

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

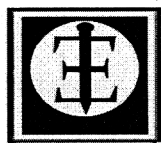
**CAMPO OSCURO Y SEROLOGÍA PARA EL
DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS EN
PACIENTES CON DAÑO HEPÁTICO
CON GRUPO CONTROL**

ALLAN DAVID LÓPEZ VÁSQUEZ

Tesis

**Presentada ante las autoridades de la
Escuela de Estudios de Postgrado de la
Facultad de Ciencias Médicas
Maestría en Medicina Interna
Para obtener el grado de
Maestro en Ciencias en Medicina Interna**

Enero 2014



ESCUELA DE
ESTUDIOS DE
POSTGRADO

Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

HACE CONSTAR QUE:

El Doctor: Allan David López Vásquez

Carné Universitario No.: 100018239

Ha presentado, para su EXAMEN PÚBLICO DE TESIS, previo a otorgar el grado de Maestro en Ciencias en Medicina Interna, el trabajo de tesis **"Campo oscuro y serología para el diagnóstico de leptospirosis en pacientes con daño hepático con grupo control"**.

Que fue asesorado: Dr. Manuel Antonio Gatica Figueroa

Y revisado por: Dr. Jorge Luis Ranero Meneses MSc.

Quienes lo avalan y han firmado conformes, por lo que se emite, la ORDEN DE IMPRESIÓN para enero 2014.

Guatemala, 18 de noviembre de 2013


Dr. Carlos Humberto Vargas Reyes MSc.
Director
Escuela de Estudios de Postgrado


Dr. Luis Alfredo Ruiz Cruz MSc.
Coordinador General
Programa de Maestrías y Especialidades

/lamo

Guatemala 14 de noviembre de 2013

Doctor

Jorge Alexander Walter Garcia

Docente responsable

Maestría en Medicina Interna

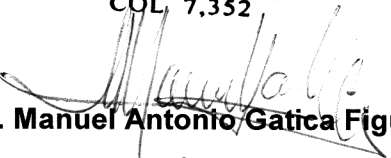
Instituto Guatemalteco de Seguridad Social

Por este medio le envío el informe Final de Tesis "CAMPO OSCURO Y SEROLOGÍA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS EN PACIENTES CON DAÑO HEPÁTICO CON GRUPO CONTROL", perteneciente al DR. ALLAN DAVID LÓPEZ VÁSQUEZ, el cual ha sido revisado y aprobado.

Sin otro particular, de usted deferentemente

"ID Y ESNEÑAD A TODOS"

Dr. Manuel Antonio Gatica Figueroa
MEDICO Y CIRUJANO
COL. 7,352


Dr. Manuel Antonio Gatica Figueroa

Asesor

Gastroenterólogo

Hospital General de Enfermedades
Instituto Guatemalteco de Seguridad Social

Guatemala 23 de junio de 2013

Doctor

Jorge Alexander Walter García

Docente responsable

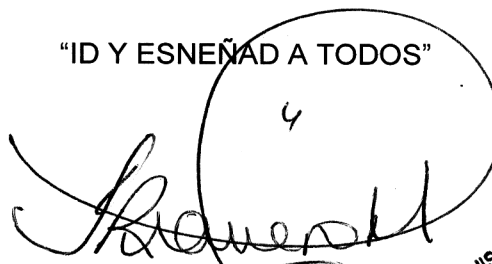
Maestría en Medicina Interna

Instituto Guatemalteco de Seguridad Social

Por este medio le envío el informe Final de Tesis "CAMPO OSCURO Y SEROLOGÍA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS EN PACIENTES CON DAÑO HEPÁTICO CON GRUPO CONTROL", perteneciente al DR. ALLAN DAVID LÓPEZ VÁSQUEZ, el cual ha sido revisado y aprobado.

Sin otro particular, de usted deferentemente

"ID Y ESNEÑAD A TODOS"



Dr. Jorge Luis Ranero Meneses

Revisor

DR. JORGE LUIS RANERO M.
MEDICINA INTERNA
TERAPIA INTENSIVA
COL. 8232

Docente de Investigación

Maestría en Medicina Interna

Escuela de Estudios de Postgrado

Facultad de Ciencias Médicas

USAC - IGSS

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2-9
Definición de Leptospirosis	
Agente Etiológico	
Epidemiología	
Patogenia	
Período de Incubación	
Manifestaciones Clínicas	
Diagnóstico	
IgM vs Campo Oscuro	
III. OBJETIVOS	10
General	
Específicos	
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	11-15
Tipo de Estudio	
Población	
Muestra	
Unidad de Análisis	
Criterios de Inclusion y Exclusión	
Definición y Operacionalización de Variables	
Instrumento de Recolección de Datos	
Procedimientos Para la Recolección de Información	
Procedimientos Para Garantizar Aspectos Éticos de Investigación	
Procedimiento de Análisis de Información	

V. RESULTADOS	16-17
VI. DISCUSION Y ANALISIS	18-20
VII. CONCLUSION	21
VIII. RECOMENDACION	22
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	23-25
X. ANEXOS	26

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. CARACTERISTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN	16
TABLA 2. RESULTADO IGM LEPTOSPIRA EN PACIENTES CON DAÑO HEPATICO/GRUPO CONTROL	16
TABLA 3. RESULTADO COMPO OSCURO LEPTOSPIRA EN PACIENTES CON DAÑO HEPATICO/GRUPO CONTROL	16
TABLA 4. VALORACION DIAGNOSTICA IGM LEPTOSPIRA	17
TABLA 5. VALORACION DIAGNOSTICA CAMPO OSCURO LEPTOSPIRA	17

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue comparar el campo oscuro y la serología para el diagnóstico de leptospirosis en pacientes con daño hepático con grupo control. Estudio el cual involucró a dos grupos de pacientes, el primero con enfermedad hepática de etiología no conocida vs un grupo de control de pacientes sanos durante el período de febrero de 2,009 a octubre del año 2,011 en el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Hospital de Enfermedades . Se incluyeron un total de 66 pacientes, de los cuales 33 con daño hepático establecido por pruebas alteradas; el grupo control sin daño hepático certificado por pruebas constituido por 33 pacientes. En ambos grupos se comparó género, edad, alteración de pruebas hepáticas. Además se planteó el conocer la utilidad del campo oscuro, comparando con el IgM como estándar de oro en el diagnóstico de la leptospirosis determinando sensibilidad y especificidad. Del total de pacientes (66), el IgM se reportó positivo en 5 casos del grupo en estudio y sorprendentemente en 5 del grupo control, por lo cual el valor de p es igual a 1 y se considera no significativo. Al evaluar el campo oscuro para leptospira el mismo fue positivo en 13 pacientes del grupo en estudio y 15 del grupo control, con valor de p de 0.804 sin significancia estadística. Se determinó además una sensibilidad de 50% y una especificidad de 58.93% para el Campo oscuro. En conclusión el campo oscuro no es un método confiable para el diagnóstico de leptospirosis al igual que el IgM en nuestro hospital.

I. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es la zoonosis más ampliamente distribuida en el mundo, 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, las condiciones ambientales prevalentes en la mayoría de países tropicales y subtropicales de América y Centro América como lo son las lluvias abundantes, desborde de aguas residuales durante las inundaciones, altas temperaturas favorecen la transmisión, siendo las ratas el principal reservorio. La infección se transmite habitualmente mediante el contacto directo con tejidos, sangre, orina siendo esta la mayor fuente de infección.

La infección por leptospira puede cursar de forma asintomática o presentarse con diferentes formas, grados y combinaciones de compromiso orgánico; existiendo un subdiagnóstico entre las personas que no acuden al médico o este no las sospecha. Por tanto, recabar información que puedan orientar en el diagnóstico es de suma importancia tomando en cuenta lo clínico, epidemiológico y los datos de laboratorio. Dentro de los métodos de diagnóstico para leptospirosis se encuentran la reacción de hemaglutinación, el test de látex, la fijación de complemento, el anticuerpo IgM y el campo oscuro. De estas pruebas, en el seguro social guatemalteco, se utilizan únicamente los anticuerpos IgM y el campo oscuro en los pacientes con sospecha clínica de la enfermedad.

Por lo descrito previamente en el presente estudio se planteó el conocer la utilidad del campo obscuro, comparando con el IgM como estándar de oro en el diagnóstico de la leptospirosis, mediante un estudio comparativo que involucró a dos grupos de pacientes.

A pesar de las recomendaciones de no utilizarse como prueba diagnóstica desde 1999 por el estudio que se refiere dentro de los antecedentes, la misma se sigue utilizando en nuestro hospital, lo cual ha llevado a tratar pacientes con medicamentos que pueden representar daño al paciente con enfermedad hepática establecida.

II. ANTECEDENTES

Definición de Leptospirosis

Esta enfermedad fue descrita la primera vez por A. Weil en 1886, la leptospirosis es la zoonosis más ampliamente distribuida en el mundo, aunque la mayoría de casos ocurre en países tropicales.^{2, 3} Afecta a diversos mamíferos salvajes y domésticos. Ocasionalmente afecta al hombre, en el que puede producir un amplio espectro de manifestaciones clínicas, que van desde un cuadro febril inespecífico y banal, hasta graves procesos con fracaso multiorgánico.^{13,15,18}

Agente etiológico

La leptospirosis está producida por la espiroqueta *Leptospira interrogans*, que es la única especie patógena del género bacteriano *Leptospira*. La estructura del ADN de estos gérmenes permite clasificarlos en unas 15 genomoespecies, y su composición antigénica permite clasificarlos en unos 25 serogrupos y unos 200 serotipos. Estas clasificaciones, especialmente la antigénica, poseen cierto interés, especialmente epidemiológico. Otra especie de estos microorganismos, *L. biflexa*, se halla muy presente en la naturaleza, especialmente en el agua, pero carece de poder patógeno.^{2,3,13,15}

Esta clasificación tiene importancia epidemiológica ya que el cuadro clínico y en general la virulencia no se relacionan con el serovar. Recientes estudios genéticos han permitido demostrar que la taxonomía del género *Leptospira* es más compleja, habiéndose podido diferenciar 8 especies patógenas y 5 no patógenas.²

L. interrogans se caracteriza por su morfología filiforme y helicoidal. Mide aproximadamente 0,1 micras de anchura y 12 micras de longitud, posee unas curvaturas en forma de gancho en sus extremos, que facilitan su penetración en los tejidos, y dos flagelos, que le dan una gran movilidad. Se tiñe mal con la mayoría de tinciones, y requiere medios de cultivo especiales, donde crece con dificultad y lentitud.^{12,15}

Epidemiología

Es una enfermedad reemergente en los países del Cono Sur y aunque está ampliamente distribuida en el mundo, su prevalencia es mayor en las regiones tropicales. La infección humana se relaciona, principalmente, con riesgo laboral y recreacional, pudiendo infectarse el hombre por contacto directo con el reservorio animal o, más frecuentemente, a través de agua o terrenos húmedos contaminados (agua estancada, estanques, arrozales, etc). Siendo las ratas el principal reservorio. Las leptospiras pueden permanecer en los túbulos renales de estos roedores durante años. ^{2,10,12,15,25}

Los animales infectados eliminan leptospiras principalmente a través de la orina, permaneciendo en los túbulos de estos roedores durante años. La infección se transmite habitualmente mediante el contacto directo con tejidos, sangre, orina siendo esta la mayor fuente de infección u otras excretas contaminados. ^{11,17}

Como estos gérmenes pueden sobrevivir durante meses en el agua, sobre todo si se encuentra a 25 o 30 °C de temperatura, el agua contaminada es también una importante fuente de transmisión, especialmente en casos de inundaciones; siendo más frecuente en la población rural que en la urbana y predomina en el hombre, con un pico de incidencia en la 4ª década de la vida. ^{2,10,12,15, 24}

Se han descrito casos de transmisión de persona a persona, mediante mordeduras de animales o por accidentes de laboratorio, pero esos tres modos de contagio son muy poco frecuentes, y excepcionalmente, se ha comunicado ocurrencia de un brote asociado a la ingestión de agua procedente de una fuente contaminada. ^{15, 25}

