

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA**



Informe presentado por:

Mariana Elizabeth Herrera García

Aliz Marisol Pérez Vásquez

Para optar al título de:

Química Biológica

Guatemala, 27 de enero de 2012.

INDICE GENERAL

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. ANTECEDENTES	4
A. Generalidades	4
B. Características y agente etiológico	5
C. Clasificación.....	6
D. Factores de virulencia.....	7
E. Reservorio de la infección.....	7
F. Mecanismo de infección	8
G. Manifestaciones clínicas.....	10
H. Hallazgos patológicos y patogénicos.....	11
I. Mecanismos de defensa inmune	14
J. Métodos de diagnóstico.....	15
K. Diagnóstico diferencial.....	21
L. Tratamiento.....	22
M. Distribución mundial y epidemiología	22
N. Medidas de control y prevención	26
O. Leptospirosis en Guatemala	26
P. Leptospirosis en comunidades urbanas de bajos recursos	28
IV. JUSTIFICACIÓN	31
V. OBJETIVOS	32
VI. HIPOTESIS	33

VII. METODOLOGÍA	34
VIII. RESULTADOS	46
IX. DISCUSIÓN	51
X. CONCLUSIONES	57
XI. RECOMENDACIONES	58
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
XIII. ANEXOS	67
Anexo 1: Características diferenciales de las especies de <i>Leptospira</i> ...	67
Anexo 2: Cinética de la infección por <i>Leptospira</i>	68
Anexo 3: Serogrupos y serovares utilizados	69
Anexo 4: Consentimiento informado	70
Anexo 5: Ficha de recolección de datos	74
Anexo 6: Composición de medios de cultivos.....	76
Anexo 7: Cálculo de la muestra poblacional	77
Anexo 8: Cálculo del índice <i>kappa</i> (κ).....	78
Anexo 9: Álbum de fotos	79

I. RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad cosmopolita, causada por la bacteria *Leptospira interrogans*, de la que se conocen más de 28 serogrupos y 218 serovariedades (Carrado, 2005). La presentación de la enfermedad varía desde una forma leve o asintomática, hasta una falla multiorgánica conocida como Síndrome de Weil. Se calcula que la incidencia anual de casos se encuentra en un rango 10 -100/100,000 en países que van desde climas húmedos a tropicales como Guatemala (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2008).

La ciudad de Guatemala cuenta con alrededor de 400 asentamientos, la mitad de éstos poseen condiciones sanitarias precarias planteando la necesidad de establecer el comportamiento, impacto, magnitud y factores de riesgo asociados a infección por *Leptospira*, en estos sectores de la población guatemalteca (Lucas, Gándara y Linares, 2003). El asentamiento 15 de Enero se ubica entre laderas y un zanjón de aguas negras que desemboca en el río Las Vacas. Cuenta con servicios de drenajes, agua potable y extracción de basura, sin embargo existe acumulación de basura, drenajes superficiales y alta población de roedores en sus alrededores (Escuela Nacional de Enfermería, 2010).

El objetivo principal de este estudio fue determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti *Leptospira* en los habitantes del asentamiento 15 de Enero, mediante las pruebas de Microaglutinación (MAT) y ELISA IgG. Así mismo se determinaron los serovares de *Leptospira* circulantes en esta población y los factores asociados que contribuyen a la exposición con la bacteria en poblaciones similares.

Durante el estudio se incluyeron 119 pobladores del asentamiento con edades comprendidas entre los 6 – 85 años. De los participantes, la mayoría era indígena (64.7 %), alfabeto (80.7 %) y con una edad promedio de 25.0 años. Las ocupaciones más frecuentes fueron estudiantes y oficios domésticos, con predominio del sexo femenino (61.3 %).

Se determinó que el 30.3 % de las personas muestreadas presentaron anticuerpos anti *Leptospira* con MAT, por lo que se estima que la prevalencia en el total de los

pobladores del asentamiento se encuentra entre 22.2 – 39.3 % (IC_{95%}). La concordancia entre las pruebas de ELISA y MAT fue del 72.3 %. Los títulos obtenidos por MAT estuvieron en un rango de 1:40 a 1:640 y el más frecuente fue de 1:80 (30.6 %). Se identificaron los serovares Australis y Lanka como los más frecuentes (11.1 %), seguidos por Icterohaemorrhagiae, Pomona y Javanica con 8.3 % cada uno.

No se encontró una asociación significativa ($p>0.05$) entre la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* y las características encontradas en la población del asentamiento 15 de Enero, por lo que no se descarta que la fuente de contacto con *Leptospira* spp. sea externa al asentamiento.

Por lo que es importante la realización de más estudios seroepidemiológicos en poblaciones urbanas que incluyan el análisis de *Leptospira* spp. en roedores y animales domésticos, para complementar los resultados obtenidos en humanos y determinar las posibles fuentes de infección para los pobladores del asentamiento.

II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

La leptospirosis es una zoonosis endémica en países tropicales con características ambientales, climáticas, laborales y socio-económicas que favorecen su transmisión. Muchos de estos factores, están presentes en el ámbito urbano en el que se desarrolla gran parte de la población guatemalteca. Sin embargo, los estudios realizados sobre este tema son escasos y se desconoce la magnitud de la enfermedad, debido a que los datos existentes sobre la seroprevalencia de la leptospirosis están limitados a casos agudos y poblaciones en zonas rurales.

El asentamiento 15 de Enero, ubicado en la 1ª. Calle “A” y 23 Avenida de la zona 1, es un área urbana como muchas otras presentes en la ciudad de Guatemala, que presenta varias características que han sido descritas como factores de riesgo para la propagación de la leptospirosis. Por lo que el presente estudio tuvo como objetivo principal determinar la presencia anticuerpos IgG anti-*Leptospira* en sus habitantes mediante las pruebas de Microaglutinación y ELISA.

Debido a que las constantes invasiones de áreas suburbanas, rurales y semirurales para la construcción de viviendas inadecuadas han aumentado, es de suma importancia el continuar con los estudios seroepidemiológicos de la leptospirosis tanto en humanos como en reservorios animales, en áreas como el asentamiento 15 de Enero para controlar y prevenir su diseminación dentro de la población.

El seminario de investigación fue realizado en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, conjuntamente con la Dirección General de Investigación (DIGI) de la Universidad de San Carlos de Guatemala; y la colaboración del Laboratorio Nacional de Salud del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS). Además de contar con el acompañamiento de la Municipalidad de Guatemala a través de la Alcaldía Auxiliar del Distrito número 10.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades:

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica endémica y emergente, que se observa en países tropicales debido a factores ambientales, climáticos y sociales que favorecen su transmisión (Agudelo, Restrepo y Arboleda, 2007).

Es causada por una espiroqueta del género *Leptospira* que comprende dos especies: *L. biflexa*, especie saprobia de vida libre y *L. interrogans* de gran importancia para el hombre y animales, y de la que se conocen más de 28 serogrupos y 218 serovariedades (Carrado, 2005).

Las manifestaciones clínicas de leptospirosis en humanos y animales son variables, por lo que su diagnóstico definitivo, requiere tener en cuenta los antecedentes epidemiológicos, la presencia de anticuerpos y en algunos casos el aislamiento del microorganismo. El amplio espectro de síntomas clínicos hace que el diagnóstico médico sea difícil, con la consecuencia de que el curso de la enfermedad sea variable desde una infección subclínica, un cuadro febril anictérico y el síndrome de Weil potencialmente fatal (Agudelo *et al.*, 2007; Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2005).

La infección en el hombre, se produce cuando de manera accidental entra en contacto con animales infectados, agua, terrenos o lugares contaminados por la orina de los reservorios. Es una enfermedad con clara vinculación ocupacional, asociada a actividades que favorecen el contacto con los animales o sus productos. En el área urbana, los grupos poblacionales más vulnerables son aquellos con condiciones precarias de vivienda, sin saneamiento, expuestos a mayor contacto con roedores. (Ferro, Rodríguez, Pérez y Travi, 2006).

B. Características del agente etiológico:

Las leptospiras son bacilos gram negativo móviles y obligadamente aerobias que pertenecen al orden *Spirochaetales* y a la familia *Leptospiraceae*. Presentan una estructura helicoidal flexible espirilada, tienen un diámetro de 0.1 μm y una longitud de entre 6 a 12 μm . Poseen 0.2 a 0.5 μm de separación entre cada espira y una forma cilíndrica (Secretaría de Salud Departamental, 2008).

La membrana externa está constituida por lípidos, proteínas y lipopolisacáridos de gran importancia antigénica; posee dos filamentos axiales (filamentos periplasmáticos) que nacen cerca de los polos de la bacteria, entre la membrana externa y la pared celular; y cuyos extremos libres se extienden hacia la parte media y se enredan alrededor del cilindro proplasmático; sin interponerse entre sí dándoles, su forma helicoidal que las caracteriza (Caballeros y Romero, 1997).

Los requerimientos nutricionales de las leptospiras son particulares, requieren de vitamina B1, B12 y ácidos grasos de cadena larga como fuente de carbono, energía y lípidos celulares. Las leptospiras no utilizan fuentes externas de pirimidina para la incorporación en su ADN o ARN a diferencia de la mayoría de las bacterias (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2008).

Las leptospiras pueden vivir en forma libre o asociadas a hospederos humanos y animales. Sobreviven largo tiempo en agua fresca, estiércol, barro, ambientes marinos, en áreas tropicales y subtropicales húmedas; son sensibles a la desecación, a la exposición directa de los rayos solares y a pH mayores de 5.8. Su sobrevivencia en suelos neutros o ligeramente alcalinos, con presencia de materia orgánica saturada es de 183 días, mientras que en suelo seco únicamente pueden permanecer viables por 30 minutos. En aguas pueden sobrevivir hasta 3 meses y en orina débilmente alcalina como la de cerdo, vaca y equino de alrededor 16 días. Cuando la tierra es contaminada con orina de ratas infectadas con *Leptospira spp.* sobreviven hasta 2 semanas. No sobreviven en aguas saladas, pero sí pueden hacerlo durante largos períodos de hasta 180 días en aguas dulces. Pueden sobrevivir en la leche siempre y

cuando esta se encuentre diluida a razón de 1:20 ó más. Y sobreviven en temperaturas frías de -20°C hasta 100 días, llegando a sobrevivir hasta 32 semanas en nitrógeno líquido (Céspedes, 2005; Laguna, 2000; Secretaria de Salud Departamental, 2008).

C. Clasificación:

La clasificación del género *Leptospira* está basada en análisis serológicos de los antígenos y sobre la base de su patogenicidad en dos especies principales *Leptospira interrogans* (patógena) y *Leptospira biflexa* (saprobia). La clasificación de las leptospiras se fundamenta en sus características antigénicas que permiten separarlas en serovares, taxón básico que permite agruparlas en serogrupos. Las serovariedades más conocidas son: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Pyrogenes, Autumnales, Ballum, Bataviae, Grippotyphosa, Australis, Hyos, Minigeorgia, Hebdomadis, y Hardjo, esta última principalmente en personas que están en contacto con ganado infectado (Carrado, 2005; Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2003; Secretaria de Salud Departamental, 2008)

Entre los componentes antigénicos que presentan las leptospiras se encuentra el antígeno proteico, cuya composición es semejante a la de los flagelos bacterianos. El antígeno somático de propiedades fisicoquímicas similares a las de los antígenos de las bacterias gram negativo. Finalmente el antígeno de superficie, un complejo antigénico (proteínas, carbohidratos y lípidos) localizado en la envoltura externa, relacionado con el serotipo y reacciona con anticuerpos IgM e IgG. Algunos de estos antígenos pueden causar reacciones cruzadas entre distintos serotipos (Caballeros y Romero, 1997).

Algunas características fenotípicas permiten dividir a las leptospiras patógenas y saprobas, como su temperatura de crecimiento a 13, 30 y 37°C, patogenicidad y crecimiento en la presencia de 8-azaguanina o CaSO₄, actividad de la lipasa y la apariencia de formas esféricas con la presencia de NaCl 1M (Anexo 1) (Zambrano y Arajú, 2005).

D. Factores de virulencia:

Su poder patógeno está relacionado con la producción de endotoxinas y proteínas superficiales de adherencia, entre otras. Las leptospiras son muy invasivas especialmente por la producción de enzimas y proteínas de superficie que les permite unirse a la fibronectina y colágeno del huésped; así también factores mecánicos como lo son la motilidad por excavación y su tropismo, hacen que alcancen sitios que normalmente están protegidos del organismo (Pumarola y Jiménez, 2002; Secretaria de Salud Departamental, 2008).

Existen otros factores como lo son la hemolisina del serovar Pomona que es causante de hemorragias en el ganado vacuno, lipopolisacaridos (LPS) que estimulan la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales y plaquetas causando agregación y consecuentemente trombocitopenia. Algunas enzimas como la catalasa, hialuronidasa, y las partículas de motilidad facilitan atravesar la barrera hematoencefálica e invadir sitios normalmente estériles (Pumarola y Jiménez, 2002).

E. Reservorio de la infección:

Leptospira spp. tiene como reservorios a animales de vida libre como ratas, comadrejas y reptiles; que actúan como portadores debido a que la bacteria se multiplican en los riñones de dichos animales y es eliminada constantemente, contaminando el medio (agua, suelo y alimentos). En estos animales la bacteria puede persistir por largos períodos en los túbulos renales, estableciendo una relación comensal, sin evidencia de enfermedad o cambios patológicos (Hartskeerl, Smits, Korver, Goris y Terostra, 2006).

Los animales infectados suelen transferir las leptospiras a sus crías en el útero o en el período neonatal de forma directa por orina o semen, luego estas crías se las transmiten a sus crías y así sucesivamente; de esta manera la cadena de infección es mantenida por el hospedero de mantenimiento, convirtiéndose en el reservorio de la infección (Hartskeerl *et al.*, 2006).

Los seres humanos y animales (ganado vacuno, equino, suino, ovino, caprino) que no son el hospedero de mantenimiento, se convierten en hospederos incidentales o accidentales al infectarse con esta bacteria. Por lo general, son éstos los que desarrollan la enfermedad que se caracteriza por ser aguda con signos clínicos severos, producción de altos niveles de anticuerpos y un período corto de excreción de *Leptospira spp.* por vía renal (Hartskeerl *et al.*, 2006).

La enfermedad en animales puede variar desde asintomática, leve, severa e inclusive fatal muy parecida a la enfermedad en humanos; puede ser aguda o bien crónica. Una amplia variedad de especies de animales pueden enfermarse y ser fuente de infección para el humano como: insectívoros (musarañas y puercoespines), animales domésticos (vacas, cerdos, perros, ovejas, cabras, caballos y búfalos), animales criados en cautiverio para la producción de pieles (zorro plateado, visón, nutria) y los anfibios. Generalmente los serovares de leptospiros tienden a estar asociados con un hospedero natural de mantenimiento, pero sin embargo hay muchas excepciones (OMS, 2008).

F. Mecanismo de infección:

Las leptospiros viven en los riñones y son excretadas en la orina de los animales portadores, sin embargo éstas también se pueden encontrar en el cerebro, tracto genital y ojos de los animales hospederos. En los animales enfermos, las bacterias pueden encontrarse en la sangre y en la mayoría de los órganos (Hartskeerl *et al.*, 2006). La transmisión a humanos puede ocurrir a través del reservorio o bien de otro animal intermediario que se convierta en el hospedero accidental o incidental.

1. Contacto directo:

Los humanos se infectan directamente en situaciones en que se está en contacto con orina, animales vivos, animales muertos, órganos de animales, pieles o placentas. La transmisión de humano a humano puede ocurrir muy ocasionalmente, hay algunos ejemplos de leptospirosis transmitida sexualmente, transplacentaria y a través de la lactancia materna. Y toda orina excretada por un

paciente con leptospirosis debe ser considerada infecciosa (Hartskeerl *et al.*, 2006).

a) Aerosoles:

Ocurre debido a la dispersión de gotas de orina lejos del lugar en el cual es excretada, permitiendo que la bacteria pueda penetrar por inhalación o vía conjuntival (Michna, 1970).

b) Transplacentaria:

Las leptospiras pueden cruzar la barrera transplacentaria durante la fase leptospirémica de la enfermedad, causando la infección del feto, tal y como se ha demostrado tanto en el ganado bovino, el cerdo y en el ser humano (Michna, 1970).

2. Contacto indirecto:

Es la forma más frecuente de infección humana y animal y tiene lugar en situaciones donde los humanos entran en contacto con aguas superficiales, alimentos, suelos, arrozales, campos de caña de azúcar o pantanos contaminados con orina cargada de leptospiras (fómites contaminados). Inclusive la transmisión de esta enfermedad suele estar relacionada con ciertos períodos del año, como lo es la época lluviosa, períodos de inundación, el final del verano y otoño en lugares con alta densidad poblacional de animales que son reservorio (Hartskeerl *et al.*, 2006; OMS, 2008).

Las leptospiras penetran en el hombre a través de la piel con abrasiones, membranas mucosas de ojos, nariz y boca e inclusive a través de agua jabonosa macerada con la piel. Después de penetrar se distribuyen rápidamente a todo el cuerpo, incluyendo líquido cefalorraquídeo y ojos (Arbey, Arango y De Lima, 1998).

G. Manifestaciones clínicas:

La infección subclínica se observa en un 15% de casos. Entre las personas que desarrollan manifestaciones clínicas el 90% cursa con la forma leve denominada leptospirosis anictérica y el 10% con una forma grave conocida como síndrome de Weil. La leptospirosis es considerada una enfermedad bifásica en la que luego del período de incubación que dura entre 2 a 20 días, comienza la fase septicémica que dura de 4 a 7 días y tras la cual aparece la fase inmune que se extiende entre 4 y 30 días con la aparición de anticuerpos circulantes (Caíno, Curcio y Siquiroff, 2006).

