

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
UNAN – LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS CLÍNICO**



**TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS CLINICO.**

**Frecuencia de IgG anti-Leptospiras spp en habitantes que asisten a consulta al  
Hospital Reymundo García, Somotillo. Mayo - Septiembre 2009.**

**Autora:**

**Bra. Francis Mariela Ramírez Aguilera**

**Tutor: MSc. Orlando Mayorga Pérez.**

**Profesor Titular**

**Depto. Microbiología y Parasitología**

**UNAN-León**

**05-de septiembre 2011.**

## **DEDICATORIA**

*A Dios por haberme dado la oportunidad de llegar hasta este momento de satisfacción en mi camino profesional.*

*A mis padres quienes han sido el soporte fundamental en mi vida, acompañándome en la trayectoria de este largo camino brindándome ayuda para vencer los obstáculos presentados.*

*A mi novio Enoc Guevara Martínez por su ayuda, consejos de superación, amor y comprensión.*

*A mis amigas Ana Rosa García y María Cecilia Velásquez, quienes siempre me impulsaban a seguir adelante con sus consejos y cariño.*

## **AGRADECIMIENTO.**

*Agradezco a Dios nuestro Señor por haberme permitido iniciar y culminar mi trabajo.*

*A las personas que contribuyeron para hacer posible la realización de este trabajo investigativo, para ellos mi agradecimiento.*

*De manera especial a mi tutor: Lic. Orlando Mayorga que me oriento hasta la culminación de este trabajo.*

## INDICE

<b>Introducción.....</b>	<b>6</b>
<b>Antecedentes.....</b>	<b>8</b>
<b>Justificación.....</b>	<b>10</b>
<b>Problema.....</b>	<b>11</b>
<b>Objetivos.....</b>	<b>12</b>
<b>Marco teórico.....</b>	<b>13</b>
<b>Material y método.....</b>	<b>19</b>
<b>Operacionalización de variables.....</b>	<b>22</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>23</b>
<b>Discusión de los resultados.....</b>	<b>27</b>
<b>Conclusión.....</b>	<b>30</b>
<b>Recomendaciones.....</b>	<b>31</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>32</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>36</b>

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua – León**  
**Facultad de Ciencias Médicas**  
**Carrera de Bioanálisis Clínico**

**Frecuencia de IgG anti-Leptospiras spp en habitantes que asisten al hospital  
Reymundo García, Somotillo. Mayo-Septiembre 2009.**

**Br. Francis Ramírez Aguilera. Lic. Orlando Mayorga. MSc**

**Resumen**

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal en el Hospital Reymundo García ubicado en el municipio de Somotillo con el objetivo de determinar la frecuencia de IgG anti- Leptospira, en la población que asiste a consulta a dicho centro hospitalario. En un total de 160 personas participantes la frecuencia mayor fue del sexo femenino (76.2%), el grupo etáreo que predominó fue el de 31 a 50 años (31%), la mayoría era de procedencia rural (73.1%) y de ocupación ama de casa (64.4%). Los factores epidemiológicos estudiados fueron, habitar alrededor de ríos o aguas estancadas, abastecimiento de agua, contacto con agua de ríos o aguas estancadas, antecedentes de haber realizado algún viaje, y antecedentes de inundación. Los resultados obtenidos muestran que la frecuencia de IgG anti-leptospira en la población estudiada fue del 23.8%, y que los factores epidemiológicos antecedentes de haber sufrido inundación y el habitar alrededor de ríos y aguas estancadas, se asociaron estadísticamente a la presencia de anticuerpos IgG anti-leptospira.

## INTRODUCCION

La leptospirosis es una zoonosis bacteriana causada por una espiroqueta del género leptospira, de amplia distribución mundial. Los reservorios de las Leptospiras son animales que mantienen una relación de comensales con las bacterias y no sufren o sufren muy levemente la enfermedad (ratas, perros, bovinos, porcinos, equinos, zorrillos, cabras, conejos y murciélagos); los mecanismos de infección son a través de la piel erosionada, mucosa ocular y nasal, al estar en contacto con agua, lodos, vegetaciones y alimentos contaminados con orina, o por manipular fetos y placentas de animales infectados. El agente patógeno sobrevive durante varias semanas en ambientes húmedos, ligeramente alcalinos y calurosos.<sup>1</sup>

En muchas regiones se presentan brotes en áreas endémicas o epidemias urbanas. Se reconoce actualmente como un problema de salud pública a nivel mundial, en particular en áreas tropicales y subtropicales y en países en vías de desarrollo. La magnitud del problema es atribuido a las condiciones climáticas y ambientales, pero también al contacto que se tiene con ambientes contaminados por Leptospira, esto se observa en las actividades agrícolas, ganadera, minera, recreacionales, deportivas y condiciones de salubridad en la vivienda. Es una enfermedad potencialmente mortal pero tratable; su espectro clínico va desde la enfermedad asintomática, síntomas mínimos similares a un resfrío común, hepatitis, dengue clásico o pueden ser graves como las fiebres hemorrágicas virales y meningitis. Al ser frecuente en zonas tropicales donde confluyen otras infecciones como el dengue, tienden a confundirse sus cuadros clínicos, siendo generalmente subdiagnosticada, sin embargo estudios recientes han demostrado su importancia en la salud pública.<sup>2</sup>

El control epidemiológico es extremadamente difícil debido a que las Leptospiras persisten por períodos prolongados en los túbulos renales (con excreción por la orina) sin producir enfermedad; los animales salvajes representan un reservorio importante para reinfectar continuamente a los animales domésticos.<sup>3</sup>

Estudios recientes realizados en nuestro país por el MINSa; en el año 2007 revelaron la alta incidencia de casos en la región de occidente, principalmente en los municipios de Somotillo, Villa Nueva, El viejo, Chinandega, Malpaisillo entre otros, debido a que la gente del lugar se expone a agua contaminada. El MINSa dio a conocer que en años pasado se contaban con 743 casos sospechosos, de esos 573 estaban en Chinandega, 180 en León y el resto en Managua, Estelí, Chontales, Granada y la RAAN.<sup>4</sup>

Dicha enfermedad se ha mantenido de forma endémica afectando a la mayoría de los 17 SILAIS del país. Durante el año 2004 la tasa de morbilidad fue de 1.38 por cada 100.000 habitantes. Para el año 2007 el MINSa dio a conocer que los casos sospechosos para leptospirosis ascendieron a un mil trece en el departamento de Chinandega.<sup>4</sup>

