

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**MARÍA FERNANDA BARRIOS YONG
JOSSELYN MARÍA DIVASI KING
WENDY PAOLA MELÉNDEZ MENDOZA**

QUÍMICAS BIÓLOGAS

GUATEMALA, AGOSTO DEL 2017

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**CARACTERIZACIÓN DE DENGUE Y LEPTOSPIROSIS EN PACIENTES
HOSPITALIZADOS**

Seminario de Investigación

PRESENTADO POR

**MARÍA FERNANDA BARRIOS YONG
JOSSELYN MARÍA DIVASI KING
WENDY PAOLA MELÉNDEZ MENDOZA**

**Para Optar al título de
QUÍMICAS BIÓLOGAS**

GUATEMALA, AGOSTO DEL 2017

AGRADECIMIENTOS

A Dios por habernos acompañado y guiado a lo largo de nuestra carrera, por ser nuestra fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarnos una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A nuestros padres por apoyarnos en todo momento, por los valores que nos han inculcado y por darnos la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de nuestra vida. Sobre todo por ser un excelente ejemplo a seguir.

Gracias Licenciada María Luisa García Masaya y Licenciada Leticia Castillo Signor por creer en nosotras y habernos brindado la oportunidad de desarrollar nuestro seminario profesional y por todo el apoyo dado.

A la Doctora Blanca Samayoa por la revisión de esta investigación.

Al Laboratorio Nacional de Salud con especial atención a la Unidad Central de Referencia de la Vigilancia Epidemiológica (UCREVE), a la Licda. Claudia Valenzuela y a la Licda. Ericka Pérez del área de bacteriología por permitirnos realizar el procesamiento de las muestras y al Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala por el apoyo brindado.

INDICE

I. RESUMEN	1
II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN	2
III. INTRODUCCIÓN	3
IV. ANTECEDENTES	4
A. Leptospirosis.....	4
B. Dengue	14
V. JUSTIFICACIÓN	27
VI. OBJETIVOS.....	28
A. General.....	28
B. Específicos	28
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
A. Universo.....	29
B. Recursos.....	29
C. Métodos	31
D. Diseño de la investigación.....	34
IX. DISCUSIÓN.....	40
X. CONCLUSIONES.....	45
XI. RECOMENDACIONES	46
XII. REFERENCIAS	47
XIII. ANEXOS.....	54

I. RESUMEN

La Leptospirosis es una zoonosis bacteriana de distribución mundial que afecta principalmente a países tropicales. El diagnóstico clínico debe ser confirmado por medio de pruebas de laboratorio, ya que los signos y síntomas son muy similares con otras patologías principalmente Dengue. Por tal motivo el objetivo principal del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de Leptospirosis en pacientes hospitalizados con serología negativa de Dengue, así como caracterizar el cuadro clínico y la asociación de algún factor de riesgo con el desarrollo de la enfermedad.

Se seleccionaron 152 muestras de pacientes referidos al Laboratorio Nacional de Salud sospechosos de padecer Dengue cuyas pruebas fueron negativas, dichas muestras fueron analizadas con la prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA) IgM y la aglutinación microscópica (MAT) para detectar la presencia de anticuerpos anti-leptospira, obteniendo una seroprevalencia de Leptospirosis en la población estudiada del 13%. Las características demográficas más frecuentes de los pacientes estudiados fueron el género masculino (55%), población >15 años (70%) y residentes del departamento de Guatemala. Los serovares detectados con mayor frecuencia fueron *Lanka* (25%) e *Icterohaemorrhagiae* (20%), y los títulos oscilaron en un rango de 1:320 a 1:2560.

La caracterización del cuadro clínico de Leptospirosis se realizó a través de la ficha epidemiológica de Dengue y se estableció que los signos y síntomas más frecuentes fueron fiebre (100%), cefalea (95%), dolor de cuerpo (90%), mialgia y artralgia (70%). Las asociaciones para establecer la presencia de algún factor de riesgo mostraron que las variantes demográficas no constituye un factor predisponente para el desarrollo de la enfermedad.

Este estudio evidenció que durante las epidemias de Dengue, no se realiza un buen diagnóstico de la etiología de los síndromes febriles, en consecuencia existe un subregistro de otras etiologías potencialmente fatales como la Leptospirosis, por lo que se recomienda incluir a la misma dentro de la ficha epidemiológica de Dengue con el fin de establecer una intervención y asistencia médica oportuna, evitando de esa forma que progrese a la forma grave de la enfermedad.

II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación forma parte del macro-proyecto de Leptospirosis Humana, que se está llevando a cabo en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala en colaboración con el Laboratorio Nacional de Salud del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social donde las muestras serán analizadas.

En la actualidad se reconoce que el Dengue es un importante problema de salud pública en el mundo. La coexistencia de diversos agentes patógenos causantes de enfermedad febril como el Dengue obliga a tratar de identificarlos y conocer el nivel de transmisión de cada enfermedad, así como sus aspectos clínicos compartidos o diferentes, para poder estimar la magnitud real del problema y ofrecer al médico herramientas que le permitan establecer un manejo específico oportuno. En este sentido muchos pacientes sospechosos de Dengue que resultan negativos a las pruebas de laboratorio para esta infección pueden resultar positivos a *Leptospira*. La similitud sintomática que presentan ambas enfermedades en su fase inicial ha propiciado dificultades para un diagnóstico oportuno, para la atención adecuada de los enfermos, así como para su notificación y clasificación.

Por lo que, el objetivo de la investigación se centró en determinar la Seroprevalencia de Leptospirosis en pacientes hospitalizados con serología negativa de Dengue.

III. INTRODUCCIÓN

La Leptospirosis es una enfermedad conocida como una causa frecuente de síndromes febriles indiferenciados, confundiéndola con enfermedades endémicas de cada región, tales como el Dengue y Malaria. La presencia de Leptospirosis es más frecuente en clima subtropical y tropical húmedo, causada por la bacteria *Leptospira interrogans*, de la que se conocen más de 200 serovares. La presentación de la enfermedad varía desde una forma leve o asintomática, hasta una falla multiorgánica conocida como Síndrome de Weil (Carrada, 2005).

El Dengue es una enfermedad infecciosa de causa viral adquirida por la picadura de mosquitos *Aedes aegypti*, que previamente adquirieron el virus de personas infectadas en fase de viremia. Tras un periodo de incubación de 3 a 14 días puede ser causa de fiebre indiferenciada y asociada a síntomas generales, mialgias y artralgias, con o sin exantema (Dengue clásico) o fiebre, hemorragias, derrames serosos y a veces choque (Dengue grave) (Martínez y Ortiz, 2010).

La difícil diferenciación entre las manifestaciones clínicas de ambas enfermedades implica un problema al momento de establecer un diagnóstico oportuno, por lo que se llevó a cabo la detección de Leptospirosis en muestras serológicas de pacientes que mostraron un cuadro clínico sospechoso de Dengue con una serología negativa, a través de las pruebas de ELISA IgM y MAT conjuntamente con los signos y síntomas más frecuentes mediante la ficha epidemiológica de Dengue se realizó la caracterización del cuadro clínico de Leptospirosis y la asociación de algún factor de riesgo con el desarrollo de la enfermedad.

IV. ANTECEDENTES

A. Leptospirosis

1. Generalidades

La Leptospirosis es una zoonosis bacteriana de distribución mundial que afecta principalmente a países tropicales, debido a sus características ambientales y climáticas que favorecen su distribución (Carrada, 2005).

Es causada por una espiroqueta del género *Leptospira* que comprende dos especies: *Leptospira interrogans*, única especie patógena, cuyo hábitat natural es el riñón de los animales enfermos o portadores. Las cepas de vida libre que habitan en el suelo y el agua constituyen la especie *Leptospira biflexa* saprofita para el hombre y los animales (Carrada, 2005).

Los reservorios naturales de las leptospiras son los animales silvestres, especialmente roedores y los animales domésticos. La infección en humanos se presenta por contacto directo de las mucosas con orina de los animales infectados o indirectamente a través de agua o suelos contaminados (Romero, Sánchez y Hayek, 2010).

2. Agente etiológico

Las leptospiras son bacterias gram negativas filamentosas de 5 a 20 μm de largo y muy delgadas, de 0.5 μm de ancho, presentan espirales apretadas y regulares, dos flagelos periplasmáticos y ambos extremos se curvan en forma de gancho. Tienen movimientos de rotación rápida sobre su eje longitudinal y traslación en dirección axial debido a su axostilo. La membrana externa multiestratificada es rica en lípidos (20%) y el peptidoglicano es de ácido α , ϵ -diaminopilémico (Carrada, 2005).

Todas las leptospiras son aeróbicas, quimioorganotróficas, crecen a una temperatura óptima de 28 a 30°C en un medio enriquecido con vitaminas (vitamina B2 y B12, factores de crecimiento), ácidos grasos de cadenas largas y sales de amonio. Tienen oxidasa y peroxidasa. *L.interrogans* es catalasa positiva mientras que *L.biflexa* es negativa (Levett, 2001).

3. Clasificación

Los miembros del género *Leptospira* son serológicamente heterólogos. El taxón básico es el serovar (serotipo), que se define sobre la base de similitudes y diferencias antigénicas como las reveladas en la llamada prueba de absorción de aglutinación cruzada (García, Reyes, Basilio, Ramírez y Rivas, 2013).

Tradicionalmente el género *Leptospira*, se clasifica en base a análisis serológicos de los antígenos y sobre la base de su patogenicidad en dos especies: *Leptospira interrogans* y *Leptospira biflexa*, siendo la primera patógena y la segunda saprófita (Zunino y Pizarro, 2007).

L. interrogans se subdivide, según su composición antigénica, en más de 200 serovares que, por las reacciones antigénicas cruzadas entre ellos, se reúnen en 23 serogrupos y *L. biflexa* se subdivide en 60 serovares. Alrededor de 22 serovares de *L. interrogans* causan enfermedad humana y los más comunes son *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Pomona* y *Autumnalis* (García et al., 2013).

En la actualidad, tomando como base los estudios de ADN, la clasificación fenotípica está siendo reemplazada por la clasificación genética sin que exista ninguna relación o correspondencia entre ambas clasificaciones. Debido a lo anterior, existen especies genómicas o genomoespecies que incluyen serovares patógenos y no patógenos, y algunos serovares pueden pertenecer a más de una especie genómica. La clasificación constituida por genomoespecies, de acuerdo con la Reunión del Subcomité de Taxonomía de *Leptospira* en el 2007, comprende 13 especies patógenas: *L. interrogans*, *L. alexanderi*, *L. fainei*, *L. inadai*, *L. krischneri*, *L. wolffi*, *L. borgpetersenii*, *L. weilii*, *L. noguchii*, *L. licerasiae*, *L. santarosai*, *L. alstonii*, *L. terpstrae* y seis especies saprófitas: *L. biflexa*, *L. ketyi*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. wolbachi* y *L. vanthielii* (Anexo 3) (García et al., 2013).

4. Epidemiología y distribución mundial

La epidemiología de la enfermedad ha cambiado, especialmente en ambientes ocupacionales y rurales en donde los riesgos asociados han disminuido, pero se ha incrementado el reporte de brotes en zonas urbanas y en poblaciones con diferentes

niveles de riesgo, siendo considerada como una de las enfermedades infecciosas reemergentes (Romero et al., 2010).

En 1883, Louis Landzouzy fue el primero en reconocer 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 (Rodríguez, Gómez y Cruz, 2000).

En 1917 en Japón se llevó a cabo el primer aislamiento de *Leptospira* en humanos, en un paciente que presentaba ictericia y hemorragia, razón por la que se le llamó *Icterohaemorrhagiae*; momento a partir del cual se han reportado trabajos de investigación epidemiológica sobre la enfermedad (Rodríguez et al., 2000).

En Centroamérica en octubre de 1995, en Nicaragua se notificó un brote con 400 casos y 13 defunciones por distres respiratorio y hemorragia pulmonar. Las evidencias encontraron leptospira en los tejidos de riñón e hígado de tres de los pacientes fallecidos; este brote se asoció a contacto directo con agua y suelo contaminado con orina infectada después de intensos períodos de lluvia. En este mismo país, en el período posterior al huracán *Mitch* (1998) se registraron 523 casos sospechosos de Leptospirosis, con 7 personas muertas por esta causa, lo cual representa una tasa de letalidad de 1,3% (Ochoa, Sánchez y Ruiz, 2000).

Ochoa y colaboradores durante el año 2000 en Colombia realizaron una investigación en granjas en donde existe un sistema de producción "cerdos-pastos-leche". Estudiaron 23 granjas y obtuvieron muestras de sangre de 67 operarios de lechería, encontrando una prevalencia de individuos seropositivos del 22,4% (Ochoa et al., 2000).

5. Leptospirosis en Guatemala

Orantes (2003) realizó una comparación entre los métodos de campo oscuro y aglutinación en látex contra la prueba ELISA IgM para el diagnóstico de Leptospirosis en pacientes que asistieron a la emergencia del Hospital General San Juan de Dios determinando que el 73.33% de los pacientes que presentaron el cuadro clínico

presuntivo de *Leptospira* fueron positivos para las pruebas realizadas. Asimismo, con las técnicas utilizadas se estableció que la sensibilidad y especificidad de la aglutinación en látex y campo oscuro eran muy bajas, por lo que se consideró que ambos métodos no son adecuados para el diagnóstico de Leptospirosis humana.

Estrada (2004) efectuó el diagnóstico diferencial de Leptospirosis humana y Dengue en pacientes con enfermedad febril del área de salud de Escuintla. El estudio lo realizó utilizando la prueba de ELISA IgM tanto en Dengue como para Leptospirosis. De 84 muestras obtenidas el 9.52% fueron positivas para Leptospirosis, las cuales fueron confirmadas por MAT presentando todos anticuerpos contra el serovar *Icterohaemorrhagiae*.

Sikahall (2006), estandarizó la Técnica de Aglutinación Microscópica-MAT- para el diagnóstico de Leptospirosis humana, el 25% fueron positivas a *Leptospira interrogans* y la distribución de serovariedades fue *Icterohaemorrhagiae* 63.64%; *Canicola* 24.24%; *Pomona* 6.06%; *Bataviae* 3.03% y *Pyrogenes* 3.03%.