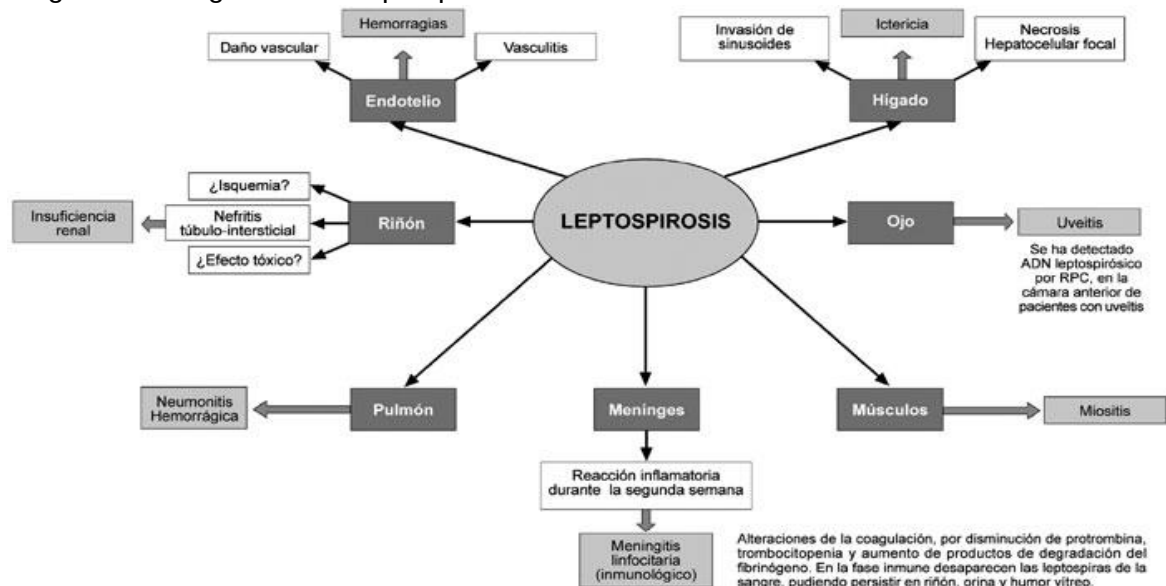
Patogenia

Las leptospiras suelen acceder a nuevos huéspedes a través de abrasiones de la piel o a través de las mucosas, especialmente la conjuntival, la nasal o la oral. Difunde rápidamente y después de 48 horas se la encuentra en todos los humores y tejidos, con localización especial en riñón, hígado, corazón y músculo esquelético (fase leptospirémica de la enfermedad). ^{2,15}

Leptospira es resistente a la actividad bactericida del suero normal y en ausencia de anticuerpos específicos no es fagocitada ni destruida por los polimorfonucleares o macrófagos. Entre los días 5 y 7 los anticuerpos específicos formados favorecen la opsonización del microorganismo que deja de ser encontrado en la sangre y se eliminan por la orina durante semanas o meses (fase inmune o de leptospiruria). La leptospirosis puede ser considerada como una enfermedad generalizada, sistémica, traducida fundamentalmente por una vasculitis infecciosa. La lesión vascular, predominantemente capilar, es un factor prominente de la leptospirosis y responsable del edema y la diátesis hemorrágica. Afecta fundamentalmente a los capilares de hígado, pulmón y riñón. ^{2,15}

Durante la fase septicémica la migración de bacterias, toxinas, enzimas y/o productos antigénicos liberados a través de la lisis bacteriana conducen a una permeabilidad vascular aumentada que es la manifestación más precoz y constante de la enfermedad. Las lesiones celulares de los diversos órganos tienen como base patogénica estos mismos factores, que actúan inicialmente sobre la membrana celular, adicionada a eventual hipoxemia derivada del daño vascular. La respuesta inmune está implicada en la patogénesis de la leptospirosis, como la formación de inmunocomplejos, liberación de citoquinas y vasculitis autoinmune. ^{2,12,15}

Figura 1. Patogenia de la leptospirosis. ³



Período de incubación

Varía entre 2 y 20 días, siendo el habitual de 7 días. ³

Manifestaciones clínicas

La infección por *Leptospira* puede ser asintomática, quedando comprobada su ocurrencia por la seroconversión. Cuando es sintomática, puede causar una enfermedad febril anictérica autolimitada (85 a 90% de casos) o manifestarse bajo su forma más severa conocida como síndrome de Weil (5 a 10 % de casos). Se presume que el porcentaje de formas graves sea menor pues existe un subdiagnóstico en relación a las formas benignas que no llegan al médico o éste no las sospecha. Aunque clásicamente se describe como una enfermedad bifásica, clínicamente suele ser monofásica, o porque en las formas leves la segunda fase es benigna y breve o inexistente, o porque en las formas graves ambas fases se funde. ^{2,15}

Los síntomas y signos más frecuentes son fiebre (100%), mialgias intensas (71 a 92%), cefalea (85 a 99%), manifestaciones gastrointestinales, como vómitos, alteraciones del tránsito y dolor abdominal (17,2 a 62,3%), inyección conjuntival (36,3 a 77,2%) y síndrome meníngeo (19,4 a 22,7%, en la segunda semana de evolución). ²⁵

La leptospirosis puede presentarse con diferentes formas, grados y combinaciones de compromiso orgánico, ya sea como un cuadro febril inespecífico autolimitado, como afección preferente de uno o más órganos involucrados, o como una enfermedad grave con compromiso multiorgánico y alta letalidad. Clásicamente, se describe como una enfermedad febril bifásica, en que la mayor parte de las manifestaciones clínicas se observan durante el período septicémico, en la primera semana de evolución. La meningitis, en cambio, aparece concomitantemente con la nueva onda febril, en la segunda semana del curso clínico (período inmune). ²⁵