## ANTECEDENTES

La primera descripción cuidadosa de la enfermedad la presentó Weil en 1886, pero el agente causal fue descubierto por Inada e Ido en 1914, quienes lo reportaron como una "espiroqueta". En 1918, Hideyo Noguchi en el puerto de Guayaquil, Ecuador, investigando fiebre amarilla, descubrió en la sangre de los enfermos una espiroqueta que llamó *Leptospiras icterodes*. En diciembre de 1919 se trasladó a Mérida y describió el primer caso de leptospirosis de México. En 1958 en Kinchil y Tetz, Yucatán, México ocurrió el primer brote epidémico de leptospirosis reconocido en la Península de Yucatán, México.<sup>5</sup>

En una encuesta realizada en 1997 por OPS en 11 países de la región (Brasil, Cuba, Ecuador, El Salvador, Honduras, México, Nicaragua, Paraguay, Panamá, Perú y Uruguay), Brasil representa el país que notificó el mayor número de casos, seguido de Cuba, Nicaragua y México.<sup>5</sup>

En Brasil se describió un brote en 1996 en el estado de Río de Janeiro, el mayor número de casos ocurrió en varones (61%) de 15 a 49 años de edad.<sup>8</sup>

En América del Norte en 2001, hubo un brote de Leptospirosis ocurrido en 25 jóvenes, quienes estuvieron nadando en un estanque en el área rural de Illinois, en el cual acostumbraban estar cerdos y ganados.<sup>5</sup>

Un estudio realizado en Colombia entre marzo y octubre del 2005 concluye que existe alta prevalencia de anticuerpos contra *Leptospiras* spp en grupos de riesgo, siendo lo más afectados los trabajadores agrícolas y ganaderos.<sup>2</sup>

En Cuba se notificó un brote que afectó a 79 personas, en su mayoría recolectores de caña, por exposición temporal en terrenos húmedos infestados por roedores.<sup>7</sup>

En un barrio de la ciudad de Santa Fe, Argentina se identificó un brote de una enfermedad aguda caracterizada por fiebre, cefaleas y mialgias intensas. Los hallazgos epidemiológicos, serológicos y clínicos indicaron que el agente causal fue *Leptospiras interrogans*. Varios hechos sugieren que la causa del brote fue la inundación pluvial de la



zona estudiada. Los resultados de este estudio resaltan la necesidad de una vigilancia activa de la leptospirosis ante desastres naturales como las inundaciones.<sup>5</sup>

En 1995, se registró el primer brote de leptosporosis en nuestro país en el municipio de Achuapa, en León, que en dos semanas causó la muerte de 21 personas y mil 500 fueron atendidas en los hospitales del país. Las evidencias encontraron leptospira en los tejidos de riñón e hígado de los pacientes fallecidos; este brote se asoció a contacto directo con agua y suelo contaminado con orina infectada después de intensos períodos de lluvia.<sup>4</sup>

Para el 2001 una brigada cubana realizó un estudio en nuestro país avalado por el Instituto Finlay y el Centro de Investigación y Producción de Vacunas de Cuba y determinó que la leptospirosis tiene en Nicaragua un comportamiento endemo-epidémico, con una notificación de dos casos como promedio semanal. Señala que durante el período de lluvias (octubre-noviembre pasado) la región occidental fue la que reportó el mayor número de casos de la enfermedad.<sup>8</sup>

Por ser Somotillo una de las zonas endémicas más afectadas del país por leptospirosis considero necesaria la intervención en la salud de la población de dicha región a fin de mejorar su calidad de vida y evitar la propagación de nuevos brotes epidemiológicos, brindando información necesaria para disminuir los factores de riesgo y valorar la frecuencia a exposición con la bacteria en la población de estudio.

## JUSTIFICACION

Por el hecho de ser una patología reconocida y sub-diagnosticada, con múltiples manifestaciones clínicas y combinaciones de ellas, que sigue estando presente entre nosotros, en la cual se piensa poco y para cuyo agente hay importantes reservorios en nuestro país, es importante identificar mediante pruebas serológicas la frecuencia de exposición a *Leptospiras* en una población expuesta a este microorganismo.

El clima cálido y tropical de nuestro país, las constantes precipitaciones pluviales y los desastres naturales que afectan a nuestro medio ambiente y transforman el ecosistema que habitamos, contribuyen a la aparición de diversas enfermedades (*Leptospirosis*, *Dengue*, *Malaria*), de igual manera la propagación de estas se ve incrementada por las condiciones higiénico sanitarias deficientes, la pobreza, la desnutrición y la alta población de roedores peri- domiciliarios.

Debido a la cantidad de brotes epidemiológicos de *leptospirosis* que han habido en el país y siendo en los últimos años el municipio de Somotillo uno de los más afectados, según datos brindados por el SILAIS de Chinandega, la frecuencia de exposición a este microorganismo así como sus factores de riesgo, se constituyen como una información vital para que el sistema de salud pueda implementar medidas de prevención y control ante esta patología.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Cuál es la frecuencia de IgG anti- *Leptospiras* spp en habitantes que asisten al hospital Reymundo García del municipio de Somotillo, en el período comprendido de Mayo- Septiembre 2009?

## OBJETIVOS

### **Objetivo General:**

Determinar la frecuencia de IgG anti- *Leptospiras spp* en habitantes que asisten a consulta al hospital Reymundo García del municipio de Somotillo y su relación con las condiciones epidemiológicas del lugar.

### **Objetivos Específicos:**

1. Describir las características sociodemográficas de la población.
2. Identificar algunos factores epidemiológicos a los que ha estado expuesta la población.
3. Determinar la frecuencia de IgG para *Leptospiras spp* en la población de estudio.
4. Relacionar la frecuencia con factores epidemiológicos existentes en la zona.

## MARCO TEÓRICO

La leptospirosis es una zoonosis que afecta a más de 160 especies de animales salvajes y domésticos, que constituyen el reservorio y la fuente de infección para el hombre. Las especies más afectadas son los roedores salvajes y los animales domésticos especialmente perros, ganado bovino, porcino, ovino y equino.<sup>9</sup>

Fue primeramente descrito por Weil en 1886, aunque recién en 1907 Stimson pudo visualizar el microorganismo en un corte de tejido renal de un paciente fallecido durante una epidemia de fiebre amarilla y en 1915 el agente fue cultivado y aislado por los japoneses Inada e Ido, al denominaron *Spirochaeta icterohemorrhagiae*.<sup>10</sup>

### ETIOLOGÍA.

La palabra leptospira procede de dos voces griegas: Lepto-estrecho o delgado; espira-espiral; *Leptospira interrogans* es una bacteria aerobia, helicoidal, de 7 a 10 y hasta 30 micras de longitud y de 0.2 a 0.3 micras de ancho. Constan de un cuerpo protoplasmático, con un axostilo insertado subterminalmente en cada extremo y una membrana que los envuelve, este axostilo consta de dos filamentos axiales. Los extremos del microorganismo están doblados en forma de ganchos.<sup>11</sup>