Zelaya et al., (2008), establecieron la seroprevalencia de Leptospirosis en la aldea el Milagro Masagua, Escuintla, mediante la detección de anticuerpos anti-leptospira por las técnicas MAT y ELISA IgG en 199 muestras de sueros humanos mayores de 15 años encontrando una seroprevalencia de 51.8%.

Galindo (2008), determinó la presencia de anticuerpos anti-leptospira en donadores de sangre del Hospital General San Juan de Dios mediante el uso de MAT. De 12.86% reactivos se encontró una distribución del 27.27% *Icterohaemorrhagiae*; 27.27% *Hebdomadis*; 18.18% *Sejroe* 13.64% *Betavie*.

Gonzales y Orozco en el año 2010 aislaron e identificaron *Leptospira interrogans* en fuentes de agua en la aldea El Milagro, Masagua, Escuintla. Del total de 29 muestras de agua analizadas lograron aislar dos cepas de *Leptospira biflexa* identificadas a través de la prueba fenotípica de crecimiento en presencia de 8-Azaguanina y confirmándose con la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), sin embargo, no se aislaron cepas de *Leptospira interrogans*.

Barrios (2010), determinó la presencia de anticuerpos anti *Leptospira* en pacientes con serología negativa a Dengue, referidos al Laboratorio Nacional de Salud en el año 2005. De 48 muestras de suero analizadas el 38.5% presentaron anticuerpos anti *Leptospira*, siendo los principales serogrupos identificados con un 38.89% *pyrogenes*; *canicola* 22.22%; *hebdomadis*, *Icterohaemorrhagiae* y *serjoe*. Asimismo encontró como resultado signos y síntomas similares entre Dengue y Leptospirosis como fiebre, dolor de cuerpo, escalofríos y dolor de cabeza.

Herrera y Pérez (2012) determinaron la seroprevalencia de la Leptospirosis Humana mediante la detección de anticuerpo anti *Leptospira* en los habitantes del asentamiento 15 de Enero en la ciudad capital, mediante el uso de MAT y ELISA IgG. De 119 muestras analizadas de pobladores de 6 a 85 años se determinó que el 30.3% de las personas presentaron anticuerpos anti *Leptospira*.

García (2012) estimó la presencia de anticuerpos anti-leptospira, las características socio-demográficas, los serovares circulantes y los posibles factores de riesgo asociados a la infección por *Leptospira spp*, en el asentamiento llamado Santo Domingo, donde participaron 90 personas y 43 personas del asentamiento Manuel Colom Argueta. La seroprevalencia en el asentamiento Santo Domingo con MAT fue de 74.4% y con ELISA fue de 79.0%. La obtenida en el asentamiento Manuel Colom Argueta con MAT fue de 77.78%, y con ELISA de 93.33% (García, Kestler, Castillo, Herrera y Pérez, 2013).

6. Reservorio de la infección

Los reservorios de la Leptospirosis son animales que mantienen una relación de comensales con las bacterias y no sufren o sufren muy levemente la enfermedad. Los portadores son aquellos animales que mantienen las leptospiras viables y con capacidad de multiplicarse en sus riñones, excretándolas intermitentemente por la orina; muchos de estos pueden tener serología negativa (Céspedes, 2005).

Los reservorios más importantes son mamíferos pequeños que pueden transmitir la infección a los animales domésticos y a los humanos. La transmisión depende de muchos factores como el clima, la densidad y el grado de contacto entre el reservorio y los hospederos accidentales (Céspedes, 2005).

Entre los más notables se pueden mencionar a: las ratas (*L. interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae*); los cerdos (*L. interrogans* serovar *pomona*); los bovinos (*L. interrogans* serovar *hardjo*); los perros (*L. interrogans* serovar *canicola*); los mapaches (*L. interrogans* serovar *autumnalis*); los caballos (*L. interrogans* serovar *Bratislava*) y los murciélagos (*L. interrogans* serovar *wolffi*) (Anexo 4) (Céspedes, 2005)

7. Mecanismos de transmisión

La transmisión al humano puede ocurrir a través del reservorio o bien de otro animal intermediario que se convierta en el hospedero accidental o incidental. Las leptospiras penetran en el hombre a través de la piel erosionada o mucosas sanas, al ponerse en contacto con agua, tierra húmeda o vegetación contaminada. Se difunde rápidamente y después de 48 horas se le encuentra en todos los humores y tejidos, con localización especial en riñón, hígado, corazón, meninges y músculo esquelético (Aroca, Accini, Pérez, Rodelo, y Dau, 2004).

La infección en humanos puede darse por contacto directo con orina, animales vivos, animales muertos, órganos de animales, pieles o placentas. Entre humanos la transmisión se puede dar sexualmente, transplacentaria o a través de lactancia materna. También las leptospiras pueden penetrar por inhalación o vía conjuntiva por dispersión de gotas de orina (Hartskeerl, 2006).

El contacto indirecto es la forma más frecuente de infección en donde hay un contacto con aguas superficiales, alimentos y suelos contaminados con orina cargada de leptospiras (Aroca et al., 2004).

8. Hallazgos patológicos y patogénicos

Después de la infección las leptospiras aparecen en la sangre, se distribuyen por todo el organismo incluyendo el Sistema Nervioso Central y el humor acuoso. Parece ser que existe tropismo por algunos órganos como el hígado, riñones, corazón y músculo esquelético (Laguna, 2000).

El poder invasivo de las leptospiras puede estar relacionado a su constitución, estructura química y antigénica. La participación directa del agente infeccioso parece, por lo tanto, desempeñar una función destacada en la génesis de la lesión celular, que comienza con

un fenómeno de adhesión específica y que se complementa con la invasión celular. Asociada a la agresión de las células parenquimatosas el endotelio capilar es lesionado con intensidad, probablemente por la acción de las citotoxinas (Gomarra, 2009).

a) Riñón

El compromiso renal puede manifestarse desde simples alteraciones del sedimento urinario hasta cuadros graves de insuficiencia renal aguda, la cual, es causada por efecto directo de la *Leptospira* sobre el tejido renal, la hipoxia o el depósito de complejos antígeno-anticuerpo-complemento en los glomérulos (Céspedes, 2005).

b) Hígado

La ictericia es la manifestación principal de las alteraciones hepáticas, que se debe a la disfunción hepatocelular, habitualmente sin necrosis o con ataque estructural leve. Sin embargo parecen importantes manifestaciones como las hemólisis, el daño hepatocelular y la colestasis intrahepática. Dentro de las alteraciones del mecanismo hepático se encuentra la disminución de los niveles de albúmina sérica, y de la producción de los factores dependientes de la vitamina K, incremento de los niveles de inmunoglobulinas, aumentos leves a moderados de las transaminasas y elevación en los valores de la fosfatasa alcalina (Boza, 1999; Céspedes, 2005; Laguna, 2000).

c) Aparato Cardiovascular

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. 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 (Gomarra, 2009).

d) Músculos

En los músculos, las alteraciones varían desde inclusiones vacuolares en las miofibrillas e infiltrado discreto de polimorfonucleares en el tejido muscular, acompañado de elevación importante de la enzima creatinfosfoquinasa (CPK). Los músculos voluntarios, en especial los de los miembros inferiores, presentan lesiones características que consisten en necrosis de fibras, vacuolización, hialinización e infiltrado inflamatorio (Céspedes, 2005).

e) Sangre y LCR

En la primera semana, las leptospiras se pueden encontrar en sangre y LCR, sin ocasionar síntomas neurológicos. Después de la primera semana, aparecen los anticuerpos en sangre y coinciden con el desarrollo de meningitis, no encontrándose leptospiras en el LCR, lo cual sugiere daño inmunológico (Céspedes, 2005).

9. Manifestaciones clínicas

La Leptospirosis es típicamente una enfermedad bifásica, presentándose una fase inicial o de leptospiremia con una duración de 4 a 7 días caracterizada por la presencia de las leptospiras en sangre y una segunda fase inmune o leptospiurica con una duración de 8 a 30 días donde se pueden detectar anticuerpos específicos en circulación (Céspedes, 2005).

a) Leptospirosis anictérica o benigna

En esta forma clínica se observa un desarrollo bifásico, la primera fase (leptospiremica) comienza de forma abrupta con cefalea intensa y persistente que puede ser frontal o dolor retroauricular, mialgias, escalofríos y dolor abdominal, náuseas y vómitos. La fiebre es de carácter remitente alcanzando 40°C o más. Son muy pocos los pacientes que pasan a la segunda fase (fase inmune) caracterizada por fiebre ligera, cefalea intensa y señal de meningitis sin signos neurológicos (Céspedes, 2005).

La gravedad de las manifestaciones clínicas se evidencia por la presencia de melena o enterorragia. En esta fase se encuentra a *Leptospira* en líquido cefalorraquídeo (LCR) y sangre (García et al., 2013).

b) Leptospirosis icterica o síndrome de Weil

Es la forma más grave de la enfermedad caracterizada por las alteraciones de la función hepático y renal, desarrollo de hemorragias, colapso vascular, alteraciones graves de la conciencia y una mortalidad de aproximadamente 5-40%. El inicio de la enfermedad es similar a la forma anictérica pero al cabo de 3 a 6 días de evolución los síntomas alcanzan su máxima intensidad. La ictericia no está asociada con una necrosis hepatocelular, resulta por aumento de la bilirrubina directa (Céspedes, 2005).

Se presenta un incremento de las transaminasas hasta cinco veces por arriba del valor normal. En pacientes graves se puede presentar tos, disnea y hemoptisis. El compromiso renal es variable, pudiendo presentar sólo albuminuria y hematuria, así como insuficiencia renal grave con oliguria progresiva, deshidratación hasta llegar a anuria (García et al., 2013).

10. Mecanismos de defensa inmune

La participación de la respuesta inmune frente a la presencia de *Leptospira* es de tipo humoral y se encuentra dirigida al serovar infectante; de ahí que la participación de anticuerpos específicos facilita la fagocitosis de la bacteria. Sin embargo, la formación de complejos inmunes agrava el padecimiento, ya que éstos llevan a un proceso inflamatorio, como se ha referido que ocurre en el Sistema Nervioso Central. Existen datos que apoyan evidencias de reacción cruzada de anticuerpos contra el tejido ocular, antiplaquetarios, anticardiolipina. Se ha descrito la participación de esta bacteria en la apoptosis de linfocitos vía inducción del factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF- α), este último se registra elevado en pacientes con Leptospirosis (García et al., 2013).

11. Métodos de diagnóstico

El diagnóstico clínico debe ser confirmado por medio de pruebas de laboratorio, ya que los signos y síntomas en esta infección son frecuentemente atípicos. Entre las pruebas se incluyen técnicas serológicas para la detección de anticuerpos; cultivo y observación de la bacteria a partir de sangre, orina, LCR y tejidos; detección de antígenos en tejidos y biología molecular (García et al., 2013).

a) Métodos directos

- i. **Cultivo:** Se debe considerar la fase en que se encuentra la infección. Por lo general, durante la fase aguda, la bacteria se localiza en circulación durante los primeros siete a 10 días de la enfermedad, momento adecuado para realizar el muestreo y cultivo de sangre heparinizada. Los medios de cultivo empleados son los siguientes: medio líquido de Ellinghause y McCullough modificado por Johnson y Harris (EMJH), suplementado con Tween80/albúmina y 5-fluorouracilo, medio de Korthof-Babudieri, medio de Fletcher, etcétera. El cultivo debe incubarse a 30 °C en la obscuridad (García et al., 2013).

- ii. **Observación de Leptospira mediante microscopio de campo oscuro:** Se realiza a partir de muestra clínica: sangre, orina; biopsia hepática, de riñón y pulmón; muestra de LCR durante la fase aguda de la enfermedad (García et al., 2013).
- iii. **Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR):** Técnica altamente sensible, los blancos a amplificar son segmentos del ARNr 16S, 23S, genes secY y flaB, así como secuencias de inserción. Con el empleo de iniciadores específicos y la detección del producto amplificado, se realiza por electroforesis en geles de agarosa, teñidos con bromuro de etidio, el uso de sondas específicas, marcadas para hibridar el segmento amplificado, incrementan la sensibilidad de la PCR. El producto es sometido al tratamiento con enzimas de restricción, que en algunos casos permite la diferenciación de cepas patógenas de no patógenas (García et al., 2013).

b) Métodos indirectos

- i. **Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT):** es considerada la prueba de referencia. Para su realización se emplea suero problema a diferentes diluciones, cultivo de diversas cepas de referencia de Leptospira, así como microscopio de campo oscuro para evaluar el grado de la aglutinación. Esta prueba permite determinar el o los serogrupos responsables del proceso infeccioso y el título del suero para cada antígeno probado. Tiene excelente especificidad, pero menor sensibilidad. Títulos a partir de 1:80 son considerados sospechosos de Leptospirosis. Para su confirmación se requiere de una segunda muestra (no antes de dos semanas posteriores) en la cual el título debe aumentar cuatro veces más que el inicial (García et al., 2013).
- iv. **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 polietileno, seguido de la remoción del suero residual, procedido por la adición del conjugado antihumano ligado a una enzima, un sustrato y un cromógeno, esto hace que el sustrato sea hidrolizado por las enzimas y el cromógeno varíe de color, siendo directamente proporcional a la concentración de anticuerpos anti-leptospira presente en la muestra (Laguna, 2000).

- ii. **Hemaglutinación indirecta (HAI):** Determina anticuerpos totales (IgM e IgG), permitiendo diferenciar infecciones recientes y pasadas. Posee una sensibilidad del 92% y una especificidad del 95% siendo una prueba de gran ayuda en infecciones recientes, recomendada por el Centro de Control de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) en Atlanta para el uso en un laboratorio clínico, por su fácil manejo y bajo costo (Perret et al., 2005).