Estas manifestaciones clínicas se pueden agrupar, constituyendo las formas clínicas clásicamente descritas. En 52,8% de los casos observamos alguna evidencia de compromiso específico de uno o más órganos, y en 47,2%, un síndrome febril inespecífico. En esta serie no se observó compromiso pulmonar. La forma clínica más grave, clásicamente llamada enfermedad de Weil, con compromiso multisistémico: hepático, renal, hemorrágico, meníngeo, y eventualmente pulmonar, es poco frecuente (5 a 10% de las personas infectadas), y se ha visto asociada con mayor frecuencia a *L. icterohemorrhagica*. ^{15,25}

Diagnóstico

Es conveniente recabar información sobre una serie de datos que puedan orientar en el diagnóstico. Para ello, se debe combinar los siguientes: el diagnóstico epidemiológico, clínico y de laboratorio. ^{6,12,13,15}

La historia de exposición a la enfermedad es un importante dato a tener en cuenta cuando se plantea el posible diagnóstico de leptospirosis. El diagnóstico de esta infección se realiza mediante la serología o mediante el cultivo del microorganismo. ¹

El diagnóstico de certeza se basa en el aislamiento o la seroconversión, con un aumento de cuatro o más veces en el título de anticuerpos. ¹⁵

El diagnóstico presuntivo se basa en Aglutinación microscópica igual o mayor a 1/1.000, asociada a enfermedad clínica compatible y aglutinación en placa positiva y cuadro clínico compatible. ^{7,15}

Exámenes inespecíficos

En la leptospirosis severa se puede observarse leucocitosis moderada. Se ha descrito trombocitopenia, sin otras evidencias de coagulopatía de consumo, en pacientes con daño renal. La velocidad de eritrosedimentación se eleva en forma también moderada en la enfermedad anictérica. ^{12,20, 25}

La función renal está alterada mostrando niveles elevados de creatinina y nitrógeno de urea además el análisis de orina muestra proteinuria, hematuria microscópica o cilindruria. ²⁵

Los test de función hepática muestran hiperbilirru-binemia y ligera elevación de SGPT y SGOT. En la leptospirosis icterica generalmente se puede observar elevación significativa de bilirrubinas con menor incremento en transaminasas y incremento marginal en los niveles de fosfatasa alcalina. ^{7,25}

La punción lumbar usualmente revela en el examen citoquímico en casos de meningitis elementos inflamatorios, opalescencia, xanto-cromía, aumento de proteína (hasta 1g %) y células con recuento, habitualmente, entre 100 y 800/ mm³ con predominio linfocitario. ²⁵

Exámenes específicos

El aislamiento microbiano puede recuperarse leptos-piras durante los primeros 10 días de enfermedad, en sangre, tejidos o LCR y posteriormente, en orina. Para ello, puede efectuarse cultivo en medios especiales, semisólidos, durante 5 a 6 semanas a 28-30 °C, en ambiente oscuro.^{1,6,12,25}

Reacción de polimerasa en cadena (RPC) en algunos trabajos se ha demostrado útil en muestras de sangre, LCR, orina o tejidos. Si bien en sangre tiene mejor sensibilidad que el cultivo, es positiva sólo en 50% de los casos. Otros métodos de identificación son:

- Microscopia de campo oscuro: **Útil, pero requiere de un operador experto y puede dar resultados falsamente positivos.**
- Técnicas de impregnación argéntica en tejidos.
- Serología: No existe una prueba sensible para el diagnóstico de leptospirosis, específica, rápida, de bajo costo y ampliamente disponible. Con estas limitaciones, la prueba de aglutinación microscópica es la piedra angular del diagnóstico serológico. Tiene alta sensibilidad y permite detectar anticuerpos específicos de grupo. Sus limitaciones son: requerir cepas para preparar antígenos vivos (con el riesgo correspondiente para el personal de laboratorio), dificultad en cubrir una amplia gama de serovares y la posibilidad de producirse una aglutinación cruzada. Se acepta como indicador de infección aguda un aumento igual o mayor a cuatro veces del título de anticuerpos en serología pareada (fase aguda y de convalecencia). Su especificidad es de 94 y 92% en fase aguda y de convalecencia, respectivamente.^{12,16,25}

La prueba de aglutinación macroscópica en placa utiliza antígenos muertos y es útil en el tamizaje inicial. Otros métodos de detección de anticuerpos son el ELISA y la hemaglutinación indirecta. **Son útiles, con alta sensibilidad en la detección de IgM específica.** Su limitación es el costo. Los anticuerpos aglutinantes aparecen entre el 6º y 12º día de enfermedad y alcanzan el máximo entre la 3º y 4º semana. Suelen permanecer altos hasta un año y positivos por varios años.^{1,12,14,19,22,23,25}

Puede haber reacción cruzada entre los serotipos, lo que dificulta la identificación precisa de la leptospira causal. Por otra parte, suele haber sero-negatividad persistente si el serotipo no está representado en el *pool* de antígenos usados. En estos casos, cobra relevancia contar con una técnica de biología molecular que permita apoyar el diagnóstico frente a una fundada sospecha clínica. ^{1,12,25}

IGM VRS CAMPO OSCURO

Es de vital importancia hacer referencia acerca de estudios comparativos relacionados a las pruebas de detección de Leptospirosis considerando esta enfermedad como un diagnóstico diferencial de ictericia infecciosa en especial en países del trópico.

Cabe destacar que en nuestro país se realizó un estudio comparativo entre el campo oscuro y la serología. Para obtener nuestra población se evaluaron los pacientes que consultaron por cuadro de ictericia al servicio de Infectología del Hospital General de Enfermedades del IGSS. Se evaluaron un total de 102 pacientes de los cuales 90 eran masculinos y 12 femeninos. La edad en que más se presentaron casos fue de 15-45 años. Del total de 102 pacientes, en 48 se reportó positivo el campo oscuro y en 54 pacientes negativo; en 29 pacientes se reportó una serología positiva para leptospira (IgM-IgG) y 73 pacientes una serología negativa para leptospira. ²¹

De los pacientes en el que la serología fue positiva en el campo oscuro, fue reportado negativo en 19 y de los 73 pacientes en los que la serología fue reportada negativa, el campo oscuro fue positivo en 38. Los datos anteriores nos dan un porcentaje de falsos positivos del 35 por ciento para el campo oscuro y un porcentaje del 47 por ciento de falsos negativos. Presentando el campo oscuro una sensibilidad del 65 por ciento y una especificidad del 53 por ciento en relación a la serología. Con los datos anteriores se determinó en dicho estudio que el campo oscuro no es un método estándar para el diagnóstico de Leptospirosis (AU). ²¹

En Cuba según reporta la Revista de Medicina interna de ese país se valoró que a pesar de ser la serología y particularmente la técnica de aglutinación microscópica, los métodos más recomendados para realizar el diagnóstico de leptospirosis, con frecuencia fracasa en el diagnóstico de casos individuales y brotes, en los cuales este termina realizándose *postmortem*, mediante impregnación argéntica e inmunohistoquímica, además de ser incapaz de diagnosticar leptospirosis crónica, porque en esta, los títulos de anticuerpos son muy bajos ($\leq 1:80$).