La bacteria sobrevive largo tiempo en el agua en ambientes húmedos y templados, produciéndose más casos en verano y al comienzo del otoño.<sup>11</sup>

### EPIDEMIOLOGÍA.

Es una enfermedad emergente en los países de cono sur. Aunque está ampliamente distribuida en el mundo, su prevalencia es mayor en las regiones tropicales.<sup>13</sup>

Es más frecuente en la población rural que en la urbana y predomina en el hombre, con un pico de incidencia en la cuarta década de la vida.<sup>13</sup>

Las condiciones ambientales prevalentes en la mayoría de los países tropicales y subtropicales de América (lluvias abundantes, desborde de aguas residuales durante las inundaciones, suelos no ácidos, altas temperaturas) favorecen la transmisión.<sup>13</sup>

En nuestro país la leptospirosis se comporta como una enfermedad endémica, con brotes epidémicos, siendo observadas en zonas urbanas y rurales. Desde 1998 la tasa de incidencia está en aumento, al igual que en otros países del cono sur. Este aumento se relaciona a la situación regional y a factores climáticos e inundaciones sufridas.<sup>14</sup>

En Nicaragua, un brote importante que hubo en 1995 causó enorme mortalidad. En 1997-1998 se identificó brotes en la India, Singapur, Tailandia y Kazajistán.<sup>14</sup>

En este mismo país, en el período posterior al huracán Mitch registraron 523 casos sospechosos de Leptospirosis, con 7 personas muertas por esta causa, lo cual representa una tasa de letalidad de 1,3 %.<sup>30</sup>

La OMS ha estimado la tasa de incidencia en humanos entre 4-100 casos por 100.000 habitantes en países tropicales y subtropicales, y ha descrito un brote en China con una incidencia de 1300 casos por 100.000 habitantes (OMS.1998).<sup>30</sup>

En el continente americano, ha sido publicada la incidencia en algunos países como: México 14.1% (1984); Argentina 38% (1986); Brasil 9.8% (1988); Cuba 12% (1989); Salvador 17.5% (1989) y Colombia 18.5% (1989).<sup>30</sup>

El Ministerio de Salud dio a conocer 743 casos sospechosos de esos, 537 están en Chinandega, 180 en León y el resto en Managua, Estelí, Chontales, Granada y la RAAN. La cifra de muertos llegó a nueve, de los cuales se registran cuatro en Chinandega, tres en León y dos en otros departamentos mencionados.<sup>31</sup>

Los municipios más golpeados en Chinandega son: Somotillo, con 437 casos; Villa Nueva, con 27; Chinandega, con 24; 19 en El Viejo; seis en Santo Tomás del Norte; igual cantidad en Chichigalpa; San Francisco de Cuajiniquílapa, con cinco; y Posoltega con cuatro, entre otros.<sup>31</sup>

## FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS

**Exposición ocupacional:** El contacto directo con la orina de los animales infectados puede causar infecciones en granjeros, veterinarios, trabajadores que realizan el control de roedores y otras ocupaciones en el que se tiene acercamiento con animales. El contacto indirecto es importante para los obreros de desagüe, mineros, militares, los limpiadores de tanques sépticos, criadores de peces, guardabosques, obreros de canales, agricultores que se dedican al cultivo de arroz, plátano, caña de azúcar, y otros.<sup>15</sup>

**Actividades recreativas:** En los últimos años se han incrementado los casos asociados con actividades recreacionales, particularmente en deportes de aguas como natación, canotaje, balseo en agua dulce y pesca de agua dulce; también se ha producido un gran número de casos cuando la exposición ocurre durante eventos deportivos en áreas tropicales.<sup>16</sup>

**Exposición en el hogar:** perro, ganado doméstico, roedores infectados, cerdos.<sup>10</sup>

**Variaciones en los ecosistemas:** Ya sea por el clima, las migraciones invasión de selvas vírgenes o las actividades socio culturales de la población, cambian las interacciones entre los seres vivos y modifican las condiciones medioambientales, lo cual afecta notablemente a las poblaciones de reservorio y modifican la transmisión de leptospirosis.<sup>18</sup>

**Contaminación medio ambiental:** en especial en la época de lluvias, el control se realiza en roedores, mejorando el saneamiento en las áreas e higiene profesional para prevenir los casos de leptospirosis humana. Posiblemente son áreas donde ocurran los grandes brotes después de diluvios, huracanes u otros desastres.<sup>19</sup>

## MANIFESTACIONES CLINICAS

**Leptospirosis asintomático:** la existencia de formas sub-clínicas se hace evidente cuando se realizan encuestas sero-epidemiológicas, donde el 16 - 40% de personas expuestas a la fuente de infección presentan títulos serológicos de anticuerpos específicos detectables; sin embargo, no recuerdan haber tenido manifestaciones clínicas sugestivas de la enfermedad.<sup>20</sup>

**Leptospirosis anictérica:** comienza de forma abrupta, con cefalea intensa y persistente, mialgia en la región lumbar y gemelar, inyección conjuntival escalofríos y dolor abdominal que pueden llegar a confundirse con abdomen agudo quirúrgico se presentan náuseas, vómitos y un acentuado malestar general con postración. La fiebre es de carácter remitente alcanzando 40 °C o más. Con cierta frecuencia se observa un exantema macular de pocas horas de duración, en el tronco. Se puede presentar confusión mental, tos, dolor torácico o hemoptisis y exantema petequial en el paladar. La evolución de estos casos es usualmente satisfactoria en un período de cuatro a diez días.<sup>21</sup>

Son muy pocos los pacientes que pasan a la segunda de la fase (fase inmune), donde solo hay fiebre ligera, la cefalea es intensa, señal de meningitis sin signos neurológicos, y con dolor retro-ocular. Hay mialgia acentuada en los músculos de las pantorrillas, en los para-vertebrales y el cuello, por lo cual existe la posibilidad de confusión con una meningitis viral. Raramente se desarrollan signos neumológicos focales o de encefalitis. A partir de la segunda semana puede desarrollarse uveítis en uno o ambos ojos, que pueden seguir un curso crónico o recurrente. Se han descrito compromisos pulmonares graves como hemoptisis franca, hipotermia e insuficiencia respiratoria aguda.<sup>21</sup>

**Leptospirosis icterica (Síndrome de Weil):** Es la forma más grave de la enfermedad, se caracteriza por las alteraciones de la función hepática y renal, desarrollo de hemorragia, colapso vascular, alteraciones graves de la conciencia y una mortalidad aproximadamente de 5-40%. La ictericia es una manifestación constante y está asociada con daño hepatocelular, con predominio de la bilirrubina directa.<sup>22</sup>