12. Tratamiento

Éste se encuentra dirigido principalmente a realizar una terapia de soporte, corrección del desequilibrio hidroelectrolítico y ácido-básico, sobre todo en las formas graves del padecimiento. El tratamiento antimicrobiano se debe iniciar lo más temprano posible, ya que se encuentra orientado a controlar la infección antes de que se presente daño irreparable en el organismo (García et al., 2013).

En los casos leves a moderados, cuando se tolera la vía oral, puede emplearse doxiciclina (100 mgc/12 hs.), ampicilina (500-750 mgc/6 hs.) o amoxicilina (500 mg cada 6 horas). Mientras que en los casos moderados a severos, el paciente debe internarse para la administración de penicilina G (1.5 millones de unidades cada 6 horas) o ampicilina (500-1.000mg cada 6 horas) en forma endovenosa durante 7 días. El sostén hemodinámico es esencial en las formas graves, para corregir complicaciones como la insuficiencia renal, la hipotensión y las hemorragias. La hemodiálisis puede requerirse en casos de insuficiencia renal grave y sostenida (Caíno, Scaglia, Curcio, y Siquiroff, 2006).

B. Dengue

1. Generalidades

El Dengue es una enfermedad infecciosa aguda causada por el virus del Dengue y transmitida al hombre por el piquete de la hembra del mosquito hematófago *Aedes* de la especie *aegypti*, su principal vector (Guzmán, García y Kourí, 2006).

Es conocida como la arbovirosis humana más importante en el mundo y actualmente se estima que entre 50 y 100 millones de casos ocurren cada año. Durante las últimas décadas, en América Latina se ha registrado el más dramático incremento en la actividad

del Dengue, especialmente en Brasil, Colombia, Cuba, Ecuador, Perú y Venezuela (Guzmán et al., 2006).

El Dengue presenta un amplio espectro de enfermedad que va desde los casos inaparentes hasta las formas graves, conocidas como fiebre hemorrágica del dengue (FHD) y síndrome de choque del Dengue (SCD). Debido a esto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha propuesto una definición de caso presuntivo, según la cual, un caso de síndrome febril agudo debe considerarse como Dengue cuando el paciente presente fiebre asociada con dos o más de las siguientes manifestaciones: cefalea, dolor retro-ocular, mialgias, artralgias, exantema, manifestaciones hemorrágicas y leucocitopenia; lo que ha mejorado la sensibilidad en la detección de casos aparentes de Dengue (Díaz, Martínez y Villar, 2006).

2. Agente etiológico

El virus del Dengue (DENV) es un arbovirus y pertenece al género *Flavivirus* familia *Flaviviridae*. Presenta cuatro serotipos conocidos como DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4; para los cuales se ha descrito una homología de secuencia de un 70% aproximadamente. Esta homología es mayor para DEN-1, DEN-2 y DEN-3, no así para DEN-4, el cual parece diferir en su origen evolutivo (Rivera y Pérez, 2010).

Similares a los otros flavivirus, los viriones del Dengue están constituidos por un genoma de ARN rodeado por una nucleocápside de simetría icosaédrica, de 30 nm de diámetro, la cual, está constituida por la proteína C y una envoltura lipídica de 10 nm de grosor. El virión completo mide alrededor de 50 nm de diámetro, y posee una forma esférica. La bicapa lipídica tiene 2 proteínas asociadas, una de membrana (M) y otra de envoltura (E), que da lugar a las proyecciones que sobresalen de la superficie de los viriones. Las partículas virales que son liberadas al medio extracelular no pueden distinguirse de las que se encuentran en las vesículas intracelulares. Estas últimas, las partículas inmaduras, contienen exclusivamente la proteína precursora prM sin procesar, y son menos infecciosas que las que son liberadas (Montes, 2001).

La organización genómica está constituida aproximadamente de 10,250 nucleótidos, donde se encuentran codificadas 10 proteínas virales. Todas las proteínas del virión se derivan de una poliproteína precursora de gran tamaño, por procesamiento proteolítico

cotraduccional y postraduccional, en donde, el virión maduro se compondrá de 3 proteínas estructurales; C: la proteína de la nucleocápside o núcleo; M: la proteína asociada a la membrana; y E: la proteína de la envoltura y 7 proteínas no estructurales (Montes, 2001).

3. Epidemiología y distribución mundial

El término "Dengue" se originó en América entre 1827 y 1828, a raíz de una epidemia en el Caribe que cursaba con fiebre, artralgias y exantema. Los esclavos provenientes de África identificaron a esta entidad patológica como dinga o dyenga que significa ataque repentino (calambre o estremecimiento) provocado por un "espíritu malo" (Maguiña, Osore, Suárez, Soto, y Pardo, 2005).

En el período de 1960 a 1980 se documentaron epidemias en el Caribe con el serotipo 3 (1962-1963), los serotipos 2 y 3 (1968–1969) y el serotipo 1 (1977–1978). Aunque la epidemia con el serotipo 1 comenzó en Jamaica, pronto se extendió a otras islas caribeñas, América Central y América del Sur, acompañada de la “desaparición” del serotipo 3, cuyos últimos aislamientos se detectaron en Puerto Rico y Colombia ese mismo año (Guzmán et al., 2006).

La década de 1980 representó un cambio en la historia del Dengue. En 1981 se documentó en Cuba la primera epidemia de DH en la Región, causada por el serotipo 2 de un genotipo asiático. Durante esta epidemia se notificaron más de 300,000 casos, de ellos más de 10,000 graves o muy graves. Además, fallecieron 158 enfermos, entre ellos 101 niños. En el mismo año se produjo también la introducción en la Región del serotipo 4, aislado primero en algunos países caribeños y luego en una gran parte de los países de América Latina y el Caribe (Guzmán et al., 2006).

Según la OPS, en noviembre de 2005, 27 países habían notificado casos de Dengue y en 14 de ellos circulaban dos o tres serotipos simultáneamente (Guzmán et al., 2006).

4. Estudios Relacionados con diagnóstico de vigilancia de Dengue en Guatemala, donde se encontraron positividad para Leptospirosis

En el año 2004 se realizó un estudio en donde se mostró el diagnóstico diferencial de Leptospirosis humana y Dengue de pacientes con enfermedad febril referidos al

Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del área de Salud de Escuintla. Se utilizó para el estudio la detección de anticuerpos IgM anti-leptospira y anti-dengue, obteniendo de 84 muestras; 14 positivas para Dengue y 10 para *Leptospira*, concluyendo que los habitantes de Escuintla son vulnerables a presentar Dengue y Leptospirosis humana (Estrada, 2004).

En el año 2010 se realizó un estudio que tuvo como objetivo determinar la presencia de anticuerpos anti-leptospira en muestras serológicas de pacientes con sintomatología sugestiva de Dengue con serología negativa, de los Hospitales Roosevelt y San Juan de Dios referidos al Laboratorio Nacional de Salud en el año 2005, de las cuales 38.5% presentaron anticuerpos anti-leptospira (Barrios, 2010).

5. Reservorio de la infección

Los vectores del Dengue son los mosquitos del género *Aedes* y la especie más importante en la transmisión es *Aedes aegypti*. Así mismo *Aedes albopictus* es de importancia epidemiológica en Brasil y es quien mantiene la enfermedad en Asia y ha sido introducido en América difundándose en varios países (Chiparelli y Schelotto, 2005).

Este género está extensamente distribuido dentro de los límites de las latitudes 40°N y 40°S y es altamente susceptible a temperaturas extremas y climas cálidos secos. Los adultos pierden actividad por desecación o por debajo de 12-14°C. Los huevos pueden soportar la desecación durante un año y eclosionar tras unos 4 días de humedad. La fuente de infección y el reservorio vertebrado es el hombre. El virus del Dengue persiste en la naturaleza gracias al ciclo de transmisión hombre - *Aedes aegypti*- hombre (Chiparelli y Schelotto, 2005).

6. Mecanismos de transmisión

La transmisión del Dengue es llevada a cabo mediante vectores, el cual, es conocido como el mosquito hematófago *Aedes aegypti*. El mosquito inicia el proceso de transmisión mediante la picadura de su reservorio vertebrado “el hombre”, de preferencia en las primeras horas de la mañana y al final de la tarde. Este mosquito infectado transmite la enfermedad mediante el ciclo anteriormente mencionada de *hombre- Aedes aegypti- hombre* (OMS/TDR, 2009).

El virus se multiplica en el epitelio intestinal del mosquito hembra infectado, ganglios nerviosos, cuerpo graso y glándulas salivales. El mosquito permanece infectado y asintomático toda su vida, que puede ser de semanas o meses en condiciones de hibernación. Luego de 7 a 14 días "tiempo de incubación extrínseco" puede infectar al hombre por una nueva picadura (OMS/TDR, 2009).

El tiempo intrínseco de transmisibilidad corresponde al de la viremia de la persona infectada. Comienza un día antes del inicio de la fiebre y se extiende hasta el sexto u octavo día de la enfermedad (OMS/TDR, 2009).

7. Hallazgos patológicos y patogénicos

Esta enfermedad normalmente causa una infección auto-limitada, algunos pacientes pueden desarrollar una enfermedad potencialmente mortal, el Dengue Hemorrágico (DH) Síndrome de choque por Dengue (SCD) (Corrales y Hun, 2012).

Existen varias hipótesis sobre la patogénesis del DH/SCD en individuos infectados con el virus del Dengue; estas incluyen patogénesis dependiente de anticuerpos, patogénesis mediada por células T, fenómeno de tormenta de citoquinas, antecedentes genéticos, la diferencia entre tipos del virus, cantidad de virus en circulación durante la fase aguda y el estado nutricional de los individuos infectados (Pérez, Villanueva, Salinas, Enríquez y Pérez, 2013).

a) Linfocitos T

La reactivación de células T de memoria que reaccionan con serotipos heterólogos, pueden proveer inmunidad parcial. Sin embargo, también pueden ser la causa de inmunopatología. El hallazgo patológico de daño tisular se da como resultado de citólisis o inflamación, inducido por un número elevado de células T efectoras (Corrales y Hun, 2012).

b) Respuesta del sistema inmune

La infección por el virus del Dengue ocurre por la picadura de un mosquito a través de la epidermis y dermis. De esta manera, las células infectadas son las células inmaduras de Langerhans (células dendríticas epidermales) y los queratinocitos. Las células infectadas migran del sitio de la infección hacia los nódulos linfáticos, donde se

reclutan los macrófagos y monocitos que se convierten en el blanco de la infección (Bacallao y Quintana, 2013).

El virus se disemina a través del sistema linfático; como resultado de esta primera viremia, se obtiene una población de células de linaje mononuclear como monocitos, células dendríticas (CD) mieloides y macrófagos de hígado y bazo infectados. Además, durante las infecciones secundarias con el virus del Dengue heterólogos, se observa una alta concentración de complejos del nuevo virus con inmunoglobulina G (IgG). Estos inmunocomplejos son fagocitados por células mononucleares. La mayoría de estas células muere por apoptosis, mientras que las CD cercanas son estimuladas y producen la mayoría de los mediadores relacionados con los procesos de respuesta inflamatoria y hemostática del hospedero (Bacallao y Quintana, 2013).

c) Hígado

Se han reportado casos de hepatitis con presentación de necrosis, esteatosis y cuerpos de Councilman (células apoptóticas) asociados al virus del Dengue. Además, la tendencia a la gravedad se ha vinculado con la elevación de enzimas hepáticas. Aunque, el virus ha sido detectado en una población significativa de hepatocitos y células Kupffer, no se evidencia inflamación en el hígado. Esto sugiere que la apoptosis y la necrosis observadas son directamente causadas por el virus y no por mediadores inflamatorios. La prevalencia de apoptosis es mucho mayor que la necrosis y esto podría explicar la poca inflamación observada en la zona (Corrales y Hun, 2012).

d) Células endoteliales (CE)

La CE que revisten los vasos capilares está regulada por muchos factores que además desempeñan un papel importante en la respuesta de la coagulación en casos de inflamación severa. Por lo tanto, las CE de sitios pulmonares y abdominales podrían reaccionar de una manera específica ante la infección por DENV, lo que explicaría el síndrome de derrame vascular característico de FHD/SSD. Se presenta apoptosis selectiva de las células endoteliales de la microvasculatura en tejidos pulmonares y abdominales, especialmente en casos fatales, lo que explicaría el intenso derrame vascular observado en pleura y cavidades peritoneales (Corrales y Hun, 2012).

e) Alteraciones en la sangre

Las hemorragias en el Dengue son un fenómeno multicausal: diapedesis, trombocitopenia, alteración de los mecanismos de la coagulación y otros. Se puede determinar trombocitopenia cuando los virus se fijan o adsorben a las plaquetas provocando su agregación o degranulación, lo cual puede conducir a trombosis intravascular con depleción de las plaquetas y factores de coagulación (Estrada, 2004).

f) Miocardio

Actualmente, se reconoce un componente inmunológico en casi todas las miocarditis producidas por virus, lo cual podría ser el caso de las encontradas en el Dengue. Tempranamente durante la fase aguda, los antígenos virales se expresan en la superficie de la célula miocárdica y se convierten en dianas de monocitos y macrófagos, los cuales se adhieren y liberan mediadores, así como de linfocitos T citotóxicos que producen daño miocárdico. También se produce activación del complemento a partir de los complejos virus-anticuerpos, que contribuyen a la destrucción celular (Estrada, 2004).

8. Manifestaciones clínicas

La infección por Dengue es una enfermedad sistémica y dinámica con un amplio espectro clínico. Después del período de incubación, la enfermedad comienza abruptamente y le siguen tres fases de evolución: la febril, la crítica y la de convalecencia (Anexo 1). (OMS/TDR, 2009).

a) Fase febril

La fase febril aguda dura de 2 a 7 días y a menudo está acompañada de rubor facial, eritema de la piel, dolor corporal generalizado, mialgias, artralgias y cefalea. También son comunes la anorexia, las náuseas y el vómito. En la fase febril temprana, puede ser difícil el distinguir clínicamente el dengue de otras enfermedades febriles que no tienen relación alguna con el dengue (Martínez, 2014).

b) Fase crítica

Alrededor del momento de la disminución de la fiebre, cuando la temperatura cae a 37,5°C o 38°C o menos y permanece por debajo de este valor, usualmente en los días 3 a 7 de la enfermedad, se puede presentar un aumento en la permeabilidad capilar junto con mayores valores del hematocrito y piel fría ocasionada por una hipotensión arterial.

