

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
DIRECCION GENERAL DE INVESTIGACIÓN
COORDINACIÓN GENERAL DE PROGRAMAS
PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN INTERDISCIPLINARIA EN SALUD**



Presentado por:

Licda. María Luisa García de López

Coordinadora

Br. Mariana Elizabeth Herrera García

Auxiliar de Investigación II

Br. Aliz Marisol Pérez Vásquez

Auxiliar de Investigación II

Guatemala, 30 de septiembre de 2011.

INVESTIGADORES PARTICIPANTES

Licda. María Luisa Masaya de López	Coordinadora
Br. Mariana Elizabeth Herrera García	Auxiliar de investigación
Br. Aliz Marisol Pérez Vásquez	Auxiliar de Investigación
Lic. Leticia del Carmen Castillo Signor	Colaboradora
Lic. Ronald Omar Kestler Ordóñez	Colaborador

INSTITUCIONES PARTICIPANTES

Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia	Universidad de San Carlos de Guatemala – USAC –
Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas – IIQB –	Universidad de San Carlos de Guatemala – USAC –
Laboratorio Nacional de Salud	Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social
Alcaldía Auxiliar del Distrito No. 10 y Dirección de Salud y Bienestar Municipal.	Municipalidad de la Ciudad de Guatemala.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

Muchas gracias por ayudarnos a hacer de este proyecto una realidad:

Dra. Hilda Valencia de Abril	Coordinadora del Programa Interdisciplinario de Investigación en Salud – DIGI-.
Dra. Blanca Zelaya de Romillo	Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
Lic. Jaime Barrios	Unidad de diagnóstico de Leptospirosis, Unidad Central de Referencia y Vigilancia Epidemiológica. Laboratorio Nacional de Salud.
Lida. Sandra Herrera	Coordinadora del Programa de Estudios de Asentamientos Humanos – DIGI-.
Lida. Anabel de Quintanilla	Alcaldía Auxiliar del Distrito No. 10 de la Ciudad de Guatemala.
Voluntarios de toma de muestra	Dra. Vivian Pérez, Br. Carmen Mazariegos, Br. Ángela Mazariegos, Br. Ana Lucía Ovalle, Br. Estuardo Maldonado, Br. César Ávila y Br. Isaac Hernández.

INDICE GENERAL

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. ANTECEDENTES	5
A. Generalidades	5
B. Características y agente etiológico	6
C. Clasificación.....	7
D. Factores de virulencia.....	8
E. Reservorio de la infección	8
F. Mecanismo de infección	9
G. Manifestaciones clínicas.....	11
H. Hallazgos patológicos y patogénicos.....	12
I. Mecanismos de defensa inmune	16
J. Métodos de diagnóstico.....	17
K. Diagnóstico diferencial.....	23
L. Tratamiento	23
M. Distribución mundial y epidemiología	24
N. Medidas de control y prevención	28
O. Leptospirosis en Guatemala	28
P. Leptospirosis en comunidades urbanas de bajos recursos	30
IV. JUSTIFICACIÓN	33
V. OBJETIVOS	34

VI. HIPOTESIS	35
VII. METODOLOGÍA	36
VIII. RESULTADOS	48
IX. DISCUSIÓN	53
X. CONCLUSIONES	59
XI. RECOMENDACIONES	60
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
XIII. ANEXOS	69
Anexo 1: Características diferenciales de las especies de <i>Leptospira</i> ...	69
Anexo 2: Cinética de la infección por <i>Leptospira</i>	70
Anexo 3: Cálculo de la muestra poblacional	71
Anexo 4: Serogrupos y serovares utilizados	72
Anexo 5: Ficha de recolección de datos	73
Anexo 6: Consentimiento informado	75
Anexo 7: Composición de medios de cultivos.....	79
Anexo 8: Cálculo del índice <i>kappa</i> (κ).....	80
Anexo 9: Álbum de fotos	81

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Características demográficas de la población del asentamiento 15 de Enero	48
Tabla 2. Frecuencia de serovares de <i>Leptospira</i> sp. identificados por la prueba de MAT y títulos obtenidos	49
Tabla 3. Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos anti- <i>Leptospira</i> en la población del asentamiento 15 de enero	50
Tabla 4. Características diferenciales entre las especies de <i>Leptospira</i> ...	69
Tabla 5. Listado de serovariedades empleados para la prueba de MAT ..	72
Tabla 6. Composición del medio base EMJH	79
Tabla 7. Composición de suplemento de medio EMJH	79
Tabla 8: Composición de medio Fletcher	79
Figura 1. Mapa de asentamiento 15 de Enero, 23 Av. Zona	52
Figura 2. Cinética de la infección por <i>Leptospira</i>	70

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

Etapa I: Reconocimiento

Fotos 1.1 – 1.2 Entrada del asentamiento 15 de Enero.....	81
Fotos 1.3 – 1.5 Características de las viviendas	82
Fotos 1.6 – 1.8 Presencia de animales callejeros y de crianza	83
Fotos 1.9 – 1.11 Zanjón de aguas negras y basurero clandestino	84

Etapa II: Información a la comunidad

Fotos 2.1 Información general de la infección	85
Foto 2.2 Presentación de estudio	86
Fotos 2.3 – 2.5 Aclaración de dudas y participación de líderes.....	86

Etapa III: Toma de muestra

Foto 3.1 Material empleado	87
Foto 3.2 Consentimiento informado.....	87
Foto 3.3 Toma de muestra venosa.....	87
Foto 3.4 Identificación de muestras	88
Foto 3.5 Participación de menores	88
Fotos 3.6 – 3.7 Participación familiar y de líderes	89

Etapa IV: Transporte y almacenamiento

Foto 4.1 Obtención de suero	90
Foto 4.2 Identificación y almacenamiento	90
Foto 4.3 Total de muestras recolectadas	90

Etapa V: Elaboración de medios de cultivo

Foto 5.1 -5.2 Preparación de material	91
Foto 5.3 Colaboración del LNS.....	91

Etapa VI: Determinación de anticuerpos por ELISA

Foto 6.1 – 6.2 Equipo de trabajo en LNS.....	92
Foto 6.3 – 6.6 Determinación de Anticuerpos IgG por ELISA	93
Foto 6.7 – 6.9 Obtención de resultados.....	94

I. RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad cosmopolita, endémica y emergente, causada por la bacteria *Leptospira interrogans*, de la que se conocen más de 28 serogrupos y 218 serovariedades (Carrado, 2005). Se calcula que la incidencia anual de casos se encuentra en un rango de 0.1-1/100,000 en climas templados y de 10 -100/100,000 en países que van desde climas húmedos a tropicales (OMS, 2008).

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) indica que existen múltiples factores que intervienen en el mantenimiento, emergencia y reemergencia de la leptospirosis, como el cambio climático, el crecimiento demográfico, el comportamiento humano, la urbanización descontrolada a zonas periféricas sin saneamiento, agua potable, crisis económica, construcción de viviendas precarias en terrenos inundables que conllevan la presencia de *Leptospira* hacia zonas suburbanas e inclusive urbanas (OPS, 2005). Estudios en Latinoamérica han reportado la presencia de la infección en comunidades urbanas con seroprevalencias que oscilan entre 12 - 38% (Agudelo *et al.*, 2000; Céspedes *et al.*, 2003; Ferro *et al.*, 2006; Suárez y Bustelo, 1986).

La ciudad de Guatemala cuenta con alrededor de 400 asentamientos y aproximadamente la mitad de éstos poseen condiciones sanitarias precarias; planteando la necesidad de establecer el comportamiento, impacto, magnitud y factores de riesgo asociados a infección por *Leptospira*, en estos sectores de la población guatemalteca (Lucas, Gándara y Linares, 2003).

El asentamiento 15 de Enero, posee una ubicación topográfica altamente riesgosa, debido a que se ubica entre laderas y un zanjón de aguas negras que desemboca en el río Las Vacas. Cuenta con servicios de drenajes, agua potable y extracción de basura, sin embargo existe acumulación de basura y drenajes superficiales en sus alrededores (Escuela Nacional de Enfermería, 2010); lo que sugiere una posible causa de la presencia de anticuerpos IgG anti *Leptospira* en pobladores de este lugar.

Los objetivos de este estudio fueron determinar la seroprevalencia de leptospirosis humana en el asentamiento 15 de Enero y de los serovares de *Leptospira*., mediante la prueba de Microaglutinación (MAT) y adicionalmente se empleó la prueba de ELISA IgG, además se describieron las características socio demográficas de la pobladores así como los factores asociados que contribuyen a la exposición con *Leptospira spp.* en esta población.

Se muestrearon un total de 46/59 de las viviendas existentes en dicho asentamiento y se incluyeron 119 pobladores, comprendidos entre los 6-85 años de edad. La población estudiada en su mayoría era de la etnia indígena (64.7%), el 80.7% alfabeta y la ocupación en su mayoría estudiantes y de oficios domésticos, con predominio del género femenino (61.3%). Se determinó una seroprevalencia de 30.25% en la población muestreada, por medio del método de MAT. Los títulos obtenidos estuvieron entre un rango de 1:40 a 1:640 y el más frecuente fue de 1:80 (30.56%). De los 36 sueros reactivos con la prueba de MAT, 21 también lo fueron con ELISA IgG. Se identificaron los serovares Australis y Lanka como los más frecuentes (11.11%), seguidos por Icterohaemorrhagiae, Pomona y Javanica con 8.33% cada uno.

No se encontró una asociación significativa entre la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* y las características conocidas como factores de riesgo encontrados en la población del asentamiento 15 de Enero. Sin embargo, algunos de los factores que probablemente contribuyen a la seroprevalencia de 30.25% de leptospirosis encontrada en los pobladores, fue que el 82.3% reportaron la presencia de roedores en sus viviendas y la existencia de un basurero clandestino al final del asentamiento favoreciendo la proliferación de los mismos, por lo que se recomienda el control de los roedores por medio de desratización y la eliminación de dicho basurero (Kendall, *et al.*, 2010). Otro de los factores posiblemente implicados fue el elevado número de perros en las calles sin control alguno, una medida de control es la vacunación de los perros de este asentamiento (Perret, *et al.*, 2005).

II. INTRODUCCIÓN

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

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

El 30.25% de las personas incluidas en el estudio presentaron anticuerpos IgG anti-*Leptospira* por el método MAT, sugiriendo un estrecho contacto con *Leptospira* y demostrando la necesidad de realizar estudios que permitan conocer la dinámica de la enfermedad en las poblaciones en las que se desconoce su impacto, para poder definir medidas de control y prevención adecuadas en las poblaciones de riesgo.

Adicionalmente, se determinó que las serovariedades circulantes de *Leptospira* más frecuentes en los pobladores son Australis y Lanka (ambas con 11.11%), dato de gran importancia epidemiológica para identificar posibles fuentes de infección, pero que al mismo tiempo genera la interrogante sobre la patogenicidad y comportamiento de cepas nativas del país que aún no han sido aisladas e identificadas.

Estos datos son una muestra del estrecho contacto existente entre la población y el agente causante de la leptospirosis, mostrando el largo camino que queda aún por recorrer en cuanto a la magnitud real de la infección, el comportamiento de la enfermedad, las fuentes de infección en el país; así como las acciones que deben tomarse para controlar y prevenir la enfermedad en poblaciones vulnerables como la del asentamiento 15 de Enero.

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

III.ANTECEDENTES

A. Generalidades:

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

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

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

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

B. Características del agente etiológico:

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

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

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

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

hacerlo durante largos períodos de hasta 180 días en aguas dulces. Pueden sobrevivir en la leche siempre y cuando esta se encuentre diluida a razón de 1:20 ó más. Y sobreviven en temperaturas frías de -20°C hasta 100 días, llegando a sobrevivir hasta 32 semanas en nitrógeno líquido (Céspedes, 2005; Laguna, 2000; Secretaria de Salud Departamental, 2008).

C. Clasificación:

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

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

Algunas características fenotípicas permiten dividir a las leptospiras patógenas y saprobias, como su temperatura de crecimiento a 13, 30 y 37°C, patogenicidad y crecimiento en la presencia de 8-azaguanina o CaSO₄, actividad de la lipasa y la

aparición de formas esféricas con la presencia de NaCl 1M (Anexo 1) (Zambrano y Araju, 2005).

D. Factores de virulencia:

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

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

E. Reservorio de la infección:

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

Los animales infectados suelen transferir las leptospiras a sus crías en el útero o en el período neonatal de forma directa por orina o semen, luego estas crías se las

trasmiten a sus crías y así sucesivamente; de esta manera la cadena de infección es mantenida por el hospedero de mantenimiento, convirtiéndose en el reservorio de la infección (Hartskeerl *et al.*, 2006).

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

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

F. Mecanismo de infección:

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

1. Contacto directo:

Los humanos se infectan directamente en situaciones en que se está en contacto con orina, animales vivos, animales muertos, órganos de animales, pieles o placentas. La transmisión de humano a humano puede ocurrir muy ocasionalmente, hay algunos ejemplos de leptospirosis transmitida sexualmente, transplacentaria y a través de la lactancia materna. Y toda orina excretada por un paciente con leptospirosis debe ser considerada infecciosa (Hartskeerl *et al.*, 2006).

a) Aerosoles:

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

b) Transplacentaria:

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

2. Contacto indirecto:

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

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

G. Manifestaciones clínicas:

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

1. Leptospirosis anictérica:

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

Posteriormente se presenta una etapa afebril que dura uno o dos días, seguida por la segunda fase (inmune) con una duración entre 10 a 30 días. Esta

última se asocia con la aparición de anticuerpos IgM circulantes mientras las concentraciones de la fracción C₃ del complemento se encuentran en el rango normal. La fiebre suele ser baja y el síndrome clínico más importante es el compromiso meníngeo, con una meningitis aséptica inespecífica de corta duración, nunca fatal, y por su inespecificidad suele confundirse con meningitis de etiología viral por pleocitocis mononuclear (Lemarroy y Carrillo, 2003).

2. Leptospirosis icterica o Síndrome de Weil:

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

H. Hallazgos patológicos y patogénicos:

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

Utilizando técnicas de inmunoelectromicroscopía se ha confirmado la posible participación de antígenos en el proceso de lesión celular del hospedero; iniciando por la interacción de la bacteria con la membrana celular y culminando con la penetración

y posterior agresión celular. La participación de las leptospiras desempeña una función destacada en la génesis de la lesión celular, comenzando con la adhesión específica que se complementa con la invasión celular. Asociada a la agresión de las células parenquimatosas; el endotelio capilar es lesionado probablemente con citotoxinas; esto se ha observado en células endoteliales de capilares del pulmón, riñón y diafragma, en donde se encuentran alteraciones mitocondriales y del retículo endoplasmático semejantes a las detectadas en los hepatocitos. Con la evolución natural de estos fenómenos, se instala un cuadro de anoxia tisular que agrava y perpetúa el proceso lesivo que culmina en la necrosis celular (Brito, 1968; Gamarra, 2008).

1. Hallazgos renales:

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

Las lesiones renales suelen iniciarse dentro de los glomérulos durante la migración de las leptospiras, luego surgen las alteraciones de los túbulos intersticiales, causadas por la migración de leptospiras dentro de los capilares peritubulares para el intersticio y túbulos, responsabilizándose por el compromiso

renal que puede variar de simple disminución de la función glomerular hasta insuficiencia renal (Gamarra, 2008).

2. Hallazgos hepáticos:

En el hígado, la ictericia es la manifestación principal de las alteraciones hepáticas, que se deben a la disfunción hepatocelular, habitualmente sin necrosis. El daño hepático en apariencia es subcelular y las leptospiras rara vez se observan en el hígado. Parecen importantes manifestaciones como las hemólisis, el daño hepatocelular y la colestasis intrahepática. La insuficiencia renal y la reabsorción de hemorragias parecen factores coadyuvantes. La ictericia sería el resultado de la agresión hepática aunque la necrosis hepatocelular no sea prominente, concordando con los valores poco elevados de las transaminasas séricas. La ictericia en los casos graves es muy intensa, y puede presentar una coloración anaranjada por lo que se le denomina cúprica o rubínica. Esta se produce por la asociación entre la impregnación bilirrubínica amarilla, dilatación y la hiperpermeabilidad vascular que resulta en congestión y hemorragia (Laguna, 2000).

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

3. Hallazgos en otros sistemas y órganos:

En el aparato cardiovascular, pueden aparecer manifestaciones tan simples como alteraciones en el trazado electrocardiográfico o hasta graves complicaciones clínicas seguidas fulminantes. Varios factores son incriminados como responsables por la agresión miocárdica, entre ellos la acción directa de las leptospiras o sus productos tóxicos, las alteraciones inmunopatológicas y las metabólicas. Brito (1967) en un estudio experimental demuestra la existencia del antígeno de *Leptospira* en la luz y adosado a la pared de vasos miocárdicos. Fortaleciendo la idea de que el microorganismo lesionaría directamente a la célula endotelial, ocasionando anoxia y muerte de la fibra miocárdica. Se cree que una fracción glicoprotéica de la célula leptospiral es la responsable de estos disturbios rítmicos, ya que podría inhibir la bomba sodio-potasio ATPasa (Bal, 2005; Laguna, 2000).

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

La agresión pulmonar se manifiesta en su forma más grave por un cuadro de neumonía hemorrágica, que al parecer se relaciona con la acción directa de una toxina sobre la pared capilar. Las lesiones son observadas con mayor frecuencia en la periferia y bases pulmonares como consecuencia de la abundancia de capilares y mayor vigor de los movimientos respiratorios de esas áreas. Esta grave

agresión pulmonar puede en la realidad resultar en una reacción de Herxheimer, desencadenada por la liberación de lipopolisacáridos de la pared celular de la *Leptospira*. El compromiso de otros órganos como las glándulas suprarrenales, páncreas, cerebro y meninges parece obedecer a los mismos mecanismos (Laguna, 2000).

I. Mecanismos de defensa inmune:

La respuesta inmune inducida en la leptospirosis humana es humoral y es la misma que en otras patologías con aparición inicial de niveles de IgM y seguida de anticuerpos IgG. Los anticuerpos de tipo IgM son producidos tempranamente, a los 5-7 días de instalada la enfermedad, sin embargo pueden aparecer a los 10 días o más. Los anticuerpos formados tempranamente pueden reaccionar con varios serovares, inhibiendo la multiplicación de las leptospiras, sin eliminarlas. Pueden ser encontrados en el suero durante 2 a 3 meses por medio de pruebas como la de MAT, inmunohemaglutinación o ELISA IgM, alcanzando su título máximo aproximadamente a la cuarta semana (Anexo 2) (Marino, 2008).

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

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

J. Métodos de diagnóstico:

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

1. Diagnóstico clínico:

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

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

2. Diagnóstico de laboratorio:

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

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

Otras alteraciones encontradas son la elevación consistente de las enzimas hepáticas, aspartato aminotransferasa (ASAT), alanino aminotransferasa (ALAT) y

gamma glutamil transferasa (GGT). Sin embargo también suele haber aumento en los niveles de amilasa, lipasa, nitrógeno de urea en sangre y un aumento importante de la creatinfosfoquinasa (CPK) de hasta 5 veces su valor normal; todo esto acompañado por alteraciones en el sedimento urinario (Martínez *et al.*, 1998).

a) Métodos directos:

i. Cultivo:

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

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

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

ii. Observación directa:

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

Adicionalmente, las tinciones con sales de plata, rojo congo e inclusive técnicas de inmunohistoquímica permiten la observación de las leptospiras en muestras histológicas; sin embargo en estos procedimientos no es posible distinguir las serovariedades involucradas y poseen el inconveniente de crear confusión, debido a que requiere de destreza y experiencia por las mínimas concentraciones de bacterias presentes en las muestras haciéndola una técnica de baja sensibilidad y especificidad (OMS, 2008; Zambrano y Araju, 2005).

iii. Inoculación en animales:

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

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

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

b) Métodos indirectos:

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

i. Hemaglutinación indirecta:

La hemaglutinación indirecta (HAI), determina anticuerpos totales (IgM e IgG) por lo que no permite diferenciar infecciones recientes de pasadas. Es útil para estudios de seroprevalencia y es recomendada por el Centro de Control de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) en Atlanta para su uso en laboratorios clínicos, por su fácil manejo y por presentar una sensibilidad del 92% y una especificidad de 97% con respecto al MAT (Perret *et al.*, 2005).

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

ii. Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT):

Método de diagnóstico estándar de referencia internacional para la confirmación serológica de una infección reciente y pasada de leptospirosis.

Técnica capaz de detecta anticuerpos contra *Leptospira* de tipo IgG e IgM en el suero analizado (Navarro, González, Sánchez y García, 2004).

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

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

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

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

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

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

iv. Inmunocromatografía de fase sólida:

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

K. Diagnóstico diferencial:

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

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

L. Tratamiento:

El tratamiento se basa principalmente en la terapia de soporte, controlando el desequilibrio electrolítico. El objetivo primordial para el tratamiento es controlar la infección antes de que suceda un daño irreparable en el hígado y/o en el riñón. El tratamiento antibiótico debe iniciarse rápidamente a medida de evitar lesiones en

tejidos; mientras que el manejo de casos moderados a graves debe de realizarse en forma hospitalaria (Buschiazzo y Cañas, 2001).

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

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

M. Distribución y epidemiología:

La leptospirosis es una enfermedad cosmopolita, tanto para animales como para humanos que se presenta durante todo el año, pero con una mayor incidencia en los meses de lluvia. En el hombre por lo general es una enfermedad de tipo ocupacional con una mayor frecuencia en agricultores, ganaderos, porcicultores, mineros, veterinarios y trabajadores de la industria de la carne y la leche. En algunos países la leptospirosis se considera una enfermedad rara, sin embargo esto seguramente se relaciona a su poca investigación (Caballeros y Romero, 1997).

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) indica que existen múltiples factores que intervienen en el mantenimiento, emergencia y reemergencia de esta

enfermedad, como por ejemplo el cambio climático, el crecimiento demográfico, el comportamiento humano, la urbanización descontrolada a zonas periféricas sin saneamiento, el agua potable, la crisis económica, los criaderos clandestinos de animales, las construcción de viviendas precarias en terrenos inundables que llevan a trasladar la presencia de *Leptospira* a zonas suburbanas e inclusive urbanas (OPS, 2005).

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

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

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

En 1883, Louis Landzouzy fue el primero en reconocer y describir la leptospirosis humana como una entidad clínica distinta. Tres años más tarde Aldolf Weil observó en trabajadores agrícolas de Alemania la enfermedad caracterizada por fiebre, ictericia, hemorragia, insuficiencia hepática y renal, que posteriormente en 1888 se llamó

enfermedad de Weil en honor al destacado investigador quien la caracterizó como una enfermedad grave de alta mortalidad (Citado en Alonso *et al.*, 2000).

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

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

En el continente asiático, China constituye un país endémico, en el cual Hun Jing realizó un estudio de 1960 hasta 1995, encontrando que el 74.8% de los campesinos son afectados por leptospirosis. En la India entre 1991 y 1992 se produjo un total de 477 casos de leptospirosis, según un estudio de Chandrasekarza, Mallika y Pankajalakshmi. En el año de 1996 en Pakistán se realizó un estudio por parte de científicos norteamericanos descubriendo que la enfermedad es prevalente en el sudeste asiático y en el medio oeste del continente, así como en el norte de Pakistán. En 1990 Myburg y Otto identificaron títulos de anticuerpos anti-*Leptospira* en ganado bovino sudafricano y en un estudio realizado en Oceanía durante 1990 a 1995 Smythe, Dohort, Norris y Symond encontraron que los trabajadores de la industria de banano son los más afectados por esta bacteria; siendo esta una ocupación no tradicional (Citado en Alonso *et al.*, 2000).

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

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

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

N. Medidas de control y prevención:

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

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

O. Leptospirosis en Guatemala:

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

en varios hemocultivos y determinar la presencia de inmunoglobulinas anti *Leptospira* a través de pruebas de aglutinación. El suero fue enviado al CDC de Atlanta, donde Suizel confirmó el hallazgo y lo identificó mediante la Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT), reportando *Leptospira interrogans* serovariedad Coppenagheni.

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

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

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

Sikahall en el año 2006 estandarizó la prueba de MAT para el diagnóstico de leptospirosis humana, tomando 4 grupos poblacionales de 30 muestras cada uno. El 25% fueron positivas a *Leptospira interrogans* por dicha metodología y la distribución

de serovariedades fue Icterohaemorrhagiae 63.64%, Canicola 24.24%, Pomona 6.06%, Bataviae 3.03% y Pyrogenes 3.03%.

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

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

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

P. Leptospirosis en comunidades urbanas de escasos recursos:

Un estudio realizado por Agudelo *et al.*, en el año 2000 en Arubá, Colombia sobre la seroprevalencia y factores de riesgo en población urbana, indicó una seropositividad

para anticuerpos IgG de 12,5%, encontrando una mayor frecuencia en personas entre 20 a 44 años y un predominio de positividad en hombres con un 15.1% contra un 10.6% en mujeres. El oficio de mayor prevalencia fue el de los no específicos seguido por desempleados, ama de casa y agricultor. Con respecto a la vivienda se encontró un porcentaje de seropositividad semejante entre personas que habitaban viviendas de construcción inadecuada con aquellas que tenían una construcción adecuada. Los serovares más comunes, detectados por de la prueba de MAT en las muestras positivas fueron Grippytyphosa, Pomona, Canicola, Bratislava.

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

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

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

En el año 2006, Benavides, López y Torres, establecieron los niveles de anticuerpos contra *Leptospira* en una población aparentemente sana de la ciudad de México, tomando sueros de donadores que acudieron a la Cruz Roja, obteniendo una positividad de 13.7%, detectando nueve serovariedades que fueron Pomona, Grippotyphosa, Hardjo, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Autumnalis y Tarassovi. Lo que indica que en la ciudad de México y las zonas contiguas pueden considerarse zonas endémicas con relación a *Leptospira*

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

IV. JUSTIFICACIÓN

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

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

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

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

V. OBJETIVOS

A. General:

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

B. Específicos:

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

VI. HIPOTESIS

Este estudio no presenta hipótesis por ser de tipo descriptivo.

VII. METODOLOGÍA

A. Universo y muestra de trabajo:

1. Universo:

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

2. Muestra:

119 habitantes del asentamiento 15 de Enero que aceptaron participar y cumplieron con los criterios de inclusión en el estudio (cálculo de muestra poblacional con un intervalo de confianza del 95% y porcentaje de error del 10%) (Anexo 3).

B. Recursos:

1. Humanos:

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

Br. Mariana Elizabeth Herrera García (*Auxiliar de investigación II*)

Br. Aliz Marisol Pérez Vásquez (*Auxiliar de investigación II*)

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

Lic. Ronald Omar Kestler Ordoñez (*Colaborador*)

2. Institucionales:

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

3. Físicos:

a) *Materiales y suministros de laboratorio:*

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

b) *Reactivos:*

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

-
- Medio Fletcher.
 - Veinte serogrupos de *Leptospira* spp. (Anexo 4).
 - Solución de amonio cuaternario
 - Solución de fenol al 5%
 - Suero de conejo
 - Extrán
 - Etanol al 70%
 - Piruvato de Sodio
 - Albúmina Bovina
 - Vitamina B12
 - Buffer fosfato salino (PBS, pH 7.2 – 7.4)

c) *Equipo:*

- Refrigeradora.
- Incubadoras de temperatura 30⁰ y 37⁰ C.
- Lavador y lector automático de placas de ELISA.
- Pipetas multicanal de volumen variable 50-200 µL
- Pipetas automáticas de volumen variable de 10 – 100 µL
- Pipetas automáticas de volumen variable de 100 – 1000 µL
- Centrífuga.
- Bomba de vacío.
- Autoclave.
- Microscopio de Campo Oscuro.
- Cabina de seguridad biológica tipo II.
- Balanza analítica.
- Potenciómetro.
- Baño María.
- Filtros con membrana de acetato de celulosa de 22 µm.

C. Métodos:

1. Alianzas estratégicas:

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

2. Trabajo de campo:

a) Consideraciones éticas:

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

Previo a la extracción de sangre, se realizó la lectura del consentimiento informado de forma individual. Para la aceptación se requirió la firma o huella

digital para adultos mayores de 15 años. En menores de 15 años fue necesaria la firma uno de los padres o encargado del menor (Anexo 6).

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

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

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

b) Validación de la encuesta en la población:

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

c) Toma de muestra:

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

- i. Identificación del tubo de recolección de la muestra con el número correlativo correspondiente.
- ii. Preparación del brazo en posición extendida y con la ligadura cuatro dedos arriba del codo.

-
- iii.* Localización de la vena y asepsia adecuada con alcohol al 70%.
 - iv.* Venipunción e introducción del tubo de vacío para recolección de aproximadamente 6 mL de sangre venosa.
 - v.* Liberación de la ligadura y retiro del tubo homogenizando la muestra girando lentamente el tubo 4 veces.
 - vi.* Extracción cuidadosa de la aguja del brazo, colocando un trozo de algodón seco en el área de la punción.
 - vii.* Descarte de material utilizado en recipientes adecuados.

d) *Recolección de variables demográficas:*

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

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

e) *Transporte y almacenamiento de muestras:*

Los tubos correspondientes fueron colocados en gradillas dentro de hieleras con una temperatura aproximada debe ser de 4-8 °C para su transporte al laboratorio; en el cual se procedió a la obtención de suero en los siguientes pasos:

- i.* Centrifugación de las muestras por 10 minutos a 5000 rpm.
- ii.* Separación de suero, transfiriendo dos alícuotas de 500 µL a viales identificados adecuadamente.
- iii.* Almacenamiento a -20⁰ C hasta su procesamiento.

3. Métodos de laboratorio:

a) *Elaboración de medios de cultivo:*

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

- El medio basal se preparó disolviendo 1.2 g del medio comercial en 500 mL de agua destilada.
- Se esterilizó por 15 minutos a 121⁰C y se enfrió hasta temperatura ambiente.
- Posteriormente se agregó de forma aséptica el suplemento en una relación 9:1 con el medio basal (Anexo 7).
- Se realizó filtración del medio con membrana de acetato de celulosa de 0.22 µm.
- Se ajustó el pH a 7.4 con soluciones de NaOH 1N o HCl 1N cuando se requirió.
- El medio fue distribuido en volúmenes de 5 mL en tubos de vidrio de 16 x 150 mL con tapón de rosca estériles.
- Se colocaron tres controles de calidad a temperatura ambiente, 30⁰ y 37⁰ C.
- El medio se almacenó en refrigeración a 4⁰C hasta su utilización.

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

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

b) Mantenimiento del cepario:

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

c) Determinación de anticuerpos IgG mediante ELISA:

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

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

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

- Las muestras fueron descongeladas y homogenizadas en vórtex.
- Se rotularon tubos de ensayo con el número de muestra correspondiente.
- Se agregaron 390 μL de diluyente a cada tubo de ensayo previamente rotulado.

-
- Se añadieron 10 μ L de la muestra correspondiente (dilución 1:40).
 - Los pozos utilizados fueron colocados en la placa de sostén.
 - Se colocaron 100 μ L de control negativo en el pozo A1, y otros 100 μ L de control positivo en el pozo B1.
 - Posteriormente se colocaron 100 μ L de los sueros previamente diluidos en los pozos siguientes, anotando en la hoja de registro correspondiente el número de muestra.
 - Se incubó a temperatura ambiente por 10 minutos.
 - Se realizaron lavados 3 veces con solución de lavado en lavador automático.
 - Los pozos se sacudieron contra un papel absorbente hasta remover la totalidad del líquido.
 - Se añadieron dos gotas de conjugado a cada uno de los pozos y se incubaron por 10 minutos.
 - Posteriormente se realizaron nuevamente 3 lavados con solución de lavado en lavador automático.
 - Los pozos se sacudieron contra un papel absorbente hasta remover la totalidad del líquido.
 - Se añadieron dos gotas de cromógeno a cada uno de los pozos e incubaron en oscuridad a temperatura ambiente por 5 minutos.
 - Se añadieron dos gotas de solución stop y se agitó suavemente.
 - La absorbancia fue leída en un lector automático con filtro primario de 450 nm, y filtro de referencia de 620 - 650 nm.

d) Determinación de anticuerpos totales por medio de MAT:

i. Preparación del antígeno:

- Todas las muestras fueron procesadas en la cabina de bioseguridad, para evitar la contaminación de las cepas.
- Se tomó aproximadamente un 1 mL del “anillo de Dinger” formado entre la parte media y superficie del medio Fletcher, cuidando no tomar agar.

-
- Se inoculó aproximadamente 0.5 mL (10 gotas aproximadamente) del contenido de la pipeta resbalando por las paredes del tubo con medio EMJH modificado, evitando tocar el medio para evitar la contaminación.
 - Los inóculos se incubaron a 30°C por 5-7 días, registrando diariamente el control de la temperatura, para un mejor desarrollo de la cepa.
 - Todos los cultivos utilizados para la prueba MAT tenían entre 5 y 7 días de desarrollo en medio EMJH modificado.
 - Los cultivos con una concentración aproximada de $2-4 \times 10^8$ leptospiras, que no evidenciaron contaminación ni autoaglutinación microscópica fueron seleccionados.
 - Los cultivos densos, se diluyeron n con buffer fosfato salino (PBS, pH 7.2.-7.4), hasta observar en el microscopio un aproximado de 150-200 leptospiras en movimiento por campo.

ii. Tamizaje:

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

iii. Lectura:

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

iv. Interpretación:

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

D. Diseño de la investigación:

1. Tipo de estudio:

Descriptivo, prospectivo transversal

2. Tipo de muestreo:

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

Para la realización del muestreo, se visitaron las viviendas del asentamiento por sectores con condiciones ambientales similares. El sector 1 integrado por las viviendas que colindan al norte y al este con la finca Rivera, hasta el salón comunal (lote 11). El sector 2 lo conformaron las viviendas ubicadas en la entrada del asentamiento, con límites ubicados dentro del asentamiento. El sector 3 fue integrado por las viviendas ubicadas en la parte alta del asentamiento que colindan al sur con la colonia 10 de Mayo. Las viviendas ubicadas en el sector 4 todas aquellas que limitan al norte con el zanjón de aguas negras.

3. Diseño estadístico:

a) Recolección de datos:

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

b) Tabulación de datos:

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

c) Análisis de resultados:

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

VIII. RESULTADOS

Se encuestaron un total de 119 pobladores del asentamiento 15 de Enero que cumplieron con los criterios de inclusión del estudio. De estos, el 61.34% pertenecía al género femenino, 64.70% eran de la etnia indígena, 42.86 % indicó tener una escolaridad de nivel primario y el 52.09% tenía una edad comprendida entre 16 y 36 años (Tabla 1).

La seroprevalencia de leptospirosis en la población estudiada fue del 30.25% (36/119), utilizando la prueba de Microaglutinación (MAT). El 69.40% de las personas seropositivas eran de género femenino y el 30.60% restante masculino. El grupo étnico con mayor frecuencia fue el indígena (75%), mientras que los grupos de mayor frecuencia por edad fueron los comprendidos entre 6-15 años (25%) y 16-25 años (30.6%) (Tabla 1).

Tabla 1. Características demográficas de la Población del asentamiento 15 de Enero

Características	Total (%) N=119	MAT positivo (%) n=36	IC_{95%}
Género			
Femenino	73 (61.34%)	25 (69.40%)	51.9 - 83.70%
Masculino	46 (38.66%)	11 (30.60%)	16.30 - 48.10%
Edad (años)			
6-15	33 (27.73%)	9 (25.00%)	12.10 - 42.20%
16-25	41 (34.45%)	11 (30.60%)	16.30 - 48.10%
26-35	21 (17.64%)	06 (16.70%)	06.40 - 32.80%
36-45	13 (10.94%)	04 (11.10%)	03.10 - 26.10%
≥46	11 (09.24%)	06 (16.70%)	06.40 - 32.80%
Etnia			
Ladino	42 (35.30%)	09 (25.00%)	57.80 - 87.90%
Indígena	77 (64.70%)	27 (75.00%)	12.10 - 42.20%
Alfabeto			
Si	97 (80.67%)	26 (72.20%)	54.80 - 85.80%
No	22 (19.33%)	10 (27.80%)	14.20 - 45.20%
Escolaridad			
Primaria	52 (42.86%)	16 (44.40%)	27.90 - 61.90%
Básicos	29 (23.53%)	04 (11.10%)	03.10 - 26.10%
Diversificado	13 (11.76%)	05 (13.90%)	04.70 - 29.50%
Ninguno	25 (19.33%)	11 (30.60%)	16.30 - 48.10%

MAT: Prueba de Microaglutinación, IC_{95%}: Intervalo de confianza

Fuente: Datos experimentales

De los 119 sueros enfrentados a 20 serovares de *Leptospira*, un 36 (30.25%) fueron reactivos. Los serovares que presentaron una mayor frecuencia en su reactividad con los sueros evaluados fueron: Australis y Lanka ambos con un 11.11%, seguidos por un Icterohaemorrhagiae, Pomona, Javanica y Patoc todos con 8.33% (Tabla 2).

Tabla 2. Frecuencia de serovares reaccionantes y los títulos obtenidos, con sueros del asentamiento 15 de Enero.

Serogrupo	Serovar	Frecuencia (%)	Título					
			1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
SEROVARES								
Australis	Australis	4 (11.11%)	-	1	1	1	1	-
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	3 (8.33%)	-	1	1	-	1	-
Louisiana	Lanka	4 (11.11%)	-	2	1	-	-	1
Bataviae	Bataviae	1 (2.78%)	-	-	-	1	-	-
Serjoe	Hardjo	2 (5.56%)	-	-	-	2	-	-
Djasiman	Djasiman	1 (2.78%)	-	-	-	-	1	-
Grippotyphosa	Grippotyphosa	1 (2.78%)	-	-	-	-	1	-
Cynopteri	Cynopteri	1 (2.78%)	-	-	-	-	-	1
Samaranga	Patoc	3 (8.33%)	-	-	3	-	-	-
Shermani	Shermani	1 (2.78%)	-	-	1	-	-	-
Manhao	Lincang	1 (2.78%)	-	-	-	1	-	-
Panama	Panama	1 (2.78%)	-	-	1	-	-	-
Pomona	Pomona	3 (8.33%)	-	-	1	1	1	-
Javanica	Javanica	3 (8.33%)	-	-	2	1	-	-
Subtotal		29 (80.56%)	0	4	11	7	5	2
SEROVARES AGLUTINANTES CON EL MISMO TÍTULO (INDETERMINADOS)**								
Australis, Australis/ Pomona, Pomona		1 (2.78%)	-	-	1	-	-	-
Australis, Australis/ Serjoe, Hardjo/ Icterohaemorrhagiae, Icterohaemorrhagiae		1 (2.78%)	-	1	-	-	-	-
Hebdomadis, Hebdomadis/ Canicola, Canicola		1 (2.78%)	-	1	-	-	-	-
Hebdomadis, Hebdomadis / Pomona, Pomona		1 (2.78%)	-	-	-	-	1	-
Iciae, Icterohaemorrhagiae / Javanica, Javanica		1 (2.78%)	-	-	1	-	-	-
Djasiman, Djasiman/ Pomona, Pomona		1 (2.78%)	-	1	-	-	-	-
Icterohaemorrhagiae, Icterohaemorrhagiae / Bataviae, Bataviae		1 (2.78%)	-	1	-	-	-	-
Subtotal		7 (19.44%)	0	4	2	0	1	0
TOTAL		36						

*MAT: Prueba de Microaglutinación ,

**De los 36 sueros positivos, 6 presentaron aglutinación con dos serovares en el mismo título y una lo hizo con tres.

Fuente: Datos experimentales

El título más frecuente fue el de 1:80. Ninguno de los sueros evaluados aglutino para los serovares Mosdok, Ranarum y Celledoni. Se presentó una coagulación contra 2 o más serovares en 7 (19.44%) de los 36 sueros reactivos (Tabla 2).

Tabla 3. Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos anti *Leptospira* IgG en la población del asentamiento 15 de Enero (N=119)

Factor	MAT Positivo (n=36)	MAT Negativo	X ²	p	OR	IC _{95%}
Ocupación						
Comerciante	09	19			1.12	0.45 – 2.79%
Oficios domésticos	10	23	0.99	0.80	1.00	0.42 – 2.40%
Estudiante	13	26			1.24	0.54 – 2.82%
Otros	04	15			0.43	0.09 – 2.07%
Personas por vivienda						
4 o más personas	33	75	0.74	0.39	0.55	0.14 – 2.18%
Menos o 3	03	08				
Tipo de Construcción						
Madera/lámina/Adobe	32	75	0.82	0.37	0.53	0.13 – 2.12%
Block/ladrillo	04	5				
Tipo de piso						
Granito/Cemento	23	59	0.61	0.44	0.72	0.31 – 1.65%
Tierra	13	24				
Servicio sanitario						
Letrina	01	03	0.05	0.82	0.76	0.08 – 7.58%
Inodoro	35	80				
Agua para consumo						
Directo de la llave	05	18	0.98	0.32	0.58	0.20 – 1.71%
Agua clorada/hervida/purificada	31	65				
Tratamiento de basura						
Barranco/Ninguno	02	01	1.93	0.16	4.82	0.42 – 54.99%
Recolección municipal	34	82				
Macotas						
Si	18	37	0.30	0.59	1.24	0.57 – 2.72%
No	18	46				
Tipo de macotas						
Perro/Vaca/Cerdo	13	26	0.26	0.61	1.24	0.54 – 2.82%
Otros	23	57				
Presencia de roedores						
Si	29	69	0.11	0.73	0.84	0.31 – 2.30%
No	07	14				
Inundaciones						
Si	13	37	0.74	0.39	0.70	0.31 – 1.57%
No	23	46				

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

Fuente: Datos experimentales

En la población estudiada se encontraron distintos factores de riesgo, sin embargo ninguno mostró una asociación significativa ($p > 0.05$), a pesar de que un 80.56% de personas seropositivas reportaron la presencia de roedores (ratas/ratones) en sus viviendas (Tabla 3).

Durante el estudio se muestrearon 46 viviendas de 59 que integran el asentamiento, con un muestreo mayor al 70% de las viviendas por sector, obteniendo una distribución de casos representativa a pesar de no ser estadísticamente significativa ($X^2=0.1709$, $p=0.9821$) (Figura 1). La frecuencia de pobladores seropositivos por sector fue: sector 4 con un 32.43% (12/37), seguido del sector 3 con un 31.20% (5/16), sector 2 con 29.03% (9/31) y el sector 1 con 25.57% (10/35).

De las 36 personas seropositivas por el método de MAT, 21 fueron reactivas con prueba de ELISA IgG, obteniéndose un porcentaje de acuerdo del 72.26% entre ambas pruebas y un índice de kappa de 0.36 (concordancia discreta, según Landis y Koch) (Anexo 8).



Figura 1. Mapa de asentamiento 15 de Enero, 1ª. Calle "A" y 23 Avenida de la zona 1. Nótese la distribución de los habitantes en los que se detectó la presencia de anticuerpos IgG anti *Leptospira* (36/119) por número de casa y sector. Aproximadamente en un 35% de las viviendas se detectó la presencia de anticuerpos en más de un habitante.

Fuente: Datos experimentales

IX. DISCUSIÓN

La leptospirosis humana es una enfermedad endémica en países de clima húmedo, subtropical y tropical donde la elevada densidad poblacional y las deficientes condiciones sanitarias favorecen su transmisión, tal y como ha sido demostrado en estudios realizados en países latinoamericanos de características similares. En Guatemala los principales hallazgos en seres humanos han determinado la presencia de anticuerpos anti *Leptospira* en casos agudos de pacientes con serología negativa para dengue, personas aparentemente sanas (donadores) y habitantes de poblaciones rurales (Orantes, 2003; Barrios, 2010; Zelaya *et al.*, 2008; Galindo, 2008).

Sin embargo, no se ha realizado ningún estudio seroepidemiológico de leptospirosis humana en un área urbana de la ciudad de Guatemala, por lo que el presente estudio tuvo como objetivo principal determinar la presencia anticuerpos IgG anti *Leptospira* en los habitantes del asentamiento 15 de Enero ubicado en la zona 1 de la ciudad de Guatemala mediante las pruebas de microaglutinación (MAT) y ELISA IgG.

La seroprevalencia obtenida en la población del asentamiento 15 de Enero fue de 30.25 %, siendo inferior a la encontrada en el 2008 por Zelaya *et al.*, en una población rural de Masagua, Escuintla (51.8%). En dicho estudio se establecieron factores que probablemente incidieron en que se obtuviera una seroprevalencia considerada como hiperendémica dado a que se observó una convivencia íntima con animales domésticos que también presentaron una alta prevalencia de anticuerpos anti *Leptospira* (caninos 58%, porcinos 30%), ya que éstos pernoctaban dentro de las viviendas todo el tiempo, lo que favorece el contacto con la orina infectada durante el período de leptospiruria de dichos animales (Hartskeerl, 2006). En comparación a lo ocurrido en el asentamiento 15 de Enero en donde se observó que la presencia de perros en las calles es alta debido a que los dueños no los ingresan a las viviendas durante la mayor parte del día. Sin embargo, la seroprevalencia encontrada en el asentamiento 15 de Enero es comparable con otros estudios realizados en centros urbanos de Sudamérica como los de Suárez y Bustelo que en año de 1986 reportaron una prevalencia de 38% en Argentina y los

hallazgos de Céspedes *et al.*, que en el 2003 reportaron una seroprevalencia de 36.6% en Perú.

En muchos de estudios se reporta una mayor seroprevalencia de la enfermedad en hombres pues ha sido relacionada con actividades ocupacionales (Agudelo *et al.*, 2000; Céspedes *et al.*, 2003; Ferro *et al.*, 2006). Sin embargo, en Estados Unidos durante la década de 1970 se demostró que solamente el 30% de los individuos infectados tuvieron una exposición durante su trabajo y que dentro de la población infectada se encontraron niños, amas de casa y personas retiradas o desempleadas, población con características similares a la estudiada en el asentamiento 15 de Enero, donde la mayoría de personas fueron del género femenino y en su mayoría amas de casa, a pesar de no mostrar una asociación significativa entre el género y la infección (OR= 1.66, p=0.2320) (Koneman *et al.*, 2003).

Los grupos de mayor frecuencia por edad fueron los comprendidos entre 6-15 años y 16-25 años, lo cual sugiere que la circulación de *Leptospira* en la población del asentamiento 15 de Enero es activa y constante; ya que los anticuerpos IgG permanecen detectables de 6-12 meses o incluso durante años (Marino, 2008).

En cuanto a la identificación de factores de riesgo asociados a la infección por *Leptospira*, no se encontró una diferencia significativa entre la seropositividad de las personas que habitaban viviendas de construcción inadecuada con aquellas que tenían una construcción adecuada; por lo que se asume que en esta población esta característica no es determinante del riesgo al igual que los oficios, tipo de agua para consumo y número de mascotas. Siendo otros factores de tipo socio-ambiental los que podrían influir en el comportamiento de la presencia de leptospirosis patógenas en el asentamiento 15 de Enero como la cercanía de las viviendas al zanjón de aguas negras (Foto No. 1.9), inundaciones y carencia de sistema apropiado de drenajes (Foto No. 1.5) los que podrían favorecer la instalación del agente en la población, ya que la distribución de personas seropositivas por sectores del asentamiento mostró una mayor frecuencia de los mismos en el sector 4

(ver figura 1), en donde se ubicaron 12/13 personas que reportaron sufrir de inundaciones en sus viviendas durante la época lluviosa, ya que la parte posterior de sus viviendas colindan con el zanjón, en donde fluye agua proveniente de un nacimiento al sur del asentamiento y de las descargas de drenajes de algunas viviendas ubicadas en esa parte. Se observó que el curso de dicho zanjón coincide con el basurero clandestino que se encuentra al suroeste del asentamiento.

Diferentes estudios realizados en Latinoamérica han podido establecer la relación existente entre los animales que actúan como reservorio natural de la leptospirosis, con la transmisión accidental al ser humano. Entre estos se destaca un estudio realizado por Perret, en el año 2005 en Chile, donde un 15% de los roedores estudiados presentaron anticuerpos anti-*Leptospira*. Otro estudio similar realizado en Santa Fe, Argentina reportó que en el 61.5% de los casos de leptospirosis, compartían la presencia de roedores como una de las fuentes probables de infección (Ubaldo, Sensvy, Colombo y Tramontin, 2002). La presencia de roedores en el asentamiento no demostró ser un factor de riesgo estadísticamente significativo (OR= 0.73, p=0.84), sin embargo el 80% del total de personas muestreadas reportó su presencia, la cual es probablemente favorecida por la existencia de un basurero clandestino que favorece la proliferación de roedores. Este basurero se mantiene en el asentamiento a pesar de que el 90% de los habitantes del mismo reportó usar el servicio de extracción de basura brindado por parte de la Municipalidad (Foto 1.11).

En los estudios epidemiológicos realizados en Guatemala sobre la leptospirosis humana se ha usado un pequeño panel de serovares de leptospirosis y ninguno de ellos ha empleado cepas nativas, por la falta de aislamiento de las mismas tanto en animales como en humanos. En el presente estudio se contó con 20 serovariedades representativas de 16 de los 18 serogrupos recomendadas por la OMS en países donde los serovares circulantes no son conocidos (OMS, 2008). De estos, se encontró los serovares Australis y Lanka (ambos con 11.11%), Icterohaemorrhagiae, Pomona, Javanica y Patoc (cada uno con 8.33%).

El serovar Australis fue encontrado originalmente en las áreas costeras de Australia tanto en ratas como en ganado y durante el 2009 se reportó un 13.7% de leptospirosis humana causada por este serovar (Queensland Health Forensic and Scientific Services, 2009). En América se ha encontrado el serovar Australis tanto en perros como en humanos, en México se reportó una frecuencia de 7.69% en perros callejeros. Barmelttler et al., en el año 2008 encontraron en Estados Unidos una incidencia del 83% de este serovar en perros enfermos de leptospirosis. En seres humanos existen algunos reportes como el referido en la ciudad de Antioquia, Colombia con una frecuencia del serovar Australis del 10.2% (5/49), comparable al resultado obtenido con los habitantes del asentamiento 15 de Enero (Agudelo y Restrepo, 2007). Sin embargo, en el estudio realizado por Barrios en el 2010, en pacientes febriles hospitalizados y negativos a dengue, otro en donadores de sangre (población relativamente sana) (Galindo, 2008) y en el realizado por Zelaya *et al.*, en humanos, no se encontró el serovar Australis, pero en este último si se detectó en caninos en un 4%.

También se encontró una seroprevalencia del 11.11%, del serovar Lanka en el asentamiento 15 de Enero, el cual se aisló originalmente en un humano de Sri Lanka, pero son pocos los estudios en donde se ha incluido en el panel de análisis, como el llevado a cabo en Bangladesh en el año 2001 en donde se encontró una reactividad del 22.45% de los sueros obtenidos (Kendall *et al.*, 2010). En Guatemala la presencia del serovar Lanka no se había detectado en los estudios anteriores, debido a que ninguno de ellos se incluyó este serovar en el panel de MAT.

Otro serovar encontrado en menor proporción fue Pomona, que ya ha sido reportado en Guatemala en población humana. Sikahall en el año 2006 encontró una seropositividad ante este serovar del 6.06%, mientras que Zelaya *et al.*, en el 2008 reportaron un 4.9%. Ambas frecuencias con valores cercanos a la encontrada en el asentamiento 15 de Enero con 8.33 %, sin embargo esta es mucho menor a la encontrada en otras ciudades de Suramérica como la ciudad de Antioquia, Colombia en donde Agudelo *et al.*, en el 2007 reportó una frecuencia 42.85%. Habitualmente este serovar ha

sido asociado al ganado porcino y se ha reportado una seroprevalencia del 6.06% en la población canina urbana de Tolima, Colombia (Romero, Sánchez y Hayek, 2009). En Guatemala Zelaya reporto un frecuencia de 20.69% en los caninos muestreados, por lo que el contacto con perros infectados puede ser un factor que favorezca la circulación del serovar Pomona en el asentamiento 15 de Enero, aunque se desconoce su frecuencia en perros del lugar.

El serovar Icteroaemorrhagiae presentó una seroprevalencia del 8.33%, dato similar al 6.0% encontrado por Zelaya *et al.*. También en el Laboratorio Nacional de Salud en su boletín semestral reportó que el 46% de los sueros referidos a dicho laboratorio para el serodiagnóstico de leptospirosis, fueron reactivos para este serovar (Díaz, Barrios y Meneses, 2009). La detección de el serovar Icteroaemorrhagiae en estos estudios es importante debido a que el mismo ha sido descrito como uno de los causales de el Síndrome de Weil que es la forma grave de leptospirosis (Levett, 2001).

Finalmente con un 8.33% se encontró el serovar Pactoc, perteneciente a la especie de *Leptospira biflexa*, que no es patógena, pero se debe incluir en el panel de MAT, pues comparte un gran número de antígenos de superficie con otras leptospirosis pertenecientes a otros serogrupos, por lo que su reactividad es indicador de un contacto con serovariedades menos frecuentes y que generalmente no son incluidas dentro del panel utilizado para MAT (Levett, 2001).

El título más frecuente encontrado para los 18 serovares de *Leptospira*, que reaccionaron con los sueros de los pobladores del asentamiento 15 de Enero fue de 1:80, similar al encontrado el estudio realizado en Masagua, Escuintla por Zelaya *et al.*, en el año 2008.

De los 36 pobladores seropositivos para *Leptospira*, el 19.44% presentaron una coaglutinación, resultando en 7 combinaciones dos y tres diferentes serovares; esto como resultado de la utilización de diferentes serovares pertenecientes a un mismo serogrupo

de *Leptospira*, las cuales comparten una mayor cantidad de antígenos de superficiales. Aún así no debe descartarse del un todo, la idea de que la seroprevalencia sea causada por el contacto previo con diferentes leptospiras (Ferro *et al.*, 2006), por lo que comparten una mayor cantidad de antígenos de superficie que pueden provocar una reacción detectable en la prueba de MAT. (Levett, 2001).

La información sobre la seroprevalencia de anticuerpos frente a los serogrupos permitirá reajustar el panel de los serovares necesarios para realizar la prueba de MAT de acuerdo a la reactividad local observada tanto en áreas urbanas como lo indica el estudio realizado por Zelaya *et al.*, en el 2008, como el presente estudio realizado en un área urbana con factores que favorecen al contacto con *Leptospira* (Ferro, *et al.* 2006); no obstante es importante resaltar la importancia de los aislamientos de cepas nativas locales para humanos y reservorios que permitan mejorar el desempeño de la prueba, ya que el aislamiento permitirá la confirmación de los serovares circulantes en Guatemala (Céspedes, 2005).

Para la detección de anticuerpos IgG anti *Leptospira*, en pobladores del asentamiento 15 de Enero se utilizaron 2 tipos de pruebas; MAT y ELISA IgG los cuales tuvieron una concordancia discreta. Por lo que el uso de la prueba de MAT en estudios de seroprevalencia es de gran utilidad, ya que permite la utilización de sueros de cualquier especie animal y el panel de serogrupos y serovares incluidos pueden ser disminuidos o aumentados según se requiera y es la prueba de oro para la confirmación de leptospirosis recomendada por OPS. (Céspedes, 2005).

X. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de anticuerpos IgG anti *Leptospira* detectados a través de la prueba de Microaglutinación y ELISA IgG en los habitantes del asentamiento 15 de Enero fue de 30.25%.
2. Los serovares de *Leptospira* más frecuentes fueron Australis y Lanka ambas con 11.11%, e Icterohaemorrhagiae, Pomona y Javanica con 8.33% cada una.
3. La población del asentamiento 15 de Enero es mayoritariamente indígena (64.70%), y el 80.67% es alfabeta. En la población muestreada se existió un predominio del género femenino (61.34%) y el mayor porcentaje fueron estudiantes de edades comprendidas entre 15-25 años (34.45%). Mientras que las ocupaciones más frecuentes en la población adulta fueron los oficios domésticos (27.73%) y comerciante (23.52%).
4. La población del asentamiento 15 de Enero presenta varias características descritas como factores riesgo, sin embargo no se determinó ninguna asociación significativa ($p>0.05$) entre estos y la presencia de anticuerpos IgG anti *Leptospira*.

XI. RECOMENDACIONES

A. Específicas para el Asentamiento 15 de Enero

1. Conectar los drenajes de aguas residuales domésticas, de las viviendas que aún no lo están, a la red de drenajes municipales. Evitando así, la constante contaminación del zanjón y las inundaciones de las viviendas circundantes, y erradicando de esta forma los posibles focos de la leptospirosis.
2. Vacunar animales domésticos y callejeros contra *Leptospira*.
3. Realizar una adecuada eliminación de la basura que se encuentra en las calles.
4. Erradicar el basurero clandestino para evitar la proliferación de ratas y ratones.
5. Realizar campañas de desratización, para el control de ratas y ratones.

B. Generales

1. Realizar estudios epidemiológicos de la leptospirosis en áreas como el asentamiento 15 de Enero debido a que las invasiones de áreas suburbanas, rurales y semirurales para la construcción de viviendas va en aumento, y es necesario prevenir la diseminación de enfermedades como la mencionada.
2. Realizar estudios posteriores de aislamientos de cepas nativas de *Leptospira*, ya que se desconoce la virulencia y patogénesis de las cepas que circulan en ecosistemas como el encontrado en el asentamiento 15 de Enero, en donde la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* en la población es debida al contacto con el microorganismo y no a la inmunización.
3. Capacitar al recurso humano en salud pública para garantizar la detección oportuna y manejo adecuado de la enfermedad en las poblaciones de mayor riesgo.
4. Promover actividades de higiene urbana y medio ambiental orientadas al control y prevención de la leptospirosis en los equipos técnicos de municipalidades y organizaciones civiles.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

-
- Lemarroy, D. y Carrillo, M. (2003). Leptospirosis y disfunción orgánica múltiple, caso clínico y revisión de la literatura. *Revista de la Asociación Mexicana de Medicina Crítica y Terapia Intensiva*. 17(5), 175-186.
- Levett, P. (2001). *Leptospirosis*. *American Society for Microbiology*. 14(2): 296-326
- Lucas, M., Gándara, J. y Linares, L. (2003). Asentamientos precarios en la ciudad de Guatemala. *Asociación de Investigación y Estudios Sociales*. 18(6):1-10.
- Marino, M. (2008). Leptospirosis: epidemiología, fisiopatología e inmunopatogénico. *Veterinaria y Zootecnia*. 15(3), 428-434.
- Martín, U., Sensevy, A., Colombo, J. y Tramotin, V. (2002). Leptospirosis en la provincia de Santa Fe. *Medicina Buenos Aires*. 62(2):164 – 168.
- Martínez, G., Ribo, R., y Herranz, R. (1998). Infecciones por *Leptospira*, formas clínicas, actitudes diagnósticas y terapéuticas. *Medicina*. 7(79), 3672-3675.
- Michna, S. (1970). Bovine leptospirosis: infection by the Hebdomadis serogroup and abortion: A herd study. *Veterinary Record*. 99(21), 484-496
- Ministerio de Salud de Nicaragua (2010). *Reporte de la epidemia de leptospirosis*. Extraído el 01 de noviembre, 2010 de <http://www.tortillaconsal.com/tortilla/node/7088>
- Monte, A. (s.f.) *Leptospirosis*. Universidad de la Republica de la Facultad de Medicina. Extraído el 09 de agosto, 2010 de <http://www.higiene.edu.uy/leptos.htm>
- Naranjo, M., Suárez, M., Fernández, C., Gonzáles, M., Batista, N., Gonzáles, I., et al. (2007). Confirmación microbiológica de un brote de leptospirosis en Honduras tras el

paso del huracán Mitch y potencialidad profiláctica de vax-SPIRAL. *VacciMotor*. 16(3), 13-18.

Navarro, L., González, O., Sánchez, M. y García, O. (2004). Comparación de técnicas para el diagnóstico de la leptospirosis humana. *Revista Cubana de Investigación Biomedica*. 22(1), 19-22.

Orantes, J. (2003). *Comparación de métodos para el diagnóstico de leptospirosis en pacientes que asisten a la emergencia del Hospital General San Juan de Dios*. Tesis para optar al título de Químico Biólogo de la Escuela de Químicas Biológicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

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

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

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

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

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

-
- Reyes, I. (2010). Caracterización epidemiológica microbiológica de pacientes con leptospirosis provincia de Cienfuegos 2003-2007. *Revista electrónica PortalesMedicos*. 1-6. Recuperado de <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/2351/1/Caracterizacion-epidemiologica-microbiologica-de-pacientes-con-leptospirosis->
- Roca, B. (2006). Leptospirosis. *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra*. 50(2), 3-6.
- Rodríguez, I., Fernández, C., Llerena, C., Victoria, B., Rodríguez, J. y Obregón, A. (2002). Lepto distick: resultados de su aplicación al diagnóstico rápido de la leptospirosis humana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 54(1), 44-47.
- Rodríguez, M., Flores, G., Bocanegra, V., Alonso, A. y Solates, A. (2007). Estudio comparativo de seropositividad a *Leptospira* en trabajadores de rastros de Tamaulipas. *Medigraphic*. Recuperado de http://www.medigraphic.com/pdfs/bioquimia/bq-2009/bqm_091ce.pdf
- Romero, M., Sánchez, J. y Hayek, L. (2010). Prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* en población urbana humana y canina del departamento de Tolima. *Revista de Salud Pública*. 12(2): 268-275.
- Sadow, K. y Ramírez, W., (2005). Leptospirosis. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 6(6), 1-65.
- Secretaría de Salud Departamental. (2008). *Situación de la leptospirosis en el departamento del Atlántico*. Colombia, Barranquilla: Autor.
- Sikahall, S. (2006). *Estandarización de la prueba de aglutinación microscópica en placa (MAT) para el diagnóstico de leptospirosis humana*. Tesis de Graduación para optar

al título de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Solano, A., Boza, R. y Saenz, E. Leptospirosis en humanos. *Revista de Costa Rica de Ciencias Médicas*. 17(2), 41-55.

Suárez, M. y Bustelo, J. (1986). Leptospirosis en humanos: Prevalencia serológica en 2 grupos diferentes en la provincia de Formosa. *Rev. Argentina Microbiol.* 18, 75-78.

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

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

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

XIII. ANEXOS

Anexo 1:

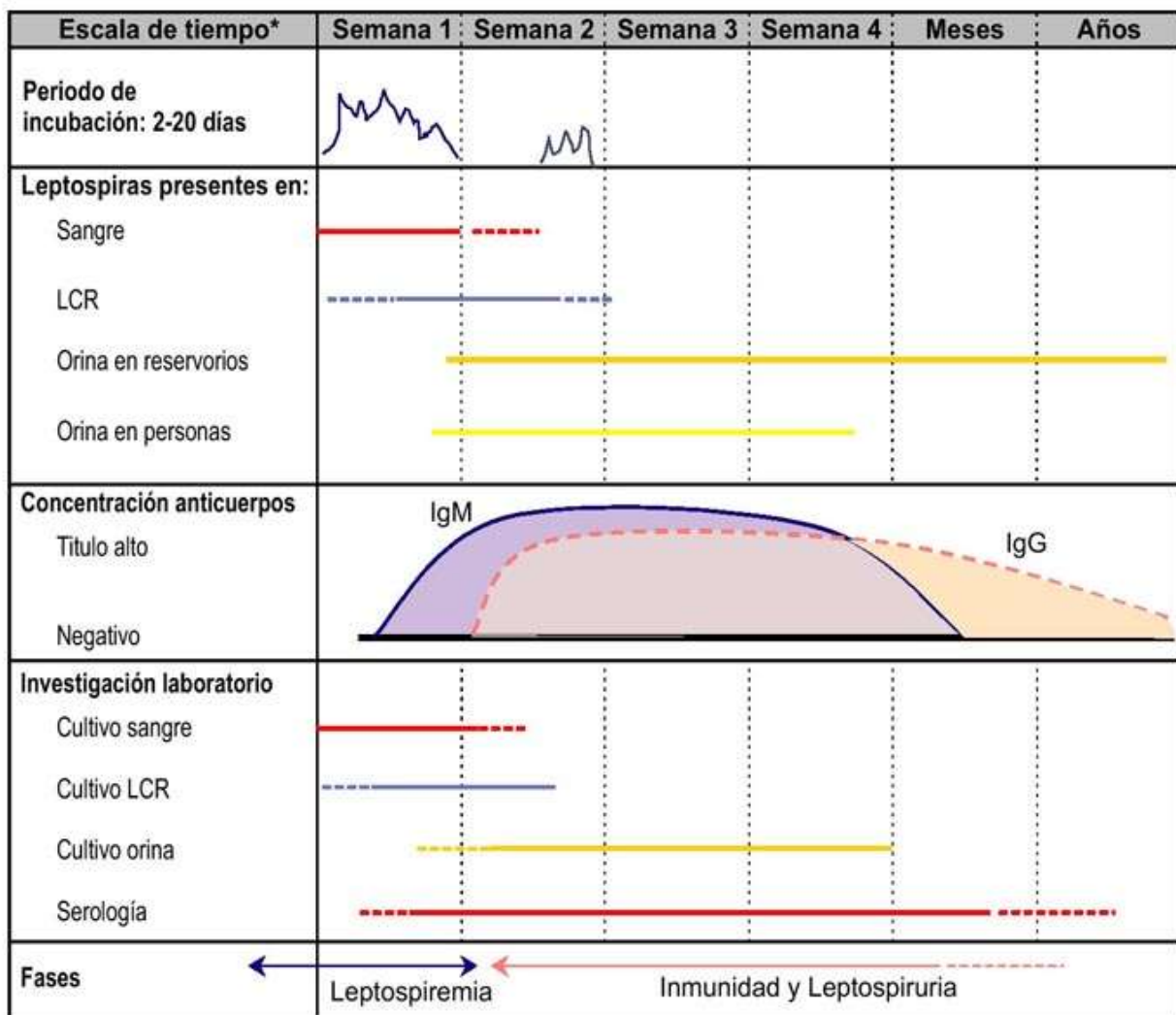
Tabla 4. “Características diferenciales entre las especies de *Leptospira*”

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

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

Anexo 2:

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



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

Anexo 3: Determinación de la muestra poblacional

A. Población finita:

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

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

N = Población finita

NC = Límite de confianza

p = probabilidad de éxito

q = probabilidad de fracaso

σ^2 = Varianza $(p*q)^2$

Δ = Límite de error

B. Población infinita:

Asumiendo la máxima variación posible (cuando $p = q$) para una variable binomial, con un intervalo de confianza del 95% y un límite de error del 10% obtenemos:

$$n = \frac{NC^2 \sigma^2}{\Delta^2} = \frac{NC^2 (p*q)^2}{\Delta^2} = \frac{(1.96)^2 (0.25)}{(0.10)^2} = \mathbf{97 \text{ personas}}$$

NC = Límite de confianza

p = probabilidad de éxito

q = probabilidad de fracaso

σ^2 = Varianza $(p*q)^2$

Δ = Límite de erro

Anexo 4:**Tabla 5. Listado de serovariedades empleados para la prueba de MAT”**

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

Fuente: Cepario proporcionado por el Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala; donadas por el Laboratorio de Referencia Internacional de Leptospira del Instituto de Medicina Tropical de Holanda.

Anexo 5:



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



Dirección General de Investigación
Programa Universitario de
Investigación en Salud



Laboratorio Nacional de Salud
Ministerio de Salud Pública y
Asistencia Social



Municipalidad
de Guatemala

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

Sector: _____

No. de identificación:

Fecha: / /

A. Datos generales:

1. Iniciales del Nombre: _____

2. ¿Cuántos años tiene? años

3. Sexo: Femenino Masculino

4. ¿Cuál es su origen étnico?
 ladino Indígena Garífuna

5. ¿Sabe usted leer?
 Si NO

6. ¿Sabe escribir?
 Si NO

7. ¿Hasta qué nivel llegó a estudiar?
 Primaria Básicos Diversificado
 Universitario Ninguno

8. ¿Cuál es su ocupación?
 Oficios domésticos Estudiante Comerciante/vendedor
 Oficinista Agricultor Albañil
 Seguridad Otros : _____

B. Datos familiares y de vivienda:

9. ¿Cuántas personas viven en su casa?

1-3

4-6

≥ 7

10. ¿De qué materiales esta construida su casa?

Block o ladrillo

Madera

Lámina

Adobe

Otro _____

11. ¿Qué tipo de piso hay en su vivienda?

Tierra

Cemento

Piso

granito/cerámico

Otro _____

12. ¿Cómo es su servicio sanitario?

Inodoro (taza)

Letrina

Entierro

Otro: _____

13. ¿Cómo se elimina la basura de su vivienda?

Recolección municipal

Incineración (quemada)

Entierro

Barranco

Deposito comunitario

No hay

ningún lugar específico

Otro : _____

14. ¿Se sufren inundaciones en su vivienda durante en época lluviosa?

Sí

No

15. ¿Qué tipo de agua utiliza para beber?

La clorada

La toma directamente de la llave

Compra agua

purificada

La hierve

16. ¿Cuáles y cuántas mascotas tiene?

Perro _____

Cerdo _____

Vaca _____

Ninguno

Otro _____

17. ¿Ha observado o sospecha de la presencia de roedores (ratas o ratones) en los alrededores de su vivienda?

Sí

No

¡MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN!

Anexo 6:

A. Adultos



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



Dirección General de Investigación
Programa Universitario de
Investigación en Salud



Laboratorio Nacional de Salud
Ministerio de Salud Pública y
Asistencia Social



Municipalidad
de Guatemala

No. de identificación de la muestra:

Fecha: / /

CONSENTIMIENTO INFORMADO

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

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

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

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

B. Menores de 15 años:



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



Dirección General de Investigación
Programa Universitario de
Investigación en Salud



Laboratorio Nacional de Salud
Ministerio de Salud Pública y
Asistencia Social



Municipalidad
de Guatemala

No. de identificación de la muestra:

Fecha: / /

CONSENTIMIENTO INFORMADO Menores de 15 años de edad

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

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

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

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

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

Anexo 7:

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

Preparar 9 partes de medio basal por 1 parte de suplemento

Tabla 6. Composición del Medio Basal

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

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

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

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

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

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

Tabla 8. Formula de Preparación de Fletcher

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

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

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

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

Anexo 9: Álbum de imágenes del proyecto

Etapa I: Reconocimiento



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



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



Foto No. 1.3

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



Foto No. 1.4

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



Foto No. 1.5

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



Foto No. 1.6

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



Foto No. 1.7

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



Foto No. 1.8

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



Foto No. 1.9

Dentro del asentamiento, existe un zanjón de aguas negras, el cual es causa de mal olor y contaminación.



Foto No. 1.10

El zanjón de aguas negras se ha convertido además en un basurero clandestino en donde algunos vecinos depositan la basura de sus viviendas.



Foto No. 1.11

En este zanjón desembocan los desechos domésticos de las viviendas que aún carecen de drenajes.

Etapa II: Información a la comunidad



Foto No. 2.1

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



Foto No. 2.2

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



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



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



Foto No. 2.5
Los líderes del comité único de barrio también participaron de esta actividad informativa.

Etapa III: Toma de muestra



Foto No. 3.1
Todo el material empleado fue de uso único. Los desechos fueron tratados de acuerdo a lo establecido.



Foto No. 3.2
El primer paso consistió en la información y firma del consentimiento informado de los participantes.



Foto No. 3.3
Una vez aceptada la participación, se procedió a la toma de muestra venosa.



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



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



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



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

Etapa IV: Transporte y Almacenamiento de muestra



Foto No. 4.1

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

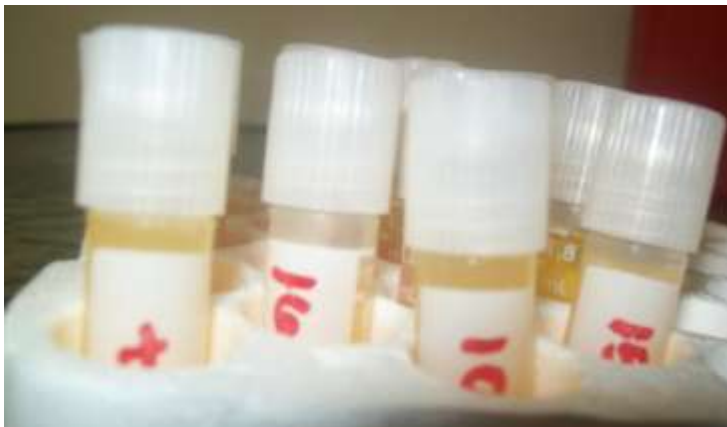


Foto No. 4.2

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

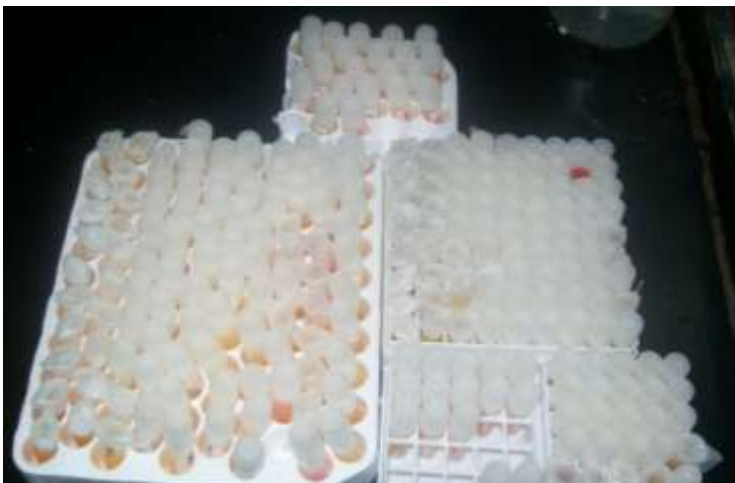


Foto No. 4.3

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

Etapa V: Preparación de medios de cultivo



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



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



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

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



Foto No. 6.1

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



Foto No. 6.2

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



Foto No. 6.3

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



Foto No. 6.4

Se trabajaron un total de 123 muestras incluyendo las 119 obtenidas de los pobladores del asentamiento 15 de Enero, 3 controles positivos y uno negativo.



Foto No. 6.5

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

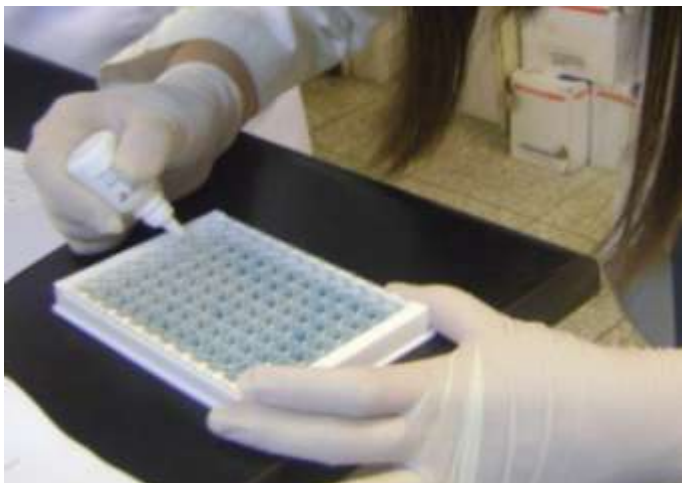


Foto No. 6.6

El método ELISA es una prueba de screening cuyo procedimiento es relativamente sencillo.

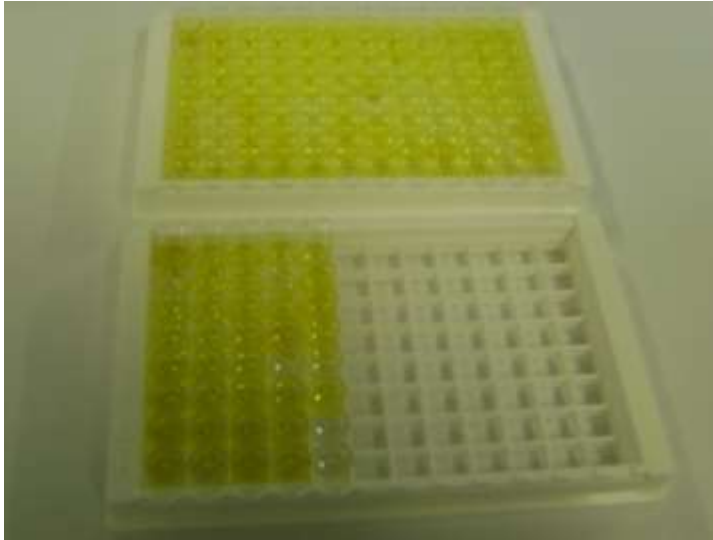


Foto No. 6.7

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



Foto No. 6.8

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



Foto No. 6.9

Los resultados obtenidos fueron registrados en los formularios correspondientes para su registro y análisis.

Lic. María Luisa García de López
Coordinadora

Br. Aliz Marisol Pérez Vásquez
Auxiliar de Investigación II

Br. Mariana Elizabeth Herrera García
Auxiliar de Investigación II

Dr. Roberto Flores Arzú
Director Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas
IIQB