1. Leptospirosis anictérica:

Esta se desarrolla en dos 2 fases, la primera fase (leptospirémica) posee un comienzo brusco con fiebres de 39 a 40°C y una duración de entre 4 y 9 días. Es acompañada de escalofríos, mialgias, cefalea, malestar general y dolores musculares; frecuentemente hay manifestaciones digestivas como anorexia y náuseas. En esta fase se aprecia una elevación de la eritrosidementación y leucocitos de rangos normales a moderadamente elevados. Las pruebas de función hepática muestran una ligera elevación de transaminasas, bilirrubinas y fosfatasa alcalina en ausencia de ictericia. El examen general de orina muestra proteinuria, piuria, microhematuria y cilindros hialinos. El líquido cefalorraquídeo (LCR) puede mostrar aumento leucocitario con una glucosa normal (OPS, 2005).

Posteriormente se presenta una etapa afebril que dura uno o dos días, seguida por la segunda fase (inmune) con una duración entre 10 a 30 días. Esta última se asocia con la aparición de anticuerpos IgM circulantes mientras las concentraciones de la fracción C₃ del complemento se encuentran en el rango normal. La fiebre suele ser baja y el síndrome clínico más importante es el compromiso meníngeo, con una meningitis aséptica inespecífica de corta duración, nunca fatal, y por su inespecificidad suele confundirse con meningitis de etiología viral por pleocitocis mononuclear (Lemarroy y Carrillo, 2003).

2. Leptospirosis icterica o Síndrome de Weil:

Forma grave, producida con mayor frecuencia por *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae. Se caracteriza por ictericia, deterioro de la función renal, hemorragias, colapso vascular, alteración de la conciencia, fiebre elevada y continua entre 4 a 7 días. Alrededor del 25% de los casos presentan hepatoesplenomegalia, con bilirrubinemia con predominio de la bilirrubina directa, sus valores suele ser mayor a 20 mg/dl, la fosfatasa alcalina moderadamente elevada, y las transaminasas rara vez exceden 100-200 U/L. La trombocitopenia ocurre en un 50% de los casos, relacionada estrechamente con la insuficiencia renal, lo cual se traduce en un aumento de los valores sanguíneos de urea y creatinina, proteinuria, cilindruria y hematuria. Esta entidad posee una mortalidad entre el 5 al 10% (Caíno *et al.*, 2006).

H. Hallazgos patológicos y patogénicos:

Después de que la bacteria penetra la piel, invade la corriente sanguínea y se disemina por todo el cuerpo aunque existe tropismo por algunos órganos como el hígado, riñones, corazón y músculo esquelético. En procesos patogénicos provocados experimentalmente se ha observado que la patogenicidad de este microorganismo está ligada a la presencia física de lesiones. (Laguna, 2000).

Utilizando técnicas de inmunoelectromicroscopía se ha confirmado la posible participación de antígenos en el proceso de lesión celular del hospedero; iniciando por la interacción de la bacteria con la membrana celular y culminando con la penetración y posterior agresión celular. La participación de las leptospiras desempeña una función destacada en la génesis de la lesión celular, comenzando con la adhesión específica que se complementa con la invasión celular. Asociada a la agresión de las células parenquimatosas; el endotelio capilar es lesionado probablemente con citotoxinas; esto se ha observado en células endoteliales de capilares del pulmón, riñón y diafragma, en donde se encuentran alteraciones mitocondriales y del retículo endoplasmático semejantes a las detectadas en los hepatocitos. Con la evolución natural de estos fenómenos, se instala un cuadro de anoxia tisular que agrava y

perpetúa el proceso lesivo que culmina en la necrosis celular (Brito, 1968; Gamarra, 2008).

1. Hallazgos renales:

Las anomalías de la función renal pueden ser profundas y desproporcionadas con respecto a los cambios histológicos observados en el riñón. El compromiso renal puede manifestarse desde simples alteraciones del sedimento urinario hasta cuadros graves de insuficiencia renal aguda. Este último compromiso representa la principal causa de muerte. La insuficiencia renal es primariamente el resultado del daño tisular y es habitual encontrar leptospiras en la luz tubular. La causa principal de la lesión tubular parece ser la hipoxemia o algún otro efecto tóxico directo de las leptospiras, así como la asociación con inmunocomplejos circulantes, depósitos de componentes del complemento y cuerpos electrodensos en los glomérulos sugestivos de glomerulonefritis por inmunocomplejos, hipovolemia e hipotensión causadas por la pérdida de volumen intravascular como resultado de lesión endotelial, que pueden contribuir al desenvolvimiento de la insuficiencia renal (Laguna, 2000).

Las lesiones renales suelen iniciarse dentro de los glomérulos durante la migración de las leptospiras, luego surgen las alteraciones de los túbulos intersticiales, causadas por la migración de leptospiras dentro de los capilares peritubulares para el intersticio y túbulos, responsabilizándose por el compromiso renal que puede variar de simple disminución de la función glomerular hasta insuficiencia renal (Gamarra, 2008).

2. Hallazgos hepáticos:

En el hígado, la ictericia es la manifestación principal de las alteraciones hepáticas, que se deben a la disfunción hepatocelular, habitualmente sin necrosis. El daño hepático en apariencia es subcelular y las leptospiras rara vez se observan en el hígado. Parecen importantes manifestaciones como las hemólisis, el daño hepatocelular y la colestasis intrahepática. La insuficiencia renal y la

reabsorción de hemorragias parecen factores coadyuvantes. La ictericia sería el resultado de la agresión hepática aunque la necrosis hepatocelular no sea prominente, concordando con los valores poco elevados de las transaminasas séricas. La ictericia en los casos graves es muy intensa, y puede presentar una coloración anaranjada por lo que se le denomina cúprica o rubínica. Esta se produce por la asociación entre la impregnación bilirrubínica amarilla, dilatación y la hiperpermeabilidad vascular que resulta en congestión y hemorragia (Laguna, 2000).

Los fenómenos hemorrágicos parecen ser secundarios de la agresión capilar. Las espiroquetas o sus productos actúan sobre la pared vascular. La trombocitopenia ha sido reconocida como factor causal básico, aunque su presencia, así como de la hipoprotrombinemia, representen factores más agravantes que determinantes. El sangrado puede resultar de disturbios de los factores de la coagulación o de las lesiones vasculares. En la leptospirosis han sido descritas alteraciones en los factores de coagulación, secundarias a deficiencias en la síntesis hepática o al consumo en áreas de lesión endotelial. El compromiso endotelial puede iniciar la adhesión y la agregación plaquetaria, activando los mecanismos de coagulación y fibrinólisis (Laguna, 2000).

3. Hallazgos en otros sistemas y órganos:

En el aparato cardiovascular, pueden aparecer manifestaciones tan simples como alteraciones en el trazado electrocardiográfico o hasta graves complicaciones clínicas seguidas fulminantes. Varios factores son incriminados como responsables por la agresión miocárdica, entre ellos la acción directa de las leptospiras o sus productos tóxicos, las alteraciones inmunopatológicas y las metabólicas. Brito (1967) en un estudio experimental demuestra la existencia del antígeno de *Leptospira* en la luz y adosado a la pared de vasos miocárdicos. Fortaleciendo la idea de que el microorganismo lesionaría directamente a la célula endotelial, ocasionando anoxia y muerte de la fibra miocárdica. Se cree que una fracción glicoprotéica de la célula leptospiral es la responsable de estos disturbios

rítmicos, ya que podría inhibir la bomba sodio-potasio ATPasa (Bal, 2005; Laguna, 2000).

Dentro de las manifestaciones oculares de esta enfermedad, la más común es la hemorragia subconjuntival, sin embargo, existen otras manifestaciones como la uveítis, que puede desarrollarse de manera aguda o crónica, hasta un año después de la enfermedad inicial e inclusive presentarse después de la fase aguda; además se han reportado otras alteraciones como la panuveítis, inflamación vítrea, vasculitis, periflebitis y papilitis. La uveítis recurrente en equinos parece involucrar la producción de anticuerpos contra el antígeno leptospiral en reacción cruzada con tejidos. El daño de la retina con uveítis tiene una relación con la presencia de linfocito B en la retina (Elizalde, Tenorio y Velasco, 2004; Kalsow y Dwyer, 1998; Sandow y Ramírez, 2005).

La agresión pulmonar se manifiesta en su forma más grave por un cuadro de neumonía hemorrágica, que al parecer se relaciona con la acción directa de una toxina sobre la pared capilar. Las lesiones son observadas con mayor frecuencia en la periferia y bases pulmonares como consecuencia de la abundancia de capilares y mayor vigor de los movimientos respiratorios de esas áreas. Esta grave agresión pulmonar puede en la realidad resultar en una reacción de Herxheimer, desencadenada por la liberación de lipopolisacáridos de la pared celular de la *Leptospira*. El compromiso de otros órganos como las glándulas suprarrenales, páncreas, cerebro y meninges parece obedecer a los mismos mecanismos (Laguna, 2000).

I. Mecanismos de defensa inmune:

La respuesta inmune inducida en la leptospirosis humana es humoral y es la misma que en otras patologías con aparición inicial de niveles de IgM y seguida de anticuerpos IgG. Los anticuerpos de tipo IgM son producidos tempranamente, a los 5-7 días de instalada la enfermedad, sin embargo pueden aparecer a los 10 días o más. Los anticuerpos formados tempranamente pueden reaccionar con varios serovares,

inhibiendo la multiplicación de las leptospiras, sin eliminarlas. Pueden ser encontrados en el suero durante 2 a 3 meses por medio de pruebas como la de MAT, inmunohemaglutinación o ELISA IgM, alcanzando su título máximo aproximadamente a la cuarta semana (Anexo 2) (Marino, 2008).

Los anticuerpos IgG que producen la lisis de las leptospiras aparecen durante la segunda semana posterior a la infección y alcanzan su título máximo en las semanas 4- 12. Son los responsables de la lisis de las leptospiras circulantes, y su presencia implica el contacto del ser humano con el agente infeccioso en algún momento de la vida. Pueden ser detectados por medio de la prueba MAT y/o ELISA IgG, ya que pueden perdurar por varios años luego de exposición natural con el agente infeccioso. La inmunidad que se adquiere después de la infección es generalmente específica hacia la serovariedad que la produce (Marino, 2008).

Existen pocos estudios sobre la respuesta inmune celular en pacientes con leptospirosis, en un estudio controlado se encontró una disminución en el número de linfocitos CD3+ y CD4+, con un aumento de los linfocitos B, lo que sugiere una causa autoinmune por mimetismo molecular (Solano, Boza y Saenz, 1996).

J. Métodos de diagnóstico:

Además de los datos epidemiológicos y la sintomatología clínica que suele ser muy variada es necesario pruebas de laboratorio que confirmen la presencia del microorganismo o la positividad de las pruebas serológicas (Buchiazzo y Cañas, 2001).

1. Diagnóstico clínico:

Las manifestaciones clínicas de la leptospirosis son muy variadas, por lo que el diagnóstico clínico posee un carácter presuntivo y se realiza a través de los signos y síntomas presentes en casos sospechosos, siendo la historia de exposición un dato importante para plantear el posible diagnóstico (Roca, 2006).

Barrios (2010) determinó que los 4 síntomas más comunes para pacientes con leptospirosis referidos al Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala, fueron fiebre (76.7%), dolor de cuerpo (60%), escalofríos (50%) y dolor de cabeza (50%).

2. Diagnóstico de laboratorio:

Debido a que los síntomas de la leptospirosis no son patognomónicos, el diagnóstico definitivo únicamente se puede establecer mediante exámenes de laboratorio, ya sea directos o indirectos basándose en métodos bacteriológicos y serológicos (Roca, 2006).

Además de la detección del agente, suelen haber algunos hallazgos de laboratorio que pueden ayudar a orientar sobre el diagnóstico como lo es una leucocitosis con neutrofilia, que de ser prolongada, se presenta una anemia y trombocitopenia. También hay una elevación del tiempo de protrombina y de la velocidad de eritrosedimentación mayor a 35mm/h (Martínez, Ribo y Herranz, 1998).

Otras alteraciones encontradas son la elevación consistente de las enzimas hepáticas, aspartato aminotransferasa (ASAT), alanino aminotransferasa (ALAT) y gamma glutamil transferasa (GGT). Sin embargo también suele haber aumento en los niveles de amilasa, lipasa, nitrógeno de urea en sangre y un aumento importante de la creatinfosfoquinasa (CPK) de hasta 5 veces su valor normal; todo esto acompañado por alteraciones en el sedimento urinario (Martínez *et al.*, 1998).

a) Métodos directos:

i. Cultivo:

El aislamiento de *Leptospira* por medio de cultivo es una prueba irrefutable de la etiología de la enfermedad permitiendo la identificación del serovar al que pertenece, lo cual es de gran importancia epidemiológica. Los aislamientos pueden realizarse a través muestras de sangre y LCR (fase leptorpirémica), u orina (fase inmune) (Anexo 2) (Naranjo *et al.*, 2007).

Existe una amplia variedad de medios para el cultivo de leptospiras. Algunos medios contienen de 8 a 10% de suero de conejo como lo son los medios Stuart, Korthof, Fletcher, Vervoort y Shüffner, que contienen la más alta concentración de vitamina B12 ligada. Sin embargo los medios Shüffner y Korthof poseen una alta concentración de fosfatos que pueden precipitar y resultan indeseable en la prueba de aglutinación microscópica (MAT) (OMS, 2008, p. 115).

También están el medio Tween 80/albúmina, también conocido como el medio Ellinghausen y McCullough, modificado por Johson y Harris (EMJH), libre de proteína (para realización vacunas), Fletcher, y otros selectivos con 5-fluorouracilo para el crecimiento de leptospiras. Estos medios deben incubarse a 30°C en la oscuridad durante un tiempo 5 a 6 semanas. En los medios semisólidos el crecimiento de las leptospiras se observa por la formación de un anillo de turbidez debajo de la superficie (anillo de Dinger) de 0.5 a 1 cm de espesor que aparece entre 6 a 14 días posteriores a su inoculación (Hartskeer *et al.*, 2006).

ii. Observación directa:

Se realiza para el diagnóstico sugestivo de leptospirosis. Consiste en la observación directa de leptospiras en la muestra o en el sedimento obtenido por centrifugación de orina, sangre, LCR, tejido y exudados; a través de un microscopio con condensador de campo oscuro. (OMS, 2008; Zambrano y Arajú, 2005).

Adicionalmente, las tinciones con sales de plata, rojo congo e inclusive técnicas de inmunohistoquímica permiten la observación de las leptospiras en muestras histológicas; sin embargo en estos procedimientos no es posible distinguir las serovariedades involucradas y poseen el inconveniente de crear confusión, debido a que requiere de destreza y experiencia por las mínimas concentraciones de bacterias presentes en las muestras haciéndola

una técnica de baja sensibilidad y especificidad (OMS, 2008; Zambrano y Araju, 2005).

iii. Inoculación en animales:

Debido a que la siembra no siempre permite aislar al agente causal, se utiliza la inoculación en animales para aumentar el número de leptospiras y para lograr aislamientos de cepas de materiales contaminados, o para producir anticuerpos. Este procedimiento consiste en la inoculación de dos cobayos o hámsteres vía intraperitoneal con un previo estudio serológico negativo de los mismos. A los 5 días se obtienen muestras de sangre que son sembradas en medio EMJH o Fletcher y se investiga la presencia de anticuerpos, a través de MAT. El procedimiento se repite semanalmente durante 1 mes, luego se sacrifica al animal y se cultivan los materiales de necropsia (hígado, bazo, riñón) (Monte, s.f.).

iv. Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR):

Es una técnica altamente específica capaz de ampliar el ADN de *Leptospira* presente en muestras de orina, LCR, tejidos y sangre, de animales y humanos vivos o muertos. Este método posee una gran especificidad debido al reconocimiento de género, especie y serovariedad de las leptospiras en unas cuantas horas, sin embargo posee el inconveniente de tener un alto costo económico (Caballeros y Romero, 1997).

b) Métodos indirectos:

Son técnicas serológicas que brindan resultados en corto tiempo, las cuales son capaces de detectar tanto anticuerpos IgM como IgG y son las técnicas más utilizadas para el diagnóstico de la enfermedad (Perret *et al.*, 2005).

i. Hemaglutinación indirecta:

La hemaglutinación indirecta (HAI), determina anticuerpos totales (IgM e IgG) por lo que no permite diferenciar infecciones recientes de pasadas. Es útil

para estudios de seroprevalencia y es recomendada por el Centro de Control de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) en Atlanta para su uso en laboratorios clínicos, por su fácil manejo y por presentar una sensibilidad del 92% y una especificidad de 97% con respecto al MAT (Perret *et al.*, 2005).

La hemaglutinación es una prueba rápida de bajo costo que detecta anticuerpos IgM, y es de gran ayuda en infecciones recientes. Posee una sensibilidad del 92% y una especificidad del 95%. Utiliza sueros pareados por lo que debe tomarse una muestra en los primeros 7 días de la infección y una segunda a los 10 o 15 días (Effler, Dome, Bragg, Aye y Sasaki, 2000).

ii. *Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT):*

Método de diagnóstico estándar de referencia internacional para la confirmación serológica de una infección reciente y pasada de leptospirosis. Técnica capaz de detectar anticuerpos contra *Leptospira* de tipo IgG e IgM en el suero analizado (Navarro, González, Sánchez y García, 2004).

Además de ser útil para la identificación y clasificación de aislamientos de *Leptospira spp.*, provenientes de diferentes tipos de muestras mediante la utilización de antisueros policlonales o monoclonales anti *Leptospira* producidos comercialmente. Y también se emplea para evaluar cualquier otro método serológico que se pueda ser utilizado para el diagnóstico de la leptospirosis (Navarro *et al.*, 2004).

La prueba de MAT consiste en la mezcla de diluciones seriadas del suero del paciente con cultivos de *Leptospira* de distintos serovares en placas de microtitulación o en tubos. Las mezclas de suero con los antígenos de *Leptospira* se dejan reaccionar por 2 a 4 horas a 30°C. El grado de aglutinación y el título final se determina examinando cada mezcla por microscopia de campo oscuro (Perret *et al.*, 2005).

El CDC de Atlanta al igual que la Organización Mundial de la Salud (OMS) define un caso probable de leptospirosis, al hallazgo de un título mayor o igual a 1:100, en conjunto con la enfermedad clínica compatible. Esta metodología posee varias desventajas entre éstas, el hecho que se encuentra restringida a laboratorios capaces de mantener cepas viables con buen crecimiento y libres de contaminación; además el ser una técnica muy compleja de controlar, ejecutar e interpretar. Y debido a la gran cantidad de reacciones cruzadas que ocurre en los serogrupos especialmente en muestras recolectadas en la fase aguda, se tiene el inconveniente de requerir de sueros pareados para confirmar el diagnóstico (Caballero y Romero, 1997).

iii. Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA):

Consiste en la combinación entre los anticuerpos presentes en la muestra y el antígeno de *Leptospira* que se encuentra fijado a los micropocillos de poliestireno, seguido de la remoción del suero residual por medio de lavados seriados, procedido por la adición del conjugado antihumano ligado a una enzima (generalmente peroxidasa) , para una posterior incubación seguida de una serie de lavados; Subsecuente a la adición del sustrato (peróxido de hidrógeno) y un cromógeno; hace que el sustrato sea hidrolizado por las enzimas y el cromógeno varíe de color, haciendo que la intensidad del color final sea directamente proporcional a la concentración de anticuerpos anti *Leptospira* presentes en la muestra (Laguna, 2000).

A pesar de ser una prueba altamente sensible, es necesario confirmar los resultados positivos con la prueba de MAT. La determinación de anticuerpos tipo IgM se utilizan para detección de leptospirosis aguda, mientras que la detección del tipo IgG es utilizada para estudios epidemiológicos (Laguna, 2000).

iv. Inmunocromatografía de fase sólida:

Inmunoensayo que contiene un antígeno de *Leptospira* inmovilizado sobre una membrana de nitrocelulosa, sobre la que se aplica el suero del

paciente. Si éste contiene anticuerpos tipo IgM contra *Leptospira* se formará un complejo antígeno-anticuerpo, el cual es revelado por la aparición de una línea al agregar un anticuerpo anti-IgM humano marcado con partículas de oro rojo coloidal. Estudios han reportado que la sensibilidad de esta técnica oscila desde 60 hasta 93% y su especificidad desde 88 hasta 94% dependiendo de la fase de infección (Perret *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2002).

K. Diagnóstico diferencial:

El diagnóstico de leptospirosis debe ser realizado en todo paciente con fiebre, mialgias, dolores musculares, ictericia, anorexia, diarrea, tos y malestar general. Las manifestaciones son superponibles con otras enfermedades. Por lo que la mayoría de los errores de diagnóstico pueden evitarse con la realización de una historia clínica y examen físico detallado (Laguna, 2000).

La leptospirosis debe distinguirse de otras enfermedades febriles de similar sintomatología como la fiebre amarilla, especialmente durante el período víremico. Sin embargo la fiebre amarilla tiene una duración mucho más corta y de mayor intensidad con una fase toxémica que presenta vómito negro. También suele confundirse con dengue, reportado mayormente por datos epidemiológicos, pero éste suele presentar dolores musculares más intensos. También suele confundirse con hepatitis viral pero a diferencia de la leptospirosis, ésta no presenta compromiso renal. En la meningoencefalitis a diferencia de la leptospirosis los análisis del LCR presenta leucocitosis con hipoglucoorraquia. Y finalmente puede distinguirse de la malaria mediante la curva térmica que presenta esta enfermedad. Existen muchos otros diagnósticos diferenciales como colecistitis, infecciones respiratorias, rubéola, pielonefritis, sepsis, brucelosis con ictericia, sepsis bacteriana, enfermedad de los legionarios, brucelosis, borreliosis, meningitis aséptica, fiebre tifoidea, toxoplasmosis, mononucleosis infecciosa y endocarditis; sin embargo el examen clínico epidemiológico será de gran utilidad en el diagnóstico diferencial de la enfermedad (Laguna, 2000).

L. Tratamiento:

El tratamiento se basa principalmente en la terapia de soporte, controlando el desequilibrio electrolítico. El objetivo primordial para el tratamiento es controlar la infección antes de que suceda un daño irreparable en el hígado y/o en el riñón. El tratamiento antibiótico debe iniciarse rápidamente a medida de evitar lesiones en tejidos; mientras que el manejo de casos moderados a graves debe de realizarse en forma hospitalaria (Buschiazzo y Cañas, 2001).

Existe controversia con respecto a la eficiencia del tratamiento antimicrobiano en la leptospirosis febril leve, por lo que los cuadros más leves es posible que no requieran tratamiento alguno. Sin embargo en casos graves es fundamental la administración de antibióticos, siendo el tratamiento de elección en mayores de 8 años la doxiciclina 100 mg. También se puede utilizar penicilina G en 1.5 millones ó tetraciclina 500 mg. En menores de 8 años se recomienda amoxicilina de 30 a 50 mg/Kg o ampicilina 50mg/Kg (Buschiazzo y Cañas, 2001).

Por lo general la enfermedad deja secuelas temporales, como lo son lesiones en conductos urinario; lugar donde se implantan organismos coliformes, provocando pielonefritis por lo que varios autores refieren la administración profiláctica de sales de ácido nalidíxico en dosis bajas durante un tiempo prolongado de acuerdo a la evolución del padecimiento. En los casos en que los antibióticos u otros medicamentos no pueden ser utilizados se utiliza gama globulina con anticuerpos antileptospira (Buschiazzo y Cañas, 2001).

M. Distribución y epidemiología:

La leptospirosis es una enfermedad cosmopolita, tanto para animales como para humanos que se presenta durante todo el año, pero con una mayor incidencia en los meses de lluvia. En el hombre por lo general es una enfermedad de tipo ocupacional con una mayor frecuencia en agricultores, ganaderos, porcicultores, mineros, veterinarios y trabajadores de la industria de la carne y la leche. En algunos países la

leptospirosis se considera una enfermedad rara, sin embargo esto seguramente se relaciona a su poca investigación (Caballeros y Romero, 1997).

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) indica que existen múltiples factores que intervienen en el mantenimiento, emergencia y reemergencia de esta enfermedad, como por ejemplo el cambio climático, el crecimiento demográfico, el comportamiento humano, la urbanización descontrolada a zonas periféricas sin saneamiento, el agua potable, la crisis económica, los criaderos clandestinos de animales, las construcción de viviendas precarias en terrenos inundables que llevan a trasladar la presencia de *Leptospira* a zonas suburbanas e inclusive urbanas (OPS, 2005).

Las leptospiras infectan a muchos tipos de animales domésticos y salvajes, y existen suelen existir asociaciones entre los serotipos y las especies de animales; sin embargo diferentes serotipos de leptospiras pueden ser transportados por un solo género de animal y un solo tipo puede ser asociado con más de un hospedero. En general, los reservorios animales (roedores y animales silvestres como topillo, erizo, mapache, etc.) no son sintomáticos y no desarrollan anticuerpos a pesar de una infección abrumadora (Koneman *et al.*, 2003).

El número de casos reportados en el mundo no es del todo preciso, pero se calcula que la incidencia de casos se encuentra en un rango de 0.1 a 1 personas por 100,000 personas al año en climas templados y de 10 a 100 personas por 100,000 en países que van desde climas húmedos a tropicales (OMS, 2008).

En 1868 el doctor Francisco Navarro y Valdés sospechó de la leptospirosis y expuso sus primeras referencias en su tesis doctoral "*La fiebre biliosa de los países cálidos no es la fiebre amarilla, sino una fiebre icterohemorrágica precedida por fiebre que es padecida por individuos radicados en lugares pantanosos y que aparece en ciertas épocas del año*" (Citado en Alonso, Gómez y Cruz, 2000, p. 27).

En 1883, Louis Landzouzy fue el primero en reconocer y describir la leptospirosis humana como una entidad clínica distinta. Tres años más tarde Adolf Weil observó en trabajadores agrícolas de Alemania la enfermedad caracterizada por fiebre, ictericia, hemorragia, insuficiencia hepática y renal, que posteriormente en 1888 se llamó enfermedad de Weil en honor al destacado investigador quien la caracterizó como una enfermedad grave de alta mortalidad (Citado en Alonso *et al.*, 2000).

El primer aislamiento de *Leptospira* en humanos se realizó en Japón en el año de 1917, en un paciente que presentaba ictericia y hemorragia, razón por la que se le llamó *icterohaemorrhagiae*; y es a partir de entonces que se han reportado trabajos de investigación epidemiológica sobre la enfermedad (Alonso *et al.*, 2000).

La leptospirosis tiene una distribución mundial, por lo que puede observarse su evolución en todos los continentes, incluso en Europa, un continente de gran desarrollo económico. Rosselin *et al.*, (Citado en Alonso *et al.*, 2000) en Gran Bretaña durante el período de 1991 a 1995 diagnosticó un promedio de 30 casos anuales, en Francia entre 1970 y 1993. Estavoyer, Lervy y Couetdie detectaron alrededor de 154 casos con mayor incidencia en los meses de julio a septiembre y relacionándolos con actividades acuáticas y recreativas (Citado en Alonso *et al.*, 2000).

En el continente asiático, China constituye un país endémico, en el cual Hun Jing realizó un estudio de 1960 hasta 1995, encontrando que el 74.8% de los campesinos son afectados por leptospirosis. En la India entre 1991 y 1992 se produjo un total de 477 casos de leptospirosis, según un estudio de Chandrasekarza, Mallika y Pankajalakshmi. En el año de 1996 en Pakistán se realizó un estudio por parte de científicos norteamericanos descubriendo que la enfermedad es prevalente en el sudeste asiático y en el medio oeste del continente, así como en el norte de Pakistán. En 1990 Myburg y Otto identificaron títulos de anticuerpos anti-*Leptospira* en ganado bovino sudafricano y en un estudio realizado en Oceanía durante 1990 a 1995 Smythe, Dohort, Norris y Symond encontraron que los trabajadores de la industria de

banano son los más afectados por esta bacteria; siendo esta una ocupación no tradicional (Citado en Alonso *et al.*, 2000).

Tradicionalmente la leptospirosis fue considerada una enfermedad ocupacional, pero en la década de 1970 en Estados Unidos, se demostró que solamente el 30% de los individuos infectados tuvieron una exposición durante su trabajo. Además se sugirió que los que reportaron mayor tiempo libre e incursiones en medios rurales incrementaron la probabilidad de exposición casual y se informó leptospirosis en asociación con la práctica de navegación en kayaks. En Hawaii se asoció la leptospirosis con la presencia de agua de lluvia estancada, el contacto de bovinos y su orina o la manipulación de tejidos animales (Koneman *et al.*, 2003).

Según datos del programa de Zoonosis OMS (1998), la leptospirosis es una enfermedad endémica en diferentes países de América Latina como Brasil, Perú, Ecuador, Bolivia, Nicaragua, Honduras, Barbados y México; en donde se reportan casos tanto en animales como en humanos. Después del huracán Mitch, Nicaragua reportó 523 casos sospechosos de leptospirosis y 7 defunciones por esta entidad, para una tasa de letalidad de 1.3%. Mientras que en Chile se reporta una frecuencia anual de 400 casos. En Brasil más de 300 casos de leptospirosis humana son identificados cada año durante estaciones de lluvia y el 15% de estos mueren (citado en Reyes, 2010).

A finales del mes de septiembre del año 2010, el Ministerio de Salud de Nicaragua (MINSAL) declaró una alerta epidemiológica ante los efectos de las lluvias e inundaciones. El 24 de septiembre de ese año, se detectó en la provincia de León el primero de los 510 casos reportados de leptospirosis. Inmediatamente el gobierno declaró la alerta sanitaria y activación de un plan de contingencia para enfrentar el brote que afectó a 14 departamentos del país provocando la muerte de 16 personas y el suministro de terapia profiláctica a 2.828,512 personas de los lugares afectados (Ministerio de Salud de Nicaragua, 2010).

N. Medidas de control y prevención:

La profilaxis sanitaria es esencial en el control de la leptospirosis en una población humana, y deben basarse en dos puntos esenciales: el control de hospedadores de mantenimiento silvestres y el control de hospedaderos domésticos. Las medidas recomendadas por la Organización Panamericana de la Salud en el 2005 fueron:

1. Educación y difusión a las poblaciones de alto riesgo sobre la forma de transmisión de la enfermedad.
2. Higiene personal y del ambiente doméstico, para evitar el ingreso de animales al interior de las viviendas.
3. Buen drenaje o relleno de terrenos bajos o fácilmente inundables de residuos líquidos y agua pluviales.
4. Se debe evitar bañarse en agua de ríos, charcos y lagunas posiblemente contaminados.
5. Disposición, colecta y eliminación adecuada de la basura.
6. Aislamiento y vacunación de los animales domésticos.
7. Drenaje, canalización de cursos o espejos de agua que tienden a provocar inundaciones o que representen posible focos de esta enfermedad.
8. Realización de estudios epidemiológicos para conocer la prevalencia de la enfermedad en las especies, así como el serovar circulante.
9. Uso de protección adecuada en caso que sea el trabajo el que obliga a dicha exposición. La protección debe ser por medio de guantes, botas, delantal a todos los que puedan tener una exposición laboral.
10. Identificar aguas y suelos que puedan estar contaminados.
11. Realizar programas de control de roedores y desratización.

O. Leptospirrosis en Guatemala:

Torres (1982), detectó y confirmó el primer caso de leptospirosis humana en Guatemala. El diagnóstico fue realizado en la etapa aguda, logrando detectar el agente etiológico tanto en orina como en plasma heparinizado, a través de la observación directa en campo oscuro. Además logró el aislamiento de la *Leptospira* en varios hemocultivos y determinar la presencia de inmunoglobulinas anti *Leptospira*

a través de pruebas de aglutinación. El suero fue enviado al CDC de Atlanta, donde Suizel confirmó el hallazgo y lo identificó mediante la Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT), reportando *Leptospira interrogans* serovariedad Copenhageni.

Según datos del Laboratorio Nacional de Salud (LNS) del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala, de 1998 al año 2005 se analizaron 447 casos sospechosos de leptospirosis, provenientes de diferentes departamentos de los cuales 25 (5.6%) fueron positivos para anticuerpos IgM contra *Leptospira*. El 40% de éstas muestras procedían de Izabal, 32% de la ciudad de Guatemala, 12% de San Marcos, 4% Zacapa, 4% Sacatepéquez y 4% de Escuintla (Unidad de Vigilancia Epidemiológica, 2006).

Orantes (2003), realizó una comparación entre los métodos de microscopía de campo oscuro y aglutinación en látex comparado con el ELISA IgM para el diagnóstico de leptospirosis en pacientes que asistieron a la emergencia del Hospital San Juan de Dios. Se determinó que el 73.33% de los pacientes que presentaron el cuadro clínico presuntivo de *Leptospira* fueron positivos para las pruebas realizadas, sin embargo cabe mencionar que las pruebas utilizadas poseen una baja especificidad y no se utilizó la prueba de MAT para la confirmación de estos casos.

Estrada durante el año 2003, realizó un estudio en muestras de sueros de pacientes con enfermedad febril referidos al laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Área de Salud de Escuintla, de las cuales el 9.52% fueron positivas con la prueba de ELISA IgM, los que posteriormente fueron confirmados por MAT presentando todos anticuerpos contra el serovar Icterohaemorrhagiae.

Sikahall en el año 2006 estandarizó la prueba de MAT para el diagnóstico de leptospirosis humana, tomando 4 grupos poblacionales de 30 muestras cada uno. El 25% fueron positivas a *Leptospira interrogans* por dicha metodología y la distribución de serovariedades fue Icterohaemorrhagiae 63.64%, Canicola 24.24%, Pomona 6.06%, Bataviae 3.03% y Pyrogenes 3.03%.

Durante el año 2007 Zelaya *et al.*, detectaron la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* en pobladores y animales domésticos de la aldea El Milagro en Masagua Escuintla; empleando las pruebas de ELISA IgG y MAT, logrando establecer una seroprevalencia en personas mayores de 15 años de 51.8%. La seroprevalencia en especies animales fue especialmente alta en población canina 58%, en suinos 36% y en bovinos 13.2%. Se realizó un muestreo de agua en 7 diferentes lugares de la comunidad las cuales fueron procesadas y sembradas en 3 diluciones en el medio EMJH con 5-fluoracilo y Fletcher, de estas muestras 4 lugares fueron positivos para *Leptospira* spp. y en 3 de ellas se detectó *Leptospira interrogans* por medio de PCR.

Galindo en el año 2008 determinó la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* en donadores de sangre del Hospital San Juan de Dios, mediante la prueba de MAT, estableciendo que 12.86% fueron reactivas, encontrando una distribución por serogrupos de 27.27% Icterohaemorrhagiae, 27.27% Hebdomadis, 18.18% Sejroe, 13.64% Canicola y 13.64% Betavie, demostrando que la enfermedad es más frecuente de lo que se sospecha en la población estudiada.