Por ello y por la necesidad de un diagnóstico de laboratorio veraz y oportuno, se realizó un estudio comparativo de la videograbación en campo oscuro, apuntalada por la impregnación argéntica y la inmunohistoquímica en sangre y orina, contra la serología por la técnica de aglutinación microscópica, en 60 pacientes con leptospirosis crónica.

La videograbación en campo oscuro, la impregnación argéntica y la inmunohistoquímica resultaron mucho más sensibles que la técnica de aglutinación microscópica, además de ser comparables entre sí, por lo que la videograbación es recomendable para realizar un diagnóstico rápido, temprano y económico, en particular si se asocia a la inmunohistoquímica o la impregnación argéntica. Asimismo, al cultivar estas muestras se obtuvieron 2 cepas de 82 % de primocultivos positivos, y se obtuvo una microfotografía electrónica en la sangre periférica de uno de los casos estudiados, lo que asegura el estudio y avala la existencia de la leptospirosis crónica.³

En Colombia se han realizado varios estudios respecto a este tema estudiando la prueba de inmunofluorescencia indirecta para el diagnóstico de leptospirosis humana y determinar así los anticuerpos de las clases inmunoglobulina G y M producidos contra *Leptospira*. Se establecieron tres grupos de estudio. El primero incluyó 19 muestras positivas para leptospirosis de pacientes con diagnóstico clínico y prueba de microaglutinación positiva; el segundo, 40 muestras de personas sin antecedentes de leptospirosis y con microaglutinación negativa, y el tercero con 96 muestras de pacientes con otras enfermedades diferentes a leptospirosis. Todas las muestras fueron procesadas por inmunofluorescencia indirecta. Se determinó que la inmunofluorescencia indirecta tiene sensibilidad de 89,47%, especificidad de 100%, valor predictivo negativo de 95,2% (IC95% 82,6 a 99,2) y valor predictivo positivo de 100%. En forma paralela, un estudio exploratorio en 27 muestras de suero que habían sido remitidas para diagnóstico de diferentes síndromes febriles encontró que 11% de ellas fueron positivas por inmunofluorescencia indirecta para anticuerpos IgM contra *Leptospira*. En conclusión la inmunofluorescencia indirecta es una alternativa que complementa el diagnóstico de leptospirosis y los estudios seroepidemiológicos.⁸

III. OBJETIVOS

3.1 General

- Comparar el campo oscuro y la serología para el diagnóstico de leptospirosis en pacientes con daño hepático con grupo control en el Hospital General de Enfermedades IGSS zona 9.

3.2 Específico

- Determinar el método con mayor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de leptospirosis.

IV. MATERIALES Y METODOS

4.1 Tipo de Estudio: Prospectivo

4.2 Población: Pacientes ingresados al Hospital General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social Zona 9, por hepatopatía en los meses de Febrero de 2009 – Octubre 2011. Se evaluará un grupo de control sano de la misma unidad hospitalaria.

4.3 Muestra: Se tomaron de forma secuencial conforme aparecieron los casos.

4.4 Unidad de Análisis: Pacientes ingresados al HGEC del IGSS por hepatopatía. Además de un grupo de control sano.

4.5 Criterios de Inclusión y Exclusión

Inclusión del Sujeto o Grupo de Estudio

- ✓ Hombres y mujeres
- ✓ Mayores de 18 años
- ✓ Que acepten participar en el estudio
- ✓ Afiliados
- ✓ Pacientes con hepatopatía a estudio.

Inclusión del Grupo Control

- ✓ Hombres y mujeres
- ✓ Mayores de 18 años
- ✓ Que acepten participar en el estudio
- ✓ Afiliados
- ✓ Pacientes sin hepatopatía

Exclusión

- ✓ Pacientes con Cirrosis hepática.
- ✓ Pacientes con Panel de Hepatitis Positivo
- ✓ Aquellos pacientes que no cumplen los criterios de inclusión

4.6 Definición y operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	UNIDAD DE MEDICION	ESCALA DE MEDICION
Género	Define de forma psicosocial los diferentes estados sexuales.	Según registro en expediente del paciente	Cualitativa	Masculino Femenino	Dicotómica
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.	Según el registro de edad en el expediente del paciente.	Cualitativa	a. 18-24 años b. 25-29 años c. 30-34 años d. 35-39 años e. 40-44 años f. 45-49 años g. > 50 años	Intervalo
Sensibilidad	Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en una prueba diagnóstica un resultado positivo. La sensibilidad es, por lo tanto, la capacidad del test para detectar la enfermedad.	Se utilizó CyR Calculator para el cálculo de sensibilidad.	Cuantitativa	Porcentaje 0-100%	Razón

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	UNIDAD DE MEDICION	ESCALA DE MEDICION
Especificidad	Es la probabilidad de definir de forma correcta a un individuo sano, la probabilidad de que un sujeto verdaderamente sano obtenga un resultado negativo en una prueba complementaria.	Se utilizó CyR Calculator para el cálculo de ESpecificidad	Cuantitativa	Porcentaje 0-100%	Razón
Campo Oscuro Leptospira	Método diagnóstico que utiliza el microscopio de Campo Oscuro para observar las leptospiras en fluidos tales como sangre, medio de cultivo u orina.	Concentración de leptospiras en sangre u orina por centrifugación diferencial.	Cualitativa	Positiva Negativa	Dicotómica
Serología IgM Leptospira	Método diagnóstico que se basa en la detección de anticuerpos en una muestra de suero.	Extracción de muestra de sangre la cual se envió para su análisis al laboratorio del Instituto.	Cualitativa	Positiva Negativa	Dicotómica

