero.

- Se preparó una placa de microtitulación, se rotuló el código de los serovares en las filas y en las columnas y anotó las diluciones correspondientes que empezaron con 1:50, 1:100 hasta 1:51200.

- A partir de la segunda columna, se agregó 50uL de PBS o SSF hasta la columna 12.

- Se diluyó el suero en una dilución 1:25 con SSF o PBS en un volumen final de 1 mL.

- Se agregó 50 uL de suero diluido 1:25 en las dos primeras columnas.

- Usando una micropipeta multicanal, se mezcló el suero diluido con el PBS o SSF en la segunda columna, luego se extrajeron 50 uL y se vertieron en la tercera columna y así, sucesivamente, se continuó con todas las diluciones a lo largo de la fila, hasta la décimo primera columna.

- Se descartaron los últimos 50 uL y se dejó libre la décimo segunda columna, la que se usó como control de antígeno.

- En cada fila, se agregó 50 uL del correspondiente antígeno.

- Posterior a la adición de los antígenos, se colocó la microplaca sobre el shaker y rotó a una revolución 500rpm durante cuatro segundos.

- Se cubrió la microplaca con papel platino e incubó por 2 hrs a 30°C.

C. Lectura:

- Utilizando las puntas de la micropipeta multicanal se extrajeron 15 uL de mezcla antígeno-suero y 15 uL del control y se traspasaron a una lámina porta-objetos.

- La lectura se realizó utilizando el microscopio de campo oscuro con objetivos de 10X, sin cubre-objetos.

- Se observó el grado de aglutinación de cada antígeno en relación con el antígeno control.

■ El título final estará dado por la dilución del suero que presenta 50% de aglutinación, y que se reporta como cruces de aglutinación (de 1+ a 4+).
 Cuando una muestra es negativa, no se presenta aglutinación.

D. Interpretación:

- Un suero se considera positivo cuando se observa una aglutinación de 2+ en una dilución de suero igual o mayor a 1:100.
- Un suero se considera negativo cuando no se observa aglutinación con ningún serovar en una dilución de suero menor a 1:100.

D. Diseño de investigación

1. Tamaño de la muestra

84 muestras (sueros).

2. Tipo de muestreo

Por conveniencia

Se tomaron un total de 84 muestras de pacientes con enfermedad febril de) referidos al laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Area de Salud de Escuintla, durante mayo-julio 2,003.

Sistemático; Se reunieron todos los sueros recolectados de mayo-julio 2,003 de pacientes sospechosos de dengue. Se seleccionaron al azar del total de sueros en esa fecha. (por ejemplo: $165 / 84 = 1.96$), el 84 corresponde al número de pozos disponibles en una placa, para realizar prueba de ELISA de detección de anticuerpos IgM para leptospira. El resultado de 1.96 indica que cada dos muestras se eligió la que se incluyó en esta investigación. Muestras 1,2, 3,4,5,6,7,8,9,10,11,12..... hasta llegar al número de 84 muestras que se analizaron.

3. Tipo de estudio

Descriptivo

4. Variables de interés:

-Determinación de anticuerpos IgM anti-leptospirosis, positivo o negativo a la prueba.

-Determinación de anticuerpos IgM anti-dengue, positivo o negativo a la prueba.

Criterios de inclusión.

Muestras de pacientes de caso sospechoso de dengue, que sean referidos al Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica (LVE). Cada muestra incluyó una ficha nacional de Investigación de caso sospechoso de dengue (ver anexo #5).

Criterios de exclusión.

Muestras cuya ficha nacional de investigación estaba incompleta en los datos o que no contaban con la misma.

5. Análisis de resultados

-Número de casos positivos para dengue.

-Número de casos positivos para leptospira

-Identificación de especie y serovariedades de los casos de leptospirosis humana.

-Número de casos mixtos.

(Se usará la terminología del LVE así como la del LNS en los resultados de la prueba de ELISA obtenidos, como positivo o negativo).

6. Tabulación de datos

Tabulación de la boleta de recolección de datos utilizando una hoja electrónica (Ver anexo #5).

III. RESULTADOS

El diagnóstico diferencial para dengue y leptospirosis humana, de pacientes con enfermedad febril referidos al LVE del área de salud de Escuintla, durante mayo-julio de 2003, mostraron que en este departamento circula la bacteria *Leptospira interrogans* y probablemente 5 de sus diferentes serovariedades. Los datos epidemiológicos fueron obtenidos de la “Ficha Nacional de Control Epidemiológico de caso sospechoso de dengue clásico y/o hemorrágico”, (ver anexo # 5), instrumento utilizado por el sistema de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud, para los casos de enfermedad febril, como los incluidos en este estudio. Dicha ficha incluye los síntomas y signos más comunes en estos pacientes, como se muestra en la Tabla No. 1. En donde se observó que de los 84 pacientes referidos al LVE durante mayo-julio de 2003, gran parte refirió sintomatología similar (Ver anexo # 5).

TABLA No. 1. Síntomas y signos más comunes de 84 casos de enfermedad febril*.

Síntomas y signos	n=84
	Total de pacientes
Fiebre	76
Dolor de cabeza	79
Dolor de ojos	69
Dolor de cuerpo	73
Dolor de articulaciones	73
Escalofríos	69
Náusea	53
Vómitos	36
Diarrea	29
Erupción cutánea	12
Púrpura o equimosis	3
Petequias	2
Hemorragia de encías	3
Hemorragia de nariz	2
Prueba de torniquete	2

* Referidas al LVE, durante mayo-julio 2,003, información válida para todas las tablas incluidas en este estudio.

En la tabla No.2 se presentan los síntomas y signos, más comunes de los casos positivos de dengue que fueron determinados por medio de la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti-dengue, con un resultado de 14 casos positivos y 8 casos positivos a leptospirosis humana, que fueron detectados por medio de la prueba tipo IgM anti-leptospira.

TABLA No. 2. Síntomas y signos de los 14 casos positivos de dengue y de los 8 casos positivos de leptospira.