Esto marca el inicio de la fase crítica junto con vómitos frecuentes y dolor abdominal. (Martínez, 2014).

Existe un período de extravasación de plasma que dura generalmente entre 24 y 48 horas. La leucopenia progresiva seguida de una rápida disminución del número de plaquetas. El derrame pleural y la ascitis se pueden detectar clínicamente dependiendo del grado de extravasación de plasma y del volumen de reemplazo de líquidos. Por tanto, la placa de tórax y el ultrasonido abdominal pueden ser herramientas útiles para el diagnóstico (OMS/TDR, 2009).

c) Fase de recuperación

Si el paciente sobrevive a la fase crítica de 24 a 48 horas, en las siguientes 48 a 72 horas tiene lugar una reabsorción gradual de los líquidos del compartimiento extravascular. Mejora el bienestar general, regresa el apetito, disminuyen los síntomas gastrointestinales, se estabiliza el estado hemodinámico y se presenta diuresis (OMS/TDR, 2009).

El hematocrito se estabiliza o puede ser menor debido al efecto de dilución de los líquidos reabsorbidos. El conteo de leucocitos generalmente comienza a subir inmediatamente después de la disminución de la fiebre, aunque la recuperación del número de plaquetas generalmente es posterior al del número de leucocitos (Martínez, 2006; Martínez, 2014).

d) Dengue Hemorrágico (DH)

El cambio fisiopatológico principal que determina la gravedad de la enfermedad y lo distingue del Dengue clásico es la presencia de hemoconcentración debida a la fuga de plasma al espacio extravascular por aumento en la permeabilidad en los vasos sanguíneos. Dicha hemoconcentración se manifiesta por hematocrito elevado y con frecuencia por la presencia de hemorragias y la extravasación de líquidos (Pérez et al., 2013).

Otros resultados comunes son hipoproteinemia, hiponatremia y niveles ligeramente elevados de aspartatoaminotransferasa sérica. En los pacientes con choque prolongado es frecuente la acidosis metabólica, mientras que en la fase terminal de estos casos suele

encontrarse un aumento del nitrógeno ureico en sangre. Las radiografías de tórax muestran derrames pleurales, por lo general del lado derecho, como hallazgos frecuentes. El shock suele darse entre el tercer a octavo día de evolución de la enfermedad, por lo general al quinto día. La duración del shock es usualmente corta y el paciente puede morir dentro de las 8 a 24 horas. La recuperación generalmente es rápida si se practica una terapia de sostén antishock adecuada antes de que el estado de shock se haya dado plenamente (Hoyos y Pérez, 2010).

9. Mecanismos de defensa inmune

La susceptibilidad es universal. Aunque todos los serotipos pueden estimular la formación de anticuerpos grupo y tipo específicos, la inmunidad inducida por un serotipo es poco protectora contra otro serotipo, mientras que es permanente para el serotipo que causó la infección. La respuesta inmunológica frente a la infección aguda por Dengue puede ser primaria o secundaria. En individuos no expuestos previamente al virus del Dengue los títulos de anticuerpos aumentan lentamente no siendo muy elevados (Chiparelli y Schelotto, 2005).

Los anticuerpos IgM son el primer isotipo de inmunoglobulina en aparecer. Estos anticuerpos se pueden detectar en 50% de los pacientes alrededor de los días 3 a 5 después de la aparición de la enfermedad, y aumentan a 80% para el día 5 o a 99% para el día 10. Los niveles de IgM alcanzan el pico, aproximadamente, dos semanas después de la aparición de los síntomas y luego declinan a niveles no detectables durante dos a tres meses. Durante una infección secundaria de Dengue, los títulos de anticuerpos se elevan rápidamente. La IgG es el isotipo de inmunoglobulina que predomina, es detectable a niveles altos, aun en la fase aguda, y persiste por períodos que duran de 10 meses a toda la vida (OMS/TDR, 2009).

10. Métodos de diagnóstico

El diagnóstico del laboratorio es esencial para la confirmación del Dengue. Después de la aparición de la enfermedad, el virus se puede detectar durante cuatro a cinco días en el suero, el plasma, las células sanguíneas circulantes y otros tejidos (OMS/TDR, 2009).

a) Aislamiento del virus

Para la técnica del aislamiento del virus se deben obtener las muestras al principio del curso de la infección, durante el período de la viremia (generalmente, antes del día 5). El virus se puede recuperar de suero, plasma y células mononucleares de sangre periférica (OMS/TDR, 2009).

La línea celular del mosquito C6/36 (clonada de *Aedes albopictus*) ó AP61 (línea celular de *Aedes. pseudoscutellaris*) son las células huésped preferidas para el aislamiento de rutina del virus del Dengue. También, se pueden usar varios cultivos celulares de mamíferos, tales como VERO, LLCMK2 y BHK21, pero son menos eficientes (OMS/TDR, 2009). Después de la inoculación se obtienen evidencias de replicación viral alrededor del día cinco o siete. Al aislarse una muestra se identifica al virus del Dengue usando anticuerpos monoclonales o alternativamente mediante pruebas de fijación de complemento (Cabezas, 2005).

b) Detección de ácido nucleico

- i. **Transcripción reversa – reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR):** El principio fundamental es la amplificación de un fragmento específico de ADN, por medio de ciclos sucesivos de multiplicación exponencial, hasta llegar a obtener una cantidad adecuada del producto, el cual puede ser visualizado por electroforesis. En este diseño, los serotipos del Dengue se identifican por el tamaño de sus bandas (Acosta y Gómez, 2005).

Ofrece mayor sensibilidad en comparación con el aislamiento viral, en un tiempo mucho más rápido. La sensibilidad de los métodos RT-PCR varía de 80% a 100% y depende de la región del genoma seleccionado por los cebadores, el método usado para amplificar o detectar los productos PCR y el método empleado para los subtipos (OMS/TDR, 2009).

- ii. **RT-PCR en tiempo real:** La prueba de RT-PCR en tiempo real es un sistema de ensayo de un solo paso que se utiliza para cuantificar el ARN viral y que emplea pares de cebadores y sondas que son específicos para cada uno de los serotipos del Dengue. El uso de una sonda fluorescente permite la detección de los productos de la reacción en tiempo real, en una máquina de PCR especializada, sin necesidad de electroforesis. La RT-PCR en tiempo real puede ser

“singleplex”, es decir, solo detectan un serotipo a la vez, o “multiplex”, es decir, son capaces de identificar los cuatro serotipos en una sola muestra (OMS/TDR, 2009).

- iii. **Métodos de amplificación isotérmica:** La prueba de Amplificación Basada en la Secuencia del Ácido Nucleico (NASBA, por sus siglas en inglés) es un ensayo de amplificación isotérmica específica del ARN que no requiere instrumentación de ciclos térmicos. La etapa inicial es una transcripción inversa en la cual el objetivo de ARN de una sola cadena es copiado a una molécula de ADN doble cadena que sirve como una plantilla para la transcripción del ARN. La detección del ARN amplificado se logra mediante electroquimioluminiscencia o, en tiempo real, con sondas moleculares fluorescentes (OMS/TDR, 2009).

c) Detección de antígenos

Nuevos avances en ELISA y técnicas de hibridación en punto mancha dirigidos al antígeno de la envoltura y membrana y la proteína 1 no estructural (NS1), demostraron que se pueden detectar altas concentraciones de antígenos en forma de complejos inmunitarios tanto en casos de infección primaria como secundaria, hasta nueve días después de la aparición de la enfermedad. La glucoproteína NS1 es producida por todos los flavivirus y secretada por las células de mamíferos; produce una respuesta humoral muy fuerte y su rendimiento y utilidad están siendo actualmente evaluados por diferentes laboratorios a escala mundial (OMS/TDR, 2009).

d) Pruebas serológicas

- i. **MAC-ELISA:** La IgM total en los sueros de los pacientes se captura mediante anticuerpos específicos para la cadena anti-específicos para IgM humana revestidos en un microplato. Los antígenos específicos del dengue, de uno a cuatro serotipos, están ligados a los anticuerpos IgM anti-dengue capturados y son detectados mediante anticuerpos monoclonales o policlonales del Dengue, directa o indirectamente conjugados con una enzima que transforma un substrato sin color en productos con color. La densidad óptica se mide mediante espectrofotómetro (OMS/TDR, 2009).
- ii. **ELISA IgG:** La prueba ELISA IgG se usa para la detección de infecciones por Dengue recientes o pasadas. Esta prueba usa los mismos antígenos que la

prueba MAC-ELISA. El uso de ELISA para la captura de IgG (GAC) específico para envoltura y membrana permite la detección de anticuerpos IgG durante un período de 10 meses después de la infección (OMS/TDR, 2009).

- iii. **Prueba de inhibición de la hemaglutinación:** Algunos antígenos virales tienen capacidad para aglutinar eritrocitos de diversas especies, sin embargo la presencia de anticuerpos específicos en el suero del paciente evitan la aglutinación de los eritrocitos por tales antígenos; cuando esto ocurre se evidencia la presencia de anticuerpos. El virus del Dengue aglutina a eritrocitos de ganso y humanos del grupo O. Producto de la infección del virus se forman anticuerpos que se unen al virus e inhiben la hemaglutinación. El título de un suero es considerado como la última dilución donde se inhibe la hemaglutinación (Acosta y Gómez, 2005).

e) Pruebas hematológicas

El número de plaquetas y el hematocrito se miden frecuentemente durante las etapas agudas de la infección por Dengue, en donde se puede observar una caída por debajo de 100,000 por litro en el conteo de plaquetas, pero esta es una característica constante en la fiebre por Dengue Hemorrágico. La hemoconcentración, calculada por un aumento del 20% o más en el hematocrito en comparación con los valores de la fase de convalecencia, sugiere hipovolemia debido al aumento de la permeabilidad vascular y extravasación de plasma (OMS/TDR, 2009).

11. Diagnóstico diferencial

La fiebre del Dengue puede confundirse fácilmente con enfermedades no relacionadas con el Dengue, especialmente en situaciones no epidémicas. Según el origen geográfico del paciente, se deben descartar otras causas, incluyendo infecciones por flavivirus no relacionadas con el Dengue. Éstas incluyen Chikungunya, Zika, fiebre amarilla, encefalitis de Saint Louis, y Nilo Occidental; alfavirus (tales como Sinbis y Chikungunya), y otras causas de fiebre tales como malaria, Leptospirosis, fiebre tifoidea, enfermedades por rickettsias, sarampión, enterovirus, influenza y enfermedades con síntomas similares (Anexo 2) (OMS/TDR, 2009).

12. Tratamiento

Hasta el momento no existe tratamiento antiviral específico. El tratamiento de las formas no complicadas, se debe indicar reposo, mantener hidratado al paciente y administrar paracetamol. (Acosta y Gómez, 2005).

En la fase crítica cuando el paciente muestra una elevación progresiva del hematocrito es el momento de comenzar la rehidratación energética por vía intravenosa, para prevenir el choque y la disminución de la presión arterial. Si ya están presentes los signos de choque e hipotensión arterial se deben administrar albúmina humana, gelatinas y otros coloides en bajas concentraciones hasta la disminución arterial y continuar con la rehidratación (Martínez, 2006).

V. JUSTIFICACIÓN

Se estima que entre 50 y 100 millones de casos de Dengue ocurren cada año (OMS/TDR, 2010); mientras la Leptospirosis según la OMS y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y la International Leptospirosis Society Inc. (ILS) está considerada como la zoonosis de mayor difusión en el mundo, ocasionando cada año entre 300,000 y 500,000 nuevos casos (Castro, 2010). En Guatemala según el Centro Nacional de Epidemiología la prevalencia de Leptospirosis en el año 2,012 fue de 6%.

Estas enfermedades están asociadas directamente con la falta de políticas preventivas de salud pública, deterioro en los sistemas de servicio de agua, su almacenaje inadecuado, condiciones precarias de vivienda, clima subtropical y tropical húmedo. El número de casos incidentes aumenta cada año, se les considera por ello, entre las principales enfermedades reemergentes de mayor impacto en la salud pública de los países Latinoamericanos.

En Guatemala un estudio realizado en el año 2010 determinó que de 48 muestras serológicas analizadas provenientes de pacientes que asistieron a los Hospitales Nacionales Roosevelt y San Juan de Dios en el año 2005 con una sintomatología sospechosa de Dengue pero con un diagnóstico final negativo, presentaron anticuerpos anti *Leptospira* en una proporción del 38.5% equivalentes a 18 pacientes, demostrando asimismo una similitud en los signos y síntomas presentes en los casos sospechosos de Dengue y Leptospirosis siendo estos fiebre, dolor de cuerpo, escalofríos y dolor de cabeza (Barrios, 2010).

Por la elevada positividad encontrada en dicho estudio y por la compleja diferenciación entre las manifestaciones clínicas y tomando en cuenta los factores climáticos y socioeconómicos antes mencionados, es importante llevar a cabo la caracterización de Leptospirosis efectuando la detección de anticuerpos anti-*Leptospira* en las muestras serológicas de pacientes que mostraron un cuadro clínico sospechoso de Dengue pero con una serología negativa, así como la asociación de algún factor de riesgo y la verificación de los signos y síntomas frecuentes en esta enfermedad.

VI. OBJETIVOS

A. General

Seroprevalencia de Leptospirosis en pacientes hospitalizados con serología negativa de Dengue.

B. Específicos

1. Describir las características demográficas de pacientes hospitalizados con serología negativa de Dengue y seropositivos a Leptospirosis.
2. Determinar la asociación de algún factor de riesgo relacionado a la presencia de anticuerpos anti-leptospira.
3. Caracterizar el cuadro clínico de Leptospirosis a través de los signos y síntomas registrados en la ficha epidemiológica de Dengue y confirmados con la prueba de ELISA IgM y MAT.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

1. Población

1,278 muestras de la Vigilancia Epidemiológica de Dengue en Guatemala del Laboratorio Nacional de Salud de los años 2012 y 2013, de pacientes hospitalizados con un cuadro clínico sospechoso de Dengue y con un diagnóstico final negativo, establecido con pruebas serológicas.