Barrios (2009) en un estudio realizado con 182 sueros de pacientes que presentaron sintomatología sospechosa de dengue en los dos hospitales nacionales de la ciudad capital, determinó que el 38.5% de los sueros con serología negativa para dengue (9.9% del total) presentaron anticuerpos anti-*Leptospira* por medio de MAT. Así mismo, determinó que los serogrupos más frecuentes fueron Pyrogenes, Canicola, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae y Serjoe.

P. Leptospirosis en comunidades urbanas de escasos recursos:

Un estudio realizado por Agudelo *et al.*, en el año 2000 en Arubá, Colombia sobre la seroprevalencia y factores de riesgo en población urbana, indicó una seropositividad para anticuerpos IgG de 12,5%, encontrando una mayor frecuencia en personas entre 20 a 44 años y un predominio de positividad en hombres con un 15.1% contra un 10.6% en mujeres. El oficio de mayor prevalencia fue el de los no específicos seguido por desempleados, ama de casa y agricultor. Con respecto a la vivienda se encontró

un porcentaje de seroposividad semejante entre personas que habitaban viviendas de construcción inadecuada con aquellas que tenían una construcción adecuada. Los serovares más comunes, detectados por de la prueba de MAT en las muestras positivas fueron Grippotyphosa, Pomona, Canicola, Bratislava.

Perret et al., en el año 2002 en su estudio sobre la prevalencia y presencia de factores de riesgo de leptospirosis en una población de riesgo de la región metropolitana de Chile encontró una prevalencia de 3.3% significativamente menor a la encontrada en un estudio anterior que encontró un 22% de seroposividad. La principal diferencia entre estos estudios fue que el estudio con mayor seroposividad incluyó trabajadores agrícolas y trabajadores de mataderos.

En el año 2004 se realizó un estudio sobre seroprevalencia de leptospirosis en personas asintomáticas en las localidades dedicadas al comercio y la agricultura de la provincia de Coronel Portillo del departamento de Ucayali, Perú; en el cual Céspedes et al., determinó una positividad de anticuerpos totales contra *Leptospira* de 31.3%. Los serovares más frecuentes fueron Bratislava y Georgia. Los probables factores asociados a la positividad de anticuerpos fueron la forma de almacenar alimentos en el hogar, ser agricultor u obrero y eliminar la basura en campos abiertos.

Rodríguez (2007) estableció la seroposividad de *Leptospira* en trabajadores de rastros de Tamaulipas, México entre el año 2005 y 2006, encontrando una seroposividad de 7.6% a un 15.5% en los diferentes municipios, además de encontrar diferencias significativas entre aquellos que estaban en contacto con la orina del animal al momento del sacrificio. Los serovares predominantes fueron Bratislava y Hardjo.

En el año 2006, Benavides, López y Torres, establecieron los niveles de anticuerpos contra *Leptospira* en una población aparentemente sana de la ciudad de México, tomando sueros de donadores que acudieron a la Cruz Roja, obteniendo una positividad de 13.7%, detectando nueve serovariedades que fueron Pomona,

Grippotyphosa, Hardjo, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Autumnalis y Tarassovi. Lo que indica que en la ciudad de México y las zonas contiguas pueden considerarse zonas endémicas con relación a *Leptospira*

Estudios realizados en Cali, Colombia durante el año 2006 sobre *Leptospira* indican una seroprevalencia de 23.3%, presentando la mayor frecuencia en personas mayores de 57 años y significativamente mayor en hombres que en mujeres; además de encontrar una asociación entre la seropositividad y el contacto con animales (Ferro, *et al.*, 2006).

IV. JUSTIFICACIÓN

Guatemala presenta una ubicación geográfica que le hace centro de fenómenos pluviales frecuentes y una población cuyas condiciones socioeconómicas favorecen la propagación de enfermedades infecciosas como la leptospirosis humana de forma permanente, aún cuando su diagnóstico no sea una práctica frecuente en el sistema de salud y su vigilancia presenta un subregistro de casos que no permite evidenciar claramente la magnitud del problema.

La leptospirosis humana ha sido una enfermedad asociada a poblaciones de escasos recursos, de zonas urbanas y rurales con malas condiciones sanitarias. Por lo que sectores periurbanos como los asentamientos en donde existe hacinamiento de viviendas, alta densidad de perros callejeros, basureros clandestinos y exposición con aguas contaminadas reúnen las condiciones favorables para la exposición y transmisión de la leptospirosis.

La ciudad de Guatemala tiene alrededor de 400 asentamientos, 200 de ellos con condiciones sanitarias precarias, pero no se ha realizado ningún estudio hasta el momento que permita evaluar la exposición a enfermedades infecciosas, como la leptospirosis en estas poblaciones de alto riesgo. Esto demostró la necesidad de establecer el comportamiento, impacto, factores de riesgo asociados y magnitud de la infección por *Leptospira* en estos sectores de la población guatemalteca (Lucas, Gándara y Linares, 2003).

El asentamiento 15 de Enero, se encuentra en 1ª. Calle "A" y 23 Avenida de la zona 1 de la ciudad de Guatemala. Su ubicación topográfica es altamente riesgosa, pues se ubica entre laderas y un zanjón de aguas negras que desemboca en el río Las Vacas. La calle principal es la única vía de concreto, pero es ahí en donde abundan las excretas de animales domésticos y callejeros como perros, gatos y aves. Cuenta con servicios de drenajes, agua potable y extracción de basura, pero a pesar de esto existe acumulación de basura y drenajes superficiales en sus alrededores. (Escuela Nacional de Enfermería, 2010).

V. OBJETIVOS

A. General:

Determinar la seroprevalencia de la leptospirosis humana en las personas que habitan en un asentamiento de la ciudad de Guatemala.

B. Específicos:

1. Determinar la prevalencia de anticuerpos IgG anti- *Leptospira* en los habitantes del asentamiento, a través de los métodos ELISA y Microaglutinación.
2. Determinar los serovares de *Leptospira spp.* circulantes en el asentamiento 15 de Enero, mediante la prueba de Microaglutinación.
3. Describir las características socio demográficas de la población que presenta un contacto con *Leptospira spp.*
4. Describir los factores asociados que contribuyen a la exposición con *Leptospira spp.* en esta población.

VI. HIPOTESIS

Este estudio no presenta hipótesis por ser de tipo descriptivo.

VII. METODOLOGÍA

A. Universo y muestra de trabajo:

1. Universo:

Habitantes del asentamiento 15 de Enero ubicado en la zona 1 de la ciudad Guatemala, departamento de Guatemala.

2. Muestra:

119 habitantes del asentamiento 15 de Enero que aceptaron participar y cumplieron con los criterios de inclusión en el estudio.

B. Recursos:

1. Humanos:

Lic. María Luisa García de López (*Coordinadora y asesora*)

Lic. Leticia del Carmen Castillo Signor (*Asesora*)

Lic. Ronald Omar Kestler Ordoñez (*Asesor*)

Br. Mariana Elizabeth Herrera García

Br. Aliz Marisol Pérez Vásquez

2. Institucionales:

- a) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- b) Dirección General de Investigación (DIGI) de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- c) Laboratorio Nacional de Salud, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.
- d) Alcaldía Auxiliar del Distrito No. 10, Municipalidad de la Ciudad de Guatemala.
- e) Dirección de Salud y Bienestar Municipal, Municipalidad de la Ciudad de Guatemala.

3. Físicos:

a) *Materiales y suministros de laboratorio:*

- Guantes de látex.
- Pipetas automáticas de volumen variable 10 - 100 µl y de 200 - 1000 µl.
- Puntas de pipeta desechables.
- Pipetas de vidrio de 1, 5 y 10 mL
- Liga de hule.
- Aguja Vacutainer® 21 x 1 ½ G.
- Camisa para Vacutainer®.
- Tubos Vacutainer® de tapón rojo con capacidad de 10 cc al vacío.
- Jeringas con aguja 21 x 1 ½ G.
- Papel mayordomo.
- Algodón.
- Fichas de recolección de datos.
- Hojas de consentimiento informado.
- Marcador indeleble negro.
- Tubos de vidrio de 16-150 mL con tapón de rosca.
- Pipetas Pasteur de vidrio.
- Portaobjetos de vidrio de 76 x 26 x 1 mm.
- Placas de poliestireno con pozos de capacidad mínima de 300 µL
- Bulbos y pipeteadores
- Matraces de 250, 500 y 1000 mL
- Probetas
- Hieleras para el traslado de muestras.
- Guardianes para el descarte de material punzocortantes.

b) *Reactivos:*

- Kit ELISA DRG® para la determinación de Anticuerpos IgG contra *Leptospira* en suero Humano.
- Medio EMJH.
- Medio Fletcher.

- Veinte serogrupos de *Leptospira* spp. (Anexo 3).
- Solución de amonio cuaternario
- Solución de fenol al 5%
- Suero de conejo
- Extrán
- Etanol al 70%
- Piruvato de Sodio
- Albúmina Bovina
- Vitamina B12
- Buffer fosfato salino (PBS, pH 7.2 – 7.4)

c) *Equipo:*

- Refrigeradora.
- Incubadoras de temperatura 30⁰ y 37⁰ C.
- Lavador y lector automático de placas de ELISA.
- Pipetas multicanal de volumen variable 50-200 µL
- Pipetas automáticas de volumen variable de 10 – 100 µL
- Pipetas automáticas de volumen variable de 100 – 1000 µL
- Centrífuga.
- Bomba de vacío.
- Autoclave.
- Microscopio de Campo Oscuro.
- Cabina de seguridad biológica tipo II.
- Balanza analítica.
- Potenciómetro.
- Baño María.
- Filtros con membrana de acetato de celulosa de 0.22 µm.

C. Métodos:

1. Alianzas estratégicas:

- a) Reunión de presentación del estudio en la Dirección de Salud y Bienestar Municipal de la Municipalidad de Guatemala.
- b) Presentación de plan de investigación y compromiso de la Dirección de Salud y Bienestar Municipal de la Municipalidad de Guatemala en el acompañamiento de la investigación, y colaboración en el acercamiento a vecinos del Asentamiento 15 de Enero.
- c) Presentación del estudio ante el Observatorio de Salud Urbana, coordinado por la Municipalidad de Guatemala y la Dirección General de Investigación.
- d) Presentación del plan de investigación al Dr. Jorge Luis De León Arana, Director de la Dirección General de Investigación para solicitud del financiamiento de la investigación.
- e) Coordinación con Alcaldía Auxiliar del Distrito No.10 para acercamiento a líderes del lugar.
- f) Acercamiento a líderes locales para entrar en contacto con la comunidad y coordinar la realización del estudio.

2. Trabajo de campo:

a) Consideraciones éticas:

Inicialmente se brindó toda la información necesaria para que los líderes y vecinos del asentamiento comprendieran la importancia de la prevención de la leptospirosis y su participación en el estudio, a través de una presentación en la que se utilizaron afiches y material informativo escrito. Posterior a esta reunión, se realizó la convocatoria para la participación de la comunidad en el estudio y la toma de muestra venosa a las personas que aceptaron participar.

Previo a la extracción de sangre, se realizó la lectura del consentimiento informado de forma individual. Para la aceptación se requirió la firma o huella digital para adultos mayores de 15 años. En menores de 15 años fue necesaria la firma uno de los padres o encargado del menor (Anexo 4).

Todos los datos fueron recolectados en la ficha de datos socio demográficos fueron estrictamente confidenciales y únicamente tuvieron acceso a ellos las investigadoras del estudio.

Por la participación en este estudio no se brindó ninguna remuneración o pago y de ninguna forma se coaccionó a la persona para que aceptara participar en el mismo.

Los sueros recolectados para este estudio no serán utilizados en ningún otro tipo de estudio, por lo que fueron descartados después de finalizado el análisis correspondiente de los mismos. Las muestras que fueron preservadas se utilizan únicamente como controles internos de calidad.

b) Validación de la encuesta en la población:

En primera instancia se realizó un acercamiento con líderes locales del asentamiento para la presentación del estudio, solicitud de colaboración y coordinación. En esta reunión se evaluó la comprensión de la encuesta preparada para el estudio con 10 personas de la comunidad elegidas al azar, y se modificaron aquellas preguntas cuya comprensión fue motivo de confusión.

c) Toma de muestra:

Posterior a la lectura y aceptación del consentimiento informado se procedió a la extracción de sangre venosa según la siguiente metodología:

- i.* Identificación del tubo de recolección de la muestra con el número correlativo correspondiente.
- ii.* Preparación del brazo en posición extendida y con la ligadura cuatro dedos arriba del codo.
- iii.* Localización de la vena y asepsia adecuada con alcohol al 70%.
- iv.* Venipunción e introducción del tubo de vacío para recolección de aproximadamente 6 mL de sangre venosa.

- v. Liberación de la ligadura y retiro del tubo homogenizando la muestra girando lentamente el tubo 4 veces.
- vi. Extracción cuidadosa de la aguja del brazo, colocando un trozo de algodón seco en el área de la punción.
- vii. Descarte de material utilizado en recipientes adecuados.

d) *Recolección de variables demográficas:*

Una vez realizada la toma de muestra venosa, se procedió a la recolección de datos demográficos mediante la ficha de recolección validada con anterioridad (Anexo 5). La ficha fue identificada con el mismo código asignado al consentimiento informado y muestra de la persona.

La ficha fue llenada a mano por el entrevistador, quién realizó las preguntas correspondientes, y observó aquellas variables que lo permitieron. Posteriormente los datos fueron ingresados a la base de datos electrónica creada en programa EpiInfo.

e) *Transporte y almacenamiento de muestras:*

Los tubos correspondientes fueron colocados en gradillas dentro de hieleras con una temperatura aproximada de 4-8 °C para su transporte al laboratorio; en el que se procedió de la siguiente manera:

- i. Centrifugación de las muestras por 10 minutos a 5000 rpm.
- ii. Separación de suero, transfiriendo dos alícuotas de 500 µL a viales identificados adecuadamente.
- iii. Almacenamiento a -20° C hasta su procesamiento.

3. Métodos de laboratorio:

a) *Elaboración de medios de cultivo:*

- i. *Elaboración del medio EMJH (Ellinghausen-McCollough, modificado por Johnson y Harris) (Hartskeerl et al., 2006):*

- El medio basal se preparó disolviendo 1.2 g del medio comercial en 500 mL de agua destilada.
- Se esterilizó por 15 minutos a 121⁰C y se enfrió hasta temperatura ambiente.
- Posteriormente se agregó de forma aséptica el suplemento en una relación 9:1 con el medio basal (Anexo 6).
- Se realizó filtración del medio con membrana de acetato de celulosa de 0.22 µm.
- Se ajustó el pH a 7.4 con soluciones de NaOH 1N o HCl 1N cuando se requirió.
- El medio fue distribuido en volúmenes de 5 mL en tubos de vidrio de 16 x 150 mL con tapón de rosca estériles.
- Se colocaron tres controles de calidad a temperatura ambiente, 30⁰ y 37⁰ C.
- El medio se almacenó en refrigeración a 4⁰C hasta su utilización.

ii. Elaboración del medio Fletcher (Hartskeerl et al., 2006):

- El medio basal se preparó según indicaciones del medio comercial.
- Se esterilizó por 15 minutos a 121⁰C y se enfrió a temperatura ambiente.
- Posteriormente se agregó de forma aséptica suero de conejo, en cantidad necesaria para alcanzar un 10% final.
- El medio fue distribuido en volúmenes de 8 mL en tubos de vidrio de 16 x 150 mL con tapón de rosca estériles.
- El medio se colocó en baño maría a 56 °C durante una hora, en tres días consecutivos (tindalización).
- Se realizaron tres controles de calidad a temperatura ambiente, 30⁰ y 37⁰ C.
- El medio se almacenó en refrigeración a 4⁰C hasta su utilización.

b) Mantenimiento del cepario:

- Todas las cepas fueron trabajadas en la cabina de seguridad biológica, para evitar la contaminación de las mismas y de las personas que las manipularon.

- Con pipetas Pasteur estériles se tomó aproximadamente 1 mL del “anillo de Dinger” formado entre la parte media y superficie del medio Fletcher.
- Se inocularon aproximadamente 0.5 mL (10 gotas aproximadamente) del contenido de la pipeta resbalando por las paredes del tubo con medio EMJH, evitando tocar el medio para evitar la contaminación.
- Se incubaron los tubos inoculados a 30°C por 5-7 días. Registrando diariamente la temperatura para un mejor desarrollo de la cepa, y aceptando una variación no mayor a $\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Los cultivos fueron supervisados periódicamente para observar crecimiento macroscópico y ausencia de contaminación.
- Una vez obtenido crecimiento, se inoculó de igual forma el medio Fletcher, y se incubó a 30°C por 15-22 días, registrando diariamente el control de la temperatura, para un mejor desarrollo de la cepa.
- Este procedimiento se realizó de forma trimestral para un adecuado mantenimiento de las cepas de *Leptospira*.

c) Determinación de anticuerpos IgG mediante ELISA:

i. Preparación de reactivos (DRG International Inc., 2010):

- Todos los reactivos se llevaron a temperatura ambiente para su utilización.
- Se preparó una solución de lavado con 25 mL de solución diluyente y 475 mL de agua destilada; y se colocó en válvula del lavador automático.

ii. Desarrollo de la prueba (DRG International Inc., 2010):

- Las muestras fueron descongeladas y homogenizadas en vórtex.
- Se rotularon tubos de ensayo con el número de muestra correspondiente.
- Se agregaron 390 μL de diluyente a cada tubo de ensayo previamente rotulado.
- Se añadieron 10 μL de la muestra correspondiente (dilución 1:40).
- Los pozos utilizados fueron colocados en la placa de sostén.
- Se colocaron 100 μL de control negativo en el pozo A1, y otros 100 μL de control positivo en el pozo B1.

- Posteriormente se colocaron 100 μ L de los sueros previamente diluidos en los pozos siguientes, anotando en la hoja de registro correspondiente el número de muestra.
- Se incubó a temperatura ambiente por 10 minutos.
- Se realizaron 3 lavados en el lavador automático, con la solución respectiva.
- Los pozos se sacudieron contra un papel absorbente hasta remover la totalidad del líquido.
- Se añadieron dos gotas de conjugado a cada uno de los pozos y se incubaron por 10 minutos.
- Posteriormente se realizaron nuevamente 3 lavados en lavador automático.
- Los pozos se sacudieron contra un papel absorbente hasta remover la totalidad del líquido.
- Se añadieron dos gotas de cromógeno a cada uno de los pozos e incubaron en oscuridad a temperatura ambiente por 5 minutos.
- Se añadieron dos gotas de solución stop y se agitó suavemente.
- La absorbancia fue leída en un lector automático con filtro primario de 450 nm, y filtro de referencia de 620 - 650 nm.

d) Determinación de anticuerpos totales por medio de MAT:

i. Preparación del antígeno:

- Todas las muestras fueron procesadas en la cabina de bioseguridad, para evitar la contaminación de las cepas.
- Se tomó aproximadamente un 1 mL del “anillo de Dinger” formado entre la parte media y superficie del medio Fletcher, sin tocar el agar.
- Se inoculó 10 gotas aproximadamente del contenido de la pipeta resbalando por las paredes del tubo con medio EMJH.
- Los inóculos se incubaron a 30°C por 5-7 días, registrando diariamente el control de la temperatura, para un mejor desarrollo de la cepa.
- Todos los cultivos utilizados para la prueba MAT tenían entre 5 y 7 días de desarrollo en medio EMJH modificado.

- Los cultivos con una concentración aproximada de $2-4 \times 10^8$ leptospiras, que no evidenciaron contaminación ni autoaglutinación microscópica fueron seleccionados.
- Los cultivos densos, se diluyeron n con buffer fosfato salino (PBS, pH 7.2.-7.4), hasta observar en el microscopio un aproximado de 150-200 leptospiras en movimiento por campo.

ii. Tamizaje:

- Se agregaron 50 μ L de Buffer Fosfato Salino (PBS) a los 96 pozos de las microplacas de fondo en U; y 40 μ L más de PBS en los 8 pozos de la columna número dos de la microplaca.
- Después se adicionaron 10 μ L de suero problema en los 8 pozos de la columna número dos de la microplaca (dilución 1:10). Los pozos de la columna fueron empleados como control negativo.
- Después se tomaron 50 μ L de la dilución contenida en los pozos de la columna número dos y se realizaron diluciones seriadas en las columnas siguientes.
- Se agregaron por fila 50 μ L de los diferentes antígenos preparados de *Leptospira* a los pozos de la placa.
- Luego de agitar suavemente y cubrir la placa con papel aluminio, se incubó por 1 hora a 37 °C.

iii. Lectura:

- Se colocó una gota de cada alícuota de los pozos en una lámina portaobjetos limpia.
- Posteriormente se observó con aumento de 10x en microscopio de campo oscuro para buscar aglutinación comparando con el control negativo preparado (pozo 1).

iv. Interpretación:

- Un resultado fue considerado REACTIVO cuando se presentó una aglutinación igual o mayor del 50% en la dilución 1:20 frente a uno o más serogrupos de *Leptospira* spp.
- Un suero fue considerado NO REACTIVO al no observar ninguna aglutinación evidente en una dilución igual o mayor a 1:20 con ninguno de las diferentes serogrupos.
- El título de anticuerpos asignado corresponde al inverso de la dilución en la que se observa un 50% de aglutinación y 50% de leptospiras libres.
- El serovar considerado infectante fue aquel en el cual se observa aglutinación o el mayor título de anticuerpos (de haber aglutinación en más de uno).

D. Diseño de la investigación:

1. Tipo de estudio:

Descriptivo, prospectivo transversal

2. Calculo de muestra:

El cálculo de muestra se realizó con un intervalo de confianza del 95% y porcentaje de error del 10% (Anexo 7). Se incluyeron 46 personas más (total de 119 personas) debido a que durante la fase de muestreo expresaron su deseo de participar y se contaba con el recurso para realizar el análisis.

3. Tipo de muestreo:

El muestreo realizado fue de tipo aleatorio, de todos los habitantes del asentamiento que aceptaron participar, con edad igual o mayor a 6 años y que no presentaron cuadro febril y/o alguna enfermedad aparente.

Para la realización del muestreo, se visitaron las viviendas del asentamiento por sectores asignados según sus condiciones ambientales. El sector 1 integrado por las viviendas que colindan al norte y al este con la finca Rivera, hasta el salón comunal (lote 11). El sector 2 lo conformaron las viviendas ubicadas en la entrada del asentamiento, con límites ubicados dentro del asentamiento. El sector

3 fue integrado por las viviendas ubicadas en la parte alta del asentamiento que colindan al sur con la colonia 10 de Mayo. Las viviendas ubicadas en el sector 4 todas aquellas que limitan al norte con el zanjón de aguas negras.

4. Diseño estadístico:

a) Recolección de datos:

Las variables sociodemográficas y posibles factores de riesgo fueron recolectados mediante una entrevista estructurada (Anexo 5).

b) Tabulación de datos:

Las variables obtenidas a través de la encuesta fueron tabuladas por medio de una base de datos creada en el programa Epi Info 3.5.1.

c) Análisis de resultados:

- i.* Estadística descriptiva general de la muestra en el programa estadístico Epi Info 3.5.1.
- ii.* La seroprevalencia de anticuerpos anti *Leptospira* fue determinada con un intervalo de confianza del 95%.
- iii.* Cálculo de riesgo indirecto (odds ratio, OR) con un intervalo de confianza del 95%.
- iv.* El análisis de las variables sociodemográficas y la frecuencia de anticuerpos anti *Leptospira* se analizó mediante tablas de contingencia, y la prueba de Chi cuadrado.

VIII. RESULTADOS

En este estudio participaron un total de 119 pobladores del asentamiento 15 de Enero que cumplieron con los criterios de inclusión establecidos. La frecuencia de anticuerpos IgG anti *Leptospira* obtenida por la prueba ELISA fue de 32.7 %, mientras que para la prueba de referencia MAT fue de 30.3 %; representando una estimación de la prevalencia en la población entre 22.2 y 39.3 % (IC_{95%}). El 72.3 % de los resultados coincidieron en ambas pruebas (porcentaje de acuerdo) con un índice de kappa de 0.36 (concordancia discreta, según Landis y Koch) (Tabla 1).

Tabla 1. Desarrollo de las pruebas empleadas para determinar anticuerpos anti *Leptospira* spp.

Prueba	Muestras Reactivas (%)	Muestras No Reactivas (%)	Porcentaje de Acuerdo
ELISA IgG	39 (32.7 %)	80 (67.3 %)	72.3 %
MAT	36 (30.3 %)	83 (69.7 %)	

* Detallado en anexo 8 MAT: Prueba de Microaglutinación

Fuente: Datos experimentales

En base a la distribución de los sectores, se muestrearon 46 viviendas de las 59 que conforman el asentamiento; estableciendo el porcentaje de personas seropositivas por sector, siendo los sectores mayormente afectados el sector 4 con un 33.3 % (12/36) y el sector 1 con 30.6 % (10/36) (Figura 1).

Durante el estudio realizado en el asentamiento 15 de enero, se observó que el género mayormente afectado fue el femenino; mientras que las edades con mayor seroprevalencia (para ambos géneros) estuvieron entre 16-25 años (30.6 %), constatando que la mayor parte de las personas afectadas que participaron en el estudio son de etnia indígena (75.0 %) y poseen un bajo nivel de escolaridad con una primaria incompleta (Tabla 2).

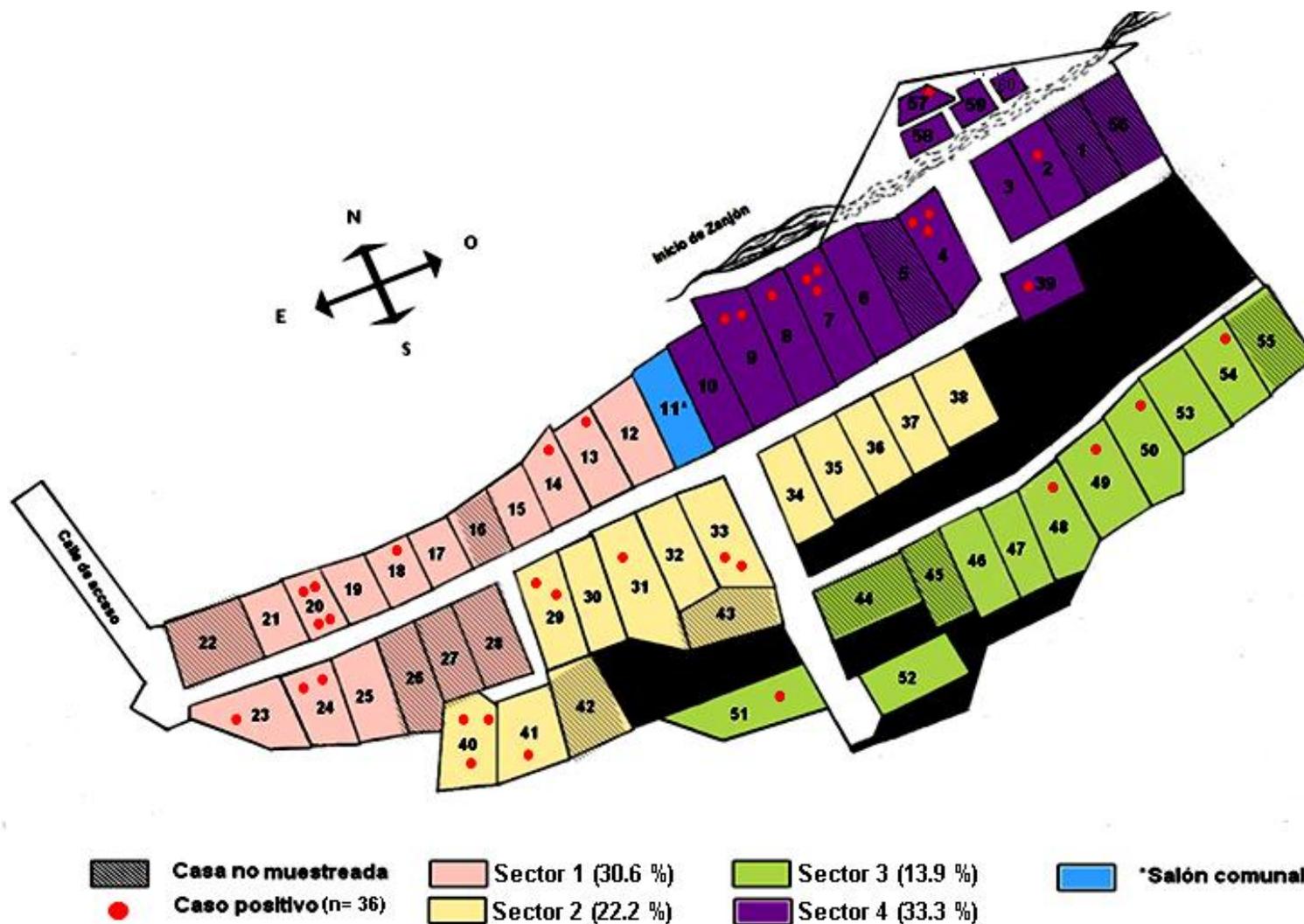


Figura 1. Mapa de asentamiento 15 de Enero, 1ª. Calle "A" y 23 Avenida de la zona 1. Nótese la distribución de de los habitantes en los que se detectó la presencia de anticuerpos IgG anti-*Leptospira* (36/119) a través de la prueba MAT. Aproximadamente en un 35 % de las viviendas uno y/o varios habitantes con anticuerpos IgG anti *Leptospira* spp. El sector en cual se observó un mayor porcentaje de personas seropositivas fue el sector 4, colindante con el zanjón de aguas negras.

Fuente: Datos experimentales

Tabla 2. Seropositividad de los habitantes del asentamiento 15 de Enero según sus características demográficas

Características	Total (%) N=119	MAT positivo (%) n=36
Género		
Femenino	73 (61.3 %)	25 (69.4 %)
Masculino	46 (38.7 %)	11 (30.6 %)
Edad (años)		
6-15	33 (27.7 %)	9 (25.0 %)
16-25	41 (34.5 %)	11 (30.6 %)
26-35	21 (17.6 %)	6 (16.7 %)
36-45	13 (10.9 %)	4 (11.1 %)
≥46	11 (9.2 %)	6 (16.7 %)
Etnia		
Ladino	42 (35.3 %)	9 (25.0 %)
Indígena	77 (64.7 %)	27 (75.0 %)
Alfabeto		
Si	97 (80.7 %)	26 (72.2 %)
No	22 (19.3 %)	10 (27.8 %)
Escolaridad		
Primaria	52 (42.9 %)	16 (44.4 %)
Básicos	29 (23.5 %)	4 (11.1 %)
Diversificado	13 (11.8 %)	5 (13.9 %)
Ninguno	25 (19.3 %)	11 (30.6 %)
MAT: Prueba de Microaglutinación		

Fuente: Datos experimentales

De los 20 serovares de *Leptospira* spp. empleados como panel de rutina para prueba MAT en este estudio, 14 serovares fueron aglutinados por 29 de los sueros reactivos (n=36 reactivos). Siendo Australis y Lanka (ambos con un 11.1 %) los que presentaron una mayor frecuencia, seguidos por Icterohaemorrhagiae, Pomona, Javanica y Patoc (todos con 8.3 %) (Tabla 3). En los 7 sueros (n=36) restantes se presentó coaglutinación contra 2 o más serovares, haciendo imposible determinar el serovar causante de la respuesta inmunológica.

El título más bajo en el que se observó aglutinación con uno o más serovares fue de 1:40 y ninguna muestra aglutinó por encima de 1:640, siendo el título de mayor frecuencia 1:80 y el título medio de las muestras 1:111 (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia de serovares reaccionantes y los títulos obtenidos, con sueros de los pobladores del asentamiento 15 de Enero.

Serogrupo	Serovar	Frecuencia (%)	Título				
			1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
Australis	Australis	4 (11.1 %)	1	1	1	1	-
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	3 (8.3 %)	1	1	-	1	-
Louisiana	Lanka	4 (11.1 %)	2	1	-	-	1
Bataviae	Bataviae	1 (2.8 %)	-	-	1	-	-
Serjoe	Hardjo	2 (5.6 %)	-	-	2	-	-
Djasiman	Djasiman	1 (2.8 %)	-	-	-	1	-
Grippytyphosa	Grippytyphosa	1 (2.8 %)	-	-	-	1	-
Cynopteri	Cynopteri	1 (2.8 %)	-	-	-	-	1
Samaranga	Patoc	3 (8.3 %)	-	3	-	-	-
Shermani	Shermani	1 (2.8 %)	-	1	-	-	-
Manhao	Lincang	1 (2.8 %)	-	-	1	-	-
Panama	Panama	1 (2.8 %)	-	1	-	-	-
Pomona	Pomona	3 (8.3 %)	-	1	1	1	-
Javanica	Javanica	3 (8.3 %)	-	2	1	-	-
Subtotal		29 (80.6 %)	4	11	7	5	2
SEROVARES AGLUTINANTES CON EL MISMO TÍTULO (INDETERMINADOS)**							
Australis, Australis/ Pomona, Pomona		1 (2.8 %)	-	1	-	-	-
Australis, Australis/ Serjoe, Hardjo/ Icterohaemorrhagiae, Icterohaemorrhagiae		1 (2.8 %)	1	-	-	-	-
Hebdomadis, Hebdomadis/ Canicola, Canicola		1 (2.8 %)	1	-	-	-	-
Hebdomadis, Hebdomadis / Pomona, Pomona		1 (2.8 %)	-	-	-	1	-
Icterohaemorrhagiae, Icterohaemorrhagiae / Javanica, Javanica		1 (2.8 %)	-	1	-	-	-
Djasiman, Djasiman/ Pomona, Pomona		1 (2.8 %)	1	-	-	-	-
Icterohaemorrhagiae, Icterohaemorrhagiae / Batavie, Batavie		1 (2.8 %)	1	-	-	-	-
Subtotal		7 (19.4 %)	4	2	0	1	0
TOTAL		36					

*MAT: Prueba de Microaglutinación ,

**De los 36 sueros positivos, 6 presentaron aglutinación con dos serovares en el mismo título y una lo hizo con tres por lo que se consideraron indeterminados

Fuente: Datos experimentales

En la muestra estudiada se encontraron distintas características que favorecen la circulación y permanencia de *Leptospira* spp. en la comunidad, tales como: la posesión y tipo de mascotas, piso de tierra y la falta de tratamiento de basura (OR > 1), a pesar de no mostrar una asociación estadísticamente significativa ($p > 0.05$) (Tabla 4).

La presencia de roedores fue reportada por más de la mitad de las personas y no mostró la asociación de riesgo teórica esperada, por tanto se analizó la presencia de roedores en base a los sectores del asentamiento, encontrando que el sector 4 presentó una mayor probabilidad (OR = 2.10) de contacto con la bacteria, aún cuando no mostró una significancia estadística (p=0.52).