Síntomas y signos más comunes	n=84	
	Casos positivos de leptospirosis humana	Casos positivos dengue
Fiebre	6	12
Dolor de cabeza	7	14
Dolor de ojos	6	12
Dolor de cuerpo	6	13
Dolor de articulaciones	7	13
Escalofríos	5	9
Náusea	4	12
Vómitos	2	8
Diarrea	5	6
Erupción Cutánea	3	5
Púrpura o equimosis	0	2
Petequias	1	1
Hemorragia de encías	0	2
Hemorragia de nariz	0	2
Prueba de torniquete	0	2

Se determinó la procedencia de cada uno de los casos positivos de dengue y leptospirosis humana para establecer las poblaciones más vulnerables a estas enfermedades, como lo indica la tabla No. 3

TABLA No. 3. Procedencia de los 84 pacientes con enfermedad febril y los casos positivos de dengue y leptospira

Procedencia	No. Casos de enfermedad febril	Muestras positivas leptospira	Muestras positivas dengue
Democracia	2	0	0
Escuintla (cabecera)	11	2	2
Gomera	13	1	2
Guanagazapa	2	0	0
Masagua	29	2	5
Nueva Concepción	6	1	1
Palín	4	1	0
Pto. Iztapa	1	0	1
Pto. San José	8	0	1
Siquinalá	4	1	1
Sta Lucía Cotz.	2	0	1
Tiquisate	2	0	0
Total	84	8	14

En la Tabla No. 4 se muestra que el sexo femenino es el más afectado, ya que de los 84 casos referidos al LVE, 51 pertenecen a este género, de los 14 casos positivos de dengue y 8 de leptospirosis, 11 y 6 respectivamente correspondían a este género.

TABLA No.4. Género de los 84 pacientes con enfermedad febril y de los casos positivos de dengue y leptospira

Género de pacientes enfermedad febril	Total de casos	Casos positivos leptospirosis Humana	Casos positivos dengue
Masculino	33	2	3
Femenino	51	6	11
Total	84	8	14

El distrito de Masagua fue el que refirió el mayor número de casos para el género femenino, con 2 casos positivos de leptospirosis humana y 4 de dengue, como se observa en la tabla No. 5

TABLA No. 5. Total de casos de enfermedad febril y casos positivos de dengue y leptospira agrupados por género y procedencia

Procedencia	Casos sospechosos de enfermedad febril		Casos positivos para leptospira		Casos positivos para dengue	
	M	F	M	F	M	F
Democracia	2	0	1	0	0	0
Escuintla (cabecera)	4	7	0	2	0	2
Gomera	6	7	1	0	0	2
Guanagazapa	2	0	0	0	0	0
Masagua	9	20	0	2	1	4
Nueva Concepción	3	3	0	0	0	1
Palín	1	3	0	1	0	0
Pto. Iztapa	0	1	0	0	0	1
Pto. San José	4	4	0	0	1	0
Siquinalá	0	4	0	1	0	1
Sta Lucía cotz.	1	1	0	0	1	0
Tiquisate	1	1	0	0	0	0
Total	33	51	2	6	3	11

El mayor número de casos de enfermedad febril referidos al LVE, durante mayo-julio 2,003, al analizar la ficha nacional de control epidemiológico, por edad y procedencia, mostró que los pacientes de 35 años en adelante y originarios del distrito de Masagua fueron los más afectados, como se observa en la tabla No 6.

TABLA No. 6. Total de casos de enfermedad febril, agrupados por edad y procedencia

Procedencia	RANGO DE EDAD EN AÑOS								Total
	00-04	05-09	10-14	15-19	20-24	25-29	30-34	35 ^	
Democracia	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Escuintla (cabecera)	1	0	1	0	1	1	1	6	11
Gomera	1	1	0	0	2	2	0	7	13
Guanagazapa	0	1	1	0	0	0	0	0	2
Masagua	1	1	6	6	1	1	4	9	29
Nva. Concepción	0	0	0	0	0	2	1	3	6
Palín	0	0	0	0	1	1	0	2	4
Pto. Iztapa	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Pto. San José	0	0	1	1	1	1	1	3	8
Siquinalá	0	0	0	1	0	1	2	0	4
Sta Lucía Cotz.	1	0	0	1	0	0	0	0	2
Tiquisate	0	0	0	1	0	0	0	1	2
Total	4	3	9	10	6	9	10	33	84

Los 14 casos positivos de dengue en la tabla No. 7, indica que en el distrito de Masagua, el grupo etáreo de 35 años en adelante, fue el que presentó más número de casos positivos a esta enfermedad (3 casos). Seguido de la cabecera departamental de Escuintla, siendo mayormente afectado el grupo etáreo de 0-4 años (2 casos).

TABLA No. 7. Total de casos positivos de dengue por grupo de edad y procedencia.

Procedencia	RANGOS DE EDAD EN AÑOS								Total
	00-04	05-09	10-14	15-19	20-24	25-29	30-34	35 >	
Democracia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Escuintla (cabecera)	2	0	0	0	0	0	0	1	3
Gomera	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Guanagazapa	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Masagua	0	0	1	0	1	0	0	3	5
Nva. Concepción	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Palín	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pto. Iztapa	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Pto. San José	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Siquinalá	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Sta Lucía cotz.	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Tiquisate	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	2	1	1	1	2	2	1	4	14

La tabla No. 8 muestra los 8 casos positivos a leptospirosis humana, detectados en la cabecera departamental de Escuintla, Masagua, Nueva Concepción y Palín; con un caso cada uno. La edad de los pacientes estaba en el rango de los 35 años y más que pertenece a la población activa.

TABLA No. 8. Total de casos positivos de leptospira por grupo de edad y procedencia.

Procedencia	RANGOS DE EDAD EN AÑOS								Total
	00-04	05-09	10-14	15-19	20-24	25-29	30-34	35 >	
Democracia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Escuintla (cabecera)	0	0	0	0	0	1	0	1	2
Gomera	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Guanagazapa	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Masagua	0	0	0	0	0	0	1	1	2
Nva. Concepción	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Palín	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Pto. Iztapa	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pto. San José	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Siquinalá	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Sta Lucía Cotz.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tiquisate	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	1	0	1	1	5	8

El período durante el cual fueron recolectadas las 84 muestras referidas al LVE, correspondió a los meses de mayo, junio y julio del año 2003, ya que en este período se declaró alerta en la Jefatura del Área de Salud de Escuintla por un posible brote de leptospirosis humana, causado por las lluvias y sus consecuentes inundaciones, exactamente en el distrito de Masagua, por el desborde del río Guacalate en el mes de junio, de donde se puede observar que el mayor número de casos de enfermedad febril son originarios de este distrito. Tabla No. 9 (Ver anexo # 6).