2. Muestra

152 muestras, 73 del año 2012 y 79 del año 2013.

B. Recursos

1. Humanos

a) Seminaristas

- Br. María Fernanda Barrios Yong.
- Br. Wendy Paola Meléndez Mendoza.
- Br. Josselyn Mária Divasi King.

b) Asesores

- Licda. Leticia Castillo (*Coordinadora*).
- Licda. María Luisa García de López.

2. Institucionales

- Laboratorio Nacional de Salud, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.
- Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

3. Físicos

a) Equipo

- Cabina de Bioseguridad
- Congelador -20 °C
- Incubadora para 30 °C
- Microscopio óptico de campo oscuro
- Refrigerador 4 °C

- Minicentrífuga
- Vortex
- Sistema de lavado para microplaca
- Lector de ELISA de microplaca con filtro de 450nm
- Computadora
- Impresora

b) Materiales de Laboratorio

- Guantes de Látex
- Desinfectante
- Tubos de vidrio con tapas de rosca 16 x 125
- Pipetas de vidrio 1 mL, 5 mL, y 10 mL
- Pipeteador o auxiliar de pipeteado
- Micropipetas 1 canal de 2 a 20 μ L, de 20 a 200 μ L y 200 a 1,000 μ L
- Micropipetas 12 canales de 5 a 50 μ L y de 50 a 300 μ L
- Láminas portaobjetos
- Placas de 96 pocillos fondo plano o en U
- Puntas amarillas y Puntas azules
- Viales de 1.5 ml
- Gradillas
- Dispensadores o canales
- Tapas de tiras ópticas
- Tubos para minicentrífuga estériles, libres de nucleasa de 1.5 ml

c) Reactivos

- Kit ELISA PANBIO® para la determinación de Anticuerpos IgM contra *Leptospira* en suero humano
- Medio de cultivo selectivo para leptospiras (medio EMJH mas suplemento o Medio Korthof más suero fresco de conejo)
- Cloruro de sodio
- Cloruro de potasio
- Fosfato di-básico de sodio
- Fosfato de potasio

C. Métodos

1. ELISA IgM Leptospira

a) Procedimiento de la Prueba

- Todos los reactivos se debieron encontrar a temperatura ambiente antes de empezar la prueba.
- Se retiró el papel del número de micro celdas que se utilizaron y se insertó en el sostenedor de tiras.
- Se utilizaron tubos de ensayo, se diluyó el control negativo, el control de reactivo, calibrador y la muestra del paciente.
- A 5 uL de suero se agregó 500 uL de diluyente de muestra, Se agitó.
- A 10 uL de suero se agregó 90 uL de diluyente.
- Se tomó 20 uL de la dilución del suero y se agregó 180 uL de diluyente de muestra. Se agitó.
- Se agregó 100 uL de muestra del paciente diluida a las microceldas.
- Se incubó el plato por 30 minutos a 37°C.
- Se realizaron 6 lavados con el Buffer de lavado.
- Se tomaron 100uL de Conjugado HRP, anticuerpo IgM y se agregaron a las celdas.
- Se incubó por 30 minutos a 37°C.
- Se realizaron 6 lavados con el Buffer de lavado.
- Se agregó 100uL de TMBen cada celda.
- Se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).
- Se agregaron 100uL de Solución Stop en las celdas. Y se agitó.

b) Cálculos

- Se realizó el cálculo de la absorbancia por triplicadode los calibradores y multiplicarlo por el factor de calibración. Este fue el valor de Cut-off.
- El valor del índice fue calculado por la división de la absorbancia de la muestra por el Valor calculado de Cut-off.

2. Elaboración de medios de cultivo

a) 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 121 °C y se enfrió hasta temperatura ambiente.
- Posteriormente se agregó de forma aséptica el suplemento en una relación 9:1 con el medio basal.
- Se filtró el medio con membrana de acetato de celulosa de 0.22 µm.
- El pH fue ajustado a 7.4 con soluciones de NaOH 1N o HCL 1N cuando fue requerido.
- En volúmenes de 5 ml en tubos de vidrio con tapas de rosca de 16 x 125 ml se distribuyó el medio.
- Fueron colocados tres controles de calidad; a temperatura ambiente, 30 y 37 °C.
- El medio fue almacenado en refrigeración a 4 °C hasta su utilización.

b) Elaboración del medio Fletcher (Estandarizada en Hartskeerl et al., 2006)

- El medio basal se preparó disolviendo las cantidades de medio comercial en agua destilada según indicaciones del medio comercial.
- Se esterilizó por 15 minutos a 121 °C y se dejó enfriar a temperatura ambiente.
- Posteriormente se agregaron de forma aséptica suero de conejo, en cantidad necesaria para alcanzar un 10% de final.
- Se distribuyó el medio en volúmenes de 8 mL en tubos de vidrio de 16 x 150 mL con tapón de rosca estériles.
- Se colocaron los tubos con el medio en baño de maría a 56 °C durante una hora, en tres días consecutivos (tindalización).
- Fueron colocados tres controles de calidad; a temperatura ambiente, 30 y 37 °C.
- Se almacenó el medio en refrigeración a 4 °C hasta su utilización.

3. Técnica de microaglutinación (MAT):

a) Preparación del antígeno

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

- Se utilizaron cultivos con un tiempo de desarrollo entre 5 y 7 días en medio EMJH modificado.
- Fueron seleccionados los cultivos con una concentración aproximada de $2-4 \times 10^8$ leptospiras, que no evidenciaron contaminación ni autoaglutinación microscópica.

b) Tamizaje

- Se trabajó de acuerdo a la plantilla de la MAT.
- Se utilizó una placa de 96 pocillos fondo plano.
- Se adicionaron 25 μ L de PBS en todos los pocillos, excepto en el número 2.
- En el pocillo 2 se adicionó 45 μ L de PBS y 5 μ L de la muestra de suero, quedando un volumen final de 50 μ L, y una dilución inicial de la muestra de suero de 1:10.
- Se tomaron 25 μ L del pocillo 2 y se pasó al pocillo 3, donde ya habían servido 25 μ L de PBS.
- Se homogenizó, y nuevamente se tomó 25 μ L de la dilución y se pasó al pocillo 4, realizar el mismo procedimiento hasta el pocillo 8 o más, según la dilución que se vaya a trabajar, eliminando los últimos 25 μ L.
- A todos los pocillos se agregó 25 μ L del cultivo de leptospiras del serogrupo determinado previamente y con una concentración de 2×10^8 leptospiras/mL sin autoaglutinación.
- Al adicionar los 25 μ L del cultivo de leptospiras a las diluciones de la muestra, éstas se duplicaron, es decir de 1:10 pasa a 1:20, 1:20 pasa a 1:40, sucesivamente.
- El pocillo 1 funcionó como control negativo de la cepa.
- Suavemente se homogenizó.
- Y se dejó incubar todo a 37 °C por 1 hora.

c) Lectura

- Se colocó una gota de cada alícuota de los pozos en una lámina portaobjetos nueva y lavada con extran (sin grasa).
- Posteriormente se realizó la observación de la microaglutinación con un aumento de 10x en microscopio óptico con campo oscuro, comparando con el control negativo y positivo.
- La dilución considerada como positiva fue hasta donde se observó en el campo de lectura el 50% de leptospiras aglutinadas o el 50% de leptospiras libres.

4. Análisis de fichas epidemiológicas

Se analizaron las fichas epidemiológicas de las muestras que ingresaron a la vigilancia epidemiológica de Dengue de los años 2012-2013 con un resultado negativo para Dengue, realizando una base de datos en el programa Epi Info 7, la cual incluyó datos generales del paciente, factores de riesgo, resultado de pruebas diagnósticas de Dengue y signos y síntomas característicos, lo que permitió realizar la caracterización de Leptospirosis y determinar la presencia de algún factor de riesgo asociado a dicha enfermedad. (Anexo 6).

D. Diseño de la investigación

1. Tipo de estudio

- Descriptivo, observacional, transversal.

2. Tipo de muestreo: por conveniencia.

- **Cálculo de la muestra:** se llevó a cabo por medio del programa Epidat 4.0 con una prevalencia del 6% y precisión del 5%, obteniendo 152 muestras (73 muestras del año 2,012 y 79 del año 2,013).
- **Criterios de inclusión:** muestras almacenadas provenientes de pacientes hospitalizados con un cuadro clínico sospechoso de Dengue y negativas para pruebas serológicas de Dengue.
- **Criterios de exclusión:** muestras de pacientes hospitalizados que no cuenten con la ficha epidemiológica de investigación de caso sospechoso de Dengue.
- **Selección de muestras:** se llevó a cabo mediante el uso del método aleatorio del Programa Microsoft Excel 2010, incluyendo muestras que cumplan con los criterios de inclusión.
- **Ubicación de las Muestras:** Las 152 muestras seleccionadas al azar que cumplieron con los criterios anteriormente mencionados, se encontraban ubicadas en un banco de sueros de la Vigilancia Epidemiológica de Dengue preservado a una temperatura de -80°C en el Área de Virología de la Unidad central de referencia para la vigilancia epidemiológica del Laboratorio Nacional de Salud, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

3. Análisis de los resultados

- **criterios de caracterización:** se utilizaron sexo, edad, procedencia de la muestra, signos y síntomas presentes en la ficha epidemiológica (anexo 6) y resultado de laboratorio.

- **análisis de datos:** los datos fueron analizados utilizando estadística descriptiva.
 - El nivel de significación de las características demográficas (sexo, edad, procedencia de la muestra y signos y síntomas) se llevó a cabo mediante el valor p, el cual se utiliza para determinar si los resultados son estadísticamente significativos si estos son <0.5 .

VIII. RESULTADOS

Un total de 152 sueros de pacientes Dengue negativo fueron analizados en este estudio, utilizando la prueba de ELISA IgM y el estándar internacional para el diagnóstico de Leptospirosis la prueba de MAT.

De las muestras correspondientes del año 2012, el 15% (N=11) presentaron anticuerpos anti-leptospira y 11% (N=9) del año 2013. Al comparar ambos periodos mediante la prueba Z de proporciones se encontró que no existe diferencia significativa entre los años estudiados ($p = 0.78$)

Tabla 1. Seroprevalencia de Leptospirosis en pacientes de la Vigilancia Epidemiológica de Dengue con la prueba de ELISA IgM (N=152)

Año	Reactivas	No Reactivas	Total
2012	11 (15%)	62 (85%)	73 (100%)
2013	9 (11%)	70 (89%)	79 (100%)
Total	20 (13%)	132 (87%)	152 (100%)

$p = 0.78$

Las características demográficas más frecuentes de los casos seropositivos fueron el género masculino N=11(55%), población mayor a 15 años o población económicamente activa N=14 (70%) y residentes en el departamento de Guatemala (Tabla 2).

Las asociaciones para establecer la presencia de algún factor de riesgo mostraron que el género masculino no constituye un factor predisponente para el desarrollo de la Leptospirosis. La ocurrencia de la enfermedad es de 1.29 (IC 0.47 -3.58) veces más en la población mayor de 15 años y 1.09 (IC 0.33 -3.56) en los pacientes residentes en Guatemala que en cualquier otro departamento, exceptuando Alta Verapaz.

Tabla 2. Características demográficas de pacientes hospitalizados reactivos a ELISA IgM y MAT para Leptospiriosis (N=152)

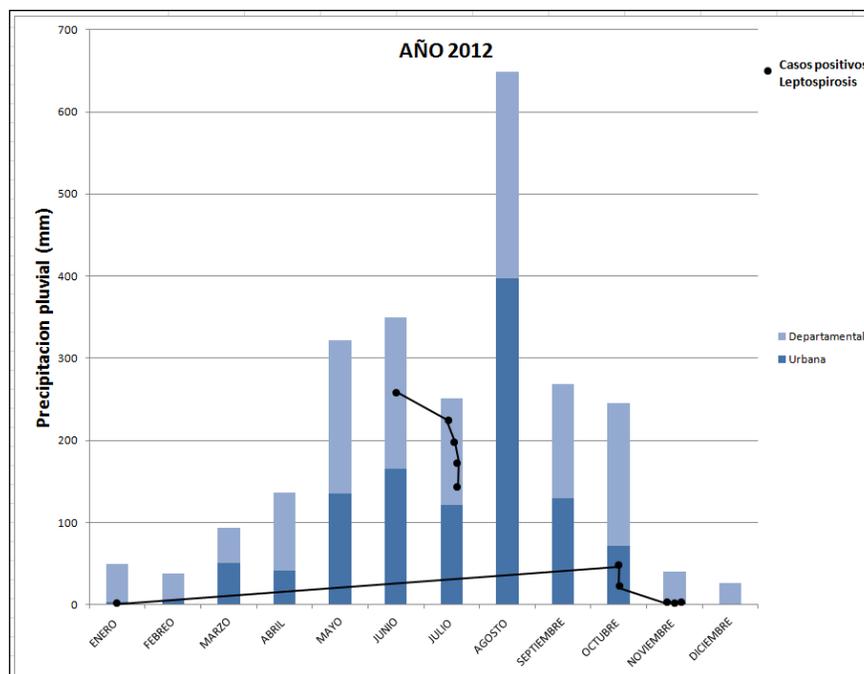
Características demográficas	Reactivo n (%)	No Reactivo n (%)	OR (IC 95%)	Valor p*
Género				
Masculino	11 (55)	73 (55)	1	-----
Femenino	9 (45)	59 (44)	0.99 (0.38 - 2.54)	0.98
Edad				
0 - 14	6 (30)	47 (36)	1.29 (0.47 - 3.58)	0.62
> 15	14 (70)	85 (64)	1	-----
Área de Salud				
Guatemala	8 (40)	63 (48)	1	-----
Alta Verapaz	7 (35)	26 (20)	0.48 (0.16 - 1.43)	0.18
Otros departamentos	5 (25)	43 (33)	1.09 (0.33 - 3.56)	0.88
Total	20 (100)	132 (100)	-----	-----

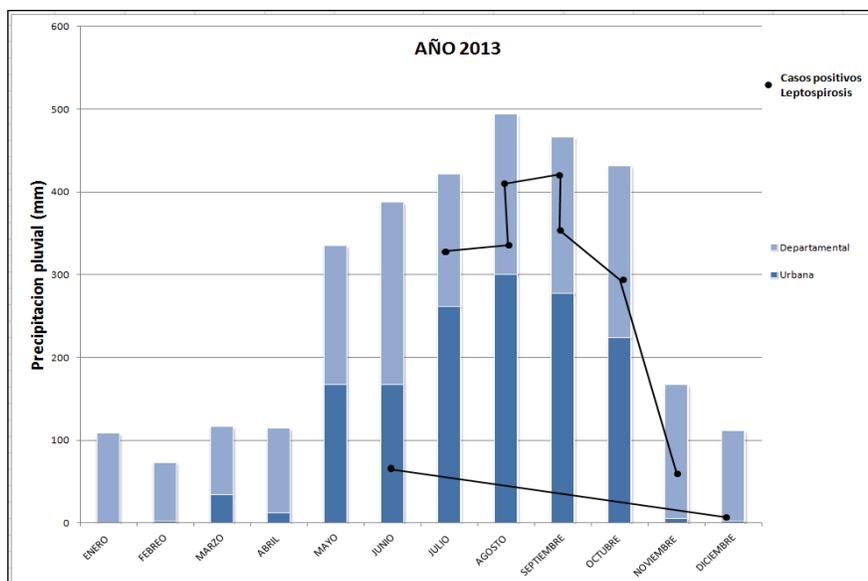
Abreviaciones: OR, Odds ratio; IC, intervalos de confianza

*Asociación significativa P<0.5

El mayor número de casos positivos de Leptospiriosis se produjo durante los meses en que aumentó la precipitación pluvial en el área departamental de mayo a octubre de los años 2012 (268 mm) y 2013 (271 mm), de acuerdo a lo informado por el Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología (INSIVUMEH) de Guatemala.