Tabla 4. Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos anti *Leptospira* IgG en la población del asentamiento 15 de Enero (N=119)

Factor	MAT Positivo (n=36)	OR	IC _{95%}	X ²	p
Ocupación					
Comerciante	9	1.12	0.45 – 2.79	0.99	0.80
Oficios domésticos	10	1.00	0.42 – 2.40		
Estudiante	13	1.24	0.54 – 2.82		
Otros	4	0.43	0.09 – 2.07		
Personas por vivienda					
4 o más personas	33	0.55	0.14 – 2.18	0.74	0.39
Menos o 3	3				
Tipo de Construcción					
Madera/lámina/Adobe	32	0.53	0.13 – 2.12	0.82	0.37
Block/ladrillo	4				
Tipo de piso					
Tierra	13	1.39	0.61 – 3.18	0.61	0.44
Granito/Cemento	23				
Servicio sanitario					
Letrina	1	0.76	0.08 – 7.58	0.05	0.82
Inodoro	35				
Agua para consumo					
Directo de la llave	5	0.58	0.20 – 1.71	0.98	0.32
Agua clorada/hervida/purificada	31				
Tratamiento de basura					
Barranco/Ninguno	2	4.82	0.42 – 54.99	1.93	0.16
Recolección municipal	34				
Macotas					
Si	18	1.24	0.57 – 2.72	0.30	0.59
No	18				
Tipo de macotas					
Perro/Vaca/Cerdo	13	1.24	0.54 – 2.82	0.26	0.61
Otros	23				
Presencia de roedores					
Si	29	0.84	0.31 – 2.30	0.11	0.73
No	7				
Inundaciones					
Si	13	0.70	0.31 – 1.57	0.74	0.39
No	23				

MAT: Prueba de Microaglutinación, OR: Odds Ratio, IC_{95%}: Intervalo de confianza, X²: Chi cuadrado p=0.05

Fuente: Datos experimentales

IX. DISCUSIÓN

La leptospirosis humana es una enfermedad endémica en países de clima húmedo, subtropical y tropical donde la elevada densidad poblacional y las deficientes condiciones sanitarias favorecen su transmisión, tal y como ha sido demostrado en estudios realizados en países latinoamericanos con estas características (Céspedes *et al.*, 2003; Suárez y Bustelo, 1986; Agudelo *et al.*, 2000; Ferro *et al.*, 2006). En Guatemala no se ha realizado ningún estudio seroepidemiológico de leptospirosis humana en un área urbana de la ciudad de Guatemala, por lo que el presente estudio tuvo como objetivo principal determinar la presencia anticuerpos IgG anti *Leptospira* en los habitantes del asentamiento 15 de Enero ubicado en la zona 1 de la ciudad de Guatemala mediante las pruebas de microaglutinación (MAT) y ELISA IgG.

La seroprevalencia obtenida en la población del asentamiento 15 de Enero fue de 32.7 % por la prueba de ELISA IgG, pero según recomendaciones de la OMS al utilizar pruebas de tamizaje como esta, los resultados deben ser confirmados por el método serológico de referencia (MAT); prueba con la que se obtuvo un 30.3 % de seroprevalencia. Las muestras falsas positivas obtenidas por ELISA pueden deberse a que la prueba detecta la presencia de anticuerpos género específicos, que pueden reaccionar de forma cruzada con anticuerpos generados por el contacto con otras espiroquetas como *Treponema* y *Borrelia* (DRG International Inc., 2010). Por el contrario, la prueba MAT detecta los anticuerpos serovar específicos, aumentando su especificidad (Swapna, Tuteja, Nair y Sudarsana, 2006).

La seroprevalencia de leptospirosis humana en el asentamiento 15 de Enero, fue inferior al 51.8 % encontrado en el 2008 por Zelaya *et al.*, en una población rural de Masagua, Escuintla; seroprevalencia considerada como hiperendémica y que fue asociada a la convivencia íntima con animales domésticos que también presentaron una alta prevalencia de anticuerpos anti- *Leptospira* (caninos 58%, porcinos 30%). En el presente estudio se observó que la presencia de perros en las calles es alta debido a que los dueños no los ingresan a las viviendas durante la mayor parte del día. Por lo que se

recomienda para las futuras investigaciones relacionadas al tema, determinar la presencia de anticuerpos en los animales domésticos.

La seroprevalencia encontrada en el asentamiento 15 de Enero también es comparable con otros estudios realizados en centros urbanos de Sudamérica como los de Suárez y Bustelo (1986) en Argentina; y Céspedes et al. (2003) en Perú, los cuales reportan una prevalencia de 38.0 y 36.6 % respectivamente.

La distribución de personas seropositivas por sectores del asentamiento también mostró una mayor frecuencia de los mismos en el sector 4 (ver figura 1), en donde se ubicaron 12/13 personas que reportaron sufrir de inundaciones en sus viviendas durante la época lluviosa, las cuales colindan en la parte posterior con el zanjón en donde fluye agua proveniente de las descargas de drenajes de algunas viviendas ubicadas en ese sector; sin embargo no se encontró una asociación significativa entre la ubicación de la vivienda y la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* ($p=0.98$), a pesar que estas características han sido descritas como algunos de los factores de riesgo más importantes para adquirir la infección (OPS, 2005).

La mayor seroprevalencia por género se encontró en mujeres dedicadas a los oficios domésticos, pero no se pudo establecer una asociación significativa entre el sexo y el contacto con la bacteria ($OR= 1.66$, $p=0.23$). Hasta el momento son diversos los resultados referente a este tema pues mientras algunos estudios ocupacionales han mostrado una mayor seroprevalencia en hombres (Agudelo et al., 2000; Céspedes et al., 2003; Ferro et al., 2006), otros como el estudio de Shaw (1992) muestran que solamente el 30 % de los individuos infectados tuvieron una exposición durante su trabajo y que ambos géneros fueron afectados (Citado en Koneman et al., 2003).

Las mayores frecuencias de anticuerpos anti *Leptospira* por edad se obtuvieron en los grupos de personas de 6-15 años (25.0 %) y 16-25 años (30.6 %), lo cual sugiere que la circulación de *Leptospira* en la población del asentamiento 15 de Enero es activa y

constante; ya que los anticuerpos IgG permanecen detectables de 6-12 meses o incluso durante años, tal como lo reporta la literatura consultada (Marino, 2008).

En los estudios epidemiológicos realizados en Guatemala sobre la leptospirosis humana se ha usado un pequeño panel de serovares de leptospiras y ninguno de ellos ha empleado cepas nativas, por la falta de aislamiento de las mismas tanto en animales como en humanos. En el presente estudio se contó con 20 serovariedades representativas de 16 de los 18 serogrupos recomendadas por la OMS en países donde los serovares circulantes no son conocidos (OMS, 2008). De las cepas empleadas se encontró que los serovares más frecuentes fueron Australis y Lanka (ambos con 11.1 %).

El serovar Australis fue encontrado originalmente en las áreas costeras de Australia tanto en ratas como en ganado y durante el 2009 se reportó un 13.7% de leptospirosis humana causada por este serovar (Queensland Health Forensic and Scientific Services, 2009). En América se ha encontrado el serovar Australis tanto en perros como en humanos, en México se reportó una frecuencia de 7.69% en perros callejeros. Barmelttler *et al.*, en el año 2008 encontraron en Estados Unidos una incidencia del 83% de este serovar en perros enfermos de leptospirosis. En seres humanos existen algunos reportes como el referido por Agudelo *et al.* (2007) en la ciudad de Antioquia, Colombia con una frecuencia del serovar Australis del 10.2 %, comparable al resultado obtenido con los habitantes del asentamiento 15 de Enero. Sin embargo, en ninguno de los estudios realizados con anterioridad en Guatemala fue reportado en humanos (Barrios, 2010; Galindo, 2008); más sí fue detectado en el 2008 por Zelaya *et al.*, en un 4.0% de los caninos muestreados.

También se encontró una seroprevalencia del 11.1 %, del serovar Lanka, el cual se aisló originalmente en un humano de Sri Lanka, pero son pocos los estudios en donde se ha incluido en el panel de análisis, como el llevado a cabo en Bangladesh en el año 2001 en donde se encontró una reactividad del 22.45 % de los sueros obtenidos (Kendall *et al.*, 2010). En Guatemala la presencia del serovar Lanka no se había detectado

anteriormente, por lo que este hallazgo constituye un aporte importante para la epidemiología de la enfermedad en el país.

Otro serovar encontrado en menor proporción fue Pomona (8.3 %), anteriormente reportado por Sikahall en el 2006, que encontró una seropositividad de 6.06 % en humanos, valor cercano al encontrado en este estudio. Algunos estudios con animales han demostrado la presencia de este serovar en poblaciones caninas que mantienen una convivencia estrecha con el ser humano, por lo que el contacto con perros infectados puede ser un factor que favorezca a la circulación del mismo en el asentamiento; pero se desconoce la frecuencia de los perros infectados en la comunidad estudiada (Romero, Sánchez y Hayek, 2009).

El serovar Icteroaemorrhagiae presentó una seroprevalencia del 8.3 %, dato similar al 6.0 % encontrado por Zelaya *et al.* También en el Laboratorio Nacional de Salud en su boletín semestral reportó que el 46 % de los sueros referidos a dicho laboratorio para el serodiagnóstico de leptospirosis, fueron reactivos para este serovar (Díaz, Barrios y Meneses, 2009). La detección del serovar Icteroaemorrhagiae en estos estudios es importante debido a que el mismo ha sido descrito como uno de los causales de el Síndrome de Weil, la forma más grave de leptospirosis (Levett, 2001).

Finalmente con un 8.3 % se encontró el serovar Pactoc, perteneciente a la especie de *Leptospira biflexa*, que a pesar de no ser patógena, debe incluirse en el panel de MAT, pues comparte un gran número de antígenos de superficie con leptospirosas pertenecientes a otros serogrupos, por lo que su reactividad es indicador de un contacto con serovariedades menos frecuentes y que generalmente no son incluidas dentro del panel utilizado para MAT por lo que no pudo identificarse el serovar causante de la respuesta inmune (Levett, 2001).

Además el 19.4 % de los sueros positivos con MAT presentaron una coaglutinación, resultando en 7 combinaciones de dos y tres diferentes serovares; esto como resultado de las reacciones cruzadas que se producen entre los diferentes serovares pertenecientes a

un mismo serogrupo de *Leptospira*, las cuales comparten una mayor cantidad de antígenos de superficie. Aún así no debe descartarse del todo, que la presencia de anticuerpos IgG anti *Leptospira* detectados sea causada por el contacto previo con diferentes leptospiras (Ferro *et al.*, 2006; Levett, 2001).

La frecuencia de los anticuerpos frente a cada uno de los serogrupos permitirá reajustar el panel de los serovares necesarios para realizar la prueba de MAT de acuerdo a la reactividad local observada en áreas urbanas; no obstante es importante resaltar la importancia de los aislamientos de cepas nativas procedentes de humanos y reservorios que permitan mejorar el desempeño de la prueba y la confirmación de los serovares circulantes en Guatemala.

El título de anticuerpos más frecuente obtenido por la prueba MAT fue de 1:80, comparable al estudio realizado en Masagua, Escuintla por Zelaya *et al.*, en el año 2008. Además se encontró un título medio de 1:111, dato que no ha sido reportado anteriormente por ningún estudio en el país y que puede dar un precedente para futuras investigaciones que pretendan establecer puntos de corte para diferenciar entre una infección pasada y una activa de *Leptospira* spp. El título medio obtenido en este estudio presenta una aproximación en los parámetros que emplea el CDC y la OMS que refiere una infección activa, al hallazgo de un título mayor o igual a 1:100 en conjunto con una historia clínica sugerente (OMS, 2005).

En cuanto a la identificación de factores de riesgo asociados a la infección por *Leptospira*, no se encontró una diferencia significativa entre la seropositividad de las personas que habitaban viviendas de construcción inadecuada con aquellas que tenían una construcción adecuada; por lo que se asume que en la muestra estudiada, está no es una característica determinante de riesgo, al igual que el tipo de agua para consumo.

Cabe resaltar que aunque el 80% de los pobladores muestreados reportó la presencia de roedores en sus viviendas, lo cual no demostró ser estadísticamente significativo (OR= 0.73, p=0.84) en el contacto con la bacteria. Sin embargo, el análisis

estratificado por sector muestra que en los habitantes del sector 4 mostraron una mayor probabilidad de riesgo, por lo que en esta zona puede ser importante la evaluación de los roedores. La cual no se realizó en el presente estudio a diferencia de otros como el realizado por Ubaldo y colaboradores en Santa Fe, donde encontraron que el 61.5 % de los casos de leptospirosis compartían la presencia de roedores como una de las fuentes probables de infección. O el realizado por Perret en el año 2005, donde un 15% de los roedores estudiados presentaron anticuerpos anti *Leptospira*. (Ubaldo, Sensvy, Colombo y Tramontin, 2002).

Otros factores de tipo socio-ambiental dentro del asentamiento, que podrían influir en la presencia de leptospirosis patógenas son la carencia de un sistema apropiado de drenajes (Foto No. 1.5), y la existencia de un basurero clandestino, los cuales favorecen la transmisión e instalación del agente en la comunidad. Sin embargo no puede descartarse que la fuente de infección de los pobladores, sea externa por lo que debe ser investigada.

X. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de anticuerpos IgG anti- *Leptospira* detectados por la prueba ELISA IgG y confirmados por MAT en los habitantes del asentamiento 15 de Enero es elevada pues de cada 100 habitantes, 30 han estado en contacto previo con la bacteria.
2. Los serovares de *Leptospira* spp. que presentaron una mayor frecuencia en los pobladores del asentamiento 15 de Enero fueron Australis, Lanka, Icterohaemorrhagiae, Pomona y Javanica.
3. Los grupos con predominio de anticuerpos anti *Leptospira* en el asentamiento 15 de Enero fueron las personas con edad comprendida entre 6-25 años, con predominio de mujeres y estudiantes de nivel primario.
4. La población del asentamiento 15 de Enero presenta varias características descritas como factores riesgo, sin embargo no se determinó ninguna asociación significativa entre éstas y la presencia de anticuerpos IgG anti *Leptospira*.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios epidemiológicos de la leptospirosis que incluyan el análisis de *Leptospira* spp. en los roedores (reservorios naturales) presentes en la comunidades estudiadas, pues esta fue una limitante para determinar las posibles fuentes de infección y factores de riesgo de los pobladores del asentamiento.
2. Incluir análisis de muestras de animales domésticos para complementar los resultados obtenidos en humanos y determinar si éstos son una fuente de contagio para las personas.
3. Realizar aislamientos de cepas nativas de *Leptospira*, ya que se desconoce la frecuencia, virulencia y patogénesis de las cepas que circulan en ecosistemas como el asentamiento 15 de Enero, ya que esto permitirá un reajuste en el panel empleado en la prueba MAT.
4. Determinar la seroprevalencia de la leptospirosis en otros grupos humanos de riesgo en Guatemala, como lo son personal que trabaja en rastros, mercados, veterinarias, zafra de caña, etc.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agudelo, P., Restrepo, B. y Arboleda, M. (2007). Leptospirosis en Aruba, Antioquía, Colombia: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en la población urbana. *Cad. Salud Pública*. 23(9), 2094-2102.
- Alonso, B., Gómez, H. y Cruz, R. (2000). Leptospirosis humana: ¿un problema de salud? *Revista Cubana Salud Pública*. 26(1), 27-34.
- Arbey, J., Arango, J. y De Lima, E. (1998). Leptospirosis icterohemorrágica presentación de un caso. *Colombia Médica*. 29(01), 43-46.
- Bal, A. (2005). Unusual clinical manifestations of leptospirosis. *Journal of Postgraduate Medicine*. 51(3), 179-83.
- Barmettler, R. *et al.* (2011). Assessment of exposure to *Leptospira* serovars in veterinary staff and dog owners in contact with infected dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 238: 183-188.
- Barrios, J. (2010). *Determinación de Anticuerpos anti Leptospira en pacientes con serología negativa para Dengue, referidos al Laboratorio Nacional de Salud en el año 2005*. Tesis para optar al título de Químico Biólogo de la Escuela de Química Biológica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Benavides, L., López, E. y Torres, J. (2006) Niveles de anticuerpos antileptospira en la población humana aparentemente sana de la ciudad de México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 37(02), 10-15.
- Brito, T. (1967) Pathogenesis of the hepatic and renal lesion in leptospirosis. *Revista de Patología Tropical Brasil*. 1(1), 5-27.

- Buschiazzo, H. y Cañas, M. (2001). Leptospirosis un país enfermo. *Femeba Hoy*. 5(66), 8-9.
- Caballeros, A. y Romero, J. (1997). *Manual de procedimientos de laboratorio del INDRE*. México: Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.
- Carrado, T. (2005). Leptospirosis humana. Historia natural, diagnóstico y tratamiento. *Revista Mexicana de Patología Clínica*. 52(4), 246-257.
- Caíno, H., Curcio, F. y Siquiroff, G. (2006). Leptospirosis. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*. 1(3), 30-36.
- Céspedes, M., Ormaeche, M., Condori, P., Balda, L. y Glenney, M. (2003). Prevalencia de leptospirosis y factores de riesgo en personas con antecedentes de fiebre en la provincia de Manu, Madre de Dios, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 20(4), 180-185.
- Cespedes, M., Fernández, R., Rimarachín, R., *et al.* (2004). Leptospirosis: una enfermedad zoonótica hierendémica en la provincia de Coronel Portillo. Ucayali. Perú. *Revista Perú Medicina Salud Pública*. 21(2), 62-70.
- Cespedes, M. (2005). Leptospirosis: enfermedad zoonótica y reemergente. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 22(04), 290-307.
- Díaz, S., Barrios, J. y Menes, S. (2009). *Reporte epidemiológico sobre la leptospirosis*. Guatemala: Laboratorio Nacional de Salud.
- DRG International, Inc. (2010). *Leptospira IgG Elisa* [Inserto]. Estados Unidos: autor.

- Effler, P., Dome, H., Bragg, H. y Sasaki, D. (2000). Evaluation of the indirect hemagglutination assay for the diagnosis of acute leptospirosis in Hawaii. *Journal Clinic Microbiology*. 38, 1081-1084.
- Elizande, A., Tenorio, G. y Velasco, O. (2004). Identificación de *Leptospira* en la patogénesis de la uveítis crónica en la ciudad de México. *Revista Mexicana de Oftalmología*. 78(4), 165-170.
- Escuela Nacional de Enfermería. (2010). *Proceso de Enfermería Aplicado a la Comunidad 15 de Enero* (Proyecto interno). Guatemala: Universidad de San Carlos/Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.
- Estrada, P. (2004). *Diagnóstico diferencial de leptospirosis humana y dengue de pacientes con enfermedad febril referidos al Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del área de salud de Escuintla*. Tesis para optar al título de Químico Biólogo de la Escuela de Química Biológica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Ferro, B., Rodríguez, A., Pérez, M. y Travi, B. (2006). Seroprevalencia de la infección de *Leptospira* en los habitantes de barrios periféricos de Cali. *Biomédica*. 26(02), 250-257.
- Galindo, S. (2008). *Determinación de anticuerpos anti Leptospira en donadores de sangre del Hospital General San Juan de Dios*. Tesis para optar al título de Química Bióloga de la Escuela de Química Biológica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Gamarra, R. (2008). *Leptospirosis*. (Proyecto de Investigación II -Maestría en Salud Ambiental-). Perú: Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Mayor de San Marcos.

González, S. y Orozco, C. *Aislamiento e identificación de Leptospira interrogans en fuentes de agua en la adea El Milagro, Masagua, Escuintla*. Proyecto de Investigación para optar al título de Química Bióloga de la Escuela de Químicas Biológicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Goris, M. (2008). *Cultivo de Leptospira*. Presentado en el 4º Simposio y Taller Anual de Leptospirosis. Habana, Cuba.

Herrera, B. (2001). *Diagnóstico de Laboratorio. Guía de Control y Manejo de Leptospiroris*. Uruguay: Organización Panamericana de la Salud en Convenio con el Ministerio de Salud Pública y el Ministerio de Ganadero, Agrario y Pecuario.

Hartskeerl, R., Smits, H., Korver, H., Goris, M. y Terpstra, W. (2006). *International course on laboratory methods for the diagnosis of leptospirosis*. (5th ed.) Amsterdam: Koninklijk Instituut voor de Tropen.

Kalsow, C. y Dwyer, A. (1998) Retinal immunopathology in horses with uveitis. *PubMed*. 6(4): 239-251.

Kendall, E. *et al.*, (2010). Short Report: Leptospirosis as a cause of fever in urban Bangladesh. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 82(6): 1127-1130.

Koneman, E, Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P. y Winn, W. (2003). *Diagnóstico Microbiológico*. (5ª ed.). Estados Unidos de América: Editorial Médica Panamericana.

Laguna, V. (2000). Leptospirosis. Perú: Ministerio de Salud de Perú.

Lemarroy, D. y Carrillo, M. (2003). Leptospirosis y disfunción orgánica múltiple, caso clínico y revisión de la literatura. *Revista de la Asociación Mexicana de Medicina Crítica y Terapia Intensiva*. 17(5), 175-186.

- Levett, P. (2001). *Leptospirosis. American Society for Microbiology*. 14(2): 296-326
- Lucas, M., Gándara, J. y Linares, L. (2003). Asentamientos precarios en la ciudad de Guatemala. *Asociación de Investigación y Estudios Sociales*. 18(6):1-10.
- Marino, M. (2008). Leptospirosis: epidemiología, fisiopatología e inmunopatogénico. *Veterinaria y Zootecnia*. 15(3), 428-434.
- Martínez, G., Ribo, R., y Herranz, R. (1998). Infecciones por *Leptospira*, formas clínicas, actitudes diagnósticas y terapéuticas. *Medicina*. 7(79), 3672-3675.
- Michna, S. (1970). Bovine leptospirosis: infection by the Hebdomadis serogroup and abortion: A herd study. *Veterinary Record*. 99(21), 484-496
- Ministerio de Salud de Nicaragua (2010). *Reporte de la epidemia de leptospirosis*. Extraído el 01 de noviembre, 2010 de <http://www.tortillaconsal.com/tortilla/node/7088>
- Monte, A. (s.f.) *Leptospirosis*. Universidad de la Republica de la Facultad de Medicina. Extraído el 09 de agosto, 2010 de <http://www.higiene.edu.uy/leptos.htm>
- Naranjo, M., Suárez, M., Fernández, C., Gonzáles, M., Batista, N., Gonzáles, I., *et al.* (2007). Confirmación microbiológica de un brote de leptospirosis en Honduras tras el paso del huracán Mitch y potencialidad profiláctica de vax-SPIRAL. *VacciMotor*. 16(3), 13-18.
- Navarro, L., González, O., Sánchez, M. y García, O. (2004). Comparación de técnicas para el diagnóstico de la leptospirosis humana. *Revista Cubana de Investigación Biomedica*. 22(1), 19-22.
- Orantes, J. (2003). *Comparación de métodos para el diagnóstico de leptospirosis en pacientes que asisten a la emergencia del Hospital General San Juan de Dios*. Tesis

para optar al título de Químico Biólogo de la Escuela de Químicas Biológicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Organización Mundial de la Salud. (2008). *Guía para el diagnóstico y control de la leptospirosis humana*. Brasil: Centro Panamericano de Fiebre Aftosa.

Organización Panamericana de la Salud. (2005). *El control de las enfermedades transmisibles en el hombre*. (18ª ed.). Uruguay: Ministerio de Salud Pública.

Perret, C., Abarca, K., Dabanch, J., Solari, V., García, P., *et al.* (2005). Prevalencia y presencia de riesgo de leptospirosis en una población de riesgo de la región metropolitana. *Revista Médica Chile*. 133, 426-431.

Pumarola, T. y Jiménez, M. (2002). Leptospirosis. *Medecine*. 8(69), 3688-3692.

Queensland Health Forensic and Scientific Service. (2009). Hoja de datos del serovar Australis. Extraído el 23 de septiembre de 2011 de: <http://www.health.qld.gov.au/qhcss/lepto.asp>.

Reyes, I. (2010). Caracterización epidemiológica microbiológica de pacientes con leptospirosis provincia de Cienfuegos 2003-2007. *Revista electrónica PortalesMedicos*. 1-6. Extraído el 18 de septiembre de 2010 de <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articles/2351/1/Caracterizacion-epidemiologica-microbiologica-de-pacientes-con-leptospirosis->

Roca, B. (2006). Leptospirosis. *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra*. 50(2), 3-6.

Rodríguez, I., Fernández, C., Llerena, C., Victoria, B., Rodríguez, J. y Obregón, A. (2002). Lepto distick: resultados de su aplicación al diagnóstico rápido de la leptospirosis humana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 54(1), 44-47.

- Rodríguez, M., Flores, G., Bocanegra, V., Alonso, A. y Solates, A. (2007). Estudio comparativo de seropositividad a *Leptospira* en trabajadores de rastros de Tamaulipas. *Medigraphic*. Extraído el 09 de agosto de 2010 de http://www.medigraphic.com/pdfs/bioquimia/bq-2009/bqm_091ce.pdf
- Romero, M., Sánchez, J. y Hayek, L. (2010). Prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* en población urbana humana y canina del departamento de Tolima. *Revista de Salud Pública*. 12(2): 268-275.
- Sadow, K. y Ramírez, W., (2005). Leptospirosis. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 6(6), 1-65.
- Secretaría de Salud Departamental. (2008). *Situación de la leptospirosis en el departamento del Atlántico*. Colombia, Barranquilla: Autor.
- Sikahall, S. (2006). *Estandarización de la prueba de aglutinación microscópica en placa (MAT) para el diagnóstico de leptospirosis humana*. Tesis de Graduación para optar al título de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Solano, A., Boza, R. y Saenz, E. Leptospirosis en humanos. *Revista de Costa Rica de Ciencias Médicas*. 17(2), 41-55.
- Suárez, M. y Bustelo, J. (1986). Leptospirosis en humanos: Prevalencia serológica en 2 grupos diferentes en la provincia de Formosa. *Rev. Argentina Microbiol.* 18, 75-78.
- Swapna, R., Tuteja, U., Nair, L. y Sudarsana, J. (2006). Seroprevalence of leptospirosis in high risk groups in Calicut, North Kerala, India. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 24(4), 349-352.

Torres, B. (1982). Leptospirosis humana primer caso reportado. *Revista Universidad de San Carlos de Guatemala*. 1, 5-10.

Ubaldo, M., Sensevy, A., Colombo, J. y Tramotin, V. (2002). Leptospirosis en la provincia de Santa Fe. *Medicina Buenos Aires*. 62(2):164 – 168.

Zambrano, M. y Araujo, M. (2005). *Manual de procedimientos bacteriológicos y serológico para el diagnóstico de la leptospirosis*. Perú: Instituto Nacional de Salud.

Zelaya, B., García, M., Villagrán, C., Velásquez, M., Sikahall, S., Galindo, S. y Días, R. (2008). Prevalencia de *Leptospira* en la aldea El Milagro, Masagua, Escuintla. FODECYT. 91(06). 1-71.

XIII. ANEXOS

Anexo 1:

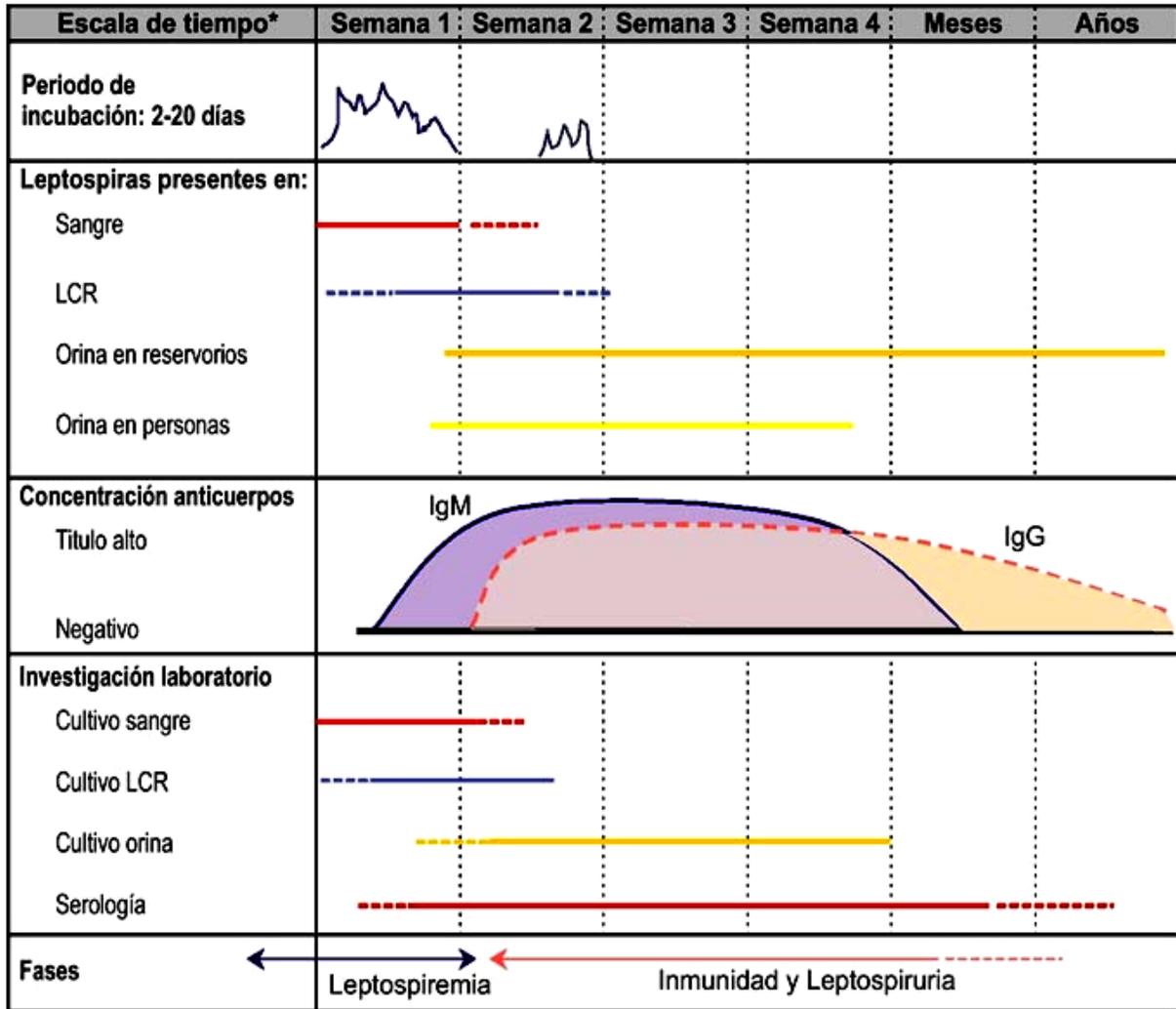
Tabla 4. "Características diferenciales entre las especies de *Leptospira*"

Característica	<i>L. interrogans</i>	<i>L. biflexa</i>	<i>L. illini</i>
Patogenicidad	SI	NO	NO
Crecimiento a 13°C	NO	SI	NO
Inhibición crecimiento ante 8-azaguanina (225ug/mL)	SI	NO	NO
Conversión de las células a formas esféricas por NaCl 1M	SI	NO	NO
Actividad lipasa	--	SI	SI
% de G-C en el ADN	35, 3-39, 9	38, 0-41,0	53
Crecimiento en caldo tripticasa soya	NO	NO	SI
Túbulos citoplasmáticos	NO	NO	SI

Fuente: Caballeros, A., y Romero, J. (1997). Manual de procedimientos de laboratorio del INDRE. México: Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. p. 16.

Anexo 2:

Figura 2. “Cinética de la Infección por *Leptospira*”



Fuente: Zambrano, M., y Araujo, M. (2005). Manual de procedimientos bacteriológicos y serológico para el diagnóstico de la leptospirosis. Perú: Instituto Nacional de Salud.

Anexo 3:

Tabla 5. Listado de serovariedades empleados para la prueba de MAT”

Especie	Serogrupo	Serovar	Cepa
<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis	Ballico
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
<i>L. noguchii</i>	Louisiana	Lanka	R740
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Ballum	Mus 127
<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae	Swart
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Mozdok	5621
<i>L. meyeri</i>	Ranarum	Ranarum	ICF
<i>L. interrogans</i>	Serjoe	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	Djasiman
<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	Hond Utrech IV
<i>L. weilii</i>	Celledoni	Celledoni	Celledoni
<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522C
<i>L. biflexa</i>	Samaranga	Patoc	Patoc I
<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani	1342 K (=LT821)
<i>L. weilii</i>	Manhao	Lincang	L14
<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama	CZ214
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica	Veldrat Batavia

Fuente: Cepario proporcionado por el Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala (LNS); que brindó seguimiento y capacitación para el mantenimiento del mismo. El cepario fue donado al LNS por el Laboratorio de Referencia Internacional de Leptospirosis del Instituto de Medicina Tropical de Holanda.

Anexo 4:

A. Adultos



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Química Biológica



Dirección General de Investigación
Programa Universitario de
Investigación en Salud



Laboratorio Nacional de Salud
Ministerio de Salud Pública y
Asistencia Social



Municipalidad
de Guatemala

No. de identificación de la muestra:

Fecha: / /

CONSENTIMIENTO INFORMADO

El participante leerá o en su defecto escuchará el consentimiento informado antes de firmarlo. En caso de no pueda escribir, puede sellar con la huella del dedo pulgar.

Hola mi nombre es _____, y soy investigadora de la Facultad de Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Estamos realizando una investigación en pobladores del asentamiento 15 de enero para saber si han padecido la enfermedad llamada leptospirosis y averiguar si se encuentran en riesgo de adquirirla. La leptospirosis es una enfermedad infecciosa con síntomas parecidos a los de la gripe que puede llegar a causar la muerte, se transmite por una bacteria que se encuentra en las ratas y ratones que al orinar la transmiten a humanos y animales domésticos como los perros, cerdos y vacas. Además se transmite por agua contaminada con orina de los animales mencionados anteriormente. Esta enfermedad aumenta con las lluvias debido a que los ríos crecen y causan inundaciones, provocando que el agua se mezcle con la orina de los animales infectados y ayudando a la bacteria a entrar por la piel, nariz, ojos y boca de animales y personas.

Las molestias causadas por esta enfermedad suelen confundirse con los que presenta el dengue por lo que muchas veces se confunde, pero la medicina para su tratamiento es diferente. Hoy en día en Guatemala no se sabe la cantidad de personas que se han enfermado de leptospirosis, por lo que es necesario hacerles exámenes para saber si han estado en contacto con esta bacteria y así conocer la cantidad de personas dentro del asentamiento que la han padecido, reconocer que actividades representan un riesgo para enfermarse y conocer un poco acerca de la situación de la enfermedad en la ciudad. Por lo que los resultados serán de beneficio para que las autoridades municipales y el comité de vecinos puedan realizar acciones para evitar que las personas se enfermen con esta bacteria.

Por eso estamos el día de hoy solicitándole su colaboración para que usted participe en este estudio y poder saber si usted ha estado en contacto con la bacteria que causa esta enfermedad o no, para lo cual necesitamos que nos conteste unas preguntas de una entrevista y tomarle una muestra de sangre que será utilizada para este estudio. **Le informamos que por su participación no recibirá ningún tipo de pago en efectivo o de otra especie y que la misma es en forma voluntaria, por lo que está en la libertad de no aceptar la entrevista ni la toma de muestra o salirse del estudio cuando lo desee, sin ninguna responsabilidad.** La prueba que se le hará en la muestra de sangre que usted proporcione será para ver si ha estado en contacto con la bacteria que causa la enfermedad llamada leptospirosis, por lo que los resultados se le entregarán personalmente al finalizar el estudio.