4.7 Instrumento de Recolección de Datos

Ver anexo 1

4.8 Procedimientos Para la Recolección de Información

Realización de Trabajo de Campo

Todo paciente con diagnóstico clínico en base a signos, síntomas, alteración de las pruebas hepáticas, que fueron ingresados a encamamiento y que cumplieron con los criterios de inclusión del sujeto o grupo de estudio a quienes se realizó IgM y Campo Oscuro para determinar si el resultado es positivo o negativo para leptospirosis. Además se tomó un grupo que cumplió con los criterios de inclusión para grupo control, con alguna otra patología, sin sintomatología para leptospirosis y con pruebas hepáticas normales a quienes se realizará también IgM y Campo oscuro en busca de leptospirosis. Los datos obtenidos quedarán consignados en el instrumento de recolección de datos para luego ser analizados y tabulados. Previo a tomar las pruebas deberá solicitarse el consentimiento informado.

La persona que procesa la información en laboratorio no tendrá conocimiento respecto a este sistema. Es importante mencionar que el análisis de las pruebas será realizado por la misma Química Bióloga para evitar sesgos en la información.

4.9 Procedimientos para garantizar aspectos éticos de la investigación

Autorización del hospital

Se presentó el Tema de Investigación al Comité Docente del Departamento de Medicina interna del Hospital General de Enfermedades IGSS Zona 9, solicitando su visto bueno previo a iniciar el proceso de investigación.

Aspectos éticos de la Investigación

Los resultados obtenidos servirán para establecer la sensibilidad y la especificidad de IgM y Campo oscuro en el diagnóstico de leptospirosis. Será de gran importancia establecer el porcentaje de falsos positivos y falsos negativos para ambas pruebas.

El estudio de tipo prospectivo, casos y controles cumple con los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos según la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.

La selección de los pacientes se fundamenta en el ingreso al HGEC del IGSS Zona 9 al área de encamamiento de los casos con hepatopatía sin importar status social, etnia ni sexo. No existe ningún factor de riesgo para los participantes. Los beneficios que se obtendrán de la investigación serán de vital importancia para determinar si el diagnóstico de leptospirosis es frecuente en nuestra población, además si su diagnóstico es frecuente en los pacientes con hepatopatía aguda o crónica.

El alcance del presente estudio vendrá determinado por una serie de factores que lo condicionen, teniendo en cuenta que alguno de estos factores se deriva directamente de los objetivos que se quieran conseguir y del enfoque que se quiere dar.

La información será adquirida por medio de un instrumento de recolección de datos así como del expediente clínico de los cuales se procederá extraer y analizar la información para luego determinar las conclusiones del estudio. Las limitaciones se relacionan con la disponibilidad que tengan las personas a participar en el proceso de investigación o la falta de reactivos para realizar las pruebas.

Procedimiento de Análisis de la Información

Los datos obtenidos en el instrumento de recolección de datos se trasladaron a una hoja de datos de Excel y SPSS 17, además se utilizó CyR Calculator; para luego ordenar los resultados por medio de tablas.

V. RESULTADOS

Tabla 1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN

	ENFERMO	SANO	p valor
EDAD	43	55	0.81
SEXO			
MASCULINO	19	22	0.80
FEMENINO	14	11	0.79
ASAT	1,119	24	0.006
ALAT	1,082	17	0.007
FA	332	104	0.001
GGT	689	261	0.001
LDH	2834	150	0.006
BT	4	4	0.021
BI	2	3	0.017

Fuente: Base de Datos

Tabla 2. RESULTADO IGM LEPTOSPIRA EN PACIENTES CON DAÑO HEPATICO/GRUPO CONTROL

IGM LEPTOSPIRA			
PRUEBA	FRECUENCIA (%)		Total
	Enfermo	Sano	
POSITIVA	5 (50%)	5(50%)	10
NEGATIVA	28(50%)	28(50%)	56
Total	33	33	66

Fuente: Base de Datos

Tabla 3. RESULTADO CAMPO OSCURO LEPTOSPIRA EN PACIENTES CON DAÑO HEPATICO/GRUPO CONTROL

CAMPO OSCURO LEPTOSPIRA			
PRUEBA	FRECUENCIA (%)		Total
	Enfermo	Sano	
POSITIVA	13(46.4%)	15(53.6%)	28
NEGATIVA	20(52.6%)	18(47.4%)	38
Total	33	33	66

Fuente: Base de Datos

Tabla 4. VALORACION DIAGNOSTICA IGM LEPTOSPIRA

IGM LEPTOSPIRA		
	VALOR	INTERVALO DE CONFIANZA
SENSIBILIDAD	15.15%	2.92% - 27.38 %
ESPECIFICIDAD	84.85%	72.62% - 97.08%
VALOR PREDICTIVO POSITIVO	50%	19.01% - 80.99%
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO	50%	36.90% - 63.10%
COCIENTE DE PROBABILIDAD POSITIVO	1	
COCIENTE DE PROBABILIDAD NEGATIVO	1	

Fuente: Base de Datos

Tabla 5. VALORACION DIAGNOSTICA CAMPO OSCURO PARA LEPTOSPIRA

CAMPO OSCURO LEPTOSPIRA		
	VALOR	INTERVALO DE CONFIANZA
SENSIBILIDAD	39.39%	22.72% - 56.07%
ESPECIFICIDAD	54.55%	37.56% - 71.53%
VALOR PREDICTIVO POSITIVO	46%	27.96% - 64.90%
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO	47%	31.49% - 63.24%
COCIENTE DE PROBABILIDAD POSITIVO	0.87	
COCIENTE DE PROBABILIDAD NEGATIVO	1.11	

Fuente: Base de Datos

VI. DISCUSION Y ANALISIS

Si bien la historia clínica y el examen físico son fundamentales para el diagnóstico de leptospirosis, es importante contar con métodos rápidos y confiables para poder apoyar al médico en la confirmación diagnóstica oportuna. Estos métodos deben poseer una sensibilidad y especificidad aceptable, para utilizarse como prueba definitiva de la enfermedad. Dentro de los métodos de diagnóstico para leptospirosis se encuentran la reacción de hemaglutinación, el test de látex, la fijación de complemento, el anticuerpo IgM y el campo oscuro. De estas pruebas, en el seguro social guatemalteco, se utilizan únicamente los anticuerpos IgM y el campo oscuro en los pacientes con sospecha clínica de la enfermedad.