Grafica 1. Promedio mensual de precipitación pluvial en relación con los casos positivos de Leptospiriosis durante los años 2012 y 2013.





De los sueros reactivos confirmados se encontró que los serovares con una mayor prevalencia fueron *Lanka* N=5 (25%) e *Icterohaemorrhagiae* N=4(20%). 4 sueros presentaron coaglutinación contra 2 y 3 serovares, por lo que no fue posible determinar el serovar causante de la respuesta inmunológica (Tabla 3).

También puede visualizarse, que el título más bajo en el que se observó aglutinación fue 1:320, el título más alto fue de 1:2560 y el de mayor frecuencia 1:640.

Tabla 3. Frecuencia de serovariedades y títulos obtenidos por con la prueba de MAT en sueros de pacientes hospitalizados (N=20)

Serogrupo	Serovar	Frecuencia	Titulo			
			1:320	1:640	1:1280	1:2560
<i>Louisiana</i>	<i>Lanka</i>	5 (25.00%)		3	2	
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	4 (20.00%)	2	1	1	
<i>Australis</i>	<i>Australis</i>	3 (15.00%)		1	2	
<i>Cynopteri</i>	<i>Cynopteri</i>	2 (10.00%)		1		1
<i>Bataviae</i>	<i>Bataviae</i>	1 (5.00%)	1			
<i>Tarassovi</i>	<i>Tarassovi</i>	1 (5.00%)		1		
<i>Australis, Australis/ Louisiana, Lanka*</i>		1 (5.0%)		1		
<i>Icterohaemorrhagiae, Icterohaemorrhagiae/ Louisiana, Lanka*</i>		1 (5.0%)		1		
<i>Louisiana, Lanka/ Ballum, Ballum/ Bataviae, Bataviae*</i>		1 (5.0%)		1		
<i>Icterohaemorrhagiae, Icterohaemorrhagiae/ Louisiana, Lanka/ Ballum, Ballum*</i>		1 (5.0%)		1		
Total		20 (100%)	3	11	5	1

*Serovares aglutinantes con el mismo título (Indeterminados)

La frecuencia de los signos y síntomas clínicos presentados en la Tabla 4 fueron fiebre N=20 (100.0%), cefalea N=19 (95.0%), dolor de cuerpo N=18 (90.0%), mialgia y artralgia N=14 (70.0%), los restantes se presentaron en menor frecuencia. Según los valores de P ningún resultado fue estadísticamente significativo entre reactivos y no reactivos.

Tabla 4. Caracterización de signos y síntomas de pacientes hospitalizados reactivos y no reactivos para Leptospirosis (N=152)

Signos /Síntomas	Reactivos n (%)	No reactivos n (%)	P*
Fiebre	20 (100)	126 (95)	0.83
Cefalea	19 (95)	111 (84)	0.64
Dolor de cuerpo	18 (90)	103 (78)	0.62
Mialgia y artralgia	14 (70)	106 (80)	0.71
Dolor abdominal	12 (60)	65 (49)	0.71
Nausea	12 (60)	68 (51)	0.76
Calosfríos	12 (60)	95 (71)	0.70
Dolor retroorbitario	11(55)	81 (61)	0.84
Vómitos	11 (55)	44 (33)	0.49
Sudoración	11 (55)	84 (63)	0.79
Diarrea	10 (50)	43 (32)	0.59
Piel fría	8 (40)	54 (41)	0.97
Tos	5 (25)	46 (35)	0.82
Epistaxis	5 (25)	23 (17)	0.86
Hematemesis	4 (20)	11 (8)	0.83
Congestión nasal	2 (10)	31 (23)	0.85
Rash	2 (10)	30 (22)	0.86
Gingivorragia	2 (10)	15 (11)	0.99
Melena	2 (10)	12 (9)	0.99
Petequias	1 (5)	19 (14)	NA
Purpura	0 (0)	16 (12)	NA
Sangre en orina	0 (0)	6 (5)	NA
Hemorragia vaginal	0 (0)	5 (4)	NA
Enterorragia	0 (0)	3 (2)	NA

*Valores de P<0.5 son considerados estadísticamente significativos

NA: no aplica

IX. DISCUSIÓN

La similitud sintomática que presentan el Dengue y la Leptospirosis en su fase inicial ha propiciado dificultades para un diagnóstico oportuno, para la atención adecuada de los enfermos, así como para su notificación y clasificación. En este sentido, muchos pacientes sospechosos de Dengue que resultan negativos con las pruebas diagnósticas para este síndrome febril, pueden ser positivos para Leptospirosis (Rodríguez, 2014).

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la seroprevalencia de Leptospirosis en 152 casos sospechosos de Dengue de pacientes hospitalizados durante los años 2012-2013. La presencia de la enfermedad fue puesta en evidencia al obtener una frecuencia de anticuerpos anti-leptospira del 15% en el año 2012 y del 11% en el año 2013, corroborando con estudios anteriores, que han demostrado la ocurrencia de un diagnóstico erróneo entre estas enfermedades debido a la similitud de los signos y síntomas clínicos y el aumento en el número de los casos en épocas de lluvia.

Estudios realizados en otros países como México y Colombia en 2012-2014 apoyan los rangos documentados en la investigación al reportar una frecuencia de anticuerpos anti-leptospira del 14% y 11% respectivamente en sueros de pacientes con diagnóstico clínico de Dengue negativos (Dircio, González, Verdalet, Soler, Rivas, Altuzar y Navarrete, 2012; Rodríguez, 2014). Asimismo, al comparar las proporciones en ambos periodos no se encontró diferencia significativa en los años estudiados.

Según las características demográficas se encontró predominio en el género masculino, lo cual contrasta con estudios realizados en Guatemala por Gálvez y Solórzano en el año 2015 y Barrios en el 2010, en los cuales el género femenino presentó mayor porcentaje. Sin embargo, concuerda con lo reportado por Agudelo, Restrepo y Arboleda en el año 2007 donde indican que en la mayoría de los casos fueron más afectados los hombres que las mujeres, pero en los territorios en donde ambos sexos trabajan en idénticas condiciones, la enfermedad tiende a igualarse.

Se obtuvo una mayor frecuencia de casos en sueros de pacientes con edad económicamente activa (>15 años), datos similares obtenidos en el país por Gálvez y Solórzano en el año 2015, que reportaron un 55.56% en el grupo de 20 a 29 años y en

otros países tales como Perú por Silva et al. en el año 2015 con una frecuencia del 60.5% en la población de 20-54 años.

En términos generales se asume que las condiciones sociodemográficas y de género determinan la frecuencia de Leptospirosis en una población dada, sin embargo en el presente estudio se observó que estas características no son determinantes del riesgo de adquirir la enfermedad, mientras pertenecer a la población económicamente activa permite una ocurrencia de la enfermedad 1.29 (IC: 0.47- 3.58, p: 0.62) veces más que aquella que no lo es.

Por otra parte, los resultados proporcionaron evidencia epidemiológica que apoya el papel de una prevalencia mayor de Leptospirosis en áreas urbanas ya que las áreas de salud de Guatemala y Alta Verapaz fueron las predominantes con resultados significativos, por lo tanto otros factores de tipo socio-ambiental podrían estar influenciando el comportamiento de la seroprevalencia en la población del área urbana, tales como inundaciones, el crecimiento desordenado de la población y el aumento de pobreza los cuales podrían favorecer la aparición de la enfermedad (Agudelo, Restrepo, Arboleda, 2007).

Según Vanasco et al. (2008), durante la época de lluvia, el suelo acumula la humedad y dado a que el agua es esencial para la supervivencia de *Leptospira*, es de esperarse un aumento de la frecuencia de la enfermedad en épocas de abundantes lluvias. Esto puede significar una mayor oportunidad para que las personas se expongan a un ambiente contaminado por la orina de los reservorios de roedores y perros (Agudelo, Restrepo, Arboleda, 2007).

En Guatemala según el INSIVUMEH la temporada de lluvias es de 6-8 meses del año. La grafica 1 muestra el comportamiento de la Leptospirosis en los diferentes departamentos en los meses del período lluvioso y con franca tendencia al aumento de casos desde mayo hasta finales de año. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Castillo et al. (2016) quienes encontraron que la mayoría de los casos de Leptospirosis en Cuba se presentan durante los meses que corresponden específicamente con el período lluvioso en este país. Además concuerdan con los resultados alcanzados por Chadsuthi et al. (2012), quienes plantearon que dicha enfermedad en humanos es altamente estacional

y vinculada a la estación lluviosa, destacando que éstas son favorables en el mantenimiento ambiental y la transmisión de la bacteria.

Se determinó que 6 serovares fueron aglutinados por 16 de los sueros reactivos con ELISA IgM. Los que presentaron una mayor frecuencia fueron *Lanka* e *Icterohaemorrhagiae*, seguidos por *Australis*. Los serovares *Lanka*, *Australis* e *Icterohaemorrhagiae* fueron encontrados recientemente en un estudio en Guatemala, los cuales se detectaron por primera vez en esa ocasión (Herrera, Pérez, 2012), por lo que este estudio respalda el hallazgo y circulación de los mismos, lo cual, es importante para la epidemiología de la enfermedad en el país.

Los serovares *Icterohaemorrhagiae* y *Australis* se han asociado a roedores, lo que indica que los casos reactivos en este estudio pueden haber estado en contacto con la orina de estos animales infectados. Asimismo, cabe mencionar que el serovar *Icterohaemorrhagiae* ha sido considerado el más virulento por ocasionar un mayor número de casos del síndrome de Weil con un compromiso multisistémico hepático, renal, hemorrágico y meníngeo, tal como lo observado en un estudio en Perú en el cual, cerca del 10% de los casos notificados requirieron hospitalización tanto adultos como niños con una mortalidad reportada mayor al 4% ocasionada por una insuficiencia renal crónica, encefalitis y hemorragia digestiva, cuadro asociado al serovar Icterohemorrágico (Céspedes, Balda, González y Tapia, 2006; Zunino, Pizarro, 2007).

Se observó que el 20% de los sueros positivos en este estudio presentaron una coagulación contra 2 y 3 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. Al producirse dichas reacciones no se pudo identificar específicamente el serovar infectante, para esto se debe tomar una segunda muestra de 7 a 21 días posteriores de tomada la primera (OMS/TDR, 2010).

Acorde a las coaglutinaciones presentadas, es importante continuar con los esfuerzos de aislar cepas nativas de *Leptospira* procedentes de humanos y reservorios que permitan mejorar el desempeño de la prueba MAT, la especificidad de las reacciones y la confirmación de los serovares circulantes en Guatemala.

De acuerdo a los estudios llevados a cabo en Guatemala el título significativo para establecer que el paciente se encuentra padeciendo de Leptospirosis es de 1:80. Es importante observar que el título más bajo que presentó aglutinación con la prueba de MAT en este estudio fue de 1:320, equivalente a la investigación realizada por Agudelo y colaboradores en el año 2007 en Urabá, Colombia, donde obtuvieron títulos iguales o mayores de 1:400 concluyendo que la zona es de alta endemicidad. Además existe la posibilidad de que la enfermedad sea asintomática, tal como fue registrado en Nicaragua donde se determinó que esta forma es común en áreas endémicas, haciendo énfasis en la posibilidad de que la Leptospirosis esté subregistrada en la zona y está pueda presentarse de forma asociada con otras enfermedades prevalentes como el Dengue.

La determinación de una infección aguda de Leptospirosis según Céspedes (2005), es a veces sugerida por un solo título elevado y la magnitud del mismo es dependiente de la prevalencia de la enfermedad y la exposición de la población, en los casos en que se cuente con una sola muestra. Lo anterior concuerda con este estudio, donde se obtuvieron títulos muy elevados (cinco con 1:1280 y uno con 1:2560) para la prueba de MAT confirmando la presencia de la enfermedad.