Con la instalación de la insuficiencia renal, puede desarrollarse delirio y convulsiones junto con la aparición de manifestaciones hemorrágicas diversas y acentuación de la ictericia. Puede aparecer esplenomegalia acompañada de una hepatomegalia dolorosa. En los casos graves, puede desarrollarse insuficiencia cardíaca congestiva y shock cardiogénico.<sup>22</sup>



## DIAGNÒSTICO

Debido a que las manifestaciones clínicas de la leptospirosis varían en tipo y gravedad tanto en los hombres como en animales, es difícil su diagnóstico clínico, haciéndose necesaria la confirmación de los casos mediante pruebas de laboratorio; existen pruebas que sin ser específicas para la enfermedad pueden orientar al clínico hacia el diagnóstico de leptospirosis.<sup>23</sup>

Es frecuente hallar la velocidad de sedimentación globular elevada, leucocitosis o en rango normal (a diferencia del dengue en que tiende a la leucopenia), una elevación ligera en transaminasas, fosfatasa alcalina y bilirrubina en ausencia de ictericia (fase anictérica).<sup>24</sup>

En el análisis de la orina puede encontrarse una proteinuria, piuria y hematuria. Las proteínas del LCR pueden ser normales o ligeramente elevadas, la glucosa del LCR es generalmente normal. El examen inicial del LCR puede revelar el predominio de polimorfos o de linfocitos que es seguido por preponderancia de los linfocitos.<sup>24</sup>

En la leptospirosis grave, hay leucocitosis periférica, puede presentarse cuadros con trombocitopenia marcada; la función renal se deteriora evidenciando niveles elevados de creatinina en plasma. En la leptospirosis ictericia hay un incremento marcado de bilirrubina total y directa, transaminasas y fosfatasa alcalina, además de un incremento de la creatinfosfoquinasa y la amilasa sérica.<sup>24</sup>

La clínica con los hallazgos de laboratorio mencionados pueden sugerir un caso probable de leptospirosis pero no es específico, por lo que es necesaria la confirmación del caso por pruebas microbiológicas, serológicas o moleculares específicas.<sup>24</sup>

**Demostración microscópica:** La leptospirosis se pueden observar en muestras clínicas como sangre, orina, LCR y fluidos dializados, en microscopia de campos oscuro e inmunofluorescencia directa; pero su sensibilidad es muy baja, debido a que solo se puede detectar cuando la concentración de leptospiras está entre 100-200/ml. La microscopía en muestras de sangre es válida solo en los primeros días (fase leptospirémica), además se agrega la dificultad para la confusión con fibras o proteínas que pueden mostrar movimientos browniano. Se ha desarrollado otros métodos para mejorar las pruebas microscópicas como la inmunoperoxidasa que se ha aplicado en muestras de agua, suelo,

sangre, y orina. Una variedad de pruebas histopatológicas se han aplicado para la detección de leptospira en tejidos, destacando la coloración con plata, la coloración de Warthin-Starry y los métodos inmunohistoquímicos.<sup>25</sup>

**Cultivos:** Es posible cultivar la bacteria de la sangre, LCR y tejidos durante la primera fase de la enfermedad.<sup>25</sup>

**Serología:** Específicas tienen singular valor en el diagnóstico de las formas leves, anictéricas y de la meningitis asépticas. Es posible establecer un diagnóstico rápido determinando IgM específica con el método de DOT-ELISA.<sup>25</sup>

Los anticuerpos IgG anti-leptospira detectados por la técnica de MAT permanecen detectables por aproximadamente 6 a 12 meses después de la exposición de la infección, e incluso pueden durar por años. La presencia de personas mayores de 15 años con niveles de anticuerpos IgG en la población puede determinar si la circulación de leptospira en la región es activa y constante.<sup>25</sup>

## MATERIAL Y METODOS

### **Tipo de estudio:**

Estudio descriptivo, de corte transversal

### **Área de estudio:**

El estudio se realizó en la población que asistió a consulta al hospital Reymundo García ubicado en el área urbana del municipio de Somotillo, Chinandega.

El hospital, presta atención para todo público del área urbana y rural, el centro hospitalario consta con atención para consulta externa y hospitalizada, laboratorio clínico y farmacia, y de ser una emergencia fuera de su alcance presta las condiciones para traslado hacia el departamento de Chinandega.

### **Universo:**

Personas que asistieron a consulta al hospital Reymundo García ubicado en el municipio de Somotillo

### **Forma de selección de la muestra:**

Se realizó un muestreo aleatorio por conveniencia, entre las personas que cumplieron con los criterios de inclusión.

### **Muestra:**

160 personas de ambos sexos, entre las edades de 15 a 75 años de edad que asistieron a consulta al hospital Reymundo García ubicado en el municipio de Somotillo entre Mayo-Septiembre.

### **Criterios de inclusión:**

- Pacientes en edades comprendidas de 15 a 75 años que asistan a consulta al hospital Reymundo García en el municipio de Somotillo.
- Ser habitante del municipio de Somotillo.
- Haber firmado un consentimiento informado donde aceptó participar en el estudio.

### **Procedimientos de recolección de la información:**

Las fuentes de información de este trabajo son primarias, se interactuó con el paciente por medio de una encuesta para conocer acerca de los factores socio demográficos, epidemiológicos, clínicos y de laboratorio que predisponen a la población al contacto con la bacteria.

Se solicitó el consentimiento por escrito a cada participante del estudio y posteriormente se pidió su colaboración para el llenado de las encuestas y la toma de muestra de sangre.

### **Toma y recolección de la muestra:**

Se extrajo de cada individuo seleccionado para el estudio, una muestra de sangre mediante punción venosa en cantidad de 3 a 4 ml, en tubos sin anticoagulantes, limpios y esterilizados y debidamente identificados.

Posteriormente las muestras sanguíneas se centrifugaron a 3000 rpm durante un tiempo de 5 minutos, para separar el paquete globular del suero. El suero se colocó en viales debidamente rotulados en el laboratorio del hospital del municipio de Somotillo para su posterior traslado en termos con refrigerantes, a temperatura adecuada, hacia el departamento de microbiología de la UNAN-León donde fueron procesadas para su estudio.

### **Procesamiento de la muestra:**

A partir del suero se realizó la detección de IgG para *Leptospiras* spp mediante pruebas de ELISA manufacturadas por **SERION ELISA clásica Leptospira IgG** (Alemania), siguiendo las instrucciones del kit de ELISA LEPTO IgG. La positividad o negatividad se estableció de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

### **Pasos (Elisa clásica Leptospira IgG):**

1. Rotular los micropozos.
2. Diluir las muestras de los pacientes (1+100 $\mu$ L)
3. Adicionar las muestras diluidas y sueros controles/ estándar listos para el uso (100 $\mu$ L)
4. Incubar 60 minutos a 37 °C en cámara húmeda
5. Lavar con solución de lavado
6. Añadir el conjugado (100 $\mu$ L)

7. Incubar 30 minutos a 37 °C en cámara húmeda
8. Lavar con solución de lavado
9. Adición de sustrato (100µL)
10. Incubar 30 minutos/ 37 °C en cámara húmeda
11. Adición de la solución de parada (100µL)
12. Leer la absorbancia de cada uno de los pozos en un filtro de 405 nm

**Plan de análisis:**

Los datos obtenidos de la encuesta y los resultados de laboratorio fueron introducidos y procesados en una base de datos en el programa Epi-info. Los resultados obtenidos se expresan en tablas, tanto en valores absolutos como en porcentajes, Para establecer si existe asociación o independencia entre las variables de estudio, se calcularon los valores de OR y P.

**Consideraciones éticas:**

A cada persona se le explicó los objetivos del estudio, los procedimientos y beneficios de la toma de muestra sanguínea; se les presentó una hoja de consentimiento informado, la cual fue firmada por cada uno de ellos una vez que aceptaron participar.

Los resultados obtenidos fueron entregados de manera confidencial a cada persona que participó en el estudio.

### OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

<b>Variables</b>	<b>Conceptualización</b>	<b>Indicador</b>	<b>Escala</b>
Edad	Años cumplidos hasta el momento de participar en el estudio	Entrevista	10-25 25-40 40-50
Sexo	Características fenotípicas que diferencian a la mujer del hombre	Entrevista	Femenino Masculino
Ocupación	Actividad laboral a la que la persona se dedica	Entrevista	Estudiante Ama de casa Agricultor Ganadero Obrero Comerciante Otros
Procedencia	Lugar que habita actualmente	Entrevista	Rural Urbana
Habita en la periferia de ríos, lagos o aguas estancadas	Vivir en los alrededores de ríos, lagos, pozas.	Entrevista	Si No
Abastecimiento de agua	Fuente de agua utilizada para el consumo	Entrevista	Agua potable Pozo Ríos
Haberse bañado en aguas estancadas (pozas, piscinas)	Contacto con aguas estancadas, que no tienen corriente recientemente	Entrevista	Si No
Prueba de ELISA	Técnica inmunoenzimática que permite detectar infecciones recientes	Registros del laboratorio de microbiología.	Positivo Negativo

## RESULTADOS

Un total de 160 habitantes asistieron a consulta general en el Hospital Reymundo García, entre los cuales la edad promedio fue de 38 años. La distribución por grupos etáreos fue: de 15 a 20 (14.4%), de 21 a 30 (25.6%), de 31 a 50 (31.3%), >50 (28.7%), siendo el grupo etáreo con mayor frecuencia el de 31-50 años. Con respecto al sexo, el masculino representó un 23.8% y el femenino un 76.2%. En cuanto a la procedencia la población estuvo distribuida de la siguiente manera, para el área urbana fue de 26.9%, y para el área rural de 73.1%. **Tabla N°1**

**Tabla N°1:**

### DISTRIBUCION DE LA POBLACION SEGÚN SEXO, EDAD, Y PROCEDENCIA.

FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS	NUMERO	FRECUENCIA %
<b>EDAD</b>	15 – 20	23
	21 – 30	41
	31 – 50	50
	>50	46
<b>SEXO</b>	Femenino	122
	Masculino	38
<b>PROCEDENCIA</b>	Rural	117
	Urbano	43

Al considerar la ocupación predominó la de ama de casa con 64.4%, seguido de estudiante con 13.1%, agricultor 11.3%, ganadero 6.2% y en menor porcentaje Comerciante y obrero tuvieron una frecuencia de 2.5%. **Tabla N°2**

**Tabla N°2: DISTRIBUCION DE LA POBLACION DE ESTUDIO SEGÚN OCUPACION.**

<b>OCUPACIÓN</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>%</b>
<b>AMA DE CASA</b>	103	64.4
<b>ESTUDIANTE</b>	21	13.1
<b>AGRICULTOR</b>	18	11.3
<b>GANADERO</b>	10	6.2
<b>COMERCIANTE</b>	4	2.5
<b>OBRERO</b>	4	2.5

De las 160 personas investigadas el 23.8 % (n=38) resultaron positivas para anticuerpos IgG anti-leptospira. Al relacionar la positividad con factores socio demográficos, el sexo femenino resultó positivo en un 81.6%, mientras que el masculino sólo en 18.4%. En cuanto a los grupos etáreos, el rango con menor porcentaje de positividad fue el de 15-20 años con 15.8%, seguido de 21-30 años 21.1%, 31-50 años con 28.9 % y el mayor porcentaje de positividad se encontró en los >50 años 34.2 %. Respecto a la ocupación las amas de casas tuvieron la mayor seropositividad con 71.1%, seguido de estudiantes con 13.2% y agricultor 10.5% y en menor porcentaje, comerciante y obrero; y en la ocupación de ganadero no se encontró ningún positivo. La seropositividad en el área rural fue de un 84.2% y en la urbana de 15.8%. **Tabla No.3**



**Tabla No.3**

**POSITIVIDAD PARA IgG ANTI-LEPTOSPIRA SEGÚN FACTORES SOCIODEMOGRAFICOS.**

FACTORES SOCIODEMOGRAFICOS		NUMERO	POSITIVIDAD (%)
<b>EDAD</b>	15-20	6	15.8
	21-30	8	21.1
	31-50	11	28.9
	>50	13	34.2
<b>SEXO</b>	Femenino	31	81.6
	Masculino	7	18.4
<b>OCUPACIÓN</b>	Ama de casa	27	71.1
	Estudiante	5	13.2
	Agricultor	4	10.5
	Comerciante	1	2.6
	Obrero	1	2.6
<b>PROCEDENCIA</b>	Rural	32	84.2
	Urbano	6	15.8

Al relacionar los factores epidemiológicos con la presencia de anticuerpos anti-leptospira: encontramos que el haber realizado algún viaje en el transcurso del año, el tipo de fuentes de agua utilizadas para el consumo y el contacto con aguas estancadas, no mostraron asociación alguna; mientras que el habitar alrededor de ríos, lagos, aguas estancadas y antecedentes de inundación presentaron una asociación estadísticamente significativa con la positividad de anticuerpos IgG anti-Leptospira. **Tabla No.3**

**Tabla No.4: Relación positividad a anticuerpos IgG anti-leptospira y factores epidemiológicos**

Factores epidemiológicos		Frecuencia de IgG anti-leptospira			OR, 95% (IC)	P (<0.05)
		Negativo	Positivo	Total		
Habita alrededor de ríos, lagos o agua estancadas	NO	66	11	77	2.893(1.317-6.352)	0.007
	SI	56	27	83		
Realizó algún viaje en el transcurso del año	NO	94	33	127	0.5087(0.181-1.426)	0.193
	SI	28	5	33		
Abastecimiento de agua	Potable	30	4	34	2,771(0.9089-8.4525)	0.072
	Ríos	85	29	114		
	Pozo	7	5	12		
Contacto con aguas estancadas	NO	99	30	129	1.147(0.465-2.829)	0.764
	SI	23	8	31		
Antecedentes de inundación	NO	106	26	132	3.058(1.29-7.25)	0.009
	SI	16	12	28		

## DISCUSIÓN

En este estudio es importante señalar que la mayor participación fue en personas del sexo femenino, de ocupación ama de casa y de edades comprendidas de 31 a 50 años, lo cual es debido a que las mujeres estaban en contacto directo con el agua de los ríos, puesto que la utilizan para labores domésticas (lavar) y aseo personal y asisten con mayor regularidad al centro hospitalario. Con respecto a la procedencia el área rural tuvo una mayor participación que el área urbana; esto probablemente se explique porque el tamaño del área urbana del municipio es menor, lo que conlleva a que a falta de asistencia médica en sus comunidades busquen la atención en la cabecera municipal.

En el presente estudio encontramos elevada frecuencia de infección por *Leptospira* spp, en los habitantes del municipio en estudio, con la presencia de anticuerpos IgG anti leptospira en un 23.8%, aunque era de esperarse ya que en esta zona la enfermedad tiene un comportamiento endémico por ser una región de clima cálido y tropical, que en los últimos años ha sufrido las constantes precipitaciones pluviales.

En un estudio realizado en el 2000 en la población de Morrito (Rio San Juan), la prevalencia de *Leptospiras* fue de 27.0%<sup>31</sup>, cercana a la encontrada en este estudio. Estudios realizados en otros países no superan la frecuencia de leptospira de este estudio como es, en el Sur de Colombia con 18.4%, en Región de Tingo María (Perú) se encontró una frecuencia de 19.0%<sup>22</sup> y en el área urbana de Sao Pablo (Brasil) que fue de 11.0%<sup>9</sup>.

La elevada frecuencia de anticuerpos anti-leptospira en esta población de estudio nos muestra que la leptospirosis continúa teniendo un comportamiento endémico en nuestro país, particularmente en el área de occidente y específicamente en Somotillo, donde han ocurrido brotes epidémicos en los últimos años. Este hallazgo se confirma en reportes del 2007 Ministerio de Salud, el cual expresa que el mayor número de casos sospechosos de leptospirosis lo aportó el Dpto. de Chinandega, seguido de León, Managua, Estelí, Chontales, Granada y la RAAN.<sup>31</sup>

La frecuencia de la infección por leptospira tuvo una tendencia creciente conforme aumentaba la edad, observándose mayor prevalencia en grupos etáreos mayores de 50 años, hallazgo que podría atribuirse a la mayor asistencia al centro hospitalario por personas adultas.

Al relacionar la positividad para anticuerpos IgG anti-leptospira con el tipo de ocupación, encontramos que las amas de casa tuvieron mayor frecuencia de infección que otros tipos de ocupación, lo que demuestra la categoría ocupacional que tiene esta enfermedad. Este hallazgo podría explicarse por el hecho de que las amas de casa utilizan aguas de río para aseo personal, y quehaceres de la casa. Contrario a otros estudios realizados en Costa Rica y Cuba en donde se identificó la mayor frecuencia en actividades agrícolas (cultivo de arroz y azúcar), lo cual constituye un gran factor de riesgo para la adquisición de la infección y enfermedad.<sup>32, 33</sup>

También se evidenció que las mujeres tuvieron mayor frecuencia al presentar mayor positividad a anticuerpos anti-leptospira que los hombres, hallazgo que se explica por el hecho de que es una cultura en nuestro país que la mayoría de las personas que asisten a centros hospitalarios son del sexo femenino.

Se encontró una mayor positividad en personas que habitan en el área rural (84.2%), con respecto al área urbana (15.8%), este hallazgo difiere de otro estudio realizado en Colombia donde reflejan que la frecuencia de anticuerpos para *Leptospira*, es independiente de la región donde se encuentran habitando (18.1% para área rural y 12.5% para área urbana)<sup>27</sup>. Es bueno señalar que la mayor frecuencia de positividad encontrada entre personas del área rural, pudiera explicarse por la mayor afluencia que tiene el centro de salud de la cabecera municipal de pacientes del área rural, debido a falta de centros asistenciales en las comunidades o comarcas. Igualmente es importante señalar que clásicamente la leptospirosis se ha considerado de índole rural, pero en los últimos años y debido a factores tales como el crecimiento poblacional, el medio ambiente, el desarrollo urbano no planificado y otros, se perfila un cambio en la epidemiología de la enfermedad.

Las inundaciones, que sufren algunas partes del municipio de Somotillo se encuentran entre los principales factores epidemiológicos que predisponen a la población a la contaminación con la bacterias del género *Leptospira*, lo que concuerda con un estudio realizado en el municipio de Estelí, en el cual se afirma que los cambios producidos por el huracán Mitch, han llevado a la aparición de epidemias<sup>30</sup>. Al igual que los antecedentes de haberse expuesto a inundaciones, el habitar alrededor de ríos y aguas estancadas fueron factores que se asociaron de forma estadísticamente significativa a la positividad para anticuerpos anti-*Leptospiras*, este hallazgo es similar al encontrado en otros estudios realizados en Nicaragua y Perú.<sup>28,33</sup>

Factores epidemiológicos como el haber realizado algún viaje en el transcurso del año, el abastecimiento de agua y el contacto con aguas estancadas, no mostraron asociación estadísticamente significativa con la presencia de anticuerpos anti-leptospira. Este hallazgo concuerda con estudios similares realizados en Argentina y Perú, en donde no se encontró asociación estadística de estos factores con la presencia de anticuerpos anti-leptospira.<sup>26, 34</sup>

El municipio de Somotillo es atravesado por un caudaloso río, con muchas afluentes; según los datos obtenidos la mayoría de las personas que resultaron positivas se sumergieron en las aguas del río, como respuesta a la necesidad existente de comunicarse con los barrios periféricos, aumentando así el riesgo de adquirir la infección y por ende a resultar positivos para anticuerpos anti-leptospira IgG.<sup>30</sup>

## CONCLUSIONES

1. Las características sociodemográficas que predominaron entre los participantes en el estudio fueron: rango de edad de 31 y 50 años, sexo femenino (76.2%), ama de casa (64.4%) y procedencia rural (73.1%).
2. La frecuencia de anticuerpos IgG anti- leptospiras spp fue de 23.8%.
3. La mayor positividad para anticuerpos anti-leptospira se presentó personas del sexo femenino (81.6%), de ocupación ama de casa (71.1%), mayores de 50 años (34.2%) y de procedencia rural (84.2%).
4. Los factores epidemiológicos: antecedentes de inundaciones y habitar alrededor de ríos y aguas estancadas, mostraron una asociación estadísticamente significativa con la presencia de anticuerpos IgG- anti-leptospira.

## RECOMENDACIONES

- Contar con un sistema de vigilancia activa de la leptospirosis en el municipio, ya que el occidente del país se considera una zona vulnerable a brotes de leptospirosis.
- Realizar saneamiento del agua de los ríos del municipio de Somotillo para evitar futuros brotes o epidemias.
- Se recomienda al ministerio de salud (MINSA) dar mayor énfasis a los casos sospechosos de la enfermedad para evitar de esta manera que sean subdiagnosticada y contar con una efectiva disponibilidad del diagnóstico de laboratorio.

## BIBLIOGRAFIA

1. Abdusalam. M. Situación mundial del problema de la leptospirosis. Pág. 316 OPS. 1976.
2. Restrepo B y col. Leptospirosis en Colombia: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en la comunidad indígena Emberá-Katío. Biomédica (Bogotá) 2005.
3. Benenson, A. El control de las enfermedades en el hombre. 1992. 15 Edición. Pag.204-205. OPS.
4. MINSA. Brote de leptospirosis en Nicaragua 2008. Semana 19 [Fecha de acceso: 7 de marzo 2009] Disponible en: [www.minsa.gob.ni](http://www.minsa.gob.ni)
5. Blenden C. Aspectos epidemiológicos de la leptospirosis. 1976. P. Científica No. 316 OPS.
6. Arzumanian, G. Estudio del problema de la reserva de leptospiras entre los roedores de Cuba. Academia de Ciencias de Cuba. No. 47, 1973
7. Barberena. E. Misión cubana asesora contra leptospirosis. El Nuevo Diario. 2 de enero del 2008.
8. Levett. P. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev. 2001; vol. 14(2): 296-326.
9. Figueroa M. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centro América. Editorial Universal Estatal a distancia San José. Costa Rica. 1984. Pág 173-194



10. Faine S y col. *Leptospira and leptospirosis*. 2 Edición. Melbourne, Australia: Medisci. 1999.
11. Ferro B y col. Diagnóstico de leptospirosis en la vigilancia epidemiológica en Cali. *Biomédica* 2003.
12. Ministerio de Salud. *Leptospirosis. Informe Epidemiológico Nacional*. 1997.
13. Zunino My col. *Leptospirosis*. *Revista chilena de infectología*. Junio. 2007. Vol.24 (3): 220- 226.
14. Douglin C y col. Risk factors for severe leptospirosis in the parish of St. Andrew, Barbados 1997. *Emerg Infect Dis*.
15. Everard y col. An investigation of some risk factors for severe leptospirosis on Barbados. *Rev. Trop Med Hyg*. Vol.11 (3): 311 – 320. 1995.
16. Bofill P y col. *Manual de enfermedades infecciosas*. Tomo I. ISCAH. 1988.
17. Collazo R. Síntesis del desarrollo de la campaña de control de roedores dañinos en el sector pecuaria. *Varadero*. 1987.
18. O'Neill K y col. Pulmonary manifestations of leptospirosis. *Rev Infect Dis* 1991; 9-705.
19. Vanasco N y col. Outbreak of human Leptospirosis after a flood in Reconquista, Santa Fe, 1998. *Rev Argent Microbiol* 2002. vol.7:124-31.
20. Merk. *El manual Merk de Veterinaria*. Ediciones Océanos. 4 Edición. Barcelona. España, 1996.

21. Menninger R y col. Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos. Tomo I, 11ª Edición Alemana. Pág.301-315 1978.
22. Céspedes M. Manual de procedimientos bacteriológico y serológico para el diagnóstico de la leptospirosis. Serie de Normas Técnicas. Lima: Ministerio de Salud del Perú. 2002. vol.22 (4):634- 726 ,
23. Flores P y col. Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano. Instituto Colombiano de Medicina Tropical-Universidad CES, Medellín, Colombia. Rev. Salud Pública. Río de Janeiro. Sept 2007. vol.23 no.9:102-311
24. Sequeiro G y col. Descripción de un brote de leptospirosis en la ciudad de Santa Fe, Argentina, marzo-abril de 1998.
  - a. Rev. Panam Salud Pública. Washington Jan. 2000. vol.7 n.1:1020-1590
25. Góngora A y col. Seroprevalencia de Leptospira spp. en Grupos de Población de Villavicencio, Colombia. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de los Llanos, Colombia.Rev. salud pública. May 2008. vol.10 no.2:64-124
26. Montesino C. Estratificación del riesgo de leptospirosis en el municipio de San Luis. Policlínico Principal de Urgencia "Epifanio Rojas Gil". San Luis. Rev. Cubana 2005. Vol. 21(3):91- 385
27. Canales E y col. Prevalencia hospitalaria de Leptospirosis en pacientes que acudieron al Hospital San Juan de Dios Esteli. Noviembre 1998. Monografía para optar al título de especialista en Medicina Interna
28. Delgado E y col. Frecuencia de leptospirosis en los pacientes del municipio de Morrito, Río San Juan. Julio de 1999. Tesis para optar al título de Doctor en Medicina y Cirugía.

29. Beradis E y col. Human and canine leptospirosis: serological data of Sao Paulo city, Brazil ,2000 to 2003 .Rev cubana Med Trop .2005;57(1): 61-62.
30. Villalobos Rafael E. Leptospirosis humana, República Bolivariana de Venezuela, ministerio de educación superior, universidad de Zulia fac. De medicina .Diciembre 2006.
31. R. Torrez Jaime. Epidemia–Nicaragua, Chinandega.28 de octubre, 2007. [www.finlay-online.com](http://www.finlay-online.com).
32. Rojas A, Valverde, Peña L. Estudio serológico de leptospira en una población de Abangares .Rev. Med Costa Rica Centroam 1999;66(548):254-9
33. Chamizo H, Cruz de la Paz Borroto R. Estudio geoepidemiológico de la leptospirosis humana en Cuba .Rev. Cub Hig .epidemiol 1996;34(1):15-22
34. Rollin Cruz M, Freddy Fernández V, Heriberto Arévalo R. Hiperendemicidad de leptospirosis y factores de riesgo asociados en localidades arroceras del departamento de San Martín –Perú .Rev: Peru Med Exp. Salud Publica .2002. 19(1)

## ANEXOS

### **Frecuencia de IgG para Leptospiras spp en habitantes del municipio de Somotillo, en el período comprendido de Mayo-Septiembre 2009**

#### **Encuesta**

Soy estudiante de quinto año de la carrera de Bioanálisis Clínico de la UNAN-León y estoy estudiando la frecuencia de IgG para leptospiras spp en las personas del municipio de Somotillo, por medio de esta encuesta pretendo conocer los casos expuestos a la bacteria y relacionarlos con las condiciones socio epidemiológicas del lugar.