Como antecedente, en 1999 en el Hospital General de Enfermedades del IGSS, se realizó un estudio, en donde se evaluó la sensibilidad y especificidad del campo oscuro en 106 pacientes con daño hepático, sin utilizar un grupo control, encontrando una sensibilidad de 65% y especificidad del 53%, recomendando no aplicar esta prueba como método diagnóstico. 10

En el presente estudio se planteó el conocer la utilidad del campo obscuro, comparando con el IgM como estándar de oro en el diagnóstico de la leptospirosis, mediante un estudio comparativo que involucró a dos grupos de pacientes, el primero con enfermedad hepática de etiología no conocida vs un grupo de control de pacientes sanos. Se incluyeron un total de 66 pacientes, de los cuales 33 con daño hepático establecido por pruebas alteradas, quienes ingresaron para estudio del problema; de estos 19 masculinos y 14 femeninos. El grupo control sin daño hepático certificado por pruebas, fue constituido por 33 pacientes; 22 masculinos y 11 femeninos. En relación a edad, no existió diferencia estadísticamente significativa. Los valores del perfil hepático entre ambos grupos se muestran en la Tabla 1, mostrando diferencias estadísticamente significativas para todos los parámetros.

Del total de pacientes (66), el IgM se reportó positivo en 5 casos del grupo en estudio y sorprendentemente en 5 del grupo control, por lo cual el valor de p es igual a 1 y se considera no significativo, además de valor predictivo positivo y negativo de 50% para dicha prueba. Esto nos indica que el IgM para leptospirosis en nuestra institución, no es de utilidad para establecer un diagnóstico de ésta patología.

Para comentar sobre esto, es importante mencionar un estudio del año 2002, publicado en la Revista Peruana de Salud Pública, titulado “Prueba de Elisa Indirecta Para La Detección De Anticuerpos IgM Para el Diagnóstico de Leptospirosis Humana” con el objetivo de comparar la prueba de microaglutinación (MAT) y la prueba de ELISA indirecta para la detección de anticuerpos IgM en muestras de suero de fase aguda de leptospirosis. En dicho estudio se obtuvo una sensibilidad de 97.5% y especificidad de 98.75% para ELISA IgM; lo cual contrasta con nuestros resultados.

Al evaluar el campo oscuro para leptospira el mismo fue positivo en 13 pacientes del grupo en estudio y 15 del grupo control, con valor de p de 0.804 sin significancia estadística, valor predictivo positivo de 46% y negativo 47%. Al igual que lo observado con el IgM, no muestra diferencias entre ambos grupos, por lo cual se puede considerar sin utilidad diagnóstica en nuestra institución, a pesar de lo reportado en la literatura sobre su uso. Lo descrito debido a la baja capacidad de dicha prueba de discriminar entre los sujetos que verdaderamente tienen la enfermedad, de entre los que dieron positivo y los sujetos verdaderamente sanos sobre el total de los que dieron negativo.

La explicación a este comportamiento, respecto al IgM puede ser por la técnica en el laboratorio o un reactivo inadecuado.

En relación al campo oscuro llama la atención la positividad en cerca del 53.6% de los pacientes del grupo control, lo cual puede explicarse por lo reportado en los artículos previos de la literatura, en donde se indica ser una prueba sujeta a la interpretación subjetiva de la persona que la realiza.

Es de mencionar que al comparar ambas pruebas, los resultados se inclinan de forma discreta hacia la prueba de IGM por su mejor capacidad para diagnosticar la presencia de enfermedad y una mejor capacidad diagnóstica de la prueba; tal y como se puede observar en los valores de cociente de probabilidad positivo/negativo e índice de Kappa de 0.40.

A pesar de los problemas de diagnóstico que representan ambas pruebas, se midió la sensibilidad y especificidad del Campo Oscuro para nuestro estudio, en donde se encontró una sensibilidad de 39.39% y una especificidad del 54.55%, lo cual guarda mucha relación a lo reportado en 1999.

A pesar de las recomendaciones de no utilizarse como prueba diagnóstica desde 1999 por el estudio ya referido previamente, la misma se sigue utilizando en nuestro hospital, lo cual ha llevado a tratar pacientes con medicamentos que pueden representar daño al paciente con enfermedad hepática establecida.

El recomendar una prueba de diagnóstico definitivo en nuestra institución, sería el de considerar la prueba de PCR, basado en estudios como lo publicado en el 2007 en la revista Peruana de Salud Pública que reporta el estudio sobre “Estandarización y Validación de una Prueba de PCR para el Diagnóstico Precoz de Leptospirosis Humana” en el cual se concluye que el PCR estandarizado es mucho más sensible que las pruebas serológicas en los primeros días de enfermedad y baja su detección de leptospiras en sangre cuando va disminuyendo su carga a partir del octavo día. 5

Con los datos anteriores concluimos que el campo oscuro no es un método confiable para el diagnóstico de leptospirosis al igual que el IgM en nuestro hospital.

VII. CONCLUSION

- IgM y Campo Oscuro no deben de utilizarse en nuestro Hospital para el diagnóstico de leptospirosis como lo demuestra la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo para cada una de las pruebas.