Por otro lado es importante tomar en cuenta que los estudios seroepidemiológicos llevados a cabo en Guatemala, han puesto en evidencia que el país es un área altamente endémica de Leptospirosis (50-71%) y que el título más frecuente ha sido 1:80. Sin embargo, dada la elevada seroprevalencia se recomienda usar títulos más altos para establecer una infección aguda en pacientes sintomáticos como los establecidos por el CDC de Atlanta que puede ser arriba de 1:200, ya que los títulos que siguen después de dicha infección generalmente son extremadamente altos (1:25600) (Céspedes, 2005).

Con respecto a los síntomas, Valle, Lago, Cabrera, Linares y Ramos (2014) en su estudio en el municipio de Guane, Cuba, encontraron que los hallazgos clínicos más comunes para Leptospirosis estuvieron dados por fiebre, mialgias y artralgias. Los hallazgos anteriores coinciden con el comportamiento clínico de los casos estudiados, ya que los datos obtenidos de las fichas epidemiológicas permitieron establecer que los pacientes hospitalizados con serología negativa a Dengue, pero con un resultado positivo para Leptospirosis refirieron que la fiebre se presentó en la totalidad de los casos; de igual forma la cefalea, mialgias y artralgias, dolor de cuerpo, náuseas y vómitos tuvieron frecuencias mayores. Los síntomas clínicos de pacientes con Leptospirosis fueron

inespecíficos y no distinguible de los síntomas asociados con la fiebre del Dengue y otras enfermedades virales (LaRocque, Breiman. et al, 2005).

El síndrome febril debe investigarse de manera completa hasta identificar el agente o los posibles agentes etiológicos implicados, dado a que en los casos no reactivos tanto para Dengue como para Leptospirosis los signos y síntomas que se presentaron con mayor frecuencia como, calosfríos, dolor retro-orbitario, sudoración, tos, congestión nasal y rash; nos llevaron a plantear que para brindar un tratamiento oportuno y completo que disminuya las complicaciones, redundará no solo en beneficio para la recuperación de los pacientes, sino en reducción de costos por la prolongada estancia hospitalaria. Además permitiría establecer de manera real el comportamiento epidemiológico de estos agentes en nuestro país.

Por lo tanto, este estudio puso en evidencia que durante las epidemias de Dengue, no se realiza un buen diagnóstico de la etiología de los síndromes febriles, debido a la falta de recursos de laboratorio y a los síntomas similares no específicos, causando un aumento falso en el número de casos de Dengue y en consecuencia, un subregistro de otras etiologías potencialmente fatales, como la Leptospirosis u otras enfermedades febriles como infecciones por Hantavirus, Rickettsiosis entre otras.

El estudio estaba limitado por la falta de información en las fichas epidemiológicas que no incluyen a la Leptospirosis para diagnóstico diferencial tal como las ocupaciones, tipo de vivienda, mascotas en el hogar, entre otros, lo que impidió reforzar el factor de riesgo que pudo jugar un papel importante en el aumento de casos en nuestra población activa laboralmente. Otra limitante fue el evaluar únicamente los casos con resultado de Dengue negativo impidiendo evidenciar la prevalencia de la coinfección de estas dos enfermedades.

En el futuro se recomienda continuar con estudios que permitan identificar la relación hospedero-reservorio, que permitan establecer programas de intervención adecuados. Además, teniendo en consideración este estudio, otros que puedan brindar una orientación oportuna a la asistencia médica sobre la infección por Leptospirosis, ejerciendo también así su papel de forma directa en la prevención y el control de la enfermedad.

X. CONCLUSIONES

1. La seroprevalencia de anticuerpos anti-leptospira detectados por la prueba de ELISA IgM en muestras de pacientes hospitalizados con serología negativa de Dengue fue de 15% en el año 2012 y 11% en el año 2013.
2. Los grupos con predominio de anticuerpos anti-leptospira fueron el género masculino, la población mayor a 15 años o población económicamente activa y los pacientes residentes en el departamento de Guatemala.
3. Los pacientes hospitalizados con serología negativa de Dengue presentaron varias características descritas como factores de riesgo, sin embargo no se determinó ninguna asociación significativa en el género, mientras que se observó que existe una ocurrencia de la enfermedad 1.29 veces más en la población mayor de 15 años y 1.09 en Guatemala que en cualquier otro departamento.
4. Los signos y síntomas más frecuentes del cuadro clínico de Leptospirosis fueron: fiebre (100%), cefalea (95%), dolor de cuerpo (90%) y mialgias y artralgias (70%).
5. En los casos confirmados con la prueba de ELISA IgM y MAT, los serovares más frecuentes fueron *Lanka*, *Icterohaemorrhagiae* y *Australis*.

XI. RECOMENDACIONES

1. Continuar los estudios sobre la prevalencia de Leptospirosis humana en Guatemala, enfocados principalmente al área rural en las que se observa una menor vigilancia, lo que permitirá conocer la magnitud de la enfermedad en todo el país.
2. Se recomienda que los resultados de este estudio se divulguen en los hospitales nacionales y privados a fin de que los médicos clínicos y epidemiólogos del país, tomen en cuenta el diagnóstico presuntivo de Leptospirosis siempre que estén presentes los síntomas fiebre, cefalea, dolor de cuerpo, mialgia y artralgia.
3. De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se considera muy importante tomar muestras de suero pareadas, para confirmar el diagnóstico de Leptospirosis con la prueba de MAT, así como para identificar al serovar infectante en aquellas reacciones cruzadas.
4. Dados los altos títulos obtenidos con la prueba de MAT en los pacientes con Leptospirosis aguda, se recomienda evaluar el punto de corte usado en otros países de la región y definir el adecuado que permita establecer la presencia de dicha infección en pacientes sintomáticos de la población guatemalteca, tal como lo recomienda el Centro De Control de Enfermedades de Atlanta, EE.UU.
5. Realizar pruebas diagnósticas de tamizaje para Dengue, Leptospirosis y otras enfermedades tales como: rickettsiosis y brucelosis, con el fin de identificar el posible o los posibles agentes causales en brotes de fiebre de origen desconocido en casos graves y/o fallecidos, sin dejar de valorar el contexto epidemiológico local o nacional.
6. Es necesario incorporar otros estudios que incluyan variaciones climáticas como la precipitación pluvial y la temperatura de los departamentos estudiados como factores de riesgo para predecir los patrones estacionales en la infección por Leptospirosis.

XII. REFERENCIAS

- Acosta, C. y Gómez, I. (2005). Biología y métodos diagnósticos del dengue. *Revista Biomédica*, 16(2), 113-137.
- Agudelo, P., Restrepo, B., y Arboleda, M. (2007). Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. *Revista Cadernos de Saúde Pública*, 23(9), 2094-2102.
- Aroca, G., Accini, J., Pérez, R., Rodelo, E., y Dau, H. (2004). Leptospirosis ictérica: Síndrome de Weil's. *Revista de Salud Uninorte*, 19, 31-40.
- Bacallao, G. y Quintana, O. (2013). Dengue. Revisión Bibliográfica. *Acta Médica del Centro*, 7(1).
- Barrios, J. (2010). *Determinación de anticuerpos anti-leptospira en pacientes con serología negativa a dengue, referidos al Laboratorio Nacional de Salud en el año 2005.* (Tesis de graduación: Químico Biólogo) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Boza, R. (1999). Sobre la patogénesis de la leptospirosis. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 20(1), 115-120.
- Caballeros, A. y Romero, J. (1997). *Manual de procedimientos de laboratorio del INDRE.* México: Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.
- Cabezas, C. (2005). Dengue en el Perú: Aportes para su diagnóstico y control. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 22(3), 212-228.
- Caíno, H., Scaglia, J., Curcio, F. y Siquiroff, G. (2006). Leptospirosis. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*, 1(3), 30-36.
- Carrada, T. (2005). Leptospirosis humana. Historia natural, diagnóstico y tratamiento. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 52(4), 246-256.

- Castillo, J., Iannacone, J., Fimia, R., Quiñones, M., Cepero, O., Cruz, D. y Campos, L. (2016). Comportamiento epidemiológico de la leptospirosis humana y animal en la provincia de villa clara, Cuba. *The Biologist*, 14(1), 89-102.
- Castro, R. (2010). La situación actual de las zoonosis más frecuentes del mundo. *Gaceta Médica de México*, 146(3), 423-429.
- Céspedes, M. (2005). Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Emergente. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 22(4), 209-307.
- Céspedes, M., Barda, L., González, Dana y Tapia, Rafael. (2007). Situación de la leptospirosis en el Perú 1994-2004. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 23(1), 56-66.
- Chadsuthi, S., Modchang, C., Lenbury, Y., Iamsirithaworn, S. y Triampo, W. (2012). Modeling seasonal leptospirosis transmission and its association with rainfall and temperature in Thailand using time-series and ARIMAX analyses. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, (2012), 539-546.
- Chinchilla, A., Cordero, R. y Bolaños, E. (1996). Leptospirosis en Humanos. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 17(2), 41-60.
- Chiparelli, H. y Schelotto, F. (2005). Dengue una enfermedad emergente muy cerca de nuestro país. *Revista Uruguayana*, 30-41.
- Corrales, E. y Hun, L. (2012). Nuevas perspectivas sobre la patogénesis del dengue. *Acta Médica Costarricense*, 54(2), 75-85.
- Díaz, F., Martínez, R. y Villar, L. (2006). Criterios clínicos para diagnosticar el dengue en los primeros días de enfermedad. *Biomédica*, 26(1), 22-30.
- Dircio, A., Gonzalez, E., Verdalete, M., Soler, E., Rivas, B., Altuzar, M. y Navarrete, J. (2012). Leptospirosis prevalence in patients with initial diagnosis of dengue. *Journal of Tropical Medicine* 2012(1), 519-701.

- 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 de graduación: Química Bióloga) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Ferro, B., Rodríguez, A., Pérez M. y Travi B. (2006). Biomédica artículo original Seroprevalencia de infección por leptospira en habitantes de barrios periféricos de Cali. *Revista Biomédica*, 26(7), 250.
- Galindo, S. (2008). *Determinación de anticuerpos anti Leptospira en donadores de sangre del Hospital General San Juan de Dios*. (Tesis de graduación: Química Bióloga) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Gálvez, Y. y Solórzano, M. (2015). *Aislamiento e identificación de Leptospira interrogans de muestras de pacientes hospitalizados en el Hospital General San Juan de Dios durante el periodo de mayo a septiembre de 2013*. (Tesis de graduación: Química Bióloga) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- García, M., Kestler, R., Castillo, L., Herrera, M. y Pérez, A. (2013). *Prevalencia de anticuerpos anti Leptospira spp. en la población de dos asentamientos de la ciudad de Guatemala*. Dirección general de investigación. Programa de investigación interdisciplinaria en salud, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- García, R., Reyes, a., Basilio, D., Ramírez, M. y Rivas, B. (2013). Leptospirosis un problemas de salud pública. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, 60(1), 57-70.
- Gonzales, R., Orozco, C. (2010). *Aislamiento e identificación de Leptospira interrogans en fuentes de agua de la aldea El Milagro, Masagua, Escuintla*. (Tesis de graduación:

Química Bióloga) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

Guzmán, M., García, G. y Kourí, G. (2006). El dengue y el dengue hemorrágico: prioridades de investigación. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 19(3), 204-215.

Hartskeerl, R. (2006). Leptospirosis: current status and future trends. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 24(4), 309.

Herrera, M. y Pérez, A. (2012). *Seroprevalencia de la Leptospirosis Humana en un Asentamiento ubicado en la Ciudad de Guatemala*. (Tesis de graduación: Química Bióloga) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

Hoyos, A. y Pérez, A. (2010). Actualización en aspectos epidemiológicos y clínicos del dengue. *Revista Cubana de Salud Pública*, 36(1), 149-164.

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

LaRoque, R., Breiman, R., Ari, M., Morey, R., Ara, F., Mosely, J., Hossein, M., Brooks, W. y Levett, P. (2005). Leptospirosis during Dengue Outbreak, Bangladesh. *Emerging Infectious Diseases*, 11(5), 766-769.

Levett, P. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(2), 296-326.

Maguiña, C., Osoreo, F., Suárez, L., Soto, L. y Pardo, K. (2005). Dengue clásico y hemorrágico: una enfermedad reemergente y emergente en el Perú. *Revista Médica Herediana*, 16(2), 120-140.

Martínez, G., Ribo, R. y Herranz, R. (1998). Infecciones por *Leptospira*, formas clínicas, actitudes diagnósticas y terapéuticas. *Medicina*, 7(79), 3672-3675.

- Martínez, E. (2006). La prevención de la mortalidad por dengue: un espacio y un reto para la atención primaria de salud. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 20(1), 60-74.
- Martínez, C. y Ortíz, J. (2010). *Vigilancia Epidemiológica Dengue Clásico/Dengue Hemorrágico*. (Boletín Epidemiológico No. 18). Guatemala: Instituto Guatemalteco de Seguridad Social.
- Martínez, M. (2014). *Características clínico-epidemiológicas del dengue en pacientes atendidos en la unidad de medicina familiar no. 61 de Veracruz*. (Tesis de Postgrado: Especialidad en Medicina Familiar). Universidad Veracruzana, Departamento de Estudios de Postgrado, México.
- Montes, T. (2001). Actualización en dengue. Parte 1. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 21(1), 1-12.
- Navarrete, J., Acevedo J., Huerta, E., Torres, J. y Gavaldón, D. (2006). Prevalencia de anticuerpos contra dengue y leptospira en la población de Jáltipan, Veracruz. *Revista de Salud Pública de México*, 48(3), 220-228.
- Ochoa, J., Sánchez, A., Ruiz, I. (2000). Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 7(5), 325-331.
- 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 de graduación: Químico Biólogo) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Ovando, L. (2013). *Situación del dengue con respecto al serotipo circulante y población afectada en el municipio de Guatemala, 2008-2012*. (Trabajos finales nivel intermedio, Especialización en Epidemiología de campo). Universidad del Valle de Guatemala, Facultad de Ciencias y Humanidades, Guatemala.