TABLA No. 9. Total de casos de enfermedad febril, durante mayo a julio de 2,003.

Procedencia	mayo	junio	julio	TOTAL
Democracia	0	1	1	2
Escuintla (cabecera)	0	1	10	11
Gomera	1	4	8	13
Guanagazapa	0	1	1	2
Masagua	1	9	19	29
Nva. Concepción	0	2	4	6
Palín	0	2	2	4
Pto. Iztapa	0	1	0	1
Pto. San José	2	4	2	8
Siquinalá	0	3	1	4
Sta Lucía Cotz.	0	1	1	2
Tiquisate	0	1	1	2
Total	4	30	50	84

La tabla No. 10, indica la procedencia, especie y serovar identificado a cada uno de los 8 casos positivos (prueba ELISA IgM) de leptospirosis humana, esta confirmación de cada caso fue realizada por medio de la técnica de microaglutinación (MAT), con la colaboración de la Facultad de Medicina Veterinaria, USAC^T. Los 8 casos confirmados, son de la especie *L. interrogans*, y los 8 casos presentan el serovar *icterohaemorrhagiae*, además de que 6 de estos casos presentan 2 y hasta 3 serovares diferentes. Esto evidenció los posibles reservorios de esta bacteria y que circulan probablemente en el departamento de Escuintla.

TABLA No. 10. Especie, serovares y procedencia de los 8 casos positivos de leptospira confirmados por la prueba de microaglutinacion (MAT), durante mayo-julio 2003.

Procedencia	No. de casos	Especie <i>L. interrogans</i>	Serovar <i>icterohaemorrhagiae</i>	Serovar <i>canicola</i>	Serovar <i>pomona</i>	Serovar <i>pyrogenes</i>	Serovar <i>ballum</i>	Total de serovares identificados
Nva. Concepción	1	+	+	-	-	+	-	2
Siquinalá	1	+	+	+	-	-	-	2
Masagua	1	+	+	+	+	-	-	3
Palín	1	+	+	+	+	-	-	3
Masagua	1	+	+	-	+	-	+	3
Gomera	1	+	+	+	-	-	-	2
Escuintla (cabecera)	1	+	+	-	-	-	-	1
Escuintla (cabecera)	1	+	+	-	-	-	-	1
Total	8	8	8	4	3	1	1	17

^T En el departamento de Microbiología, a cargo de la Doctora Veterinaria Blanca Zelaya de Romillo.

La tabla No. 11, relaciona la fecha del primer síntoma de la enfermedad y primera toma de muestra, de cada uno de los casos de enfermedad febril referidos al LVE, durante mayo-julio 2,003. En el caso de los pacientes que refirieron 1-5 días de enfermedad se realizó un cultivo viral el cual es analizado en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS), esta prueba determina el serotipo que circula en la región afectada; los pacientes que refirieron más de 5 días y hasta 15 días de enfermedad, se les tomó una muestra a la cual se les realizaron pruebas de ELISA de detección de anticuerpos IgM anti-dengue e IgM anti-leptospira. Esta prueba serológica en la enfermedad del dengue, determina el diagnóstico de los casos clínicamente sospechosos. Para la leptospirosis humana, es de utilidad para determinar la presencia de anticuerpos que estén presentes en la fase aguda.

TABLA No. 11 Relación entre el tiempo de presentar síntomas y primera toma de muestra de los casos positivos de dengue y leptospirosis humana

No. días de presentar síntomas de la enfermedad	Casos positivos dengue	Casos positivos leptospirosis
11	2	0
8	4	0
7	8	0
6	0	4
5	0	2
4	0	2

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

El dengue y la leptospirosis humana son enfermedades que presentan sintomatología similar, por lo que se debe conocer el adecuado manejo así como el diagnóstico de las diferentes presentaciones clínicas de estas enfermedades, que se adaptan y distribuyen a regiones tropicales y subtropicales como en el departamento de Escuintla ⁽¹⁾. El presente estudio fue realizado en esta región, dadas las condiciones: climáticas, geográficas y socioeconómicas, características que favorecen que sus habitantes se encuentren en mayor riesgo de padecer alguna de estas enfermedades. El estudio incluyó a 84 pacientes con enfermedad febril cuyas muestras fueron referidas al Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica, para determinar la presencia de dengue, además se estableció el diagnóstico diferencial de dengue y leptospirosis humana, por medio de pruebas inmunológicas que detectan anticuerpos, IgM anti-dengue e IgM anti-leptospira.

Cada uno de los casos de enfermedad febril incluyeron una *ficha Nacional de investigación de caso sospechoso de dengue clásico y/o hemorrágico*. Los datos obtenidos mostraron que los pacientes con enfermedad febril refirieron síntomas y signos comunes a ambas enfermedades al revisar los casos positivos de dengue y leptospirosis humana, se confirmó estas similitudes, lo que demostró que es necesario realizar el diagnóstico diferencial, por medio de pruebas de laboratorio para así dar el adecuado tratamiento a cada caso detectado y confirmado ^(35,37), como se muestra en la tablas No 1 y 2.

Se estableció que el distrito de Masagua, envió el mayor número de casos de enfermedad febril como lo indica la tabla No 3. Lo anterior debido a la inundación que sufrió esta región, por las copiosas lluvias ocurridas en el mes de junio del año 2,003, lo cual provocó el desborde del río Guacalate (Ver anexo #6), por esta situación la Jefatura del Area de Salud de Escuintla, notificó estado de alerta por un posible brote de leptospirosis humana, ya que se

conoce que las inundaciones son un factor importante en la transmisión de esta enfermedad, por la exposición de las personas a aguas contaminadas de ríos o lagos (6,19). Al personal de salud de este distrito se le informó que los casos clasificados como "sospechosos de dengue" en este municipio, tenían que llevar la indicación de "correr prueba IgM para leptospirosis", en cada una de las fichas de investigación de caso sospechoso de dengue clásico y/o hemorrágico, para que el LVE, se preparara para realizar la prueba inmunológica no sólo para dengue sino también para detectar leptospirosis.

Se determinó que el sexo femenino presentó mayor riesgo de enfermar tanto por el virus del dengue como por leptospirosis, dato que no se esperaba obtener en leptospirosis, ya que esta enfermedad está asociada a actividades laborales (corte de caña, ganadería, actividades militares, etc) realizadas mayormente por el sexo masculino, como lo describe la literatura (14,25,26). Sin embargo el haber obtenido mayor número de casos positivos de leptospirosis humana en mujeres, probablemente se deba a que el personal de enfermería y médico que se transportó al área de las inundaciones sufridas en el distrito de Masagua, estaba conformado en su mayoría por personal femenino. Además algunos de los casos referidos al LVE de otros municipios como lo muestra la tabla No 5, fueron personas que se trasladaron de estos municipios a las zonas afectadas para apoyar la emergencia por ser personal de salud, y pudieron adquirir la infección en el lugar inundado; sin embargo, no se pudo demostrar fehacientemente que la enfermedad fue adquirida en dicho lugar, ya que pudo ser adquirida en su lugar de origen. Se determinó que las personas en edad 35 años en adelante, originarios del distrito de Masagua presentaron mayor riesgo de enfermar (9 casos), ya que se detectó (3 casos) positivos para dengue y para leptospirosis humana (1 caso).

La edad y la procedencia indicó que los pacientes se encuentran en un período productivo (35 años en adelante), por lo que realizan actividades laborales o domésticas en el campo, aumentando el riesgo de adquirir la

leptospirosis humana por las inundaciones ocurridas en ciertas zonas del distrito de Masagua, como se muestra en las tablas No. 6,7 y 8.

En el mes de junio, fecha en la cual comenzaron las lluvias y las subsecuentes inundaciones el número de muestras enviadas al LVE en este período fue de 30, y en el mes de julio, se incrementó notablemente el número de casos de enfermedad febril, ya que el personal de salud tomó medidas extremas, por el miedo que causó que existiera una epidemia de leptospirosis humana, sumado a esto el escaso conocimiento sobre la enfermedad, generó que cualquier persona que sufriera de por lo menos un síntoma de enfermedad le fuera tomada una muestra sanguínea, en cada uno de los puestos y centros de salud, para luego ser enviadas al LVE.

Para poder determinar la presencia de leptospirosis humana en el departamento de Escuintla, fue necesario utilizar, el estándar de oro para el diagnóstico de leptospirosis humana que es la técnica Microaglutinación (MAT), en el cual el suero del paciente reacciona con una suspensión de antígenos vivos de serovares leptospíricos ⁽⁶⁷⁾. Esta técnica para el diagnóstico no está implementada aún en ningún laboratorio clínico biológico, por lo que fue necesario solicitar la colaboración de la Facultad de Medicina Veterinaria de la USAC^T esta es utilizada para el diagnóstico de leptospirosis en animales y aún no esta estandarizada en seres humanos.

Se confirmaron los 8 casos detectados por medio de prueba de ELISA IgM anti-leptospira, cada uno de los sueros analizados con el MAT, se identificó la especie así como los serovares que presentaban, lo que demostró una buena correlación existente entre la prueba de detección de anticuerpos IgM anti-leptospira con la técnica MAT, lo cual indica que la prueba de ELISA utilizada en este estudio,(marca.International Inmuno-Diagnostics), presenta concordancia con lo reportado (92% sensibilidad, 87% especificidad) por dicha casa comercial. La especie identificada en las muestras de suero fué *L.*

^T En el departamento de Microbiología, a cargo de la Dra. Blanca Zelaya de Romillo.

interrogans, y el serovar *icterohaemorrhagiae* que fue identificado, en todos los casos. Los otros diferentes serovares identificados fueron *canicola* (4 casos), *pomona* (3 casos), *pyrogenes* (1 caso) y *ballum* (1 caso), como lo muestra la tabla No. 10.

La detección de dos o más serovares de *Leptospira interrogans*, cuando se confirmó a los 8 sueros que fueron positivos con la técnica de MAT, posiblemente se deba a reacciones cruzadas que ocurren frecuentemente cuando el paciente presenta una infección temprana (1-7 días de presentar la enfermedad), como lo indica la literatura ⁽⁶⁷⁾. Es importante hacer notar que los ocho pacientes positivos a leptospira se encontraban entre el 1-6 días de presentar esta zoonosis, sin embargo, existió una excepción ya que a dos pacientes, se les identificó *L. interrogans icterohaemorrhagiae*, refiriendo el mismo tiempo de presentar la enfermedad, (1-6 días) esto muestra que no hubo reacción cruzada, además que el título de anticuerpo era elevado haciendo que fuera posible su identificación (específica).

Por último en la tabla No 11, la relación entre el tiempo de presentar síntomas y la primera toma de muestra de dengue y/o leptospirosis humana, es muy importante; en la enfermedad del dengue ayuda a detectar una infección primaria o secundaria ^(65,66); las cuales son analizadas por medio de cultivos virológicos, los cuales son enviados al LNS (1-5 días de presentar la enfermedad) o por pruebas serológicas (6-15 días), la cual es realizada en LVE, ya que este cuenta con el equipo así como con el material para realizar esta prueba. Para la leptospirosis humana es importante conocer los días que el paciente refiere de presentar síntomas ya que esto indica una infección aguda (1-5 días de presentar la enfermedad) o crónica (más de 6 días) ^(10,27). El LVE toma en cuenta las recomendaciones internacionales, para el manejo de pacientes sospechosos de leptospirosis humana, extrayendo una muestra de sangre en los primeros cinco días después del inicio de los síntomas de la enfermedad y antes de dar tratamiento (Ver anexo # 4).

Este estudio mostró que los pacientes con enfermedad febril, no deben ser tomados únicamente como casos sospechosos de dengue, ya que la leptospirosis humana existe en el departamento de Escuintla, esto puede ser debido a que el personal médico no conoce suficientemente de esta enfermedad (definición de caso), lo cual afecta grandemente a que muchos casos de enfermedad febril no sean diagnosticados correctamente, esta falta de datos epidemiológicos hace que se pierda valiosa información de los posibles mecanismos de transmisión así como reservorios de esta zoonosis, a pesar de que el LVE cuenta con una ficha epidemiológica de leptospirosis humana.

En el departamento de Escuintla, se determinó que circula la especie *L. interrogans*, así como la serovariedad *icterohaemorrhagiae* y posiblemente 4 diferentes serovariedades, esto se dedujo ya que al existir reacciones cruzadas, no puede ser identificado claramente el serovar infectante, para esto el Manual de Procedimientos Bacteriológico y Serológico para el Diagnóstico de la Leptospirosis Humana, del Instituto Nacional de Salud del Perú, indica que es necesario tomar una segunda muestra 7-21 días posterior de tomada la primera. Ya que durante la tercera y cuarta semana de producida la enfermedad, el título de anticuerpos hacia el serovar infectante es mayor, facilitando su identificación, además recomienda utilizar sueros pareados para realizar la prueba ELISA IgM anti-leptospira y MAT con mayor exactitud, pero también puede ser utilizado un suero único ⁽⁶⁷⁾, lo que fue realizado en este estudio utilizando la misma muestra para determinar anti-IgM dengue y anti-IgM leptospira, y otra que fue utilizada para realizar la técnica de MAT.

Con estos resultados, se demuestra que el personal de salud debe ser capacitado, para manejar adecuadamente los casos de leptospirosis humana que se presenten, así como realizar estudios con muestras representativas, para determinar la prevalencia e incidencia de esta enfermedad, además de contar con la técnica de MAT estandarizada para humanos, detectar los casos confirmados por pruebas serológicas de ELISA, identificar cepas, no solo en el

departamento de Escuintla, sino en toda la república; tomando muy en cuenta la fase (aguda o convalescente) en la cual se encuentre el paciente además de contar con recursos económicos, para repetir la prueba a pacientes que se encuentren en la fase primaria de la infección o el analizar sueros pareados si así lo decide el investigador, con el objetivo de identificar plenamente al serovar infectante y por ende circulante de la región.

X. CONCLUSIONES

- 1) De un total de 84 muestras de pacientes con enfermedad febril, referidos al LVE, se determinaron 8 casos positivos para leptospirosis humana.
- 2) Se determinaron 14 casos positivos de dengue, de pacientes febriles atendidos en los Servicios de Salud estatales del Departamento de Escuintla.
- 3) Se demostró que el Departamento de Escuintla, es afectado por enfermedad febril la cual es causada no solo por el virus del dengue sino también por el agente causal *Leptospira interrogans*.
- 4) Con todos los datos obtenidos, se concluye que es importante incluir pruebas específicas en el LVE, para la adecuada vigilancia epidemiológica de dengue y leptospirosis humana.
- 5) Por medio de las pruebas inmunológicas utilizadas se diferenció la enfermedad del dengue y leptospirosis humana, en pacientes con enfermedad febril referidos al LVE del Área de Escuintla, durante mayo-julio 2,003.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios epidemiológicos para determinar la prevalencia e incidencia de leptospirosis humana en el departamento de Escuintla, utilizando una población representativa.
2. Establecer un programa de entrenamiento al personal médico y de enfermería sobre el diagnóstico y manejo de los casos de leptospirosis humana en el Área de Salud de Escuintla.
3. Mantener en el presupuesto del LVE de Escuintla, las pruebas inmunológicas, IgM anti-dengue e IgM anti-leptospira para establecer un adecuado diagnóstico diferencial entre el dengue y leptospirosis humana.
4. Evitar la proliferación de criaderos de mosquitos, tomando las medidas ya conocidas en la enfermedad del Dengue.
5. Realizar estudios sobre otras enfermedades que presentan enfermedad febril como, malaria, brucelosis icterica, formas meníngeas ,etc.
6. Apoyar los actuales estudios que se están realizando en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, sobre leptospirosis humana, en el departamento de Microbiología.

XII. REFERENCIAS

1. Unidad de planificación Estratégica, Departamento de Programación. Área de Salud Escuintla. (Doc). Guatemala 2001.
2. Knudsen, AB., *et al.* Vector- Borne Disease Problemas en Rapid Urbanization:New Approaches to vector Control. Bull WHO. 1992. (pág 70-71).
3. Dengue, Dengue Hemorrágico en las Américas; Guías para su Prevención y control. OPS Publicación Científica. 1995. No 548: 41-51.
4. Boletín Epidemiológico Nacional. Ministerio de Salud Pública. Guatemala Marzo 2003. No.20 (pág. 53-54, 44-45)
5. Gubler, Duane J. Vigilancia Activa del Dengue y de la fiebre Hemorrágica del Dengue. Bol, Oficina Sanitaria. Panamá. 1989. (pág. 22-30).
6. Zavala J, Velásquez, *et al.* Clinical Epidemiological Study of Leptospirosis in Humans and Reservoirs in Yucatán, México. Rev. Instituto de Medicina Tropical. Noviembre-diciembre 2002. Vol. 44.
7. Principales Enfermedades Infecciosas en Centroamérica, durante 1998, antes y después de Mitch. Rev. Panamericana Salud Pública. Vol 6. 1999. 442p.
8. Unidad de Vigilancia Epidemiológica. Departamento de Epidemiología, Dirección General del Sistema Integral de Atención en Salud. MSPAS. Leptospirosis (Doc). Guatemala, 1999. Bañuelos Romero Armando. Boletín Leptospirosis. OPS-OMS. InterWeb Services C.A. 1998.

9. Bañuelos Romero Armando. Boletín Leptospirosis. OPS-OMS. InterWeb Services C.A. 1998.
10. Koneman, Elmer, *et al.* Diagnóstico Microbiológico, texto y atlas color. Editorial Médica Panamericana. 5ta edición. USA. 1997. Pág 945-949
11. Villegas de Olazábal, Hugo. Boletín Leptospirosis. Web oficial del Sector Salud en Costa Rica. Net-Salud Costa Rica, 1995- 1997.
12. Benenson, Abram S. Manual para el control de las enfermedades Transmisibles. Decimosexta edición. OPS-OMS, 1997. Pág 294-297
13. Seijo A, Coto H, *et al.* Lethal Leptospiral Pulmonary Hemorrhage: An Emerging Disease in Buenos Aires, Argentina. Rev. Emerging Infectious Diseases. September 2002. Vol.8, No.9. (Pág. 1004-1005)
14. Sasaki DM, Pang L, *et al.* Active Surveillance an risk factors for leptospirosis in Hawaii. Am J Trop Med Hyg 1993; 48:35-43
15. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Cuadro Epidemiológico Nacional, 1987-1990. La Habana,Cuba. 1990.
16. Boletín Epidemiológico semanal: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" 1992. 2(52):2.
17. Prhraisuwan, Phran, *et al.* Leptospirosis: Skin Wounds and Control Strategies in Thailand. 1999. Rev. Emerging Infectious Diseases. December, 2002. 8(12):455-1459.
18. Mandell, Douglas and Bennett's. Principles and practice of infection disease. Fourth edition. Churchill Livistone. USA. 1,995. 2:2,137-2,141.

19. Noguchi H, Sasaki, *et al.* The survival of *Leptospira* (spirochaeta) icterohaemorrhagiae in nature: observations concerning microchemical reactions and intermediary hosts. *Rev biomed*, 1,998 37: 609-25.
20. Arzouni Jean, Parola P, *et al.* First isolation of *Leptospira* fainei; serovar hurstbridge from two human patients with Weil's syndrome. *Journal Medical microbiology* 2,001. 50:96-100.
21. Faine, S. Leptospirosis. *Microbiology and microbial infections*. 9th ed. London. 1,998 Pág. 849-69.
22. Tappero J, Ashford, *et al.* Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. New York. 1,999 Pág. 2495-501.
23. Chan HI. Bacterial Infections of the skin. 2 cutaneous due to systemic infections. *Ann Academic Medical Singapore*. 1983. 12: 98 -102.
24. Plank R, Dean D, *et al.* Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of the *Leptospira* spp. In humans. *Microbes infect*. 2000. 2:1265 -76.
25. Corwing A, Ryan A, *et al.* A waterborne outbreak of leptospirosis among United States Military personnel in Okinawa, Japan. *Journal Epidemiology*. 1990. 19:743-8
26. Bovet P, Yersin C, *et al.* Factors associated with clinical leptospirosis; a population based case-control study in the Seychelles Indian Ocean. *Journal Epidemiology* 1992. 28:583-90
27. Mandell, Douglas and Bennett's. Principles and Practice of infectious diseases 4th edition U.S.A. 1995.2:2,137-2,141.

28. George Watt. Leptospirosis. Current opinion infection disease. 1997.10:149-152
29. Gallop Th. Rat, *et al.* Leptospirosis Wet Journal Medicine. 1993.159:76.
30. Levin N, Postic, *et al.* Panuveitis With Papillitis in Leptospirosis. American Journal Ophthalmology. January 1994.117(1):118-119
31. O'neal Km, Brouqui, *et al.* Pulmonary Manifestations of leptospirosis. Rev. Infectious Diseases. 1991.13:705-9.
32. Im JG, Yeon, *et al.* Leptospirosis of the lung; radiographic findings in 58 patients. 1989.152:955-9
33. Guncalves Aj., Roulth, *et al.* Hemoptise e Syndrome de angustia respiratoria do adulto como causas de morte na leptospirose; mudanas de padroes clínicos e anatomopatológicos. Rev Soc Brasil. Med Tropical 1992. 25:261.
34. Trevejort, M, Mathuel, *et al.* Epidemic Leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage. Nicaragua , 1995. Journal Infectious diseases. 1998.178:1457-63
35. Comisión Científica Sobre Leptospirosis. Manual de Leptospirosis. 1ª Edición. Buenos Aires, Argentina. 1994. pág 25-32.
36. Serjo A.C, Didier, *et al.* Distress respiratorio del adulto en Oram Salta. Comunicación realizada en el primer congreso interamericano de infectología. Córdoba, Argentina, Mayo 1994.
37. Zakki Sr, *et al.* Epidemic Working Leptospirosis as a cause of múltiple organ failure. Revista Médica Chile, Marzo 1996. 124(3):359-362.

38. Joseph KM, Daher, *et al.* Leptospirosis in India. *Journal Medical*. 1966. 54:611-4.
39. Pooja,L, Sharma, *et al.* Serological evidence of leptospirosis by IgM elisa and IgM dipstick in patients of acute febrile illness. XXVth National congress of Indian association of medical microbiologist. 2001. 90p.
40. Jagovkin EA, Kostina, *et al.* The improvement of immunobiological preparations against leptospirosis. An experimental study of a new concentrated purified vaccine against icterohemorrhagic leptospirosis for human immunization. *Epidemiology Immunobiology*. 1990. pág 47-51.
41. Proyecto de la vacuna antileptospirósica para uso humano. Ministerio de salud pública. Instituto de sueros y vacunas Stavropol. Moscú. 1986.
42. Fiodorov Yu. Instrucción para el uso de la vacuna antileptospirósica. Departamento de enfermedades infecciosas del MINSAP. Rusia. 1988.
43. González M, Naranjo, *et al.* Vacuna antileptospirósica trivalente absorbida para uso humano. Instituto Finlay. Cuba. Diciembre 1997. pág 2-10.
44. Martínez R. Estudios de fase I y II para la evaluación de una vacuna contra la leptospirosis humana. *Boletín, epidemiológico semanal*. Instituto de medicina tropical Pedro Kourí. 1996. 6(21):3-4.
45. Varma MGR. Geographical Distribution of arthropod-borne Disease and their principal vectors. World Health Organization (document). Geneva, 1989.

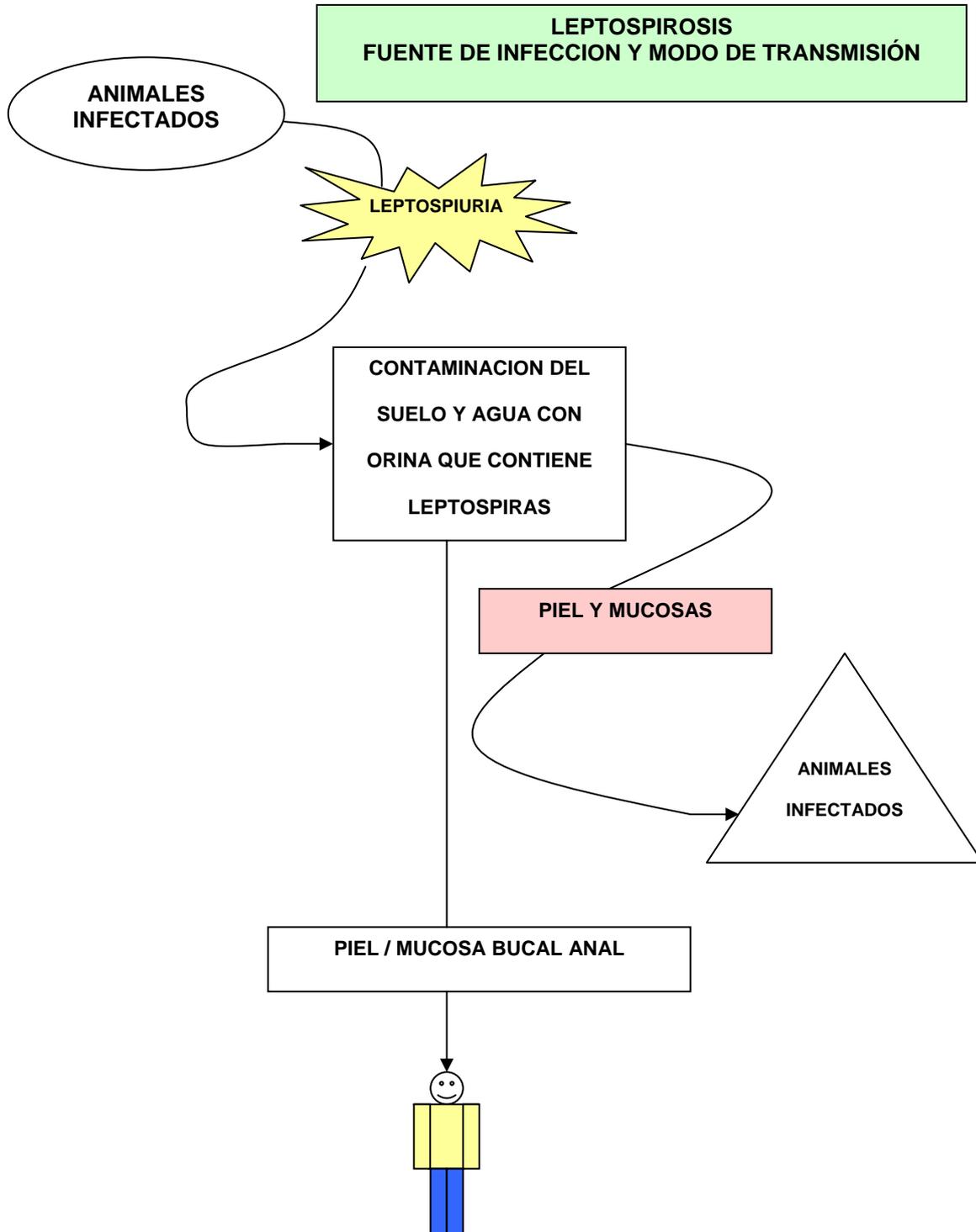
46. Pinheiro F P, *et al.* Emergence of dengue hemorrhagic fever in the Americas. *Infectiology Medical*. 1998:244-255.
47. Aguiar, F, Palheiro, *et al.* As alterações climáticas em Manaus no século. Rio Janeiro, 1995. 407p.
48. Reynes J.M, *et al.* The first epidemic of dengue Hemorrhagic Fever in French Guiana. *American Tropical Medicine*, 1993.51(5):545-553
49. Kouri G, *et al.* Reemergence of dengue in Cuba. *Emergence Infectious Diseases*. Cuba 1998. 4:89-92.
50. Idrobo JC. Revisión de la estratificación socioeconómica de Neiva. Colombia, 1999. 20p.
51. Secretaría de Salud Municipal de Neiva, Huila Informe de control de enfermedades transmitidas por vectores. Colombia, 1998.
52. Reiter P. Climate change and mosquito -borne disease. *Environ Health Perspect*. 2001.109:141-61.
53. Reiter P, Marst, *et al.* *Emerging Infectious Disease*. January 2003. Pág 86-89.
54. Espinoza Brito, A, *et al.* Fiebre hemorrágica dengue, estudio clínico en pacientes adultos hospitalizados, III Congreso Nacional de Medicina Interna. Habana. 1982.
55. Gubler D. J. Dengue/dengue hemorrhagic fever in the Americas; prospects for year 1992; dengue a worldwide problem a common strategy. México, 2000. Pág 19-27.

56. Secretaría de Salud. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Bol, secretaria de Salud. 1,998 Pág 36-40.
57. Instituto Nacional de Estadística geografía e Informática. Anuario estadístico del estado de Colima. México. 1998.
58. Martínez E. Dengue y dengue hemorrágico. Editorial de la Universidad de Quilmes. Buenos Aires, Argentina. 1998. Pág 1-30.
59. Marianneau P, Cardona, *et al.* Dengue Virus Replication in humans hepatoma cell, activates NF-kappa B which in turn induces apoptotic cell death. Journal of virology. 1997. Pág 3244-3249.
60. Deprés P, Frenkiel, *et al.* Apoptosis in the mouse central nervous system in response to infection whith mouse neurovirulent dengue viruses. Journal virology. 1998. Pág 823-829.
61. Miagostovich M P, Ramos, *et al.* Retrospective study of dengue fatal cases. Clinical neuropathologic. 1997. 16 (4):204-208.
62. Halstead SB. Antibody, macrophages, dengue virus infection, shock and hemorrhage a pathogenic cascade. Review Infectious Diseases. 1989. 11(830-839).
63. Malheiros SM, Oliveira, *et al.* Dengue muscle biopsy findings is 15 patients..Arq. Neuropsiquiatrica. 1993. 51:159-165.
64. Soler M, Guzmán, *et al.* Sequential infection as risk factor fro dengue hemorrhagic fever/ dengue shock syndrome (DHF/DSS) during the 1981 dengue hemorrhagic cuban epidemic. Instituto oswaldo Cruz. 1991. 86:367.

65. Manual de laboratorio para el Diagnóstico del Dengue: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, publicación. INCAP. 1990. Pág 6-77.
66. World health organization. Dengue haemorrhagic fever; diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva 1997 Pág 10-12, 24-47.
67. Manual de procedimientos bacteriológico y serológico para el diagnóstico de la leptospirosis: Instituto Nacional de Salud, publicación. Ministerio de Salud. Lima, Perú. 2,002. Pág. 33-40.

XIII. ANEXOS

Anexo 1



FUENTE : LABORATORIO DE BACTERIAS DE TRANSMISION SEXUAL Y LEPTOSPIRAS
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, PERU, año 2,002

Anexo 2

TABLA 1. Diagnóstico Diferencial. *

Parámetro\Enfermedad	Leptospirosis	Dengue	HB	Malaria	Fiebre amarilla	Formas meníngeas
Ictericia	P/A	A	P	P	P	A
Fiebre	I	I	PI	I	I	I
Dolor de cabeza	P	P	P	P	P	P
Dolor Muscular	P	I	A	P	P	P
Vómito	P	P	P	P	P	P
Vómito Negro	A	A	A	A	P	A
Vasculitis	P	A	A	A	A	A
Petequias	P	P	A	A	A	A
Daño Hepático	P	P	P	P	NE	NE
Daño Renal	P	A	P	N	NE	NE
Transaminasas	LE	LE	E	LE	NE	N
Ck	E	NE	N	NE	NE	NE
LCR,pleocitosis,Glucosa	N, N/D	NE	NE	NE	NE	E,D
Hematocrito	D	D	N	D	D	N
BUN / Creatinina	E,E	N,N	NE	NE	NE	NE

E: elevado

P: Presente

PI : Poco Intensa.

LE : Ligeramente elevado

A: Ausente

N: Normal

NE : No evidencia

D: Disminuído

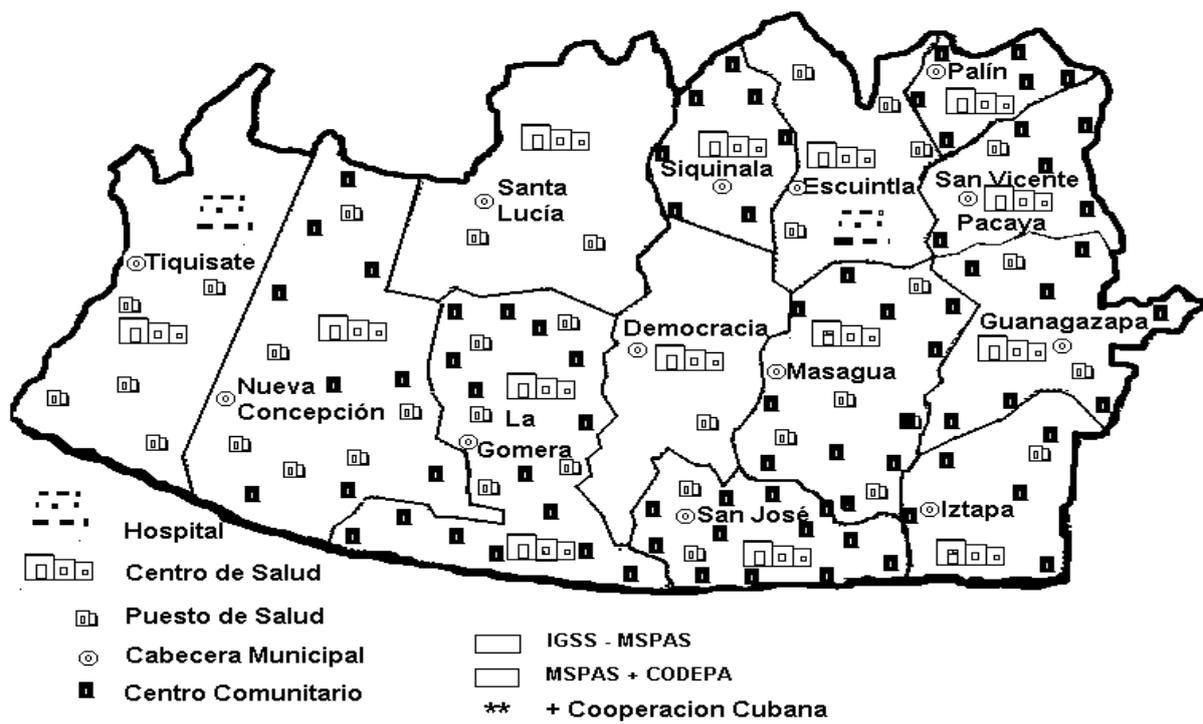
I : Intenso

FUENTE : Los datos recopilados en esta tabla, corresponden a las referencias 35 y 37

* Estos son algunos síntomas, signos y pruebas de laboratorio que determinan el diagnóstico diferencial entre Leptospirosis y otras enfermedades de sintomatología similar.

Anexo 4

RED DE SERVICIOS DE SALUD, ESCUINTLA 2003



FUENTE: DIRECCION AREA DE SALUD DE ESCUINTLA (DASE), AÑO 2,003

ANEXO 5

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y A.S.
LABORATORIO NACIONAL DE SALUD
UNIDAD DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO
Km. 22 Carretera al Pacífico, Bárcena, Villa Nueva
Tel. 6312013

No. CODIGO _____

**FICHA NACIONAL DE INVESTIGACION
CASO SOSPECHOSO DENGUE CLASICO Y/O HEMORRAGICO**

DATOS GENERALES

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: _____

Dirección: _____ Loc.: _____ Depto. _____

Persona responsable: _____

2. DATOS CLINICOS

Fiebre _____
Dolor de cabeza _____
Dolor de ojos _____
Dolor de cuerpo _____
Dolor de Articulaciones _____
Escalofríos _____
Náuseas _____
Vómitos _____
Diarrea _____
Erupción cutánea _____
Vómitos con sangre _____
Hemorragia en nariz _____
Hemorragia en encía _____
Sangre en orina _____
Hemorragia vaginal _____
Melena _____
Patequias _____
Púrpura o equimosis _____
Prueba de tomiquete _____

F E C H A

Primer síntoma _____

Primer muestra _____

Segunda muestra _____

Pte. Embarazada: _____

Meses de embarazo: _____

TIPO DE MUESTRA

SUERO

PAPEL FILTRO

Para paciente hospitalizado:

DATOS DEL LABORATORIO CLINICO

HB: _____ HT: _____ PLAQUETAS: _____

Recuento de Glóbulos Blancos: _____

Fórmula: N _____ L _____ B _____ E _____

3. DATOS EPIDEMIOLOGICOS

- a) Durante los 10 días antes de su enfermedad, viajó a otro lugar: SI _____ NO _____
¿A donde viajó? _____
- b) ¿Ha viajado durante su enfermedad? SI: _____ NO: _____ ¿Adónde? _____
- c) ¿Tuvo DENGUE antes? (fiebre, dolor, dolor ojos, erupción) SI _____ NO _____
¿Cuándo? (MES - AÑO) _____
- d) ¿Fue picado por mosquito diurno? SI _____ NO _____

ENVIAR RESULTADO A:

Nombre: _____

Institución: _____

Dirección: _____

RESULTADO

No. De Registro _____

Fecha de Recibido: _____

Fecha Examen: _____

POSITIVO NEGATIVO

Tipo de DENGUE: _____

NOTA: Original: se queda archivada en el servicio en que se estudió el caso.
Copia: enviar con muestra representativa al Laboratorio Nacional de Salud.