VIII. RECOMENDACIÓN

- Se recomienda utilizar nuevos métodos diagnósticos para el diagnóstico definitivo de Leptospirosis en nuestro Hospital, siendo la prueba de PCR la recomendada según estudios de “Estandarización y Validez” a nivel mundial.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ahmad SN, Shah S, H Ahmad FM.: El diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis [ON LINE] Disponible en: <http://www.jpgmonline.com/text.asp?2005/51/3/195/19020> Marzo 2,005.
2. Braselli, Adelina. : Leptospirosis [ON LINE] Disponible en: <http://www.infecto.edu.uy/revisiontemas/tema25/leptospirosis.htm> 2,005.
3. Castrejón, Oscar V., et al.: Diagnóstico de leptospirosis crónica, comparación entre la aglutinación microscópica y 3 técnicas diagnósticas confirmatorias [ON LINE] Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol59_1_07/mtr01107.htm 2,007.
4. Céspedes, Manuel et al.: Prueba de elisa indirecta para la detección de anticuerpos IgM para el diagnóstico de leptospirosis [ON LINE] Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v19n1/a05v19n1>. 2,002
5. Céspedes, Manuel et al.: Estandarización y validación de una prueba de pcr para el diagnóstico precoz de leptospirosis humana [ON LINE] Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v24n1/a04v24n1>. 2,007
6. Chaudhry R, et al.: Serological & molecular approaches for diagnosis of leptospirosis in a tertiary care hospital in north India: A 10-year study, Indian J Med Res 137, April 2013, pp 785-790.
7. Dey S, Mohan CM, Ramadass P, et al. Diagnosis of leptospirosis by recombinant antigen based single serum dilution ELISA. Indian J Med Res, 2008; 128, 172-7.
8. Ferro, Beatriz Eugenia, Rodrigue, Ana Lucía, Mauricio, Pérez et al.: Seroprevalencia de infección por *Leptospira* en habitantes de barrios periféricos de Cali [ON LINE] Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572006000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es Junio 2,006.
9. Flórez Piedad Agudelo. : Evaluación de la prueba de inmunofluorescencia indirecta para el diagnóstico de leptospirosis humana [ON LINE] Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=84326205> Junio 2,006.
10. Kouadio Isidore, et al.: Infectious diseases following natural disasters: prevention and control measures [ON LINE] Disponible en: www.expert-reviews.com

11. Lau CL, Smythe LD, Craig SB, Weinstein P. Climate change, flooding, urbanization and leptospirosis: fuelling the fire? Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2010; 104: 631-638.
12. Levett, Paul N.: Leptospirosis [ON LINE] Disponible en:
<http://cmr.asm.org/cgi/reprint/14/2/296> Abril 2,001.
13. Pan American Health Organization, PAHO: Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control 2008 [ON LINE] Disponible en:
http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789995479213_spa.pdf
14. Panwala Tanvi, Seroprevalence Of Leptospirosis In South Gujarat Region By Evaluating The Two Rapid Commercial Diagnostic Kits Against The Mat Test For Detection Of Antibodies To Leptospira Interrogans, National Journal Of Community Medicine 2011 Volume 2: 64-70.
15. Roca, B.: Leptospirosis [ON LINE] Disponible en:
<http://desastres.cies.edu.ni/destacados/2007/ARTICULO%201%20LEPTOSPIROSIS.pdf> Febrero 2,006.
16. Schreirer Stefan, et al.: Leptospirosis: current situation and trends of specific laboratory test, Expert Review of Anti-Infective Therapy, Mar 2013, Vol 9, No. 3, Pages 262-283.
17. Secretaría de Salud Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud Dirección General de Epidemiología, ISBN: Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica para la Leptospirosis 2012 [ON LINE] Disponible en: www.salud.gob.mx. www.dgepi.salud.gob.mx.
18. Sociedad Argentina de Infectología, Leptospirosis 2012 [ON LINE] Disponible en: www.sadi.org.ar.
19. Sun AiHua, et al.: A Sensitive and Specific IgMELISA for the Serological Diagnosis of Human Leptospirosis Using a rLipL32/1LipL21OmpL1/2 Fusion Protein, Biomed Environ Sci, 2011; 24(3): 291-299.
20. Toyokawa Takao, et al.: Diagnosis of Acute Leptosprosis, Expert Review of Anti-Infective Therapy, January 2011, Vol 9, No. 1, Pages 111-121.
21. Turcios, Erick; Loria, Richard; Galindo, Erick.: Diagnóstico Serológico de leptospirosis [ON LINE] Disponible en:
<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=282631&indexSearch> Diciembre 1,999
22. Vanasco NB, et al.: Diagnóstico de leptospirosis humana: evaluación de la aglutinación macroscópica en diferentes etapas de la enfermedad. Salud Publica Mex 2012;54:530-536.
23. Varunee Desakorn, et al.: Accuracy of a Commercial IgM ELISA for the Diagnosis of Human Leptospirosis in Thailand, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 86(3), 2012, pp. 524–527.

24. World Health Organization, WHO: Report of the Second Meeting of the Leptospirosis Burden Epidemiology Reference Group 2011 [ON LINE] Disponible en: <http://www.who.int/iris/handle/10665/44588>
25. Zunino, Enna M., Pizarro Rolando P.: *Leptospirosis* [ON LINE] Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716101820070003000008&script=sci_arttext Junio 2,007.

X. AÑEXOS

Anexo No. 1

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Nombre: _____

Edad: _____ Afiliación: _____ Sexo: _____

Procedencia: _____

Ocupación: _____

Pruebas de Laboratorio:

Paciente Sano

IgM	
POSITIVO	NEGATIVO

Campo Oscuro	
POSITIVO	NEGATIVO

Paciente Con Diagnóstico de Leptospirosis

IgM	
POSITIVO	NEGATIVO

Campo Oscuro	
POSITIVO	NEGATIVO

PERFIL HEPATICO SANO/CONTROL

PERFIL HEPATICO	VALOR
ASAT	
ALAT	
FA	
GGT	
LDH	
BT	
BD	

PERMISO DEL AUTOR PARA COPIAR EL TRABAJO

El autor concede permiso para reproducir total o parcialmente y por cualquier medio la tesis titulada **“CAMPO OSCURO Y SEROLOGÍA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS EN PACIENTES CON DAÑO HEPÁTICO CON GRUPO CONTROL”** para propósitos de consulta académica. Sin embargo, quedan reservados los derechos de autor que confiere la ley, cuando sea cualquier otro motivo diferente al que se señala lo que conduzca a su reproducción o comercialización total o parcial.