**1. Edad**\_\_\_\_\_

**2. Sexo:** F \_\_\_\_\_ M \_\_\_\_\_

**3. Ocupación:**

Estudiante \_\_\_\_\_ Ama de casa \_\_\_\_\_ Agricultor \_\_\_\_\_ Ganadero \_\_\_\_\_ Obrero \_\_\_\_\_

Comerciante \_\_\_\_\_ Veterinario \_\_\_\_\_ Pescador \_\_\_\_\_ Otro \_\_\_\_\_

**4. Procedencia:** Rural \_\_\_\_\_ Urbana \_\_\_\_\_

**5. ¿Habita alrededor de ríos, lagos o aguas estancadas?**

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**6. Abastecimiento de agua**

Potable \_\_\_\_\_ Ríos \_\_\_\_\_ Pozo \_\_\_\_\_

**7. ¿Tuvo contacto con agua de ríos en el transcurso del año?**

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**8. ¿Tuvo contacto con aguas estancadas (pozas, piscinas) en el transcurso del año?**

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**9. ¿Presencia inundación en el transcurso del año?**

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**10. Resultados de la prueba de ELISA**

Positivo \_\_\_\_\_ Negativo \_\_\_\_\_

**Gracias por su colaboración**

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua  
Departamento de Microbiología  
Facultad de Ciencias Médicas. UNAN-León  
**Consentimiento Informado**

### **Introducción**

La leptospirosis es una enfermedad causada por una bacteria (*Leptospira*) que afecta a más de 160 especies de animales salvajes y domésticos, que constituyen el reservorio y la fuente de infección para el hombre. <sup>1</sup>

La bacteria sobrevive largo tiempo en el agua o en ambientes húmedos y templados, produciendo más casos en verano y a comienzos del otoño. <sup>4</sup>

### **Objetivos de la investigación**

1. Describir las características sociodemográficas de la población.
2. Identificar algunos factores epidemiológicos a los que ha estado expuesta la población.
3. Determinar la frecuencia de IgG para *Leptospiras* spp en la población de estudio.
4. Relacionar la frecuencia con factores epidemiológicos existentes en la zona.

### **Método**

Detección serológica de IgG para *Leptospiras* spp mediante pruebas de ELISA

### **Riesgo a participar en la investigación**

El paciente puede presentar desvanecimiento o mareo a causa del dolor al momento de la venopunción, formación de hematoma en caso de una mala práctica al momento de la toma de muestra.

### **Beneficio a participar en la investigación**

Determinar el estado real de la infección en cada participante del estudio y algunos factores epidemiológicos, información necesaria, para orientar las intervenciones en salud y de control ambiental en la zona.

## **Derechos del paciente**

El paciente tiene derecho a ser informado con claridad y el alcance de su participación en el estudio, antes de obtener el consentimiento por escrito.

El paciente tiene derecho retirarse del estudio en cualquier momento del estudio.

El paciente tiene derecho a que los datos obtenidos sean información confidencial, tanto entrevista o pro análisis de laboratorio.

Por cuanto:

YO: \_\_\_\_\_

Habiendo sido informada (o) detalladamente de manera oral y escrita sobre los propósitos, alcances, beneficios, riesgos de la participación de cada persona en el estudio, de manera voluntaria doy mi autorización para mi participación en el estudio.

Firmo, a los \_\_\_\_\_ días del mes de \_\_\_\_\_ del año 2009

(Las personas que no puedan firmar colocaran su huella digital como prueba de aceptación para la participación en el estudio)

## **SERION ELISA *classic* Leptospira IgG**

Friedrich- Bergius- Ring 19, D- 97076 Würzburg, Alemania

E- mail: dialog@virion-serion.de

www.virion-serion.de

### **Enzimoimmunoanálisis para la detección de anticuerpos humanos (IgG)**

**No. De ref: ESR125G**

#### **PRINCIPIO**

Los anticuerpos se combinan con antígenos conjugados de leptospira spp, agregando a la cinta reactiva de los micropozos con superficie de poliestireno. El suero residual es removido por lavados y se le agrega la peroxidasa antihumana IgG. Los micropozos serán lavados y decolorados por el sistema de sustrato que se les agrega, peróxido de hidrógeno/ tetrametilbenzidini (TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). El sustrato es hidrolizado por una enzima y el cromógeno cambia a una coloración azul. Después de detener la reacción con ácido, el TMB se cambia a color amarillo. Esta coloración final nos indica la presencia de anticuerpos IgG anti- leptospira spp.

#### **MATERIALES PROPORCIONADOS**

1. Antígenos de leptospira spp: agregados en los micropozos (8 pocillos individuales)
2. Suero estándar: suero humano en tampón fosfato con proteínas.
3. Suero de control negativo: suero humano en tampón fosfato con proteínas.
4. Conjugado anti IgG humano: anticuerpos de cabra policlonados dirigidos contra IgG humano, conjugado con fosfatasa alcalina.
5. Concentrado de lavado: solución de cloruro sódico con Tween 20, Tris 30 mM.
6. Tampón diluyente: Tampón- fosfato con proteína y Tween 20
7. Solución de parada: 1,2 N hidróxido sódico
8. Sustrato: Para- nitrofenilfosfato, tampón sin disolvente

## RECOLECCION DE LA MUESTRA Y PREPARACION

A la sangre obtenida por venopunción, se coloca a temperatura (20- 25C) para que coagule y luego centrifugarlo.

El suero se separa lo antes posible y se refrigera (2-8C) o congela (-20C) para su almacenamiento. No se recomienda el uso de sueros lipémicos, hemolizados o ictericos.

## PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

13. Rotular los micropozos.
14. Diluir las muestras de los pacientes (1+100 $\mu$ L)
15. Adicionar las muestras diluidas y sueros controles/ estándar listos para el uso (100 $\mu$ L)
16. Incubar 60 minutos a 37 C en cámara húmeda
17. Lavar con solución de lavado
18. Añadir el conjugado (100 $\mu$ L)
19. Incubar 30 minutos a 37 C en cámara húmeda
20. Lavar con solución de lavado
21. Adición de substrato (100 $\mu$ L)
22. Incubar 30 minutos/ 37 C en cámara húmeda
23. Adición de la solución de parada (100 $\mu$ L)
24. Leer la absorvancia de cada uno de los pozos en un filtro de 405 nm

## INTERPRETACION DE RESULTADOS

Indicador	Unidad SERION	Resultados
<0.413	<5	Negativo
0.413-0.709	5-9	Inespecífico
>0.709	>9	Positivo