B. Menores de 15 años:



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Química Biológica



Dirección General de Investigación
Programa Universitario de
Investigación en Salud



Laboratorio Nacional de Salud
Ministerio de Salud Pública y
Asistencia Social



Municipalidad
de Guatemala

No. de identificación de la muestra:

Fecha: / /

CONSENTIMIENTO INFORMADO Menores de 15 años de edad

El participante leerá o en su defecto escuchará el consentimiento informado antes de firmarlo. En caso de no pueda escribir, puede sellar con la huella del dedo pulgar.

Hola mi nombre es _____, y soy investigadora de la Facultad de Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Estamos realizando una investigación en pobladores del asentamiento 15 de enero para saber si han padecido la enfermedad llamada leptospirosis y averiguar si se encuentran en riesgo de adquirirla. La leptospirosis es una enfermedad infecciosa con síntomas parecidos a los de la gripe que puede llegar a causar la muerte, se transmite por una bacteria que se encuentra en las ratas y ratones que al orinar la transmiten a humanos y animales domésticos como los perros, cerdos y vacas. Además se transmite por agua contaminada con orina de los animales mencionados anteriormente. Esta enfermedad aumenta con las lluvias debido a que los ríos crecen y causan inundaciones, provocando que el agua se mezcle con la orina de los animales infectados y ayudando a la bacteria a entrar por la piel, nariz, ojos y boca de animales y personas.

Las molestias causadas por esta enfermedad suelen confundirse con los que presenta el dengue por lo que muchas veces se confunde, pero la medicina para su tratamiento es diferente. Hoy en día en Guatemala no se sabe la cantidad de personas que se han enfermado de leptospirosis, por lo que es necesario hacerles exámenes para saber si han estado en contacto con esta bacteria y así conocer la cantidad de personas dentro del asentamiento que la han padecido, reconocer que actividades representan un riesgo para enfermarse y conocer un poco acerca de la situación de la enfermedad en la ciudad. Por lo que los resultados serán de beneficio para que las autoridades municipales y el comité de vecinos puedan realizar acciones para evitar que las personas se enfermen con esta bacteria.

Por eso estamos el día de hoy solicitándole su colaboración para que usted participe en este estudio y poder saber si usted ha estado en contacto con la bacteria que causa esta enfermedad o no, para lo cual necesitamos que nos conteste unas preguntas de una entrevista y tomarle una muestra de sangre que será utilizada para este estudio. **Le informamos que por su participación no recibirá ningún tipo de pago en efectivo o de otra especie y que la misma es en forma voluntaria, por lo que está en la libertad de no aceptar la entrevista ni la toma de muestra o salirse del estudio cuando lo desee, sin ninguna responsabilidad.** La prueba que se le hará en la muestra de sangre que usted proporcione será para ver si ha estado en contacto con la bacteria que causa la enfermedad llamada leptospirosis, por lo que los resultados se le entregarán personalmente al finalizar el estudio.

Es importante que usted sepa que todos sus datos personales son confidenciales y solo lo sabrán los investigadores responsables del proyecto. Sin embargo los resultados obtenidos pueden ser utilizados para otros estudios. Debo hacer de su conocimiento que este estudio cuenta con el acompañamiento de la municipalidad de la ciudad de Guatemala.

Anexo 5:



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y
Farmacia
Escuela de Química Biológica



Dirección General de Investigación
Programa Universitario de
Investigación en Salud



Laboratorio Nacional de Salud
Ministerio de Salud Pública y
Asistencia Social



Municipalidad
de Guatemala

**Seroprevalencia de la Leptospirosis Humana en un
Asentamiento ubicado en la Ciudad de Guatemala**

Sector: _____

No. de identificación:

Fecha: / /

A. Datos generales:

1. Iniciales del Nombre: _____
2. ¿Cuántos años tiene? años
3. Sexo: Femenino Masculino
4. ¿Cuál es su origen étnico?
 ladino Indígena Garífuna
5. ¿Sabe usted leer?
 Si NO
6. ¿Sabe escribir?
 Si NO
7. ¿Hasta qué nivel llegó a estudiar?
 Primaria Básicos Diversificado
 Universitario Ninguno
8. ¿Cuál es su ocupación?
 Oficios domésticos Estudiante Comerciante/vendedor
 Oficinista Agricultor Albañil
 Seguridad Otros : _____

B. Datos familiares y de vivienda:

Anexo 6:

A. Medio EMJH (Hartskeerl et al., 2006):

Preparar 9 partes de medio basal por 1 parte de suplemento

Tabla 6. Composición del Medio Basal

	2L	1L	500 mL
Na ₂ HPO ₄	2.0 g	1.0 g	0.5 g
KH ₂ PO ₄	0.6 g	0.3 g	0.15 g
NaCl	2.0 g	1.0 g	0.5 g
Sol. Stock NH ₄ Cl (-20°C)	2.0 mL	1.0 mL	0.5 g
Sol Stock Vit B ₁ (-20°C)	2.0 mL	1.0 mL	0.5 g
Agua Destilada	1.8 L	900 mL	450 mL

Tabla 7. Composición del Suplemento de Albúmina y Ac. Grasos

	2L	1L	500 mL
CaCl ₂ 2H ₂ O + MgCl ₂ 6H ₂ O	3.0 mL	1.5 mL	0.75 mL
ZnSO ₄ 7H ₂ O	2.0 mL	1 mL	0.5 mL
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.2 mL	0.1 mL	0.05 mL
Vitamina B12	2.0 mL	1 mL	0.5 mL
Tween 80	25 mL	12.5 mL	6.25 mL
Glicerol	2.0 mL	1 mL	0.5 mL
FeSO ₄	0.1 g	0.05 g	0.025 g
Piruvato de Sodio	0.08 g	0.04 g	0.02 g
Albúmina Bovina + Agua Destilada estéril	20 g + 120 mL	10 g + 60 mL	5 g + 30 mL

*Preparar solución de albumina, a ella agregar los demás ingredientes

B. Medio Fletcher (Hartskeerl et al., 2006):

Suspender 2.5 gramos del medio en 920 mL de agua destilada, disolver completamente.

Tabla 8. Formula de Preparación de Fletcher

Peptona	0.3 g
Extracto de carne	0.2 g
Cloruro de Sodio	0.5 g
Agua destilada	920 mL
Suero estéril de conejo	10%

Anexo 7: Determinación de la muestra poblacional

A. Población finita:

El asentamiento 15 de enero cuenta con 50 casas con un promedio de 6 habitantes por vivienda, lo cual nos brinda un aproximado de la población total de 300 personas. Con ello podemos calcular la muestra poblacional, asumiendo la máxima variación posible (cuando $p = q$) para una variable binomial, con un intervalo de confianza del 95% y un límite de error del 10% obtenemos:

$$n = \frac{N\sigma^2}{\frac{(N-1)\Delta^2 + \sigma^2}{NC^2}} = \frac{N(p*q)^2}{\frac{(N-1)\Delta^2 + \sigma^2}{NC^2}} = \frac{(300)(0.25)}{\frac{(300-1)(0.10)^2 + 0.25}{(1.96)^2}} = \mathbf{73 \text{ personas}}$$

N = Población finita

NC = Límite de confianza

p = probabilidad de éxito

q = probabilidad de fracaso

σ^2 = Varianza $(p*q)^2$

Δ = Límite de error

Anexo 8: Cálculo del índice *kappa* (κ)

ELISA IgG	MICROAGLUTINACIÓN		Total
	Reactivo	No reactivo	
Reactivo	21	18	39
No reactivo	15	65	80
Total	36	83	119

Acuerdo observado	0.722689
Acuerdo esperado	0.568039
Coficiente kappa	0.358010
Error estándar de kappa	0.091514
Valor de Z	3.91
Valor de p (una cola)	0.000046

Anexo 9: Álbum de imágenes del proyecto

Etapa I: Reconocimiento



Foto No. 1.1
Entrada del asentamiento 15 de Enero ubicado en la 1ª Calle y 23 Av. De la zona 1, la cual es compartida con la finca Rivera.



Foto No. 1.2
Durante el reconocimiento del lugar, se contó con la presencia de Lda. Anabel Quintanilla de la Alcaldía Auxiliar del Distrito No.10



Foto No. 1.3

El asentamiento 15 de Enero cuenta únicamente con una calle principal asfaltada, que es además la única vía de acceso al lugar.

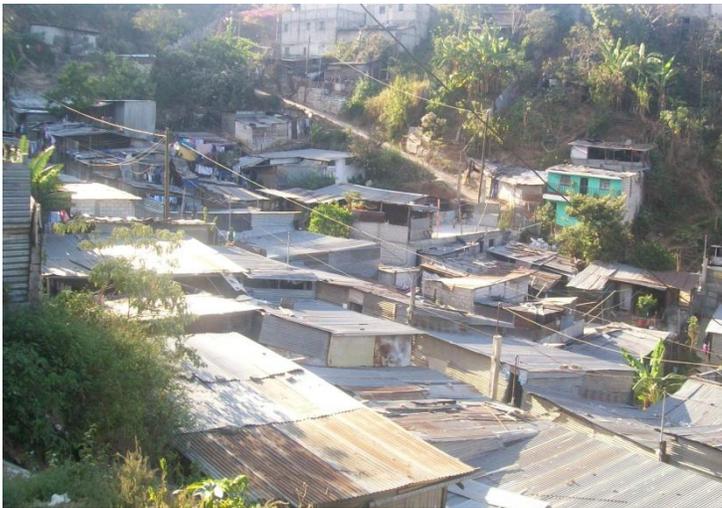


Foto No. 1.4

La mayoría de viviendas están construidas de lámina y madera. Cuentan con piso de cemento y servicio de energía eléctrica y agua.



Foto No. 1.5

La mayoría de viviendas cuentan con drenajes, sin embargo estos no están unidos a la red municipal, ocasionando que la “caja” en la que convergen provoque inundaciones en las viviendas aledañas.



Foto No. 1.6

En el lugar, puede observarse la presencia abundante de perros callejeros y excretas de los mismos.



Foto No. 1.7

Los animales de crianza permanecen fuera de las viviendas, sin embargo el sitio designado para su estancia tiene una elevada cantidad de basura y es cercano a un nacimiento de agua en el lugar.



Foto No. 1.8

Aunque se pudo observar la presencia de aves de corral, éstas difícilmente conviven dentro de las viviendas con las personas.



Foto No. 1.9
Dentro del asentamiento, existe un zanjón de aguas negras, el cual es causa de mal olor y contaminación.



Foto No. 1.10
El zanjón de aguas negras se ha convertido además en un basurero clandestino en donde algunos vecinos depositan la basura de sus viviendas.



Foto No. 1.11
En este zanjón desembocan los desechos domésticos de las viviendas que aún carecen de drenajes.

Etapa II: Información a la comunidad



Foto No. 2.1

Durante las charlas informativas realizadas en el salón comunal de asentamiento 15 de Enero, se contó con acompañamiento del Alcalde Auxiliar del Distrito No. 10



Foto No. 2.2

Durante la charla informativa se brindó información general de la enfermedad, importancia del estudio y metodología a seguir. Así mismo se resolvieron todas las dudas de los participantes.



Foto No. 2.3
Todos los asistentes, compartieron sus dudas e inquietudes acerca del estudio y la enfermedad, para muchos desconocida.



Foto No. 2.4
Los habitantes compartieron de un pequeño refrigerio posterior a escuchar la información.

Etapa III: Toma de muestra



Foto No. 3.1

Todo el material empleado fue de uso único. Los desechos fueron tratados de acuerdo a lo establecido.



Foto No. 3.2

El primer paso consistió en la información y firma del consentimiento informado de los participantes.



Foto No. 3.3

Una vez aceptada la participación, se procedió a la toma de muestra venosa.



Foto No. 3.4
A cada participante se asignó un número correlativo, como parte de la confidencialidad.



Foto No. 3.5
Se contó con la autorización de los padres de familia (o encargados) para la participación de menores de edad en el estudio.



Foto No. 3.6
Líderes del asentamiento colaboraron en la difusión de la importancia del estudio y la participación de los vecinos.



Foto No. 3.7
En muchas viviendas, todos los integrantes de las familias aceptaron participar en el estudio.

Etapa IV: Transporte y Almacenamiento de muestra



Foto No. 4.1

Las muestras venosas fueron centrifugadas durante 10 min a 4500 rpm para obtener el suero.

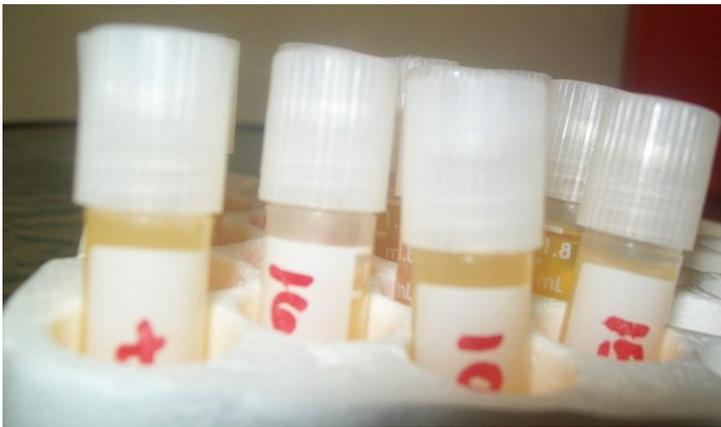


Foto No. 4.2

El suero obtenido, se colocó en dos alícuotas de 1.0 mL en miniviales identificados con el número correspondiente. Las muestras fueron almacenadas a -20°C hasta su análisis.

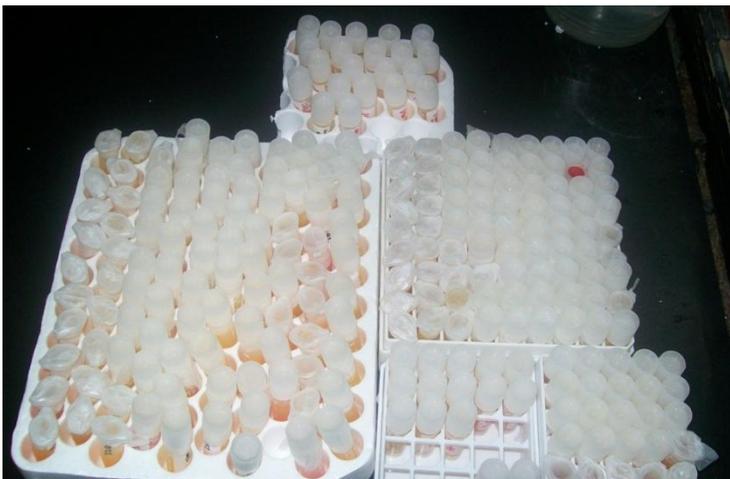


Foto No. 4.3

Se colectaron un total de 119 muestras de suero, de los habitantes del asentamiento 15 de Enero que aceptaron

Etapa V: Preparación de medios de cultivo



Foto No. 5.1
Para la realización de medios de cultivo se emplearon instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud.



Foto No. 5.2
Durante la realización de medios de cultivo se emplearon todas las buenas prácticas de laboratorio y medidas de asepsia.



Foto No. 5.3
Durante esta etapa se contó con el apoyo y capacitación por parte del Lic. Barrios, encargado de la unidad de diagnóstico de Leptospirosis.

Etapa VI: Determinación de anticuerpos IgG anti *Leptospira* por ELISA



Foto No. 6.1

Se contó nuevamente con la colaboración del Laboratorio Nacional de Salud, para realizar este procedimiento.



Foto No. 6.2

Los kits comerciales empleados pertenecían a la casa comercial DRG, con un total de 90 pruebas por kit con sus respectivos controles de calidad.



Foto No. 6.3

Se realizaron las diluciones previas establecidas en el procedimiento brindado por la casa comercial.



Foto No. 6.4

Los resultados obtenidos para el método ELISA fueron confirmados mediante la prueba de microaglutinación (MAT).

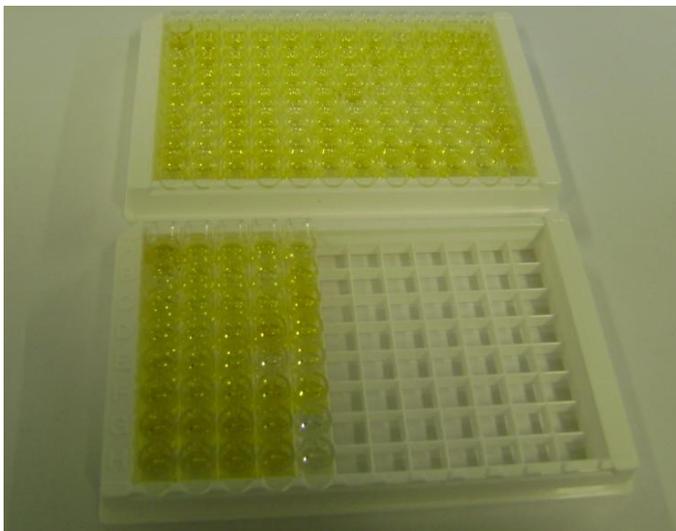


Foto No. 6.5

Del total de 119 muestras, se obtuvo un total de 39 muestras, confirmándose por el método MAT solamente 21.



Foto No. 6.6

El equipo empleado en el Laboratorio Nacional de Salud permitió la realización de la prueba, con mayor exactitud.

Lida. María Luisa García de López
Coordinadora y Asesora

Lida. Leticia del Carmen Castillo
Asesora

Lic. Ronald Omar Kestler
Asesor

Br. Aliz Marisol Pérez Vásquez
Carnet 200510484

Br. Mariana Elizabeth Herrera García
Carnet 200510378