- Perret, C., Abarca, K., Dabanch, J., Solari, V., García, P., Carrasco, S., Olivares, R. y Avalos, P. (2005). Prevalencia y presencia de factores de riesgo de leptospirosis en una población de riesgo de la Región Metropolitana. *Revista Médica de Chile*, 133(4), 426-431.
- Pérez, I., Villanueva, J., Salinas, M., Enríquez, M. y Pérez, R. (2013). Patogénesis del Dengue Hemorrágico (DH) Síndrome de Choque del Dengue (SCD). *Revista Electrónica de Biomedicina*, 37-49.
- Publicación conjunta de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Programa Especial para Investigación y Capacitación en Enfermedades Tropicales (TDR). (2010). *Dengue Guías para el Diagnóstico, Tratamiento, Prevención y Control*. (Novena Edición). Bolivia: OPS/OMS.
- Rivera, A. y Pérez, A. (2010). Actualización en aspectos epidemiológicos y clínicos del dengue. *Revista Cubana de Salud Pública*, 36(1), 149-164.
- Rodríguez, B., Gómez, H. y Cruz, R. (2000). Leptospirosis humana: ¿Un problema de salud?. *Revista Cubana Salud Pública*, 26(1), 27-34.
- Rodríguez, F. (2014). *Estimación de la proporción (prevalencia) de leptospirosis por la técnica de microaglutinación (MAT) y factores sociodemográficos relacionados en muestras de pacientes con diagnóstico presuntivo de dengue enviadas al Instituto Nacional de Salud, Bogotá, en el periodo 2010 -2012*. (Tesis para optar al título de magister en salud pública) Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Departamento de Salud Pública, Colombia.
- 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.
- Sikahall, S. (2006). *Estandarización de la prueba de aglutinación microscópica en placa (MAT) para el diagnóstico de leptospirosis humana*. (Tesis de graduación: Química

Bióloga) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

Silva, H., Llatas, D., Campos, M., Aguilar, F., Mera, K. y Valderrama, M. (2015). Frecuencia de leptospirosis y características socio-demográficas en pacientes febriles del norte del Perú. *Revista Chilena de infectología*, 32(58), 530-535.

Valle, T., Lago, Y., Cabrera, A., Linares, O. y Ramos, M. (2014). Epidemiología de la leptospirosis humana: propuesta de intervención educativa. *Revista de Ciencias Médicas*, 18(4), 555-565.

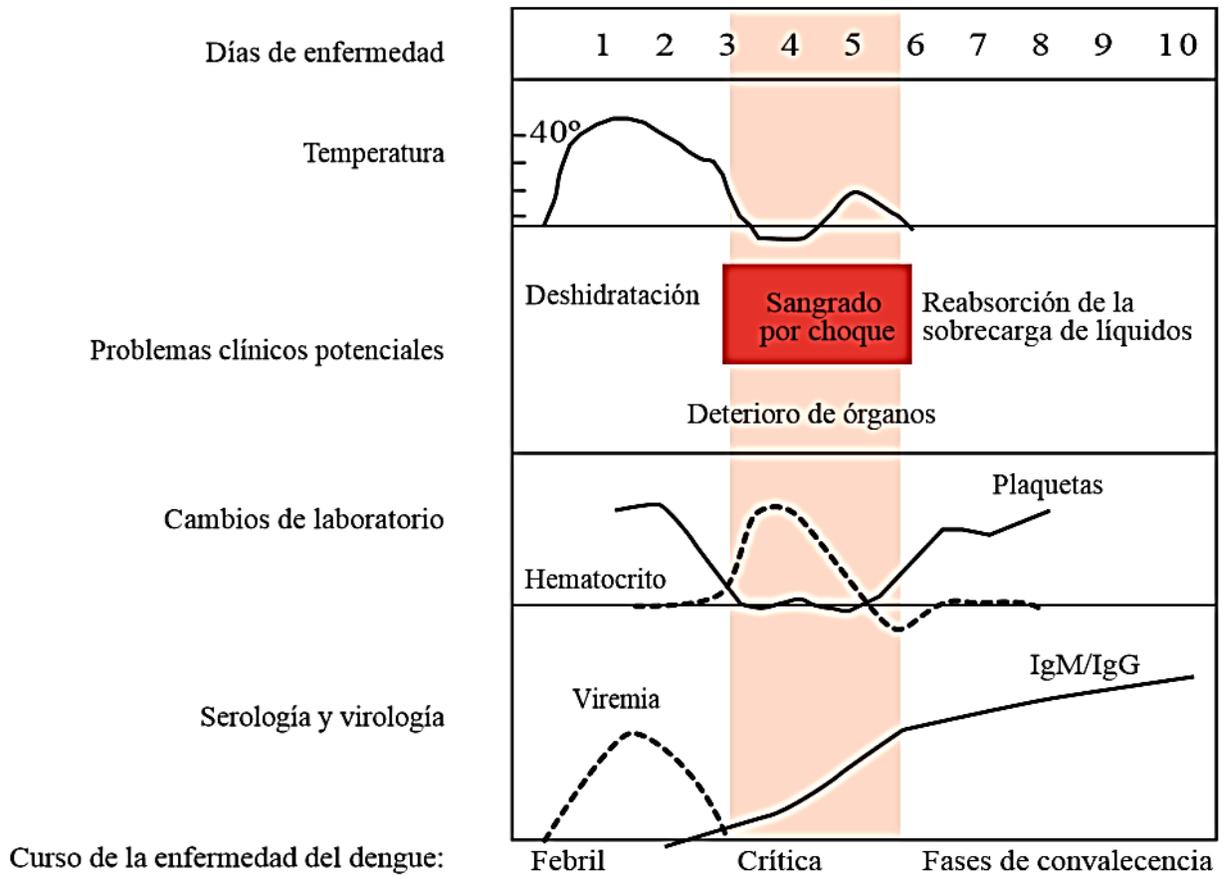
Vanasco, N., Schmeling, M., Lottersberger, J., Costa, F., Ko, A. y Tarabla, H. (2007). Clinical Characteristics and Risk Factors of Human Leptospirosis in Argentina (1999-2005). *Acta Tropica*.

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

Zunino, E., Pizarro, R. (2007). Leptospirosis: Puesta al día. *Revista Chilena de Infectología*, 24(3), 220-226.

XIII. ANEXOS

Anexo 1. Figura 1. “Fases de Evolución clínica del Dengue”



(OMS/TDR, 2009)

Anexo 2. Tabla 1. “Diagnóstico diferencial de Dengue”

Parámetro \ enfermedad	Leptospirosis	Dengue	HB	Malaria	Fiebre amarilla
Ictericia	P/A	A	P	P	P
Fiebre	I	I	PI	I	I
Dolor de cabeza	P	P	P	P	P
Dolor muscular	P	I	A	P	P
Vómito	P	P	P	P	P
Vómito negro	A	A	A	A	P
Vasculitis	P	A	A	A	A
Petequias	P	P	A	A	A
Daño hepático	P	P	P	P	NE
Daño renal	P	A	P	N	NE
Transaminasas	LE	LE	E	LE	NE
Ck	E	NE	N	NE	NE
LCR, pleocitosis, glucosa	N, N/D	NE	NE	NE	NE
Hematocrito	D	D	N	D	D
BUN / Creatinina	E,E	N,N	NE	NE	NE

E: elevado P: Presente PI: Poco Intensa. LE: Ligeramente elevado A: Ausente N: Normal NE: No evidencia D: Disminuido I: Intenso.

(Barrios, 2010)

Anexo 3. Tabla 2. “Clasificación *Leptospira*”

Espece	Serogrupo	Serovar	Cepa de referencia
<i>Leptospiras patógenas</i>			
<i>L. interrogans</i>	<i>Australis</i>	Australis	Ballico
	<i>Australis</i>	Bratislava	Jez Bratislava
	<i>Bataviae</i>	Bataviae	Van Tienen
	<i>Canicola</i>	Canicola	Hond Utrecht IV
	<i>Hebdomadis</i>	Hebdomadis	Hebdomadis
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Icterohaemorrhagiae	RGA
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Copenhageni	M 20
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Lai	Lai
	<i>Pomona</i>	Pomona	Pomona
	<i>Pyrogenes</i>	Pyrogenes	Salinem
	<i>Sejroe</i>	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>L. alexanderi</i>	<i>Manhao</i>	Manhao3	L 60
<i>L. fainei</i>	<i>Hurstbridge</i>	Hurstbridge	BUT 6
<i>L. inadai</i>	<i>Lyme</i>	Lyme	10
<i>L. kirschneri</i> *	<i>Autumnalis</i>	Bim	1051
	<i>Cynopteri</i>	Cynopteri	3522 C
	<i>Grippotyphosa</i>	Grippotyphosa	Moskva V
	<i>Pomona</i>	Mozdok	5621
<i>L. meyeri</i>	<i>Semaranga</i>	Semaranga	Velrad Semarang 173
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Ballum</i>	Ballum	Mus 127
	<i>Ballum</i>	Castellonis	Castellon 3
	<i>Javanica</i>	Javanica	Veltrat Bat 46
	<i>Sejroe</i>	Sejroe	M 84
	<i>Tarassovi</i>	Tarassovi	Perepicilin
<i>L. weillii</i>	<i>Celledoni</i>	Celledoni	Celledoni
<i>L. noguchii</i>	<i>Autumnalis</i>	Fortbragg	Fort Bragg
	<i>Panama</i>	Panama	CZ 214 K
<i>L. santarosai</i>	<i>Bataviae</i>	Brasiliensis	An 776
	<i>Mini</i>	Georgia	LT 117
Genomospecies 1	<i>Ranarum</i>	Pingchang	80-412
Genomospecies 4	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Hualin	LT 11-33
Genomospecies 5	<i>Semaranga</i>	Saopaulo	Sao Paulo
<i>Leptospiras saprófitas</i>			
Genomospecies 3	<i>Holland</i>	Holland	Waz Holland (P438)
<i>L. biflexa</i>	<i>Semaranga</i>	Patoc	Patoc I
<i>L. wolbachii</i>	<i>Codice</i>	Codice	CDC

(Céspedes, 2005)

Anexo 4. Tabla 3. “Reservorios típicos y serovares de Leptospira encontrados “

Reservorios	Serovar(s)
Cerdo	Pomona, Tarassovi
Vacuno	Hardjo, Pomona, Grippytyphosa
Caballo	Bratislava
Perro	Canicola
Oveja	Hardjo
Rata	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni
Ratón	Ballum, Arborea, Bim
Marsupiales	Grippytyphosa
Murciélago	Cynopteri, Wolffi

(Céspedes, 2005)

Anexo 5. Tabla 4. “Panel de cepas de referencia de los 22 serogrupos”

No.	Especie	Serogrupo	Serovar	Cepa
1H	<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis	Ballico
2H	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
3H	<i>L. noguchii</i>	Louisiana	Lanka	R740
4H	<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Ballum	Mus 127
5H	<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae	Swart
6H	<i>L. interrogans</i>	Pomona	Mozdok	5621
7H	<i>L. meyeri</i>	Ranarum	Ranarum	ICF
8H	<i>L. interrogans</i>	Serjoe	Hardjo	Hardjoprajitno
9H	<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	Djasiman
10H	<i>L. Kirschneri</i>	Grippytyphosa	Grippytyphosa	Moskva V
11H	<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
12H	<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	HodUtrechIV
13H	<i>L. weilii</i>	Celledoni	Celledoni	Celledoni
14H	<i>L. Kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522C
15H	<i>L. biflexa</i>	Samaranga	Patoc	Patoc I
16H	<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani	1342 K
17H	<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin
18H	<i>L. weilii</i>	Manhao	Lincang	L14
19H	<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama	CZ 214
20H	<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
21H	<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica	Veldrat Batavia
22H	<i>L. interrogans</i>	Autumnales	Autumnales	Akiyami A

Anexo 6. Tabla 5. “Encuesta, Recopilación de Datos Epidemiológicos de la Vigilancia Epidemiológica de Dengue”

FICHA EPIDEMIOLÓGICA

DATOS

CODIGO EDAD SEXO

Procedencia de muestra Area de Salud

Inicio de síntomas Fecha de toma de muestra

DIAGNOSTICO DE DENGUE

IgM Dengue RT-PCR Tiempo real

NS1 Resultado Final

SIGNOS Y/ SÍNTOMAS

<input type="checkbox"/> Tos	<input type="checkbox"/> Erupciones cutáneas (rash)
<input type="checkbox"/> Vómitos con sangre (Hematemesis)	<input type="checkbox"/> Hemorragia nasal o epistaxis
<input type="checkbox"/> Hemorragia encías (gingivorragia)	<input type="checkbox"/> Petequias
<input type="checkbox"/> Púrpura o equimosis	<input type="checkbox"/> Sangre en orina (hematuria)
<input type="checkbox"/> Hemorragia vaginal	<input type="checkbox"/> Enterorragia
<input type="checkbox"/> Melena	<input type="checkbox"/> Piel fría
<input type="checkbox"/> Diarrea	<input type="checkbox"/> Dolor de cabeza
<input type="checkbox"/> Dolor muscular o de articulaciones	<input type="checkbox"/> Dolor abdominal
<input type="checkbox"/> Vómitos	<input type="checkbox"/> Fiebre
<input type="checkbox"/> Calosfrios	<input type="checkbox"/> Sudoración
<input type="checkbox"/> Dolor retro orbitario	<input type="checkbox"/> Dolor de cuerpo
<input type="checkbox"/> Nausea	<input type="checkbox"/> Congestion nasal

FACTORES DE RIESGO

Durante los 10 días antes de su enfermedad viajó a otro lugar? Donde?

Ha viajado durante su enfermedad? Donde?

Ha tenido Dengue anteriormente? Cuándo?

Antecedente de contacto con el vector? Ubicación de la vivienda

Hay otra persona enferma en su casa? No. de habitantes por vivienda

DIAGNOSTICO LEPTOSPIROSIS

IgM Leptospirosis

María Fernanda Barrios Yong

Autora

Josselyn María Divasi King

Autora

Wendy Paola Meléndez Mendoza

Autora

Licda. Leticia del Carmen Castillo Signor

Asesor

Licda. María Luisa García Masaya

Asesor

Licda. Blanca Samayoa

Revisora

MSc. Alba Marina Valdés de García

Directora

Escuela Química Biológica

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia